



Applications de la vaporisation électrothermique couplée à la technique ICP-AES pour la détermination élémentaire dans les végétaux : une stratégie permettant l'analyse directe des échantillons à l'état solide

Pierre Masson, Rapporteurs D Beauchemin

► To cite this version:

Pierre Masson, Rapporteurs D Beauchemin. Applications de la vaporisation électrothermique couplée à la technique ICP-AES pour la détermination élémentaire dans les végétaux : une stratégie permettant l'analyse directe des échantillons à l'état solide. Chimie. Université de Pau et des Pays de l'Adour, 2014. Français. NNT : . tel-03132977

HAL Id: tel-03132977

<https://hal.inrae.fr/tel-03132977>

Submitted on 5 Feb 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



MÉMOIRE

Présentée à

L'Université de Pau et des Pays de l'Adour

École Doctorale des Sciences Exactes et de leurs Applications

Par

Pierre MASSON

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Chimie Analytique et Environnement

Par Validation des Acquis de l'Expérience

Applications de la vaporisation électrothermique couplée à la technique ICP-AES pour la détermination élémentaire dans les végétaux : une stratégie permettant l'analyse directe des échantillons à l'état solide

Le 19 mai 2014

Devant la commission d'examen formée de :

RAPPORTEURS

**D. Beauchemin
F. Chartier**

**Professeur (Queen's University, Kingston, Ontario, Canada)
Chercheur (CEA, Centre de Saclay, Gif-sur-Yvette, France)**

EXAMINATEURS

**V. Kanicky
O.F.X. Donard
F. Pannier
M. Mench**

**Professeur (Université de Masaryk, Brno, République Tchèque)
Directeur de Recherche (IPREM-LCABIE, UMR 5254, UPPA, Pau, France)
Professeur (IPREM-LCABIE, UMR 5254, UPPA, Pau, France)
Directeur de Recherche (INRA, UMR 1202, Univ. Bordeaux 1, France)**

Applications de la vaporisation électrothermique couplée à la technique ICP-AES pour la détermination élémentaire dans les végétaux : une stratégie permettant l'analyse directe des échantillons à l'état solide



Pierre MASSON

USRAVE, Centre de Recherches INRA de Bordeaux, CS20032, 33882 Villenave d'Ornon cedex, France

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier tout particulièrement Olivier Donard, mon directeur de thèse, pour avoir accepté de participer à cette aventure de la thèse par VAE, et qui fut le moteur de sa réussite.

Merci aussi à tous les acteurs scientifiques et administratifs de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour qui ont permis à cette première thèse par VAE d'aboutir.

Merci donc à Monsieur Mohamed Amara, Président de l'UPPA

Merci à Anna Chrostowska, Directrice de l'école doctorale.

Merci à Sophie Chassaing et à Marie-Manuelle Marcos de la DIVA.

Je souhaite aussi remercier chaleureusement les rapporteurs, Diane Beauchemin et Frédéric Chartier, d'avoir accepté d'évaluer mon travail, ainsi que l'ensemble des membres du jury, Viktor Kanicky, Florence Pannier et Michel Mench. C'est un honneur d'avoir une commission d'examen d'un si haut niveau.

Je veux également remercier ceux qui m'ont poussé et encouragé à aller au bout de cette démarche qui, il est vrai, sort des sentiers battus.

Merci donc, en premier lieu, à Mireille Barbaste, directrice de l'USRAVE pour m'avoir conforté dans cette voie, pour m'avoir permis de participer à de nombreuses conférences internationales qui favorisent les rencontres scientifiques, et qui fut un catalyseur dans cette aventure.

Merci à tous mes collègues de l'USRAVE qui ont la redoutable tâche de composer avec mon (mauvais) caractère. Ils arrivent encore à me supporter après toutes ces années. Je ne sais pas comment ils font. Peut-être est-ce dû à l'ambiance très particulière, sans doute unique, qu'ils font régner dans le laboratoire grâce à leur bonne humeur.

Merci aussi à Sonia Baillet, responsable de la formation permanente à l'INRA de Bordeaux, et qui fut très attentive à la progression et à la réalisation de la procédure VAE.

Merci au gens de l'IPREM (Christophe Pécheran, Ryszard Lobinski, Martine Potin-Gautier) pour leurs encouragements, manifestement ravis de me voir réaliser cette thèse sur travaux.

Merci, enfin, aux « 3N » qui ont dû, elles aussi, composer au quotidien avec mon humeur parfois changeante.

SOMMAIRE

<u>AVANT PROPOS</u>	13
----------------------------------	----

<u>INTRODUCTION GÉNÉRALE</u>	15
---	----

<u>1^{ère} PARTIE</u> : Avancées récentes dans l'analyse élémentaire directe dans les végétaux par vaporisation électrothermique et ablation laser couplées aux techniques ICP	31
---	----

Review: Recent trends in plant sample analysis: direct solid sampling with electrothermal vaporization and laser ablation coupled with ICP techniques	33
--	----

1. Introduction	34
------------------------------	----

2. Electrothermal vaporization	36
---	----

2.1. Principle of ETV	36
-----------------------------	----

2.2. Chemical modification/ treatment of sample	37
---	----

2.3. Vaporization of plant materials	38
--	----

2.4. Transport of aerosol	39
---------------------------------	----

2.5. Calibration	40
------------------------	----

2.6. Matrix effects	41
---------------------------	----

2.7. Precision of measurements	42
--------------------------------------	----

2.8. Applications	43
-------------------------	----

2.8.1. Solid samples	43
----------------------------	----

2.8.2. Slurry samples	46
-----------------------------	----

2.8.3. Liquid samples	46
-----------------------------	----

2.9. ETV-AAS and other systems	47
--------------------------------------	----

3. Laser ablation	47
--------------------------------	----

3.1. Principle of laser ablation	47
--	----

3.2. Fractionation	48
--------------------------	----

3.3. Vaporization of plant materials	49
--	----

3.4. Transport of aerosol	49
---------------------------------	----

3.5. Calibration	50
------------------------	----

3.6. Precision of measurements	51
--------------------------------------	----

3.7. Applications	52
-------------------------	----

3.8. LIBS	55
-----------------	----

4. Conclusions	55
-----------------------------	----

References	55
-------------------------	----

<u>2^{ème} PARTIE</u> : Etudes théoriques et expérimentales du fonctionnement dans une unité de vaporisation électrothermique. Optimisation des conditions de la formation de l'aérosol et de son transport vers un spectromètre ICP	63
---	----

Résumé	65
---------------------	----

1. Introduction	66
------------------------------	----

2. Théorie	68
-------------------------	----

2.1. Nucléation et condensation	68
---------------------------------------	----

2.2. Coagulation et diffusion des particules dans le tube de transfert	69
--	----

2.3. Thermophorèse	72
3. Résultats de la simulation numérique	72
3.1. Coagulation dans le four graphite	72
3.2. Coagulation et thermophorèse simultanée dans le tube de transport	73
4. Partie Expérimentale	74
4.1. Instrumentation	74
4.2. Réactifs	78
5. Résultats expérimentaux et discussion	78
5.1. Etude des débits d'argon	78
5.2. Etude du débit de Fréon	79
5.3. Etude de la présence d'eau	80
6. Conclusions	83
Références	85

3^{ème} PARTIE : Développements et applications de la vaporisation électrothermique couplée à la spectrométrie d'émission atomique ICP pour l'analyse élémentaire directe dans les végétaux	89
--	-----------

Détermination des éléments en trace dans les végétaux par couplage vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission par plasma inductif à haute fréquence	91
--	----

Résumé	91
---------------------	-----------

Article: Détermination des éléments en trace dans les végétaux par couplage vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission par plasma inductif à haute fréquence	93
--	----

1. Introduction	93
2. Matériels et Méthodes	94
2.1. Appareillages	94
2.2. Echantillons et Réactifs	95
3. Résultats et Discussion	95
3.1. Etape de pyrolyse	95
3.2. Etape de vaporisation	98
3.3. Effets de matrice	98
3.4. Etalonnage et matériaux de référence	99
3.5. Limites de détection	101
4. Conclusions	103
Remerciements	103
Références	103

Détermination directe des éléments majeurs dans les échantillons végétaux par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif	105
--	-----

Résumé	105
---------------------	------------

Article: direct determination of major elements in solid plant materials by electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry	107
---	-----

1. Introduction	107
2. Experimental	108
2.1. Apparatus and conditions	108

2.2. Reagents and samples	108
2.3. Measurements	109
3. Results and discussion	109
3.1. Vaporization temperatures	109
3.2. Argon gas flow rates	109
3.3. Analyze of certified reference materials	110
3.4. Detection limits	111
4. Conclusions	112
Acknowledgment	112
References	112

Sources de variabilité des mesures pendant l'analyse élémentaire dans les échantillons végétaux par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif	113
---	-----

Résumé	113
---------------------	------------

Sources of variability in application of electrothermal vaporization-inductively coupled plasma for plant samples analysis	115
1. Introduction	116
2. Experimental	117
2.1. Apparatus and conditions	117
2.2. Reagents and samples	118
2.3. Measurements	118
3. Results and discussion	119
3.1. Sampling study	119
3.2. Element distribution	120
4. Conclusions	121
References	121

Effets de matrice pendant l'analyse directe des végétaux solides par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif	127
--	-----

Résumé	127
---------------------	------------

Matrix effects during direct plant samples analysis by solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry	129
1. Introduction	130
2. Experimental	131
2.1. Apparatus and conditions	131
2.2. Reagents and samples	132
2.3. Measurements	133
3. Results and discussion	133
3.1. Determination of trace elements	133
3.2. Determination of major elements	135
4. Conclusions	136
References	137

Application de l'analyse directe des échantillons végétaux solides par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif : détermination de Cd et Si dans des buts environnementaux	145
---	-----

Résumé	145
---------------------	------------

Article: Application of direct solid analysis of plant samples by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: determination of Cd and Si for environmental purposes	147
---	-----

1. Introduction	147
------------------------------	------------

2. Experimental	148
------------------------------	------------

2.1. Apparatus and conditions	148
-------------------------------------	-----

2.2. Reagents and samples	149
---------------------------------	-----

2.3. Measurements	149
-------------------------	-----

3. Results and discussion	149
--	------------

3.1. Quantification of Cd	149
---------------------------------	-----

3.2. Quantification of Si	151
---------------------------------	-----

4. Conclusions	151
-----------------------------	------------

Acknowledgment	152
-----------------------------	------------

References	152
-------------------------	------------

Détermination directe du phosphore dans des échantillons végétaux solides par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif	155
---	-----

Résumé	155
---------------------	------------

Article: Direct phosphorus determination on solid plant samples by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry	157
---	-----

1. Introduction	157
------------------------------	------------

2. Experimental	157
------------------------------	------------

2.1. Apparatus and conditions	157
-------------------------------------	-----

2.2. Reagents and samples	158
---------------------------------	-----

2.3. Measurements	158
-------------------------	-----

3. Results and discussion	158
--	------------

3.1. Vaporization of P	158
------------------------------	-----

3.2. Matrix effects	159
---------------------------	-----

3.3. Quantification of P	159
--------------------------------	-----

3.4. Detection limit	160
----------------------------	-----

4. Conclusions	160
-----------------------------	------------

Acknowledgments	160
------------------------------	------------

References	160
-------------------------	------------

Cartographie des éléments minéraux dans des feuilles de tabac par couplage vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif	161
--	-----

Résumé	161
---------------------	------------

Imaging of elements in leaves of tobacco by solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (SS-ETV-ICP-AES)	163
---	-----

1. Introduction	164
2. Experimental	166
2.1. Apparatus and conditions	166
2.2. Reagents	167
2.3. Plant samples	168
3. Results and discussion	169
3.1. Cd, Pb and Zn distributions in the leaves	169
3.2. Mg, P and S distributions in the leaves	170
4. Conclusions	171
References	171
 <u>CONCLUSIONS et PERSPECTIVES</u>	177
Fonctionnement de l'ETV et génération de l'aérosol	178
Analyse de poudres végétales	179
Analyse d'échantillons entiers, cartographie et autres applications	180
 <u>ANNEXES</u>	183
Curriculum Vitae	185
Livret d'expériences et de compétences	187
Bibliographie	193
 <u>RÉSUMÉ</u>	200

AVANT PROPOS

Je travaille comme ingénieur à l'INRA de Bordeaux, plus précisément dans l'Unité de Service et de Recherches en Analyses Végétales et Environnementale (USRAVE, US 1118). Je suis spécialisé dans le domaine de la chimie analytique appliquée à l'environnement et aux végétaux. Depuis plus de vingt ans, je mène des programmes de recherches sur cette thématique. Mon but est d'offrir aux chercheurs de l'INRA les meilleures prestations possibles pour l'analyse des végétaux. Une partie de ces prestations correspond à des analyses validées et économiquement viables, adaptées aux grandes séries de mesures et réalisées dans des conditions d'assurance qualité maximale (traçabilité, suivi métrologique). L'autre partie correspond à des prestations de très haute valeur ajoutée, qui se justifient par des considérations plus scientifiques comme la compréhension de la dynamique des éléments polluants dans les écosystèmes. Les chercheurs ont ainsi le privilège de bénéficier d'une confection analytique « sur mesure » dans le cadre de leurs recherches.

Mes travaux ont porté, en particulier, sur l'utilisation de systèmes non conventionnels d'introduction d'échantillon dans les plasmas pour l'analyse des métaux et métalloïdes par spectrométries ICP-AES et ICP-MS et en relation avec l'analyse environnementale. Parmi ces systèmes, je peux citer la nébulisation ultrasonique, la génération d'hydrure ou la chromatographie. Le lecteur trouvera, dans les annexes, mon *curriculum vitae* décrivant plus précisément mes activités de recherche sur ces thématiques, ainsi qu'une liste de des articles scientifiques que j'ai publiés dans des revues internationales à comité de lecture et de mes communications dans les congrès.

Depuis dix années, je mène également des recherches concernant l'analyse directe des solides par couplage entre la vaporisation électrothermique et la spectrométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ETV-ICP-AES). Les avancées que j'ai pu obtenir sur cette technique représentent un ensemble à la fois diversifié et cohérent. C'est pourquoi, j'ai souhaité pouvoir valoriser tous mes résultats par un mémoire de doctorat selon la procédure de Validation des Acquis par l'Expérience (VAE).

L'Université de Pau et des Pays l'Adour (UPPA), qui possède la chimie analytique dans ses spécialités, m'a paru tout indiquée pour réaliser ce projet. Dans ce cadre, j'ai contacté Olivier DONARD, Directeur de l'IPREM, dont la réputation internationale en

matière de chimie analytique n'est plus à démontrer. Olivier DONARD m'a confirmé que « la matière » dont je disposais est largement suffisante pour pouvoir présenter un doctorat. Il m'a aussi précisé que, dans le même temps, la procédure administrative de la VAE pour ce diplôme était en train d'être mis en place à l'UPPA. J'ai donc sollicité une inscription en doctorat, selon le cadre de la VAE, auprès du Président de l'Université. Son acceptation a alors lancé la procédure. Le résultat aboutit aujourd'hui, et cumule trois innovations :

- Premier doctorat par VAE pour l'Université de Pau et des Pays de l'Adour.
- Premier doctorat par VAE pour l'INRA.
- Premier doctorat pour l'USRAVE.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les végétaux constituent un composant important des écosystèmes. Ils représentent 99% de la biomasse terrestre et ils se situent à l'interface des milieux biotique et abiotique. Ce sont des organismes autotrophes. Ils produisent leur propre matière organique à partir des sels minéraux puisés dans le sol et du dioxyde de carbone, assimilé par les feuilles grâce à l'énergie solaire (photosynthèse). Les éléments minéraux absorbés par les végétaux peuvent être classifiés en plusieurs groupes selon leurs fonctions : les éléments indispensables et les éléments non-essentiels.

Les éléments indispensables sont ceux qui ne peuvent pas être substitués par d'autres dans leurs rôles biochimiques spécifiques et qui ont donc une influence directe sur l'organisme et sur sa croissance (1-2). Parmi ceux-ci, on trouve les éléments majeurs (concentrations supérieures à 0.1 mg g^{-1}) tels que C, H, O, N, S, K, Ca, Mg, P, B et Cl mais aussi quelques éléments en trace (concentrations inférieures à 0.1 mg g^{-1}) qui sont souvent des métaux de transition (Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn). Ces éléments en trace sont connus soit comme constituants spécifiques de systèmes enzymatiques, soit comme activateurs d'enzymes et catalyseurs des transferts d'électrons (3). De ce fait, ils sont impliqués dans des cycles métaboliques clés tel que la respiration, la photosynthèse, la fixation et l'assimilation de plusieurs nutriments majeurs. Une déficience de ces éléments peut entraîner une baisse de rendement des cultures mais une quantité trop élevée peut aussi exercer une influence nocive sur le métabolisme des végétaux (4). Il n'est pas facile de faire une division claire entre des quantités suffisantes ou excessives d'éléments en trace. En général, les plantes sont plus résistantes à une augmentation de la concentration qu'à une insuffisance d'un élément donné.

Les éléments non-essentiels n'ont pas un rôle physiologique démontré pour les végétaux. Certains (Al, Co, Na, Se, Si) peuvent être bénéfiques à la croissance ou à la résistance aux stress biotiques ou abiotiques (5). Selon leurs concentrations, ils peuvent aussi devenir toxiques et affecter le développement de la plante. Les principaux symptômes d'une phytotoxicité sont : la réduction de la croissance et de la surface foliaire par diminution de la taille des cellules, décolorations, chloroses (6-7). Si l'exposition est faible, ces symptômes sont peu visibles ou absents alors qu'au niveau cellulaire, plusieurs processus peuvent être affectés (8). Les éléments les plus étudiés dans l'environnement sont As, Hg, Cd et Pb mais il en existe d'autres tels que Bi, Sb ou Tl (9). Cependant, les seuils toxiques sont très

difficiles à établir. Les végétaux inférieurs (mousses, lichens) présentent une grande résistance aux fortes concentrations métalliques. Bien que les végétaux supérieurs soient moins tolérants, ils peuvent aussi accumuler ces éléments dans leurs tissus en fonction de leur exposition, et survivre sur des sols fortement contaminés (10-12). Les concentrations des éléments chimiques dans les végétaux sont, en effet, souvent corrélées positivement avec l'abondance de ces éléments dans les sols, provenant de sources naturelles ou anthropogéniques (Figure 1). Les végétaux montrent donc une grande habilité à s'adapter aux conditions chimiques de l'environnement et sont de bons indicateurs pour mesurer l'état environnemental d'un site donné.

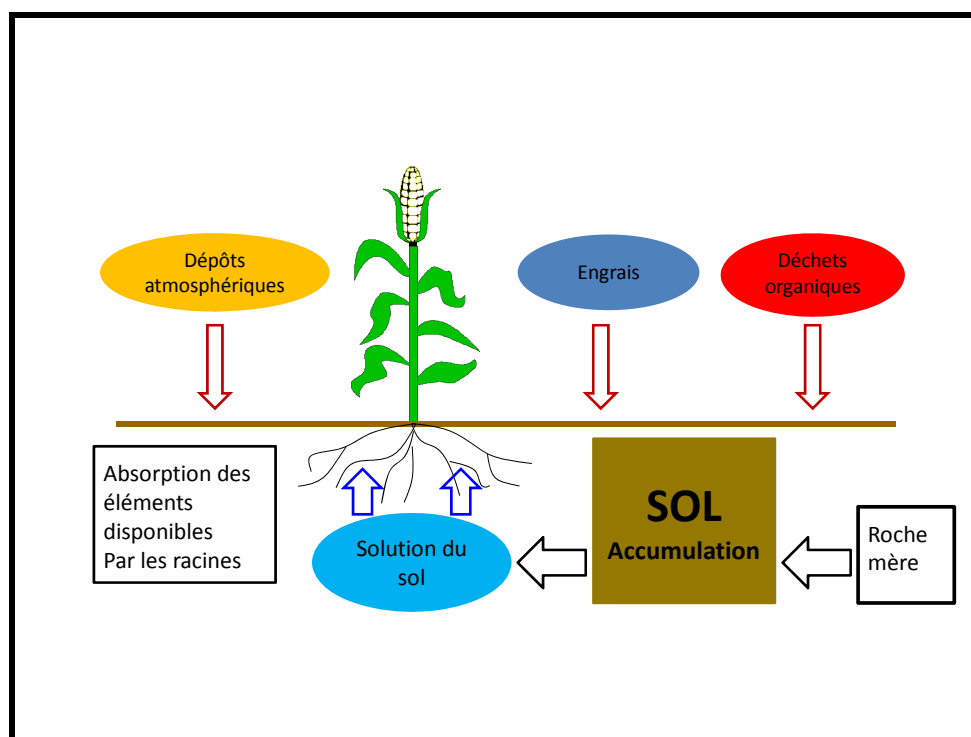


Figure 1 : Dynamique des éléments minéraux dans les écosystèmes terrestres.

L'absorption des éléments par les plantes résultent des paramètres physico-chimiques du sol et des conditions de culture (13). Leurs concentrations dépendent aussi des facteurs physiologiques de la plante elle-même tels que la grandeur du système racinaire (14). De plus, chaque espèce végétale possède des mécanismes biochimiques de défense contre les concentrations élevées de métaux. Par exemple, la production de phytochélatine modifie la spéciation et/ou la compartimentation subcellulaire des métaux. Il en résulte un stockage dans la vacuole (15-17). Les réactions des plantes à une déficience ou à un excès d'éléments sont donc des mécanismes complexes, et qui varient avec l'environnement spécifique. La plante

est en fait le meilleur révélateur de disponibilité pour les végétaux car elle intègre l'effet de tous les facteurs qui la détermine (18). Dans ce but, les réponses des végétaux aux stress chimiques continuent d'être étudiées, et l'analyse végétale représente un indicateur indispensable qui permet d'aborder tous les aspects liés à l'état nutritionnel des plantes ou à l'impact environnemental des éléments minéraux.

Les plantes sont aussi des réservoirs intermédiaires à travers lesquels les éléments provenant du sol passent vers l'homme et les animaux. Certains métaux peuvent devenir toxiques et le rôle significatif des végétaux dans la contamination de la chaîne alimentaire est illustré dans de nombreuses publications (3,6). Une meilleure compréhension des principes biogéochimiques qui contrôlent les cycles des éléments est une des clés du management des éléments en trace dans l'environnement et un pré-requis pour diminuer les risques de contamination (19). Là aussi, il est essentiel de déterminer la concentration en éléments dans les végétaux afin de préserver la sécurité sanitaires des consommateurs vis-à-vis du risque de contamination des récoltes.

L'analyse des végétaux commence par le prélèvement sur le terrain et, pour le laboratoire d'analyse, par la réception des échantillons. L'analyse est la plupart du temps réalisée après une mise en solution des échantillons, initialement solides, suivie par la détermination des concentrations élémentaires. La mise en solution est réalisée généralement par attaque acide et/ou oxydante avec des réactifs tels que HNO_3 , HF , HClO_4 ou H_2O_2 . Cette étape est souvent longue et parfois incomplète. Certains composés comme la silice peuvent s'avérer difficile à minéraliser en totalité. Cependant, les erreurs dues aux pertes sont habituellement résolues par plusieurs procédures appropriées (20).

L'échantillon se présente ainsi sous la forme finale d'une solution liquide à cause de son homogénéité, de sa facilité de manipulation et, surtout, pour satisfaire les besoins des systèmes d'introduction de la plupart des techniques spectroscopiques utilisées en routine. Parmi celles-ci, les techniques d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES) et de spectrométrie de masse couplée à un plasma à couplage inductif (ICP-MS) sont les plus communément employées dans les laboratoires (21-25). Leur popularité est due à leurs possibilités multi-élémentaire, leur stabilité, leur rapidité et leur sensibilité (en particulier pour l'ICP-MS).

Cependant, l'amélioration des connaissances en agronomie, dans l'environnement ou en physiologie végétale passe nécessairement par des avancées en matière de chimie analytique. Aujourd'hui, l'analyse végétale ne peut plus se satisfaire d'une détermination totale dans l'ensemble de la plante. L'absorption, le transport et le stockage des ions métalliques à l'intérieur du végétal, et en combinaison avec les biomolécules, restent encore mal expliqués. C'est pour répondre à ces exigences que, par exemple, les analyses de spéciation ont été développées (26-29). Pour la même raison, il est également demandé aux méthodes actuelles la possibilité d'analyser les très petits échantillons (quelques mg) et de localiser ainsi les éléments d'intérêt dans des organes spécifiques afin d'obtenir des données sur l'hétérogénéité des systèmes biologiques (30-32).

Avec les méthodes conventionnelles, le taux de dilution généré par la mise en solution se traduira par de très faibles concentrations pour les éléments en traces présents. Dans ces conditions, le dispositif d'introduction des échantillons dans les spectromètres peut représenter un point critique pour l'obtention de résultats cohérents. Les nébuliseurs pneumatiques sont les plus utilisés en ICP pour la génération d'aérosol à cause de leur simplicité, leur robustesse, leur facilité d'emploi et leur faible coût. Leur principal inconvénient est leur faible efficacité de transport (environ 2%), ce qui ne les rend pas toujours adaptés pour la détermination des éléments les moins concentrés dans les végétaux.

La technique de mesure utilisée doit toujours être choisie en considération de l'objectif final et l'obtention de résultats justes et précis. Les spécifications de plus en plus élevées pour l'analyse végétale en termes de sensibilité et de complexité conduisent donc les analystes à concevoir et à utiliser des outils et des procédés nouveaux, adaptés à ces demandes. Pour cette raison, l'analyse directe des solides apparaît de plus en plus comme un outil de choix pour la détermination des éléments dans les échantillons végétaux. Cet attractivité se justifie par le fait que les techniques d'analyse directe peuvent offrir des avantages considérables en termes de vitesse et de sensibilité et s'affranchir des étapes de préparation longues, potentiellement contaminantes et utilisant des réactifs dangereux pour l'analyste et l'environnement (approche de chimie verte).

Les techniques dédiées à l'analyse directe des matériaux biologiques à l'état solide sont la spectroscopie sur plasma induit par laser ou LIBS (33-35), les spectrométries d'absorption et de fluorescence des rayons X (XAS, XRF, PIXE) (36-40), la spectrométrie à

décharge lumineuse ou GDS (41-42) ou encore la spectrométrie de masse à ionisation secondaire ou SIMS (43-44). Chacune de ces méthodes est performante dans un domaine donné mais présente aussi des limitations (sensibilité, étapes de préparation...). Ces techniques sont soit peu sensibles pour la détermination quantitative des éléments en trace (LIBS, XRF), soit peu adaptées à l'analyse de matrices organiques (GDS) soit peu précise (SIMS). Deux techniques échappent cependant à ces inconvénients : la vaporisation électrothermique (ETV) et l'ablation laser (LA), deux approches différentes qui peuvent, dans des cas particuliers, améliorer considérablement la détermination des éléments en traces dans les végétaux.

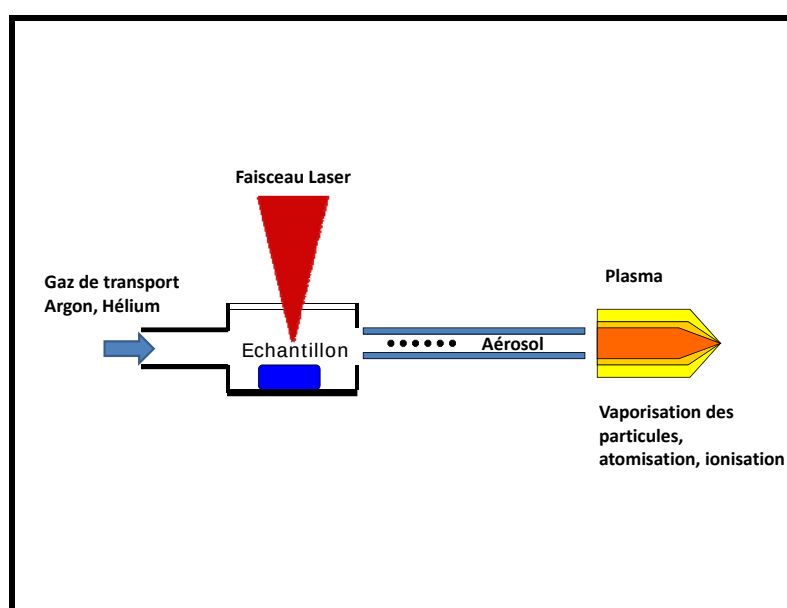


Figure 2 : Principe de fonctionnement de l'ablation laser couplé à un spectromètre ICP.

L'ablation laser utilise un faisceau laser comme échantillonneur (Figure 2). Ce faisceau est focalisé à la surface de l'échantillon. La première phase est l'absorption du rayonnement par le solide durant laquelle l'énergie est convertie en chaleur. Si celle-ci est suffisante, elle provoque la fusion et l'évaporation du matériau. Un micro-plasma se crée à la surface de l'échantillon. Cela conduit à l'explosion du matériau et à la formation d'un aérosol. Cet aérosol est transporté par un gaz vecteur (argon ou hélium) dans un simple tube vers un spectromètre ICP-MS (ou ICP-AES) où il sera atomisé et ionisé par le plasma. Les ions créés sont ensuite introduits dans le spectromètre de masse où ils sont sélectionnés et détectés en fonction de leur rapport m/z . Étant donné la faible quantité de matière ablatée, l'utilisation d'un détecteur très sensible (ICP-MS) est obligatoire. L'utilisation d'un faisceau laser comme

procédé d'échantillonnage permet d'accéder à des informations spécifiques grâce à la possibilité de focaliser le faisceau avec une grande résolution spatiale (45-46). L'ablation laser a connu un vif succès depuis les années 1980s et a permis le développement d'applications originales basées sur le micro-échantillonnage (47-48). En particulier, l'ablation laser permet de réaliser des analyses microscopiques (dans le domaine 5-200 μm) en surface pour cartographier la composition élémentaire d'un échantillon.

La vaporisation électrothermique permet, elle aussi, de créer un aérosol directement analysable par un spectromètre ICP-AES ou ICP-MS à partir d'un échantillon solide. Le principe consiste à déposer l'échantillon solide dans une nacelle en graphite qui est ensuite introduite dans un four en graphite chauffé électriquement jusqu'à une limite de 3000°C (Figure 3).

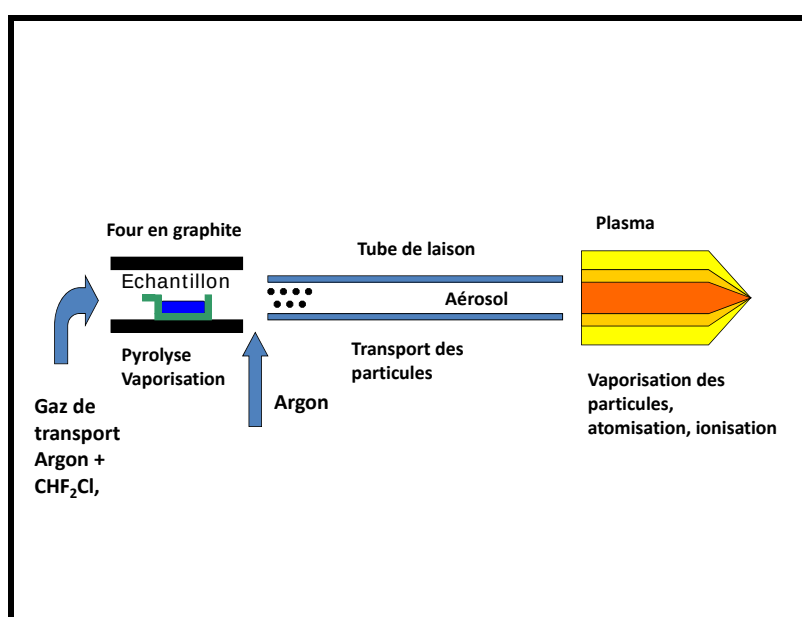


Figure 3 : Principe de fonctionnement de l'ETV couplé à un spectromètre ICP.

Le programme de chauffage comprend généralement trois étapes : la pyrolyse de l'échantillon pour éliminer le maximum de constituants de la matrice, la vaporisation des éléments et un nettoyage des nacelles à haute température pour éviter les effets mémoires. Pendant ce cycle thermique, un flux d'argon transfère l'aérosol formé vers la sortie du four. Un modificateur chimique ou un gaz de réaction (Fréon) peut également être introduit afin d'augmenter l'efficacité de la vaporisation (49-50). Une seconde arrivée d'argon située à la sortie du four refroidit l'aérosol formé. L'unité est interfacée au spectromètre via un tube de

Téflon. La quantité d'échantillon analysé se situe habituellement entre 1 et 10 mg. Contrairement à l'ablation laser, les quantités d'éléments vaporisées sont généralement suffisantes pour être détectées par ICP-AES. Un des avantages de l'ETV pour les échantillons organiques est qu'elle peut permettre l'élimination de la plus grande partie de la matrice par pyrolyse avant la vaporisation et ce système apparaît donc bien approprié pour l'analyse d'échantillons contenant beaucoup de matières organiques comme les végétaux (51-52).

Ces deux combinaisons rendent donc possible l'analyse multi élémentaire dans des matrices difficiles (53-56). La plupart des matériaux, mêmes les plus réfractaires peuvent être transformés en aérosol et analysés (57-58). Un autre avantage de ces deux systèmes est que la vaporisation de l'échantillon est séparée dans l'espace et dans le temps des processus d'atomisation et d'ionisation permettant une optimisation séparée de l'unité de vaporisation et de l'ICP. Malheureusement, l'analyse directe sur solide par ETV ou LA possède aussi un certain nombre d'inconvénients qui ne leurs permettent pas une utilisation plus généralisée.

Les deux techniques sont, en effet, souvent confrontées à un biais de quantification (59). En ablation laser, les causes peuvent provenir de l'évaporation préférentielle des éléments volatils dans le gaz vecteur et d'une modification des rapports élémentaire durant la formation de l'aérosol (60-62), d'une modification des rapports isotopique (63-64), ou de l'efficacité de transport des éléments mesurés (65-67). Ces phénomènes, appelés fractionnement, conduisent à la formation d'un aérosol qui n'est pas représentatif des concentrations réelles de l'échantillon. Avec l'ETV, la vaporisation de l'échantillon et la génération de l'aérosol sont aussi les paramètres qui influencent le plus la qualité de l'analyse. Le rendement du transport des éléments vers le plasma dépend aussi de la présence de particules étrangères sur lesquelles les éléments vaporisés viennent se condenser (68). Enfin, le débit du gaz vecteur influence la taille des particules solides qui sont entraînées vers la torche ainsi que les interactions aérosol-plasma (69). En effet, la quantité de solide qui parvient jusqu'au plasma peut charger celui-ci considérablement. S'il n'est pas assez robuste, la vaporisation de l'aérosol fait chuter sa température et par conséquent son efficacité à atomiser les particules générant ainsi une perte de signal pour les éléments, le plasma ne disposant plus d'assez d'énergie pour les ioniser et les exciter (70-72). Le signal analytique dépend aussi de la distribution granulométrique de l'aérosol car les particules les plus volumineuses peuvent survivre au passage à travers le plasma (73).

Idéalement, l'efficacité de la vaporisation et du transport ne doit pas être dépendante de l'élément ou de la matrice analysée. Quoiqu'il en soit, les performances semblent fortement dépendantes des caractéristiques physico-chimiques de l'échantillon, de sa vaporisation et de l'efficacité de formation et de transport de l'aérosol. Ces conditions déterminent à la fois la sensibilité analytique, la linéarité de l'étalonnage et la susceptibilité aux effets de matrices. Les effets de matrices (74-76) sont, en effet, également cités parmi les inconvénients ainsi que les incertitudes de mesure (77-78) souvent plus élevées qu'en analyse liquide qui prend en compte une plus grande quantité d'échantillon (donc plus représentative). Cependant, ces deux systèmes d'introduction des échantillons ont connu des développements importants depuis leur apparition respective (79-80) grâce à des études fondamentales concernant les interactions laser-matière (81-82) et la génération et le transport de l'aérosol pour l'ablation laser (83-88), le traitement thermique de l'échantillon (89-90) et le transport de l'aérosol pour l'ETV (91-94).

En ablation, de nombreux progrès ont été constatés sur la qualité de l'analyse en termes de sensibilité, justesse et reproductibilité grâce à l'évolution de l'impulsion laser du régime nanoseconde au femtoseconde (95-98). L'ablation laser nanosecondes produit des effets thermiques dommageables pour le matériau et qui se répercutent sur la génération de l'aérosol et la qualité de l'analyse. Dans le cas d'une impulsion femtoseconde, l'énergie est délivrée à l'échantillon sur une durée suffisamment courte pour ne causer que des dommages très limités. Aucun phénomène physique ne vient endommager le matériau provoquant la génération d'un aérosol plus fin, et donc une analyse de meilleure qualité. En ETV, l'introduction d'un agent halogéné dans le gaz de transport produit une augmentation de l'efficacité du transport des éléments et donc de la sensibilité analytique de la méthode (99-102). Sous l'action de la température, le Fréon produit des radicaux fluor et chlore qui réagissent rapidement avec les métaux pour former des composés métal-halogènes facilement volatiles, mais aussi des particules carbonées sur lesquelles viennent se condenser les éléments ou les molécules. Il faut noter que l'utilisation d'un ICP-MS dans ces conditions, doit être considérée avec précaution à cause des interférences isobariques potentielles provenant de la présence de carbone et d'halogènes dans le plasma (103).

Plusieurs stratégies d'étalonnage ont aussi été développées pour l'ablation laser (104-115) ou la vaporisation électrothermique (116-121). L'efficacité d'un étalonnage externe à partir d'une gamme classique en solution aqueuse reste discutable. Dès lors que l'échantillon

analysé et l'étalon différent en termes de matrice, le rendement de la vaporisation et l'efficacité du transport des éléments peut être différent, surtout entre un solide et un liquide à cause de leur nature et de leur volume respectif. D'une manière générale, les analystes recherchent l'utilisation d'étalons de composition similaire à l'échantillon étudié. Le biais de quantification étant souvent dépendant de la matrice de l'échantillon, l'étalonnage ne peut s'effectuer sans étalon de même matrice (122). Certains utilisateurs ont adopté les matériaux de référence. D'autres préfèrent un étalonnage externe à partir de solutions aqueuses, la méthode des ajouts dosés ou la dilution isotopique (avec ICP-MS).

Tous les progrès évoqués rendent possible l'analyse quantitative des matériaux biologiques. Les études spécifiques aux végétaux restent cependant assez rares et se ne focalisent que sur l'obtention de données justes sans rechercher nécessairement les meilleures conditions de vaporisation ou de transport (voire synthèse bibliographique du Chapitre 1). Les lasers femtoseconde ont, certes, démontré des améliorations dans l'ablation et la qualité de l'analyse (123) mais n'ont été utilisés qu'une seule fois pour les plantes, et uniquement sous forme de LIBS (124). L'utilisation de gaz Fréon dans les unités ETV a, certes, augmenté le transport des éléments et réduit les effets de matrice. Mais l'analyse des végétaux, qui présentent des matrices complexes en termes de composition, de concentration et de volatilité, constitue encore un défi analytique pour ces deux techniques.

Notre objectif est d'établir les possibilités qu'offre le couplage ETV-ICP-AES pour accomplir la détermination des éléments minéraux dans les échantillons végétaux. Comme cette technique tire partie d'une analyse ciblée à petite échelle, nous avons ensuite utilisé cette propriété pour découvrir des perspectives analytiques intéressantes. Dans cette introduction, la présentation de la technique LA-ICP-MS a été donnée à titre de comparaison, car, nous l'avons vu, les deux techniques possèdent de nombreux points communs.

Cette thèse est structurée en 3 parties distinctes. La première partie est dédiée à l'utilisation de l'ETV et de LA pour l'analyse élémentaire dans les végétaux. Il se présente sous la forme d'une revue. La deuxième partie est ciblée sur le fonctionnement de l'ETV, en particulier sur la compréhension des mécanismes physico-chimiques de formation de l'aérosol dans l'ETV et de son transport vers la torche à plasma qui sont sources d'amélioration des performances du procédé analytique. La troisième partie est consacré à l'utilisation concrète du couplage ETV-ICP-AES, ses possibilités, ses limitations, et aux applications développées

telles que l'analyse quantitative de poudres végétales, d'organes végétaux entiers ou la cartographie élémentaire de feuilles de tabac. Cette thèse répond donc à la volonté de développer de nouvelles applications dans le domaine de l'analyse végétale, en particulier dans le domaine de l'analyse des éléments en traces, essentielle pour les études menées en environnement, en science de l'alimentation et en physiologie végétale.

Bibliographie:

1. F.J.M. Maathuis, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12 (2009) 250
2. R. Hänsch, R.R. Mendel, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12 (2009) 259
3. P.C. Nagajyoti, K.D. Lee, T.V.M. Sreekanth, *Environ. Chem. Lett.*, 8 (2010) 199
4. R.D. Manson, Principles of plant analysis, in Y.P. Kalra (Ed.) Handbook of reference methods for plant analysis, 1998, CRC Press Boca Raton, pp 1-24.
5. E.A.H. Pilon-Smits, C.F. Quinn, W. Tapken, M. Malagoli, M. Schiavon, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12 (2009) 267
6. C.D. Foy, R.L. Chaney, M.C. White, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 29 (1978) 511
7. M. Pal, E. Horvath, T. Janda, G. Szalai, *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 169 (2006) 239
8. F. Van Assche, H. Clijsters, *Plant Cell Environ.*, 13 (1990) 195
9. P. Babula, V. Adam, R. Opatrilova, J. Zehnalek, L. Havel, R. Kizek, *Environ. Chem. Lett.*, 6 (2008) 189
10. Clemens S, M.G. Palmgren, T. Krämer, *Trends Plant Sci.*, 7 (2002) 309
11. S. Saraswat, J.P.N. Rai, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 10 (2011) 327
12. U. Krämer, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 61 (2010) 517
13. M. Mench, *C.R. Acad. Agr. Fr.*, 77 (1991) 87
14. G.L. Mullins, L.E. Sommer, S.A. Barber, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 50 (1986) 1245
15. W.E. Rauser, *Plant Physiol.*, 143 (1995) 1141
16. W.E. Rauser, *Annu. Rev. Biochem.*, 59 (1990) 61
17. F.J. Zhao, J.F. Ma, A.A. Meharg, S.P. McGrath, *New Physiol.*, 181 (2009) 777
18. C. Juste, *Science du sol*, 26 (1988) 103
19. G. DalCorso, A. Manara, A. Furini, An overview of heavy metal challenge in plants: From roots to shoots, *Metallomics* (2013).
20. M. Hoenig, H. Baeten, S. Vanhentenrijk, E. Vassileva, Ph. Quevauviller, *Anal. Chim. Acta*, 358 (1998) 85
21. P. Masson, J.M. Esvan, *Analisis*, 23 (1995) 437
22. P. Masson, T. Dalix, S. Bussière, *Commu. Soil Sci. Plant Anal.*, 41 (2010) 231
23. M. Leiterer, J.W. Einax, C. Löser, A. Vetter, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 359 (1997) 423
24. I. Rodushkin, T. Rith, A. Huhtasaari, *Anal. Chim. Acta*, 378 (1999) 191
25. B. Mededdu, A. Rivoldini, *Atom. Spectrosc.* 17 (1996) 148

26. J. Szpunar, *Anal. Bioanal. Chem.*, 378 (2004) 54
27. R. Lobinski, C. Moulin, R. Ortega, *Biochem.*, 88 (2006) 1591
28. J. Barnett, D. J. Scanlan, C.A. Blindauer, *Anal. Bioanal. Chem.*, 402 (2012) 3311
29. L. Ruzik, *Talanta*, 93 (2012) 18
30. K.J. Waldron, J.C. Rutherford, D. Ford, N.J. Robinson, *Nature*, 460 (2009) 823
31. J. Feldmann, E.M. Krupp, *Anal. Bioanal. Chem.*, 402 (2012) 3261
32. S. Husted, D.P. Persson, K.H. Laursen, T.H. Hansen, P. Pedas, M. Schiller, J.N. Hegelund, J.K. Schjoerring, *J. Anal. Chem. Spectrom.*, 26 (2011) 52
33. D. Santos Jr, L.C. Nunes, G.G.A. de Carvalho, M. da Silva Gomes, P.F. de Souza, F. de Olivera Leme, L.G.C. dos Santos, F.J. Krug, *Spectrochim. Acta B*, 71-72 (2012) 3
34. L.C. Trevizan, D. Santos Jr, R.E. Samad, N.D. Viera Jr, C.S. Nomura, L.D. Nunes, I.A. Rufini, F.J. Krug, *Spectrochim. Acta B*, 63 (2008) 1151
35. L.C. Trevizan, D. Santos Jr, R.E. Samad, N.D. Viera Jr, L.D. Nunes, I.A. Rufini, F.J. Krug, *Spectrochim. Acta B*, 64 (2009) 369
36. P. Berhens, *Trend. Anal. Chem.*, 11 (1992) 218
37. P. Berhens, *Trend. Anal. Chem.*, 11 (1992) 237
38. M. Regvar, K. Vogel-Mikus, *Spectrochim. Acta B*, 63 (2008) 1240
39. E. Margui, I. Queralt, M. Hidalgo, *Trends Anal. Chem.*, 28 (2009) 362
40. E. Lombi, J. Susini, *Plant Soil*, 320 (2009) 1
41. A. Boagaerts, R. Gijbels, *Spectrochim. Acta B*, 53 (1998) 1
42. R. Mason, D. Milton, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proce.*, 91 (1989) 209
43. R.M.A. Heeren, L.A. McDonnell, E. Amstalden, S.L. Luxembourg, A.F.M. Altelaar, S.R. Piersma, *Appl. Surf. Sci.*, 252 (2006) 6827
44. J.S. Becker, H.J. Dietze, *Int. J. Mass Spectrom.*, 197 (2000) 1
45. R.E. Russo, X. Mao, H. Liu, J. Gonzalez, S.S. Mao, Laser ablation in analytical chemistry-a review, *Talanta*, 57 (2002) 425
46. J.S. Becker, *Spectrochim. Acta B*, 57 (2002) 1805
47. G. Ballihaut, F. Claverie, C. Pécheyran, S. Mounicou, R. Grimaud, R. Lobinski, *Anal. Chem.*, 79 (2007) 6874
48. J.S. Becker, M. Zoriy, A. Matush, B. Wu, D. Salber, C. Palm, J.S. Becker, *Mass Spectrom. Rev.*, 29 (2010) 156
49. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 431

50. K. Grünke, H.-J. Stärk, R. Wennrich, H.M. Ortner, J.A.C. Broekaert, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 359 (1997) 465
51. G. Galbacs, T. Kantor, L. Moens, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 53 (1998) 1335
52. G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Microchem. J.*, 54 (1996) 272
53. M. Resano, F. Vanhaecke, M.T.C. de Loos-Vollebergt, *J. Anal. At. Spectrom.*, 23 (2008) 1450
54. M. Aramendia, M. Resano, F. Vanhaecke, *Anal. Chim. Acta*, 648 (2009) 23
55. S. F. Durrant, N.I. Ward, *J. Anal. At. Spectrom.*, 20 (2005) 821
56. D. Günther, S. E. Jackson, H.P. Longerich, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 381
57. P. Barth, J. Hassler, I. Kudrik, V. Kirvan, *Spectrochim. Acta B*, 62 (2007) 924
58. V. Kanicky, V. Otruba, J.M. Mermet, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2002) 575
59. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1523
60. D. Günther, B. Hattendorf, *Trends Anal. Chem.*, 24 (2005) 255
61. D. Figg, M.S. Kahr, *Appl. Spectrom.*, 51 (1997) 1185
62. H.R. Kuhn, D. Günther, *Anal. Chem.*, 75 (2003) 747
63. S.E. Jackson, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18 (2003) 205
64. I. Horn, F. von Blackenburg, *Spectrochim. Acta B*, 62 (2007) 410
65. J. Koch, M. Wälle, R. Dietiker, D. Günther, *Anal. Chem.*, 80 (2008) 915
66. P.M. Outridge, W. Doherty, D.C. Gregoire, *Spectrochim. Acta B*, 52 (1997) 2093
67. R.E. Russo, X.L. Mao, C. Liu, J. Gonzalez, *J. Anal. At. Spectrom.*, 19 (2004) 1084
68. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 43 (1988) 1299
69. T. Kantor, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 58 (2003) 1901
70. G.C.Y. Chan, W. Chan, X. Mao, R.E. Russo, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 221
71. J.A. Horner, G. M. Hieftje, *Spectrochim. Acta B*, 53 (1998) 1235
72. S. Maestre, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1209
73. D.B. Aeschliman, S.J. Bajic, D.P. Baldwin, R.S. Houk, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18 (2003) 1008
74. I. Rodushkin, M.D. Axelsson, D. Malinovsky, D.C. Dexter, *J. Anal. At. Spectrom.*, 17 (2002) 1231

75. M.A. Belarra, C. Crespo, M.P. Martinez-Garbayo, J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta B*, 52 (1997) 1855
76. P. Verrept, G. Galbacs, L. Moens, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 48 (1993) 671
77. M.A. Belarra, M. Resano, F. Vanhaecke, L. Moens, *Trends Anal. Chem.*, 12 (2002) 828
78. M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 489
79. A.L. Gray, *Analyst*, 110 (1985) 551
80. A.M. Gunn, D.L. Millard, G.F. Kirkbright, *Analyst*, 103 (1978) 1066
81. M. Guillon, I. Horn, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18 (2003) 1224
82. Z. Chen, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 1823
83. H.R. Kuhn, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.*, 19 (2004) 1158
84. M. Guillon, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.*, 17 (2002) 831
85. M. Guillon, H.R. Kuhn, D. Günther, *Spectrochim. Acta B*, 58 (2003) 211
86. H.R. Kuhn, M. Guillon, D. Günther, *Anal. Bioanal. Chem.*, 378 (2004) 1069
87. D. Bleiner, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.*, 16 (2001) 449
88. A. Bogaerts, Z. Chen, R. Gijbels, A. Vertes, *Spectrochim. Acta B*, 58 (2003) 1867
89. R.E. Sturgeon, J.W. Lam, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 785
90. U. Schäffer, V. Kirvan, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 482
91. D.C. Grégoire, R. E. Sturgeon, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 773
92. C.M. Sparks, J. Holcombe, T. L. Pinkston, *Spectrochim. Acta B*, 48 (1993) 1607
93. T. Kantor, S. Maestre, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 60 (2005) 1323
94. L. Gras, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 37
95. B. Fernández, F. Claverie, C. Pécheyran, O.F.X. Donard, *Trends Anal. Chem.*, 26 (2007) 951
96. J. Koch, D. Günther, *Anal. Bioanal. Chem.*, 387 (2007) 149
97. O. Samek, V. Margetic, R. Hergenroder, *Anal. Bioanal. Chem.*, 381 (2005) 54
98. R. Hergenröder, O. Samek, V. Hommes, *Mass Spectrom. Rev.*, 25 (2006) 551
99. T. Kantor, S. Güçer, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 763
100. T. Kantor, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 60 (2005) 333
101. J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 555
102. J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 567

103. E. Björn, W. Frech, E. Hoffmann, C. Lüdke, *Spectrochim. Acta B*, 53 (1998) 1765
104. M. Thompson, S. Chenery, L. Brett, *J. Anal. At. Spectrom.*, 4 (1989) 11
105. D. Günther, H. Cousin, B. Magyar, I. Leopold, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 165
106. H. Scholze, E. Hoffmann, C. Lüdke, A. Platalla, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 892
107. D. Hare, C. Austin, P. Doble, *Analyst*, 137 (2012) 1527
108. A. Barats, C. Pécheyran, D. Amouroux S. Dubascoux, L. Chauvaud, O.F.X. Donard, *Anal. Bioanal. Chem.*, 387 (2007) 1131
109. Q. Bian, J. Koch, H. Linder, H. Berndt, R. Hergenröder, K. Niemax, *J. Anal. At. Spectrom.*, 20 (2005) 736
110. V.R. Belloto, N. Miekley, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367 (2000) 635
111. C. Pickhardt, J.S. Becker, H.J. Dietze, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 368 (2000) 173
112. D. Günther, R. Frischknecht, H.J. Müschenborn, C.A. Heinrich, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 359 (1997) 390
113. P. Rodriguez-Gonzalez, J.M. Marchante-Gayon, J.I. Garcia Alonso, A. Sanz-Medel, *Spectrochim. Acta B*, 60 (2005) 151
114. M. Tibi, K.G. Heumann, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18 (2003) 1076
115. C. Pickhardt, A.V. Izmer, M.V. Zoriy, D. Schaumlöffel, J.S. Becker, *Int. J. Mass spectrom.*, 248 (2006) 136
116. F. Vanhaecke, M. Resano, L. Moens, *Anal. Bioanal. Chem.*, 374 (2002) 188
117. F. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens, R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12(1997) 125
118. L. Moens, P. Verrept, S. Boonen, F. Vanhaecke, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 463
119. M. Berglund, D.C. Baxter, *Spectrochim. Acta B*, 47 (1992) E1567
120. R.W. Fonseca, N.J. Miller-Ihli, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 1591
121. O. Mestek, I. Tresl, R. Koplik, H. Pavelkova, M. Suchanek, B. Vanas, *Talanta*, 55 (2001) 595
122. R.E. Russo, X.L. Mao, O. Borissov, *Trends Anal. Chem.*, 17 (1998) 461
123. F. Claverie, 2007, Développement et applications d'un système laser femtoseconde infra-rouge basse énergie et haute cadence de tir pour l'analyse d'éléments trace dans les solides par couplage ablation laser/ICPMS, Thèse, Université de Pau et des Pays de l'Adour, France.
124. O. Samek, J. Lambert, R. Hergenröder, M. Liska, J. Kaiser, K. Novotny, S. Kukhlevsky, *Laser Phys. Lett.*, 31 (2006) 21

1^{ère} Partie

Avancées récentes dans l'analyse élémentaire directe dans les végétaux par vaporisation électrothermique et ablation laser couplées aux techniques ICPs

Ce chapitre est une introduction à la présentation de la vaporisation électrothermique (ETV) pour l'analyse multi-élémentaire dans les végétaux. Il se présente sous la forme d'un article de synthèse. Cet article couvre également l'analyse multi-élémentaire dans les plantes en utilisant l'ablation laser (LA) couplée à la technique ICP-MS, cela à titre de comparaison. Ces deux systèmes d'introduction possèdent, en effet, de nombreux points communs. Ils ne nécessitent qu'une préparation d'échantillon minimale, possèdent une grande vitesse d'opération, utilisent une faible quantité de matière et offrent un coût raisonnable de l'analyse. Ils sont confrontés aux mêmes types de problèmes en analyse quantitative tels que l'étalonnage ou les effets de matrice (fractionnement en ablation laser).

Les deux systèmes ont été développés pendant les trente dernières années pour l'analyse directe des solides et ont montrés un grand potentiel analytique pour une large variété d'échantillons comprenant les sols, les sédiments, les céramiques, les polymères et les matériaux biologiques. L'analyse directe des végétaux reste, cependant, peu étudiée et peu utilisée bien que les techniques ETV et LA montrent de grandes possibilités pour des analyses agronomiques et environnementales.

Une recherche bibliographique a donc été réalisée sur ce sujet. La synthèse est présentée ici. Elle reprend les principales limitations des deux systèmes, à savoir les problèmes liés à la vaporisation des matrices organiques et des éléments, à l'étalonnage, aux effets de matrices et à la précision des mesures. Plusieurs développements récents sont également présentés pour montrer comment ces deux techniques peuvent jouer un rôle significatif en science des plantes. Chacun des systèmes possède ses avantages et ses inconvénients, et le choix de l'outil doit être déterminé par la nature de l'application.

Recent trends in plant sample analysis: direct solid sampling with electrothermal vaporization and laser ablation coupled with ICP techniques

Abstract

This review covers the recent developments in multi-elemental analysis of plant samples using electrothermal vaporization (ETV) and laser ablation (LA) coupled with inductively coupled plasma (ICP) techniques. These two introduction systems were developed during the last three decades for direct solid sampling and have showed great potential for elemental determination in a wide variety of samples including soil, sediment, ceramic, polymer and biological materials. In fact, direct solid analysis has numerous advantages such as minimum sample preparation, speed of operation, small size sample requirement and reasonable cost. Although direct plant samples analysis remains seldom investigated, ETV and LA show great promise for agronomic and environmental purposes. The topics discussed here include vaporization of the organic matrix and analytes, calibration, matrix effects and precision of measurements. Numerous relevant applications are presented in order to demonstrate how the analytical developments have played a significant role in plant science. Each system has its own advantages and disadvantages and selection is determined by the nature of the application.

Keywords: Electrothermal vaporization, Laser ablation, Inductively coupled plasma, plant samples.

1. Introduction

Plants are complex organisms that take up and store a wide range of elements, which depend on the environment where they are growing. Seventeen elements are known to be essential for plant growth [1]. Those required in large amounts (> 100 mg/kg of dry mass) are called macronutrients and include C, H, O, N, S, P, Ca, K, Mg and Cl. Those required in much smaller amounts (< 100 mg/kg of dry mass) are called micronutrients and include Ni, Mo, Cu, Zn, Mn, B and Fe. The mineral composition plays a key role in all biochemical functions. The determination of these nutrients in plant is then of key importance in the agronomic field to evaluate the nutritional status of crops. Others metals (Cd, Hg, Pb) are potentially toxic but are generally present at trace levels in plants and soils [2]. However, because plants are the first level of the food chain, the accumulation of these metals by plants must be evaluated, especially in contaminated areas, to monitor environmental pollutions. For these reasons, there is an increasing need for suitable analytical tools to determine the chemical composition of plant materials.

However, elemental determination in plant samples is one of the most difficult areas of analytical chemistry. Matrices can be very complexes and analytes of interest may be present only at trace levels. Most often, elements are determined in the bulk of plant material after acid digestion of the organic matrix [3-4]. Next, elemental analysis of solutions is carried out with spectroscopic techniques including inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES), inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and atomic absorption spectroscopy (AAS). This approach involves a time-consuming step using hazardous reagents and ignores the speciation of elements or their localization.

Today, the biological importance or the environmental relevance of elements in plants is studied in conjunction with the biomolecules involved in ion homeostasis, translocation and long-term storage [5]. The transport of the metal ions within a plant is still not clear and toxic elements can be stored in various organs (roots, stems, leaves, flowers, seeds...) at different concentrations. It is necessary to obtain knowledge about heterogeneity of biological systems. The main difficulty in studying these biochemical processes is the possibility to detect heavy metal ions in the given location within a plant. However, this increasing interest for element localization in plant tissues remains a challenging task in analytical chemistry. For this particular purpose, the direct analysis of samples in the solid state must be used.

The environmental analysis sector is widely focused on ICP-AES and ICP-MS instrumentation because of their multi-element capabilities. Therefore, the development of sample introduction systems has been one of the more studied fields in the recent years on these spectrometers. Coupling on-line solid sampling techniques permits to obtain a variety of micro-sample processing approaches. Among them, electrothermal vaporization (ETV) and laser ablation (LA) are becoming attractive alternatives to the conventional nebulization systems. ETV and LA coupled with ICP techniques provide, in fact, the desired features for direct solid sampling, including multi-element capability, speed and simple sample preparation. By directly analyzing solid samples, sample dissolution and dilution could be avoided, thereby reducing the risks of sample contamination. ETV and LA have been discussed by Kantor [6] in an extensive review on flame and plasma spectroscopy and focused on the characteristics of the techniques. Other general review articles have been published on ETV [7-11] and LA [12-14] in recent years.

The ETV technique is particularly well adapted for samples with high organic matter content such as plants. The matrix can be removed to a large extent during a pyrolysis step and elements are then efficiently vaporized prior to measurement. Samples may be introduced in the form of solids, slurries or liquids. However, the use of ETV suffered from significant drawbacks. Matrix effects due to the presence of matrix constituents, potentially erratic volatilization of analytes, representativeness problems due to sample size and difficulties with the calibration mode are the most cited in the literature [15].

LA is becoming a very efficient technique to access the qualitative or quantitative composition of any solid sample. LA uses a focused laser beam for evaporation of solid sample; the ablated material is transported into the ICP using a carrier gas (Ar or He). Mass spectrometry provides multi-element and isotope analyse with high sensitivity. Because the amount of ablated material is very small, ICP-MS instrument is used preferentially than ICP-AES instrument, less sensitive. However, the main drawback of LA-ICP-MS is the occurrence of non-stoichiometric effects in the transient signals, called fractionation, which involve aerosol formation, aerosol transport, atomization and ionization in the ICP plasma [13]. There is also a lack concerning calibration methods. In the same way as other solid sampling analysis techniques, LA provides challenges with respect to calibration.

The two introduction devices have showed great possibilities for elemental determination in various types of solid samples including food, pharmaceutical, soil, geochemical, sediment, ceramic, polymer, alloys and biological materials [9,12]. Their potential has also recently received particular attention from the plant science community. ETV and LA are, in fact, suitable analytical tools to rapidly locate and quantify elemental distributions in plant tissues. They are then more and more attractive to understand plant metabolism.

This review concerns the state of the art of elemental analysis in plant samples using LA and ETV coupled with ICP techniques. It covers progress over the last two decade and highlights advantages and limitations of each system configuration, focusing on calibration, fractionation and applications. Recent developments and challenging applications are presented to illustrate the features and trends of these two sample introduction techniques.

2. Electrothermal vaporization

2.1. Principle of ETV

The ETV units are usually constituted of a graphite-tube furnace, power supply, gas supply and water cooler. The samples are generally loaded in sample boats that can easily be inserted in the furnace. The ETV furnace can provide easily controllable temperatures from room temperature up to about 3000°C as well as relatively long reaction times. The temperature program consists in drying and pyrolysis of the sample, followed by evaporation of elements and cleaning the furnace after each sample. During the temperature program, an argon gas flow rate originating from one end of the graphite tube removes all vapors. In several systems, a coolant gas flow, named bypass gas, is added at the furnace exit. This rapid cooling process induces a better transportable aerosol. ETV is connected to ICP by a transfer tube made out of glass or plastic material. After vaporization, the analytes are transferred by an argon flow into the plasma. Fig. 1 illustrates schematically the components of an ETV system for sample introduction into an ICP spectrometer.

The first graphite furnace ETV-ICP-AES instrument was introduced in 1978 [16]. Among the commercially available ETV units, the most frequently used was the Perkin-Elmer HGA 600 MS [17], but its production has been discontinued. Today, only the device manufactured by Spectral Systems (ETV 4000 to ETV 4050) is available [18].

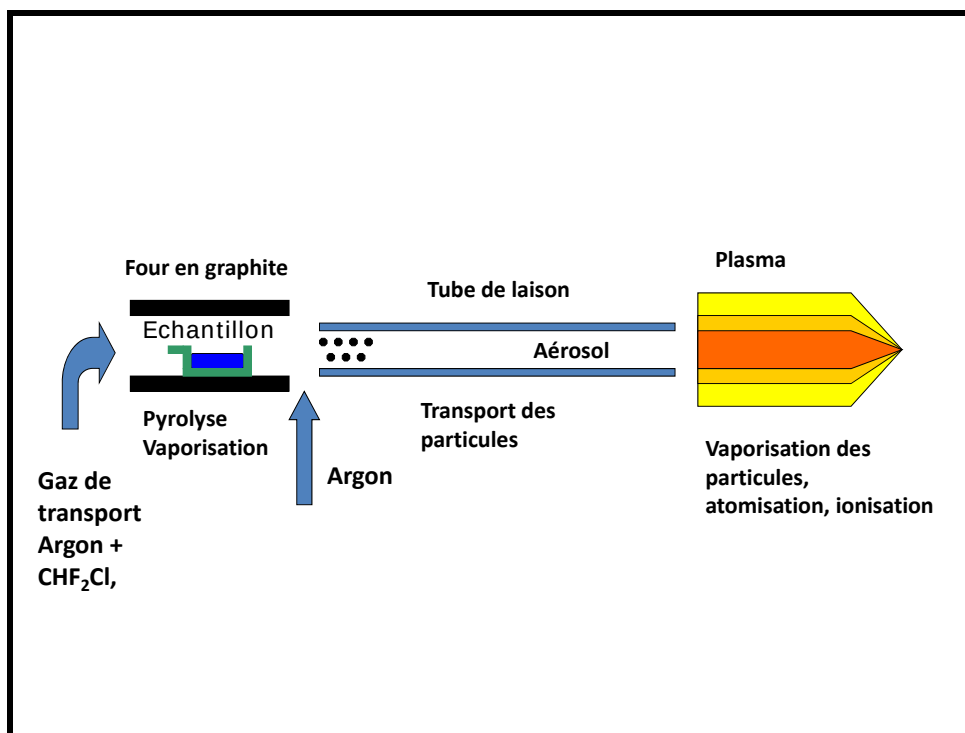


Figure 1: Principle of electrothermal vaporization

Using ICP-AES equipped with a multichannel detector, many elements can be determined simultaneously [19-20]. In the same manner, ICP-MS permits the simultaneous determination of several analytes, but remains limited to about 10 isotopes only [21]. ETV produces a short (around 1 s) transient signal. The shape of the peak from analyte depends on numerous factors including element volatility, chemical form, plasma operating conditions and sample matrix.

2.2. Chemical modification/ treatment of sample

According to Sturgeon and Lam, an ETV system can be considered as a thermochemical reactor for in situ pre-treatment of samples [8]. In fact, ETV offers a wide range of physicochemical transformations of samples and analytes (selective vaporization of matrices, transformation of analytes species to other forms using reagents). For example, the volatilization of refractory elements and elements that form refractory carbides or oxides generates problems and may be incomplete. To enhance their volatility before analysis, the use of chemical modifiers or the use of reaction gas in ETV provides an alterable chemical environment for analytes.

A variety of volatilizing agents has been explored for ETV systems. These are generally compounds which, under thermal action release halogen radicals that form volatile

halides with the analytes [22-24]. At temperatures ranging from 1000 to 2400 °C, fluorine and chlorine combine very strongly with refractory elements. Oxides and carbides are also converted to halide compounds with lower boiling point, and evaporated [25]. The use of halogenations-assisted vaporization is also effective in reducing memory effects [26-28].

Among these halogenating matrix modifiers, NaCl, NaF, NH₄F, Freon and polytetrafluoroethylene (PTFE) were successfully used during plant samples analysis [29-32]. In particular, the use of PTFE powder, added to samples in the slurry form, not only prohibits efficiently the formation of refractory carbides, eliminates memory effects and improves detection limits for the determination of refractory elements by ETV-ICP-AES but also decreases matrix effects and the effects of sample particle size [33]. The addition of Freon as a chemical modifier to the Ar carrier flow is also an attractive method [19]. However, chemical modification has some drawbacks. The modifiers may contain impurities that will induce high blanks and possible contamination of the sample. Furthermore, using ICP-MS, fluoride and chloride may be the cause of strong isobaric interferences. In these conditions, the use of a dynamic reaction cell can be a solution [33]. Another solution can be to use the traditional chemical modifiers of electrothermal AAS such as Mg(NO₃)₂, Pd(NO₃)₂ or (NH₄)₂HPO₄ [34]. It should be noted that a modifier like Pd can serve also to internal standard [35].

2.3. Vaporization of plant materials

The main goal of all ETV methods is to achieve efficient vaporization and transport of the analyte. Concerning plant samples, analytes of interest are generally separated from the bulk matrix before quantitation by a pyrolysis step followed by a vaporization step. From a chemical point of view, most biomass of plant can be regarded as a mixture of cellulose, hemicelluloses, lignin and several minor components [36]. Pyrolysis involves the thermal decomposition of organic materials to volatile gaseous products.

The thermal behaviour of plant samples is a very complex process that consisted of dehydration and of a pronounced exothermic degradation of organic components [36-38]. In the absence of ashing aid, a temperature of about 600°C is necessary to complete decomposition of plant tissues [37]. However, in the case of plant samples, temperature above 500°C must be avoided because of the volatilization of elements such as Cd [38]. Developing an appropriate temperature program for ETV-ICP is then complicated when the goal is multi-

element determination. The pyrolysis temperature will be selected to be the highest possible that does not lead to losses of the most volatile element. Some thermogravimetric investigations on plant samples were specifically dedicated to the optimization of the ETV heating program [19,40-41]. Concerning vaporization of elements, heat, mass transfer and chemical reactions involving metals are the main phenomena controlling the process [42].

Selective vaporization of the matrix during the pyrolysis step is then possible because the volatility of organic matrix and analyte elements is generally different (with the exception of Cd). As the matrix is more volatile than the analyte, the pyrolysis step becomes the most important, and as much matrix as possible must be eliminated [15]. Using ICP-MS, pyrolysis may cause damages such as clogging of orifices of sampling and skimmer cones, deposition on the surface of ion optics and quadrupoles, as well as deterioration of the ion detector [43].

2.4. Transport of aerosol

Alterations in transport efficiencies from ETV to ICP are generally assumed to be the origin of signal fluctuations. To obtain high transport efficiency, the formation of a stable aerosol is required. Kantor [26,44] described three ways in which condensation of analyte vapour can be realized inside the graphite tube prior to its transport into the plasma: (i) self-nucleation of the analyte vapour through a decrease of the vapour pressure; (ii) condensation of the analyte vapour on matrix particles or on carbon particles stemming from the graphite tube; and (iii) chemical condensation after a reaction between the analyte and the matrix in the vapour phase. The use of modifiers to act as carrier agent has also been reported [45]. The condensation of analyte vapours on foreign particles of different origin is then expected to be one of the most important processes in the ETV methods to enhance the transport efficiency. The central and the bypass gas flow rates, introduced in the ETV unit, have also been found to exert considerable influence on the performance of ETV-ICP-AES systems. The two mentioned argon flow rates tended to be interdependent in a complex fashion [46-47]. The carrier gas flow rate is the most important factor influencing the process of aerosol formation and transport because it influences the vapor concentration. A low gas flow rate would lead to a higher vapor concentration in the ETV and the formation of large particles. High gas flow rate would lead to high temperature of aerosol during transport and large deposition of particles in the transfer tube. This behavior is traced to an enhanced temperature gradient between aerosol and tube wall named thermophoretic effect. Losses of analytes in the transfer tube were observed previously [45,48-49]. The data presented by Grégoire and Sturgeon show

an exponential decrease in analyte load with distance from the ETV, with the heaviest deposition occurring nearest to the outlet of the ETV switching valve [45].

Transport efficiency increases according to the by-pass gas flow rate. This gas had a positive effect on the formation of a stable aerosol and its transport efficiency [50]. Higher cooling rates result in a lower thermophoresis and the formation of a large number of small particles. However, the two gas flow rates play also a great role in the efficiency of the ionization process in the plasma. With larger gas flow rates, the residence time of analytes in the plasma will be shorter, decreasing the signal intensity. Therefore, the temperature along the central channel of the plasma will also be strongly dependent on the gas flow rates [51]. These competitive effects resulted in a compromise between the efficiency of formation and transport of dry aerosol containing analytes on the one hand, and the residence time of species in the plasma on the other hand, to obtain the best signal intensities for elements.

2.5. Calibration

In general, in atomic spectrometry, quantitative analysis is carried out by external calibration. However, standardization is often a problem for ETV analysis [52-53]. Ideally, signal response would be independent of the chemical form of the analyte and independent of the matrix. In this way, external calibration could be performed with standard solutions but it is not the general case [42,54]. For most matrices, vaporization, transport of aerosol and interaction with the plasma for the solid sample and the standard solutions are very different. Different calibration strategies have been applied depending on the extent of matrix dependence of the analyte signals.

External calibration with solid reference materials (RMs) as standards yields accurate results on condition that the composition of sample and standards is similar [52]. However, the certified concentrations are accompanied with uncertainties which increase the lack of precision on calibration curves. Furthermore, few certified reference plant samples are available and, according to the elements, they offer a limited concentration range. For these reasons, standard addition with standard solutions is probably a good available method [55-56]. However, this method remains difficult to achieve for multi-element determination.

Along the same idea, the use of synthetic standards prepared within the laboratory with commercially available pure elements and purified cellulose has proven to be an efficient

option to obtain reliable calibration curves for plant sample analysis [20,39]. Cellulose provided a good way to simulate plant matrix. The measured concentrations on RMs were in good agreement with the certified values. The presence of foreign substance, such as organic matrix component, serves to provide nucleation and condensation sites (by heterogeneous nucleation) for analyte atoms and offers a carrier effect for the analytes. This method offers an additional advantage in that easily and rapid action can be achieved.

Isotope dilution as a method of calibration for solid sampling ETV-ICP-MS was investigated by Vanhaecke et al. [57]. The possibilities and limitations of this calibration strategy were evaluated by determining Cd and Se in several solid materials including plant samples. An important advantage of isotope dilution over the other calibration methods is that the use of an elemental internal standard is not required. Other examples are available [58-60]. However, accurate results could not be obtained as at least one of the isotopes involved was subject to spectroscopic interference. Furthermore, this method is only reserved to ICP-MS spectrometers.

2.6. Matrix effects

Using ETV, the presence of matrix effects during analysis is often cited in the literature, especially when dealing with complex matrices such as plant materials. For example, Gras and de Loos reported the behaviour of Al in orchard leaves and problems for its quantitative determination [61]. A decrease of the spectroscopic line intensity was observed by increasing matrix concentrations. This study was carried out on liquid samples but the influence of the sample mass on the analytical signal of analyte is certainly the best way to investigate matrix effects. According to Belarra et al. [62], it was found that the use of too large or too small amount of sample may lead to erroneous results during the direct determination of Fe and Zn in rice. Small sample amounts lead to overestimated results. Large amounts give rise to underestimated results. This study concerns electrothermal AAS but conclusions are valid for ETV-ICP.

It can be expected that the vaporization of the higher masses may result in a greater amount of aerosol reaching the plasma. With organic matrices, carbon is in large excess over the analytes, so its vaporization would consume a considerable fraction of the total energy available in the central channel of the plasma. This process would reduce the excitation temperatures resulting in significant signal suppression. The influence of these matrix effects

can be reduced by removing the organic part of the plant sample matrix as much as possible. Combustion of plant samples in oxygen atmosphere was recently found necessary to limit matrix effects [39,63]. However, dry-ashing of sample prior to analysis is time-consuming.

Moreover, plant samples usually contain high concentrations of elements such as sodium, calcium, potassium. The alkali and alkaline earth metal elements are known to produce a significant suppression effect on the intensity of lines of high excitation energies for the argon ICP source [64-66]. There is still little information available on plasma behavior during ETV sample introduction. It has been observed that the conditions in dry plasmas notably differ from those in wet plasmas [67]. Effect of alkali, alkaline earth and transition metals were also investigated by Zucheng et al. on various elements [32]. Tolerable amount of these elements in slurries was determined to be 5 mg l⁻¹. However, it seems then that the plasma behaviour is not easily modified by the matrix salts when that analysis is carried out under fluorination conditions.

2.7. Precision of measurements

The difficulty to obtain reproducible concentrations is a serious drawback with ETV [15]. Many workers reported RSD values in the range from 2 to 40% with more common values between 10 and 20%. However, the high RSD values usually obtained are not indicative of a deficient working technique. According to Friese et al., the maximum contribution of the ETV method to the RSD is approximately 5% [68]. In these conditions, it seems reasonable to assume that the imprecision obtained in the determination of metals is caused by the lack of homogeneity within the small samples (0.5-3 mg) recommended for analysis. The amount of plant samples introduced in ETV may be too small to be adequately representative of the whole sample. Heterogeneity results from variations in physical characteristics of the sample including particle size, and chemical composition of the various particles constituting the sample. A detailed study on the accuracy and precision of ETV measurements was carried out on various matrices including plant samples [69].

The most obvious solution to the problem would be to increase the size of the sample. However, the dimensions of ETV atomizers available do not allow any substantial increase in the amount of sample vaporized beyond 5 mg. Furthermore, matrix effect occurred when more than a specific mass is used [70]. Problems may also arise due to detector saturation [15]. Another method reported for improving the homogeneity of samples is the reduction of

particle size by crushing. In this way, the effects due to the segregation can be avoided. Belarra et al found that the RSD value obtained on Fe concentration in a rice sample decreased from 41% to less than 20% after reduction of particle size [71]. The effect of particle size is certainly one of the most important factors that play a role on precision of measurement. However, this procedure, based on crushing the material into fine powder, increases the time needed to obtain results and increases the risk of contamination.

2.8. Applications

Table 1 summarizes applications of ETV in the plant analysis area. Samples can be introduced in the ETV systems as solid, liquid or slurry forms.

2.8.1. Solid samples

The determination of environmental pollutants is certainly the first application of ETV for plant analysis. The analyses reported cover a wide range of analytes [19,39,52,58]. Galbacs et al. describe the application of solid sampling ETV-ICP-MS for the direct determination of Cd in three plant samples (olive leaves, aquatic plant and rye grass) [40-41]. The originality of this study is the incorporation of thermogravimetric data for the optimization of furnace heating program. Therefore, several calibration modes were used (solid samples, simplified standard addition, multiple standard additions).

Elemental determinations can also be performed on plant samples for agronomic studies. Total Ca, Mg, Fe, and Mn in plant materials can be easily measured with ETV-ICP-AES. However, these elements are generally present at high concentrations and problems concerning detector saturation occurred [20]. To decrease the analytical signal, ICP-AES must be used in lateral view configuration or with less sensitive analytical wavelengths. This last alternative is not possible for some elements such as K. Volatile element such as P can be efficiently determined without matrix effect by using a moderate vaporization temperature [72]. Nevertheless, other original methods were reported.

The coupled ETV-ICP-AES analytical system was very efficient for the analytical situations in which only a small amount of sample is available. An example is given concerning cadmium determinations in the entire leaves of *arabidopsis thaliana* [39]. In ecotoxicology, the measurement of metal concentrations in whole samples such as young plants is required for a better understanding of the toxicological effects of exposure to metal

Table 1: Applications in plant sample analysis with ETV sample insertion

Sample type	Elements	Methods	Calibration	remarks	Ref.
Solid samples					
Olive leaves, Tomato leaves, Citrus leaves	Cu, As	ICP-AES	multiple forms	Sb as internal standard for As determination.	[54]
Sea lettuce, Wheat flour	As, Se	ICP-MS	standard addition	Sb as internal standard.	[51]
Rye grass	Multiple	ICP-MS	standard solutions	tetrafluoromethane as modifier.	[67]
Rice flour, Apple leaves, Peach leaves	Pb	ICP-MS	standard solutions	alkalin fusion with (NH ₄) ₂ HPO ₄ and (CH ₃) ₄ NOH.	[42]
Orchard leaves, Pine needles, Apple leaves, Peach leaves	Pb	ICP-AES	standard solutions	alkalin fusion with (NH ₄) ₂ HPO ₄ and (CH ₃) ₄ NOH.	[72]
Hay powder	I	ICP-MS	external calibration	Pd as modifier and as internal standard.	[34] [39-40]
Olive leaves, Aquatic plant, Rye grass	Cd	ICP-MS	multiple forms	previous thermogravimetric study of plant samples.	[56]
aquatic plant, Tobacco	Cd	ICP-MS	isotope dilution	measurement of ¹¹⁰ Cd/ ¹¹³ Cd ratio.	[56]
sea lettuce, wheat flour	Se	ICP-MS	isotope dilution	measurement of ⁷⁷ Se/ ⁸² Se ratio	[56]
Rye grass, Sea lettuce, Olive leaves, Maize	Trace elements	ICP-AES	external calibration on cellulose	previous calcination of sample, Freon as modifier.	[18]
Tomato leaves, Pine needles, Rice Flour, Maize	Major elements	ICP-AES	external calibration on cellulose	Freon as modifier.	[19]
Multiple	Si	ICP-AES	external calibration on cellulose	Freon as modifier.	[38]
Tomato leaves, Arabodopsis Thaliana	Cd	ICP-AES	external calibration on cellulose	calcination of sample, Freon as modifier, assurance quality of analyzes	[38]
Multiple	P	ICP-AES	external calibration on cellulose	Freon as modifier.	[71]
Multiple	Ni	ICP-MS	isotope dilution	measurement of ⁵⁸ Ni/ ⁶² Ni ratio or (⁵⁸ Ni + ⁶⁰ Ni)/ ⁶² Ni ratio.	[58]
Slurry samples					
Tomato leaves, various leaves	B	ICP-AES	standard addition	modifier: 6% PTFE	[29]
Tea leaves	Ti, Ni, Pb	ICP-AES	standard solutions	modifier: 6% PTFE	[28]
Rice flour	Multiple	ICP-MS	standard addition/isotope dilution	NH ₃ as reaction gas in the rection cell of ICP-MS, modifier: ascorbic acid	[73]
Tomato leaves, Ganoderma	Multiple	ICP-MS	standard addition	HNO ₃ 2% in slurry preparation	[55]
Peach leaves, Rye grass	B, Mo, Cr, La	ICP-AES	standard solutions	modifier: 6% PTFE	[31]
Peach leaves	Ti, Cu, Mn, Cr, Cd	ICP-AES	standard solutions	modifier: 6% PTFE	[30]
Tomato leaves, tea leaves	Fe, Co, Ni, Cu, Zn	ICP-MS	standard addition/isotopic dilution	HNO ₃ 2% in slurry preparation	[32]
Multiple	Ni	ICP-MS	isotope dilution	measurement of ⁵⁸ Ni/ ⁶² Ni ratio or (⁵⁸ Ni + ⁶⁰ Ni)/ ⁶² Ni ratio.	[58]
White Clover	Se	ICP-MS	isotope dilution	measurement of ⁸⁰ Se/ ⁷⁸ Se ratio	[57]
Liquid samples					
Multiple	Ni	ICP-MS	isotope dilution	measurement of ⁵⁸ Ni/ ⁶² Ni ratio or (⁵⁸ Ni + ⁶⁰ Ni)/ ⁶² Ni ratio.	[58]
Orchard leaves	Multiple	ICP-AES	standard addition		[60]
Multiple	P	ICP-AES	standard solutions	modifiers: La(NO ₃) ₃ ; Pd(NO ₃) ₂	[73]
Electrothermal AAS					
rice	Fe, Zn	ETAAS	external calibration		[61]
rice, cereal	Fe	ETAAS	external calibration		[62]
Wholemeal flour, Wheat flour, Rye grass	Multiple	ETAAS	external calibration	electrostatic deposition of aerosol on a plateform, Pd and K as modifiers.	[80]
White Cabbage	Cd, Ni	ETAAS	external calibration		[81]
Medicinal plants	Cr	ETAAS	external calibration		[82]

in the environment. In this study, the quality control included the systematic analysis of a reference sample and the performance of the method as a function of time was illustrated in time by a control chart. The same article presented a second application aimed at the content of a challenging element (Si) in plant materials. Quantification of Si in plant samples was carried out using samples issued from inter-laboratory test. This is a typical example of the usefulness of ETV when solid sample may be difficult to digest for a particular element determination. Therefore, there are many cases where the solid sample may be difficult to digest for a particular element analysis, where only a very small amount of sample is available, or where spatial information about element distribution may be required.

Another interesting application concerning a challenging element was reported by Resano et al. [34]. The capabilities of ETV-ICP-MS for the direct determination of iodine at trace levels in a plant sample were evaluated. In this study, the importance of the use of pre-reduced Pd as modifier was demonstrated to stabilize the analyte. Matrices could be almost entirely removed during the pyrolysis step while no losses of I occurred, provided that pre-reduced Pd was present. Pd served also as internal standard which improved the precision of measurements. In these conditions, external calibration with aqueous standard solutions was possible.

Friese et al. have developed a method for measurement of the homogeneity of analyte distribution in powdered plant material (certified reference material BCR 281, rye grass) using ETV with ICP-MS detection [71]. It was established that the distribution of metals in the sample is rather heterogeneous. An ETV method using in situ alkaline fusion was reported by Okamoto [41,73]. The solid sample was completely decomposed using diammonium hydrogenophosphate and trimethylammonium hydroxide in a tungsten cuvette superimposed on the tungsten boat furnace. The analyte, retained on the cuvette as phosphate salts, was then vaporized to be introduced into ICP spectrometer. The method was applied to the determination of Pb in various standard reference materials.

For all the applications mentioned above, trace analysis using ETV takes advantage of the absence of sample dilution and the reduced risk of contamination/loss. The solid sampling ETV methods offer also substantial advantage in all the cases in which rapid acquisition of data is more important than a great precision. If the main objective of the analytical procedure is to obtain very precise results, ETV-based methods will not be the most appropriate.

However, the use of ETV methods will be efficient in some specific cases. For example, ETV will be very useful for fast screening test [70] and to detect the presence of a variety of elements in a single run in plant materials such as the presence of environmental contaminations. In theory, by monitoring rigorously the furnace temperature, it could be possible to obtain speciation analysis from the successive vaporization of each analyte chemical form. However, this application was not found for plant analysis yet.

2.8.2. Slurry samples

From all the approaches for solid sampling with ETV, slurry sample injection demonstrated its potential as a promising method for direct solid analysis [29-32,58]. Slurry sampling offers several benefits including reducing sample preparation time, decreasing the possibility of analyte loss before analysis, and enhancing the precision of measurements. However, slurry preparation necessitates preparation steps, which enhance the risk of contamination and constitutes a dilution step. For this last reason, slurry must be reserved to analysis with ICP-MS. With this configuration, some toxic elements were determinate in rice samples [74]. Standard addition and isotope dilution methods were used for calibration. NH_3 was used as reaction gas in the dynamic reaction cell of mass spectrometer during Cr determination.

Another example was given by Yi ching Li et al. [56]. Ultrasonic slurry sampling ETV-ICP-MS was applied to the determination of Ge, As, Se, Cd and Pb in plant samples. Before slurry preparation, samples were ground by a Retsch MM2000 mixer mill and sieve at 100 μm . Several chemical modifiers such as Pd were tested but none was retained. However, nitric acid (2%) was used in slurries.

Finally, Mestek et al. made an interesting comparison between slurry and liquid samples for the determination of Ni by ETV-ICP-MS [59]. Samples were digested to obtain liquid samples but the two approaches lead to comparable results with those of pneumatic nebulisation.

2.8.3. Liquid samples

Two others examples of plant sample analysis in liquid form are reported: the elemental determination of orchard leaves [61], and the determination of phosphorus in plant samples by ETV-ICP-AES [75]. This last method was applied to aqueous solutions because

the plant materials were firstly digested in a mixture of nitric acid and hydrogen peroxide. A serious problem using ETV was encountered concerning the thermal stability of phosphorus compounds. $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ was applied as modifier for the stabilization of phosphates. However, it can be expected that the dilution due to digestion decreases the sensitivity of the method.

2.9. ETV-AAS and other systems

During the 80s, some authors have developed direct insertion devices in plasma for the direct analysis of plant samples as powder [76-78]. However, these systems used were not exactly ETV systems and are not considered here. They are also not commercially available.

Graphite furnace atomic absorption spectrometry is also suitable for direct solid sampling, particularly the high-resolution continuum source AAS technique which allows multi-element determination [79]. The direct analysis of solid samples was developed in the last decade by Welz [80]. The approach is similar to ETV: it encountered problems concerning calibration, matrix effect or precision. Plant sample analysis remains few investigated by this technique but some interesting articles are available [62,71,81-83].

3. Laser ablation

3.1. Principle of laser ablation

LA is a simple system to access the qualitative or the quantitative composition of any solid sample. A short-pulsed, high power laser beam is focused onto the sample surface in a closed ablation chamber. Provided the irradiance is sufficiently high, the laser beam converts a finite volume of the solid sample into a vapor phase aerosol of the constituents, which is transported by a gas stream (Ar or He) into the plasma source of the ICP-MS instrument. LA sample introduction requires then the generation of dry aerosol, transport of this aerosol and introduction into the plasma, in the same way as ETV. Fig. 2 illustrates schematically the components of a LA system for sample introduction into an ICP-MS spectrometer.

At the beginning, in the 80s, the first lasers produced a nanosecond pulsed beam with infrared wavelength [84]. In the past 20 years, the improvements carried out in the laser area have firstly mainly been driven in the direction of shorter wavelengths, with the goal to obtain the more efficient ablation. Today, nanosecond ablation lasers produce a beam in the UV range.

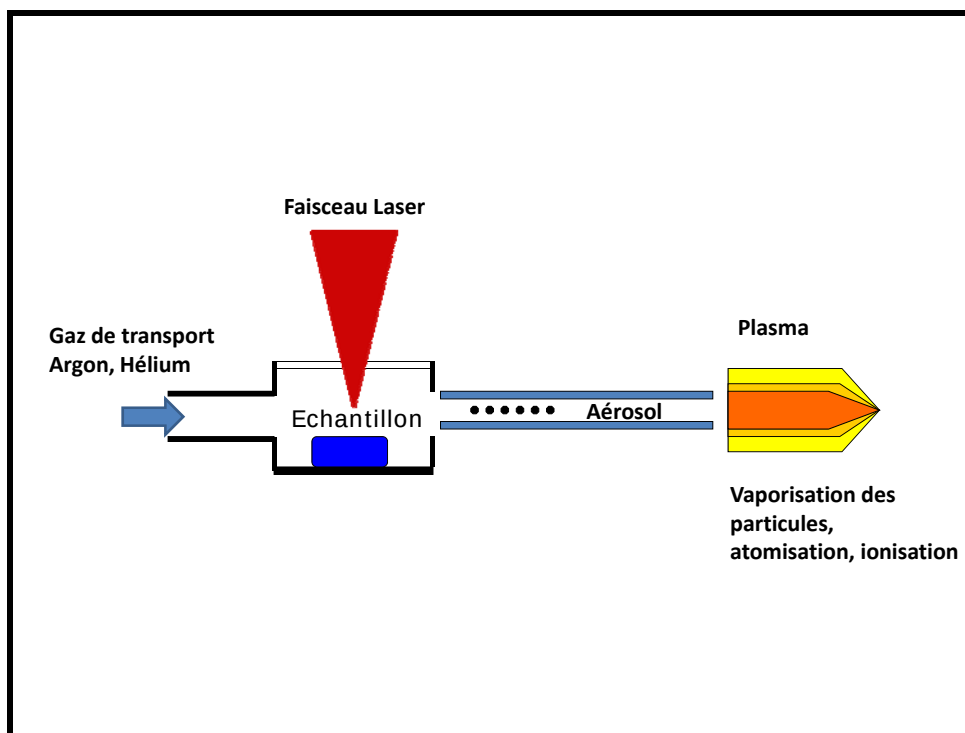


Figure 2: Principle of laser ablation.

Next, to obtain better analytical performances, developments were carried out to obtain shorter pulses. Units with a femtosecond laser beam were then created and the recent literature is more focused on these systems [85-86]. Femtosecond laser pulses may provide improved ablation efficiency, smaller particle sizes for aerosol, and less matrix dependence [87]. A recent review from Fernandez et al. covers recent progress with this technique [14]. Various systems of laser ablation are commercially available but, concerning the analysis of plant samples, only nanosecond units are used to our knowledge.

3.2. Fractionation

Ideally, the sample material evaporated should exactly represent the bulk chemical composition. However, the main source of error arises from the amount and stoichiometry of the laser-generated aerosol, its degree of vaporization, atomization and ionization in the plasma, the transmission of the ions through the vacuum interface and the ion optics of the mass spectrometer [13]. These limitations of analytical performances are named fractionation and can be considered as the main drawback encountered with the LA-ICP-MS systems. Fractionation concerns especially nanosecond laser ablation.

The range of applications for LA-ICP-MS increased significantly due to the improved understanding of these factors that influence quantitative analysis. In many applications, LA

systems can generate a stoichiometric aerosol with particle size distribution that can be fully atomized in the plasma and matrix independent calibrations could be demonstrated, even using solution. The limited applications of LA-ICP-MS in plant research can be explained by difficulties in the ablation of organic matrices to avoid fractionation and polyatomic ion formation, the evaporation of water, and the lack of suitable quantification procedures [88].

3.3. Vaporization of plant materials

With some plant samples, pretreatment is unnecessary and analysis can be carried out directly. Fresh and dried samples can be used but, on fresh samples, the water content should be considered. In fact, the presence of water decreases the signal intensity of analytes [89-90]. A linear correlation exists between the ion intensity of $^{13}\text{C}^+$, and the amount of water in the plant [91-92]. By assuming that the concentration of ^{13}C is not variable across the sample, the variation in ion intensities caused by differences in water content can be corrected.

The main problem related to the use of a laser is the necessity of using a narrow laser beam in order to ensure a fluence above the ablation threshold. It results in a small ablated volume which provides low signal sensitivity. The sample ablated volume can be enhanced by using the fast scanning beam device of the laser in combination with high repetition rates. This arrangement allows complex ablation trajectories extending the sample surface impacted by the laser [14].

3.4. Transport of aerosol

Due to the complex interaction between sample material, laser beam and ablation environment, the aerosol transport efficiency is influenced by numerous factors such as the volume and the geometry of the ablation cell, the gas flow rate and the transfer tube to carry out aerosol into the ICP. Variable transport efficiencies are also observed for elements of different volatilities. Identification, understanding and limitation of the effects of these factors are a very active field of research [87,93].

It appeared that the ablation cell volume is the most significant parameter influencing the dispersion of aerosol. Furthermore, the nucleation process and the resulting particle size distribution had a significant impact on the ion signals in ICP-MS [13]. Large particles can survive passage through the plasma with incomplete atomization, and this fact leads to very strong matrix effects. Analyte losses occur also during aerosol transport and affect the

detection capabilities. The aerosol particles deposit onto the colder parts of the interface. The carrier gas flow rate and the ICP operating conditions have then a great influence on the analytical performance and need to be carefully optimized. The influence of these fractionation effects can be reduced with suitable calibration.

3.5. Calibration

In the same way as other solid sampling analysis techniques, calibration remains a challenge with LA-ICP-MS for quantitative analysis. There is no universal method of calibration for all of solid sample types [12]. Due to fractionation, similar behavior and transport efficiency is required between sample and standard. Fractionation can largely be avoided if materials of similar composition and morphology to the sample are used for calibration. To this end, different calibration strategies were developed and applied to plant samples.

A common approach to quantitative analysis of solid samples relies on the use of calibration curves prepared with reference materials. Several RMs are available for some type of plant matrices as powdered material. The strategy is to make a pressed pellet after weighing a certain amount of the sample. This approach presents good measurement repeatability but the particle size distribution should be considered for appropriate pellet presentation. For example, Bu et al. have used a leaf reference material pressed as pellet as one-point calibration standard. The accuracy was verified by analyzing other pelletized standard reference materials with good agreement [94].

However, some elements are not certified or the certified concentrations do not vary significantly, reducing the calibration range to a small region. In addition, elements can be present in much higher concentrations in the samples causing unwanted extrapolations [95]. The availability of RMs with matrices similar to those of the studied samples is then a serious restriction for LA-ICP-MS. Quantitative analysis of plants was often restricted to a few elements of identical fractionation behavior. When appropriate RMs are not available, the use of samples previously analyzed by a validated method is an alternative [96].

Synthetic home-made laboratory standards can be also prepared which include addition of standard solutions with dried powder of RMs, mixing and pressing. This external calibration method using matrix-matched standards is certainly the most common and has

been used successfully for the quantitative determination of several elements in different parts of plants [90,91,97,98]. Similarly, calibration with standards consisting of synthetic cellulose spiked with known concentrations of elements gives accurate results on wood samples [99-100]. Using ICP-MS, quantitative analyses can also be performed in combination with isotope dilution. The isotope dilution was based on the isotopically enriched solid sample. The method was rarely applied to plant samples [101].

Normalization procedures can be exploited for matrix effect correction or fluctuations in the experimental conditions. Internal standardization is limited by the requirement of one element present or added with known concentration. Therefore, elements used as internal standard need to be homogeneously distributed and behave similarly with the majority of the other analytes during the ablation process. To compensate for the fractionation effects, the sample heterogeneity and the water content of the materials, ^{13}C was often used as internal standard. The isotope ^{12}C ion was also used sometimes [99,102]. An interesting review on the current approaches for quantification by LA-ICP-MS in imaging is given by Hare et al. [103].

3.6. Precision of measurement

With a small volume ablated using a narrow laser beam, the representativeness of the measure will not be fulfilled. The precision must be enhanced by a scanning device and replicates, extending the sample surface impacted by the laser.

Few data are available concerning the variability of measurements on plant samples. Precision were generally obtained by determining the contents in reference materials tested to prove accuracy of the methods. On pellets of tobacco leaves, RSD values between 2-5% (for major elements) to 13-27% (for trace elements) were reported after ten replicates [104]. Bu et al. obtained RSD values in the range of 10-15% during the analysis of various herbal supplements pressed as pellets [94]. Analyzing tree rings, Grabe-Schönberg et al. reported precision below 15% for all elements except for Al, Mn, Sb and Ba where it was in the 20-40% range [105]. Similar precision were reported by Watmough et al. [106].

These values of precision are comparable to those obtained with ETV and heterogeneity of samples is certainly the main cause of the high variability of results. For ground materials, large differences in particle size distribution and particle composition may result in differences in the laser-sample interaction, which affect the quality of the results.

3.7. Applications

Examples of plant samples analyzed by LA-ICP-MS for their whole composition are rare in the literature and concern firstly reference materials [107-108]. Quantitative analysis of mosses [109] and green leaves of desert plants [110] was reported. Quantitative analyse of six different herbal samples was also reported [94]. Generally, samples were dried, grinded and pressed as pellets before measurements. In some cases, samples were firstly dry-ashed, and next, pressed as pellets [60,111]. In each case, results obtained are in good agreement with those obtained from conventional digestion method. However, LA-ICP-MS may be not the most appropriate technique to measure the entire elemental concentration of any biological sample. Conversely, LA-ICP-MS is certainly a technique of choice concerning surface analysis and imaging of elements in thin cross sections of plant tissues, and is the most sensitive technique for this purpose [112].

This technique of imaging remains emerging concerning plant tissues but is more and more attractive in plant science for agronomic or environmental purposes [113]. Mapping plant leaves by LA-ICP-MS was first proposed by Galiova et al. [114] and Becker et al. [97]. Bioimaging of essential or toxic elements in plant sections was applied to study the element accumulations in leaves of sunflower [102,114-115], fern [116], tobacco [97], pepper [89] or medicinal plant [90-91]. It can be noted that the distribution of elements is not affected by the drying process [89]. LA-ICP-MS was also used to determine Cu and Zn in growth zones of cucumber roots [118]. The plant leaves were ablated line by line to obtain detailed two-dimensional images of element distribution with a spatial resolution in the 10-200 μm range. The achievable spatial resolution is determined by the size of craters created within the materials.

These quantitative/qualitative images of elements revealed the heterogeneity of plant leaves. Elements are accumulated preferentially in the veins, indicating the importance of veins as a pathway for the transport of elements [97]. However, some macro-nutrients such as K, Ca or P are spread more homogeneously over the surface area [104]. The ability to locate and quantify elemental distributions in plants is crucial to understanding plant metabolism, the mechanism of uptake and transport of minerals and how plants cope with toxic elements or elemental deficiencies [118]. The ability of LA-ICP-MS to profile the elemental content of different plant tissues with high spatial resolution would open up a completely new window onto speciation in combination with mass spectrometry imaging (MSI). MSI shows great

Table 2: Applications in plant sample analysis with LA sample insertion

Sample type	Elements	Calibration	remarks	Ref.
Tea leaves, pepperbush	Multiple	matrix-matched standards	Analysis of certified reference materials	[107]
Orchard leaves, Tomato leaves	Multiple	Standard values of kale	Analysis of standard reference materials	[106]
Leaves of birch	Multiple	Isotope dilution	Samples dried or dry ashed and next, pressed as pellets	[59] [90, 91]
Leaves of a medicinal plants	Multiple	matrix matching on NIST SRM 1515 (apple leaves)	Quantitative imaging, influence of water content	
Lichens	Pb isotopes	no calibration	Samples pressed as pellets	[129]
Mosses	Multiple	Mixed standards from NIST samples	Samples pressed as pellets	[108]
Leaves of andropogon	Ni, U	no calibration	Comparison of washed and unwashed leaves	[130]
Leaves, shoots and roots of tobacco	Multiple	matrix matching on on dried tobacco leaves	Quantitative imaging, influence of water content	[96]
Leaves of sunflower	Ag, Cu	no calibration	Qualitative imaging of elements	[113]
Leaves of sunflower	Pb, Mg, Cu	no calibration	Qualitative imaging of elements	[114]
Leaves of sunflower	S, Se	matrix matching on NIST SRM 1575a (Pine Needles)	Qualitative imaging, internal standard ^{12}C	[101]
Leaves of sunflower	Multiple	tobacco leave pressed as pellet	Quantitative imaging, SRMs used to control accuracy	[103]
Leaves of pepper plant	Pb, K, Mn	no calibration	Qualitative imaging, comparison fresh/dried leaves	[88]
Fern rhizomes	Cu, Pb, Sb, Zn	no calibration	Qualitative imaging of cross section	[115]
Wheat grain	Zn	matrix matching on wheat flour as pellets	Localization of Zn within grain	[97]
Herbal supplement powders	Multiple	NIST SRM 1573a (Tomato leaves)	Samples pressed as pellets, SRMs used to control accuracy	[93]
Mosses	Pu, Am	isotopic dilution	Use of Sector field IC-MS	[100]
Flower leak	U isotopes	no calibration	Use of Sector field IC-MS	[128]
Green leaves of desert plants	Multiple	matrix matched standards	Standards pressed as pellets	[109]
Cucumber roots	Cu, Zn	USGS reference standard MAOS-2 (organic matrix)	One dimension distribution of elements	[116]
Rice roots and shoots	Gold nanoparticles	spiked cellulose pressed pellets	Detection of presence of nanoparticles	[99]
Tobacco leaves	Gold nanoparticles	no calibration	Detection of presence of nanoparticles	[125, 126]
cannabis	Multiple	no calibration	Samples pressed as pellets	[127]
Roots of a Cu hyper-accumulator plant	Multiple	no calibration	imaging of metal-proteins on 2D gels electrophoresis	[121]
Spruce bark	Multiple	no calibration	qualitative imaging of elements	[122]
Oak leaves	Multiple	matrix matching on NIST SRM 1547 (peach leaves) and cellulose	quantitative imaging	[122]
Rings of pine and popular trees	Multiple	cellulose spiked with standard solutions and pressed as pellets	internal standardization with ^{12}C .	[98]
Rings of oaks and plant ash	Multiple	cellulose doped with standard solutions/isotopic dilution	Samples dry ashed and pressed as pellets	[110]
Rings of maple tree	Multiple	Rings of tree with concentrations determined after digestion	elemental variation in time	[95, 105]
Rings of spruce	Multiple	cellulose spiked with standard solutions and pressed as pellets	elemental variation in time	[124]
Pine and birch rings	Multiple	internal standardization only with ^{13}C	elemental variation in time	[104]
Barks of pine and oak	Multiple	bark pellets with concentrations determined after digestion	samples pressed as pellets	[94]

ability to acquire molecularly specific images of biological samples [119-120]. Co-localization of genes or proteins with ionic changes would provide spatial data concerning linkage between these biochemical functions [121]. However, for speciation analysis, the proteins of plants may be also separated on 2D gel electrophoresis, followed by LA-ICP-MS imaging of metal-containing protein using LA-ICP-MS as reported by Wu et al. [122].

LA-ICP-MS was also used in the forestry sciences, especially to describe the change of element distribution in bark tissues [94,123], in oak leaves [124] or in various tree rings [95,99,105,106,111,125]. Analysis of tree rings gave useful data to observe atmospheric depositions or contaminations with time. Spatially resolved analysis to get the distribution of major and minor elements in bark of trees was also investigated, and showed accumulations of Mg, P and K at the boundary zone between the lesion and healthy tissue [123].

Recently, LA-ICP-MS was also used to determine the spatial distribution of gold nanoparticles in rice roots and shoots [100] and in tobacco leaves [126-127]. The biogeochemistry of nanoparticles in the environment and their accumulation in the food chain is an emerging research field. Understanding plant uptake and accumulation of nanoparticles is then important for developing crop species that can prevent accumulation in organs.

More originally, LA-ICP-MS was used to distinguish the provenance of cannabis in forensic analysis [128]. In the environmental field, the determination of Pu and Am in mosses was carried out [101] as well as measurement of the isotope ratios of U on flower leaf [129]. The measured concentrations were in the pg/g range and a sector field ICP-MS (ICP-SFMS) was required. A rapid and reliable method to determine Pb isotope ratios in lichens was reported by Kylander et al. [130]. These methods were applicable to evaluate the sources of atmospheric pollutants deposition for biomonitoring studies and sample screening. The results for mosses and lichens confirmed they are particularly suited for use as bioindicators of environmental contamination. Another example of environmental monitoring is given by Punshon et al. concerning Ni and U determinations in plants [131]. In this study, concentrations of washed and unwashed samples were compared; washing removed the majority of elements on the surface.

However, it is close to impossible to prepare standard samples from freshly cut off leaves for calibration of LA-ICP-MS for quantitative measurements. The existing NIST or

BCR plant sample powders do not give information about spatial distribution of elements. Consequently, there is an urgent need for a standard technique which can offer accurate analysis. With the aid of techniques based on X-ray, it should be possible to develop standards for major and trace elements.

3.8. LIBS

Laser induced breakdown spectroscopy (LIBS), also, has been demonstrated as a potential technique for qualitative analysis of element compositions in various solid samples. More specifically, micro-nutrients and macro-nutrients were detected in plant materials [132-134]. This technique is defined as a form of AES in which a pulsed laser ablates a small amount of material from the sample surface. A micro-plasma is formed and the emission of elements is analyzed by an optical spectrometer. LIBS required then no sample preparation and could be used to locate and quantify spatial distribution of interesting elements. However, the success of LIBS for the quantitative analysis of biological samples involves the development and optimization of statistical methods to interpret their complex spectroscopic data. Therefore, typical limits of detection in LIBS are in the high mg/kg range, much higher than in LA-ICP-MS. LIBS is then not satisfactory for environmental requirements and must be reserved to major element determination. A complete review concerning plant sample analysis by LIBS is given by Santos [135].

4. Conclusions

With LA and ETV, there is a marked progression in analytical chemistry from bulk analysis through microanalysis with ETV and spatially resolved analysis with LA. However, their use in real life analytical chemistry remains very limited. In fact, selection of the working conditions to obtain quantitative results is not always an easy task for ETV and LA and requires considerable expertise. For these reasons, they must not be considered as standard sample introduction systems for ICP techniques but are rather reserved to challenging analytical problems that could not be solved easily by another strategy.

In plant samples, there are many analytical situations where ETV and LA are necessary. The main advantage of ETV in plant nutrition or environmental pollution studies is its ability for rapid analysis of many elements without sample preparation. ETV based methods can replace any wet based methods when a fast multi-elemental screening is needed. This includes also the possibility of quantifying elements that are difficult to determine by

other analytical methods (Si, I) or situations where only a very limited amount of sample is available. LA-ICP-MS is a powerful analytical tool to obtain a two-dimensional image of the sample surface for both macro- and microelements in plant tissues. The resolution of this technique is sufficient for all the elements measured.

Continuous development of these techniques for better transport efficiency (and sensitivity), should increase the scope of their utilisation in plant science. For example, the simplicity of sample preparation makes LA and ETV promising techniques in the phytoremediation field where analytical procedures for elemental determination in plant tissues should be fast and cheap. For example, analyzing the accumulation and distribution of metals and non-metals by tolerant or hyper-accumulator plants allows selecting an appropriate choice for phyto-extracting elements in contaminated soils. It is also important to learn about the physiological processes involved in plants, including metal translocation, metal tolerance mechanisms and other storage processes. The capabilities of elemental mapping and determination of elements in specific organs provided by the combination of LA and ETV, should prove to be effective tools for future research in this domain.

References

1. L. Williams, D.E. Salt, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12 (2009) 247
2. Kabata-Pendias A, Trace Elements in Soils and Plant, 4rd edn. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2011.
3. M. Hoenig, H. Baeten, S. Vanhentenrijk, E. Vassileva, Ph. Quevauviller, *Anal. Chim. Acta*, 358 (1998) 85
4. M. Hoenig, *Talanta*, 54 (2001)1021
5. S. Puig, L. Penarrubia, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12 (2009) 247
6. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1523
7. L.K. Olson, N.P. Vela, J.A. Caruso, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 355
8. R.E Sturgeon, J.W. Lam, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 785
9. M. Resano, F. Vanhaecke, M.T.C. de Loos-Vollebergt, *J. Anal. At. Spectrom.*, 23 (2008) 1450
10. R. Sing, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1523
11. A. Martin-Esteban, B. Slowikowski, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 33 (2003) 43
12. R.E. Russo, X. Mao, H. Liu, J. Gonzalez, S.S. Mao, *Talanta*, 57 (2002) 425
13. D. Gunther, B. Hattendorf, *Trends Anal. Chem.*, 24 (2005) 255

14. B. Fernandez, F. Claverie, C. Pécheyran, O.F.X Donard, *Trends Anal. Chem.*, 26 (2007) 951
15. M.A. Belarra, M. Resano, F. Vanhaecke, L. Moens, *Trends Anal. Chem.*, 21 (2002) 828
16. A. M. Gunn, D. L. Millard, G. F. Kirkbright, *Analyst*, 103 (1978) 1066
17. M. Aramendia, M. Resano, F. Vanhaecke, *Anal. Chim. Acta*, 648 (2009) 23
18. J. Hassler, A. Detcheva, O. Forster, P.R. Prezl, K. Florian, *Annali di Chimica*, 89 (1999) 827
19. P. Masson, *Can. J. Anal. Sci. Spect.*, 50 (2005) 268
20. P. Masson, *Talanta*, 71 (2007) 1399
21. M. Resano, M. Verstraete, F. Vanhaecke, L. Moens, *J. Anal. At. Spectrom.*, 16 (2001) 1018
22. J.M. Ren. and E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 555
23. J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 567
24. N. Nonose, N. Matsuda, N. Fudagawa, M. Kubota, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 1551
25. D.R. Lide, *Handbook of Chemistry and Physics*, 71st ed. CRC Press, Boca Raton, 2004-2005
26. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 431
27. J.P. Matousek, R.T. Satumba, R.A. Bootes, *Spectrochim. Acta B*, 44 (1989) 1009
28. D.M. Goltz, D.C. Grégoire, C.L. Chakrabarti, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 1365
29. Bin Hu, Zucheng Jiang, Tianyou Peng, Yongchao Quin, *Talanta*, 49 (1999) 357
30. Bin Hu, Zucheng Jiang, Yun'e Zeng, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 340 (1991) 435
31. Shizhong Chen, Feng Li, Zhenhuan Liao, Tiang Peng, Zucheng Jiang, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 364 (1999) 556
32. Jiang Zucheng, Hu Bin, Qin Yongchao and Zeng Yun'e, *Microchem. J.*, 53 (1996) 326
33. Yen-Jia Tseng, Yu-Duan Tsai, Shiuh-Jen Jiang, *Anal. Bioanal. Chem.*, 387 (2007) 2849
34. N.G. Berryman, T.U. Probst, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 783
35. M. Resano, E. Garcia-Ruiz, L. Moens, F. Vanhaecke, *J. Anal. At. Spectrom.*, 20 (2005) 81
36. G. Varhegyi, M. J. Antal, E. Jakab, P. Szabo, *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 42 (1997) 73
37. P. Madder, V. Haber, J. Zelinka, *Analisis*, 25 (1997) 175
38. A.P. Dimitrakopoulos, *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 60 (2001) 123
39. P. Masson, M. Dauthieu, F. Trolard, L. Denaix, *Spectrochim. Acta B*, 62 (2000) 224
40. G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Microchem. J.*, 54 (1996) 272
41. G. Galbacs, T. Kantor, L. Moens, R. Dams. *Spectrochim. Acta B*, 53 (1998) 1335
42. S. Abanades, G. Flamant, D. Gauthier, *J. Hazard. Mat.*, 88 (2001) 75

43. Y. Okamoto, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367 (2000) 300
44. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 43 (1988) 1299
45. D.C. Grégoire, R. E. Sturgeon, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 773
46. T. Kantor, M.T.C. de Loos-Vollebergt, *Spectrochim. Acta B*, 58 (2003) 1901
47. T. Kantor, M.T.C. de Loos-Vollebergt, *Spectrochim. Acta B*, 60 (2005) 333
48. U. Shaffer, V. Krivan, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 482
49. C.M. Sparks, J. Holcombe, T. L. Pinkston, *Spectrochim. Acta B*, 48 (1993) 1607
50. T. Kantor, S. Güçer, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 763
51. J.A. Horner, G. M. Hieftje, *Spectrochim. Acta B*, 53 (1998) 1235
52. L. Moens, P. Verrept, S. Boonen, F. Vanhaecke, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 463
53. M. Berglund, D.C. Baxter, *Spectrochim. Acta B*, 47 (1992) E1567
54. A.F. da Silva, L. F. Dias, T.D. Saint Pierre, A.J. Curtius, B. Welz, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18 (2003) 344
55. S. Boonen, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 271
56. Yi-Ching Li, Shiuh-Jen Jiang, Shu-Feng Chen, *Anal. Chim. Acta*, 372 (1998) 365
57. F. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens, R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 125
58. T. Kawano, A. Nishide, K. Okutsu, H. Minami, Q. Zhang, S. Inoue, I. Atsuya, *Spectrochim. Acta B*, 60 (2005) 327
59. O. Mestek, I. Tresl, R. Koplik, H. Pavelkova, M. Suchanek, B. Vanas, *Talanta*, 55 (2001) 595
60. H. Scholze, E. Hoffmann, C. Lüdke, A. Platalla, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 892
61. L. Gras, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 37
62. M.A. Belarra, C. Crespo, M.P. Martinez-Garbayo and J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta B*, 52 (1997) 1855
63. R.W. Fonseca, N.J. Miller-Ihli, C. Sparks, J.A. Holcombe, B. Shaver, *Appl. Spectrosc.*, 12 (1997) 1800
64. I.B. Brenner, M. Zischka, B. Maichin, G. Knapp, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 1257
65. S.E. Hobbs, J.W. Olesik, *Spectrochim. Acta B*, 52 (1997) 353
66. P. Masson, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 603
67. S. Maestre, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1209
68. K.C. Friese, K.-H. Grobecker, U. Wätjen, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 370 (2001) 499
69. M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 547

70. M.A. Belarra, M. Resano, S. Rodriguez, J. Urchaga, J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 787
71. M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 489
72. P. Masson, *J. Anal. At. Spectrom.*, 26 (2011) 1290
73. Y. Okamoto, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367 (2000) 295
74. Pochien Li, Shiun-Jen Jiang, *Anal. Chim. Acta*, 495 (2003) 143
75. A. Mroczek, R. Wennrich, G. Werner, W. Schrön, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 1527
76. M. Abdulla, H. Haraguchi, *Anal. Chem.*, 57 (1985) 2059
77. W.E. Pettit, G. Horlick, *Spectrochim. Acta B*, 41 (1986) 699
78. Y. Shao, G. Horlick, *Appl. Spectrosc.*, 40 (1986) 386
79. J. M. Harnly, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 137
80. B. Welz, D.L.G. Borges, F.G. Lepri, M.G.R. Vale, U. Heitmann, *Spectrochim. Acta B*, 62 (2007) 873
81. J. Bernhardt, T. Buchkamp, G. Herman, G. Lasnitschka, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 449
82. M. Resano, L. Rello, M. Florez, M.A. Belarra, *Spectrochim. Acta B*, 66 (2011) 321
83. A. Vigilio, J.A. Nobrega, J.F. Rêgo, J.A. Gomes Neto, *Spectrochim. Acta B*, 78 (2012) 58
84. A.L. Gray, *Analyst*, 110 (1985) 551
85. O. Samek, V. Margetic, R. Hergenroder, *Anal. Bioanal. Chem.*, 381 (2005) 54
86. J. Koch, D. Günther, *Anal. Bioanal. Chem.*, 387 (2007) 149
87. F. Claverie, C. Pécheyran, S. Mounicou, G. Ballihaut, B. Fernandez, J. Alexis, R. Lobinski, O.F.X. Donard, *Spectrochim. Acta B*, 64 (2009) 649
88. S. F. Durrant, N.I. Ward, *J. Anal. At. Spectrom.*, 20 (2005) 821
89. M. Galiova, J. Kaiser, K. Novotny, J. Novotny, M. Hartl, R. Kizek, P. Babula, *Micr. Res. Tec.*, 74 (2011) 845
90. J.S. Becker, M. Zoriy, V.L. Dressler, Bei Wu, J.S. Becker, *Pure Appl. Chem.*, 80 (2008) 2643
91. Bei Wu, M. Zoriy, Y. Chen, J.S. Becker, *Talanta*, 78 (2009) 132
92. Bei Wu, Y. Chen, J.S. Becker, *Anal. Chim. Acta*, 633 (2009) 165
93. D. Bleiner, D. Günther, *J. Anal. At. Spectrom.*, 16 (2001) 449
94. Kaixan Bu, J.V. Cizdziel, L. Reidy, *Microchem. J.*, 106 (2013) 244
95. U. Narewski, G. Werner, H. Schulz, C. Vogt, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 366 (2000) 167
96. S.A. Watmough, T.C. Hutchinson, R. D. Evans, *Environ. Sci. Technol.*, 32 (1998) 2185

97. J.S. Becker, R.C. Dietrich, A. Matusch, D. Pozebon, V.L. Dressler, *Spectrochim. Acta B*, 63 (2008) 1248
98. I. Cakmak, M. Kalayci, Y. Kaya, A.A. Torun, N. Aydin, Y. Wang, Z. Arisoy, H. Erdem, A. Yazici, O. Gokmen, L. Ozturk, W.J. Horst, *J. Agri. Food Chem.*, 58 (2010) 9092
99. E. Hoffmann, C. Lüdke, H. Scholze, H. Stephanowitz, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 350 (1994) 253
100. J. Koelmel, T. Leland, H. Wang, D. Amarasiriwardena, B. Xing, *Environ. Pol.*, 174 (2013) 222
101. S.F. Boulyga, D. Desideri, M.A. Meli, C. Testa, J.S. Becker, *Int. J. Mass Spectrom.*, 226 (2003) 329
102. M. A. Oseas da Silva, M.A. Zezzi Arruda, *Metallomics*, 5 (2013) 62
103. D. Hare, C. Austin, P. Doble, *Analyst*, 137 (2012) 1527
104. A. Kotschau, G. Buchel, J.W. Einax, C. Fischer, W. van Tumppling, D. Merten, *Microchem. J.*, 110 (2013) 783
105. D.D. Grabe-Schönberg, C. Reimann, V.A. Pavlov, *Environ. Geol.*, 32 (1997) 9
106. S.A. Watmough, T.C. Hutchinson, R. D. Evans, *J. Environ. Qual.*, 27 (1998) 1087
107. N.I. Ward, S.F. Durrant, A.L. Gray, *J. Anal. At. Spectrom.*, 7 (1992) 1139
108. S.F. Durrant, *Analyst*, 117 (1992) 1585
109. M. Bi, E. Austin, B.W. Smith, J.D. Winefordner, *Anal. Chim. Acta*, 435 (2001) 309
110. J. Cizdziel, K. Bu, P. Nowinski, *Anal. Meth.*, 4 (2012) 564
111. E. Hoffmann, C. Lüdke, H. Stephanowitz, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 900
112. J.S. Becker, M. Zoriy, A. Matusch, B. Wu, D. Salber, C. Palm, J.S. Becker, *Mass spectrom. Rev.*, 29 (2010) 156
113. S. Husted, D.P. Persson, K.H. Laursen, T.H. Hansen, P. Pedas, M. Schiller, J.N. Hegelund, J.K. Schjoerring, *J. Anal. At. Spectrom.*, 26 (2011) 52
114. M. Galiova, J. Kaiser, K. Novotny, J. Novotny, T. Vaculovic, M. Liska, R. Malina, K. Stejskal, V. Adam, R. Kizek, *Appl. Phys. A*, 93 (2008) 917
115. J. Kaiser, M. Galiova, K. Novotny, R. Cervenka, L. Reale, J. Novotny, M. Liska, O. Samek, V. Kanicky, A. Hrdlicka, K. Stejskal, V. Adam, R. Kizek, *Spectrochim. Acta B*, 64 (2009) 67
116. J. Koelmel, D. Amarasiriwardena, *Environ. Pol.*, 168 (2012) 62
117. Jiyang Shi, M. A. Gras, W. K. Silk, *Planta*, 229 (2009) 945
118. Bei Wu, J.S. Becker, *Metallomics*, 4 (2012) 403
119. N.E. Mascini, R.M.A. Heeren, *Trends Anal. Chem.*, 40 (2012) 28

120. C. Wu, A.L. Dill, L.S. Eberlin, R.G. Cooks, D.R. Iza, *Mass spectrom. Rev.*, 32 (2013) 218
121. D.E. Salt, Update on plant ionomics, *Plant Physiol.*, 136 (2004) 2451
122. B. Wu, I. Susnea, Y. Chen, M. Przybylski, J.S. Becker, *Int. Mass Spectrom.*, 307 (2011) 85
123. M. Siebold, P. Leidich, M. Bertini, G. Deflorio, J. Feldmann, E. M. Krupp, E. Halmschlager, S. Woodward, *Anal. Bioanal. Chem.*, 402 (2012) 3323
124. E. Hoffmann, C. Lüdke, J. Skole, H. Stephanowitz, E. Ullrich, D. Cloditz, Fresenius J. *Anal. Chem.*, 367 (2000) 579
125. T. Prohaska, C. Stadlbauer, R. Wimmer, G. Stingeder, Ch. Latkoczy, E. Hoffmann, H. Stephanowitz, *Sci. Tot. Environ.*, 219 (1998) 29
126. J.D. Judy, J.M. Unrine, P.M. Bertsch, *Environ. Sci. Technol.*, 45 (2011) 776
127. J.D. Judy, J.M. Unrine, W. Rao, S. Wirick, P.M. Bertsch, *Environ. Sci. Technol.*, 46 (2012) 8467
128. R.J. Watling, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 917
129. M.V. Zoriy, M. Kayser, A. Izmer, C. Pickhardt, J.S. Becker, *Int. J. Mass Spectrom.*, 242 (2005) 297
130. M.E. Kylander, D.J. Weiss, T.E. Jeffries, B. Kober, A. Dolgoplova, R. Garcia-Sanchez, B.J. Coles, *Anal. Chim. Acta*, 582 (2007) 116
131. T. Punshon, B.P. Jackson, P.M. Bertsch, J. Burger, *J. Environ. Monit.*, 6 (2004) 153
132. M.R. Martelli, F. Brygo, A. Sadoudi, P. Delaporte, C. Barron, *J. Agri. Food Chem.*, 58 (2010) 7126
133. M. Galiova, J. Kaiser, K. Novotny, O. Samek, L. Reale, R. Malina, K. Palenikova, M. Lsika, V. Cudek, V. Kanicky, V. Otruba, A. Poma, A. *Spectrochim. Acta B*, 62 (2007) 1597
134. O. Samek, J. Lambert, R. Hergenröder, M. Liska, K. Kaiser, S. Kukhlevsky, *Laser Phys. Lett.*, 3 (2006) 21
135. D. Santos Jr, *Spectrochim. Acta B*, 71-72 (2012) 3

2^{ème} Partie

Etudes théoriques et expérimentales du fonctionnement dans une unité de vaporisation électrothermique. Optimisation des conditions de la formation de l'aérosol et de son transport vers un spectromètre ICP

La génération d'un aérosol et son transport vers le plasma est une caractéristique fondamentale du fonctionnement d'une unité ETV, celle qui conditionne ses performances analytiques. Cette partie compile et synthétise les différentes études réalisées sur le fonctionnement du couplage instrumental ETV-ICP-AES. Ces travaux se sont étalés dans le temps. Une étude théorique, grâce à un modèle mathématique simple, a permis d'identifier les principaux mécanismes physico-chimiques qui agissent sur la formation et le transport de l'aérosol entre l'ETV et la torche, à savoir les débits d'argon et de Fréon principalement. Les expérimentations ont permis d'optimiser ces paramètres pour obtenir une efficacité et une sensibilité maximum sur les mesures et la limitation des pertes d'éléments qui apparaissent au cours d'une analyse.

Etudes théoriques et expérimentales du fonctionnement dans une unité de vaporisation électrothermique. Optimisation des conditions de la formation de l'aérosol et de son transport vers un spectromètre ICP

Résumé

La vaporisation électrothermique (ETV) peut être considérée comme un réacteur thermochimique produisant un aérosol qui est transporté ensuite par un gaz porteur vers un spectromètre d'émission atomique couplé à un plasma induit (ICP-AES). Les conditions de la formation de cet aérosol et les phénomènes de transport ont été étudiés spécifiquement selon les débits d'argon du gaz porteur et du gaz de dérivation. Un modèle mathématique simple a été employé en première approche pour estimer l'évolution dynamique du nombre et de la dimension des particules de l'aérosol produit par l'unité ETV ainsi que l'efficacité de transport de cet aérosol entre l'unité ETV et l'ICP. La simulation a montré que la source principale des pertes d'analyte pouvait être l'adhérence des particules sur les parois du tube de transfert par un effet de thermophorèse et la surface de condensation disponible pour les éléments analysés. Les aspects analytiques de ces conditions gazeuses dans ETV ont été également étudiés expérimentalement sur des solutions étalons, de même que l'influence du gaz de réaction (Fréon) ou la présence d'eau dans l'aérosol. Les changements d'intensités spectrales ont reflété des variations de l'efficacité de transport de l'aérosol comme prévue par la théorie mais également de l'efficacité des processus d'atomisation et d'ionisation qui ont lieu dans le plasma. Dans les deux cas, les débits de gaz jouent un grand rôle dans la formation de l'aérosol, dans son transport et dans le temps de séjour des particules et des analytes dans le plasma.

1. Introduction

La vaporisation électrothermique (ETV) constitue un système d'introduction des échantillons solides pour la spectrométrie d'émission atomique à plasma inductif (ICP-AES) ou la spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (ICP-MS) [1-3]. La production d'un signal analytique directement à partir d'un échantillon à l'état solide offre, en effet, un certain nombre d'avantages importants. Une faible quantité d'échantillon est suffisante. Aucune mise en solution n'est nécessaire. Les erreurs dues aux pertes ou aux contaminations possibles pendant l'étape de dissolution sont éliminées. Par conséquent, de nombreuses applications utilisant l'ETV ont été rapportées dans la littérature, particulièrement au sujet des échantillons biologiques et environnementaux [4-13].

Un autre avantage de l'analyse directe des solides est que la vaporisation de l'échantillon est séparée en temps et de l'espace des processus d'atomisation, d'ionisation et d'excitation qui ont lieu dans le plasma [14]. Cela permet l'optimisation indépendante des paramètres de fonctionnement de l'ICP et de l'ETV. Concernant l'unité ETV, un large éventail de transformations physico-chimiques se produisent entre le four graphite et le plasma sur l'échantillon et sur les éléments qu'il contient. Il a été reconnu que la formation d'un aérosol stable est nécessaire pour transporter efficacement les éléments volatilisés, de l'unité d'ETV à la torche de l'ICP [15-16]. On a spéculé, mais non démontré, que l'efficacité de ce transport est liée à la présence de particules qui offrent des sites de condensation pour les vapeurs d'analytes [15] et que les conditions gazeuses semblent avoir plus d'influence sur la formation de l'aérosol et sur son transport que tout autre paramètre expérimental.

De plus, entre l'ETV et la torche à plasma, une fraction significative de particules restent bloquées sur les parois du tube de transfert et n'atteignent pas le plasma [17,18]. Cette observation peut être expliquée par un phénomène appelé thermophorèse. Il s'agit du phénomène physique par lequel des particules d'aérosol en suspension dans un gaz migrent dans la direction des basses températures quand elles sont soumises à un gradient thermique. Dans un système non-isothermique avec des parois froides, comme dans le tube de transfert entre l'ETV et le spectromètre ICP, la thermophorèse cause un dépôt de particules le long des parois du tube et donc une perte d'analytes.

En ce qui concerne l'ICP, des conditions robustes doivent être employées afin de limiter au maximum les effets de matrice [19]. De telles conditions correspondent

généralement à une puissance élevée du plasma et à un diamètre large de l'injecteur de la torche [20]. Cependant, il est reconnu que l'injection d'un aérosol sec dans un plasma conduit à des conditions d'excitation plus faibles en comparaison de celles obtenues avec un plasma humide [21-26]. La présence d'eau sous forme de vapeur peut jouer un rôle clé en influençant le comportement du plasma [27-30]. Plusieurs auteurs ont trouvé que, comparé à un aérosol sec, la présence d'eau augmente les températures d'ionisation et d'excitation du plasma et la densité électronique [23,25,26]. L'effet positif de l'eau dans le plasma d'un ICP apparaît du à la présence d'hydrogène qui est le gaz moléculaire avec la conductivité thermique la plus élevée (dix fois celle de l'argon), ce qui améliore les processus de transfert d'énergie.

Cependant, peu d'études ont été menées sur les propriétés des plasmas quand un système ETV est utilisé, et encore moins avec un aérosol additionné d'eau [31]. Il y donc un manque d'information concernant les aérosols produit par ETV et de leurs effets sur les performances d'un système ETV-ICP-AES. De plus, les conditions gazeuses conditionnent le temps de résidence de l'aérosol dans le plasma qui est d'une importance vitale dans la qualité de l'analyse, que ce soit au niveau de la sensibilité ou au niveau des effets de matrice [19]. Il convient de définir le temps de résidence optimum, et donc de trouver les meilleures conditions gazeuses pour qu'un transfert d'énergie efficace se produise entre le plasma et les particules d'aérosol. Quoi qu'il en soit, il apparaît une nouvelle fois que les conditions gazeuses semblent avoir une importance vitale sur le fonctionnement, la sensibilité analytique, et les performances du système ETV-ICP-AES.

Pour toutes ces raisons, il serait souhaitable de comprendre au mieux les interactions complexes qui se produisent dans un système ETV-ICP. C'est le but principal de la recherche présentée ici. Pour cela, un modèle mathématique simple, décrivant les phénomènes physiques impliqués a d'abord été employé. L'évolution d'un aérosol dans un tube cylindrique est un sujet d'intérêt pour beaucoup d'applications industrielles et la science du génie des procédés fournit des méthodes numériques issues de la mécanique des fluides et de la dynamique de particules pour étudier la formation des particules, leur transport et leurs pertes. Une telle approche peut avoir son utilité car elle permet de prévoir, sans expérimentation, l'évolution de nombre et de la taille des particules dans un aérosol.

Cependant, les résultats obtenus par cette simulation doivent être comparés aux résultats expérimentaux obtenus dans des conditions réelles d'utilisation afin de valider les

hypothèses faites dans le modèle numérique. Pour cela, les intensités analytiques de divers éléments fournies par des solutions étalons ont été mesurées par un spectromètre ICP en faisant varier les conditions gazeuses, c'est-à-dire les débits des gaz porteur et de dérivation de l'ETV, et la composition chimique de l'aérosol à savoir la présence (ou non) de gaz de réaction (Fréon) et la présence (ou non) d'eau dans l'aérosol.

2. Théorie

2.1. Nucléation et condensation

La représentation schématique de l'unité ETV 4000, commercialisée par Spectral System (Fürstfeldbruck, Allemagne) et étudiée ici, est donnée en Figures 1a et 1b. L'unité est équipée d'un four en graphite en forme de tube dans lequel est introduit une plateforme de graphite contenant l'échantillon solide. Après chargement de l'échantillon, l'extrémité du four est fermée. Les opérations de l'ETV, température et temps de chauffage, sont complètement commandées par ordinateur. La température des diverses étapes du programme peut être choisie entre la température ambiante et 3000°C. Un écoulement de gaz argon porteur enlève toutes les vapeurs produites à l'intérieur du four. De plus, entre la sortie du four graphite et l'entrée du tube de transport, un deuxième écoulement d'argon est ajouté, qui est appelé gaz de dérivation. Ce gaz mène au refroidissement de l'aérosol. Ensuite, l'écoulement gazeux transporte les particules d'aérosol dans le plasma. La conception de construction de l'unité ETV 4000 a été rapportée par Hassler et al. [32].

L'utilisation d'un modèle mathématique implique une connaissance théorique des processus fondamentaux qu'il décrit. Dans le réacteur ETV, l'efficacité de la formation de l'aérosol sec est le facteur principal qui détermine la quantité finale d'éléments transporté vers le plasma [33]. Dans un processus typique d'évaporation-condensation, la formation de l'aérosol commence normalement par la nucléation, c'est-à-dire par la formation de précurseurs stables dans une vapeur sursaturée appelés des monomères [34-36]. Ensuite, ces monomères forment des particules par condensation et coagulation. La condensation est le processus de la croissance des monomères par l'intermédiaire de collisions avec la phase de vapeur. La coagulation est le processus de la croissance de particules par l'intermédiaire des collisions entre les particules, suivi de leur coalescence [35]. Une représentation schématique de ce processus est montrée dans la Fig. 2.

Cependant, les monomères formeront les particules stables par coagulation seulement si leur diamètre (d_l) est supérieur ou égal à un diamètre critique (d_p^*) appelé diamètre de Kelvin :

$$d_p^* \leq d_l \quad (1)$$

Cette condition a été citée la première fois par Kantor pour décrire le transport de la vapeur d'analytes créée par l'ETV [15]. Dans le réacteur ETV, un gaz Fréon est souvent employé comme réactif d'halogénéation pour améliorer la volatilisation des éléments [37-40]. L'addition de ce gaz de réaction dans le gaz porteur est active avant de commencer l'étape de vaporisation. Avec des analytes transformés en halogénures, la condition $d_p^* \leq d_l$ est rarement réalisée (à l'exception du magnésium ou du calcium). Il ne peut pas y avoir condensation homogène des analytes. Cependant, la condition $d_p^* \leq d_l$ est totalement remplie pour le carbone [41]. Les particules de carbone peuvent être libérées du four de graphite pendant l'étape de vaporisation à hautes températures mais elles sont plus particulièrement issues du gaz Fréon (CHF_2Cl). Le gaz est décomposé au début du four et produit un grand nombre de particules de carbone. Ici, il est supposé que ces particules fournissent des emplacements de condensation - par nucléation hétérogène - pour les éléments vaporisés.

2.2. Coagulation et diffusion des particules dans le tube de transfert

Pour un débit d'argon de 1 l.min^{-1} et un tube de transport de 4 millimètres de diamètre, le nombre de Reynolds à 25°C est de $\text{Re} = 370$. Ceci confirme qu'un écoulement laminaire se produit dans le gaz de transport. L'évolution de l'aérosol (distribution de la taille et de la concentration de particules) dans un tube avec un écoulement laminaire peut être rigoureusement décrite par l'équation générale de la dynamique [36]. Elle se compose d'une équation intégral-différentielle partielle non-linéaire complexe, prenant en compte la nucléation, la condensation, la coagulation, la diffusion, la thermophorèse et le transport des particules. Elle n'a pas de solution analytique mais elle peut être simplifiée par quelques hypothèses. On peut supposer que seules les particules de graphite sont présentes dans le four (les molécules de vapeur se condensent sur la surface des particules de carbone) et que le signal analytique sera donc proportionnel à la quantité de particules parvenant au plasma. Dans ces conditions, la croissance des particules par la nucléation et la condensation peuvent être négligées. L'évolution dynamique de l'aérosol entre l'ETV et plasma est réduite à la

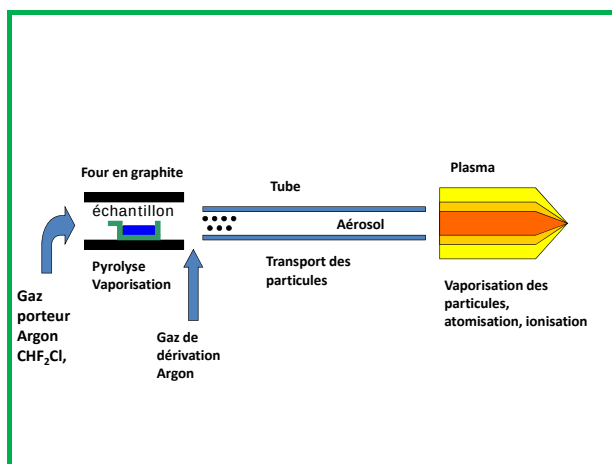


Figure 1a : Principe du couplage ETV-ICP.

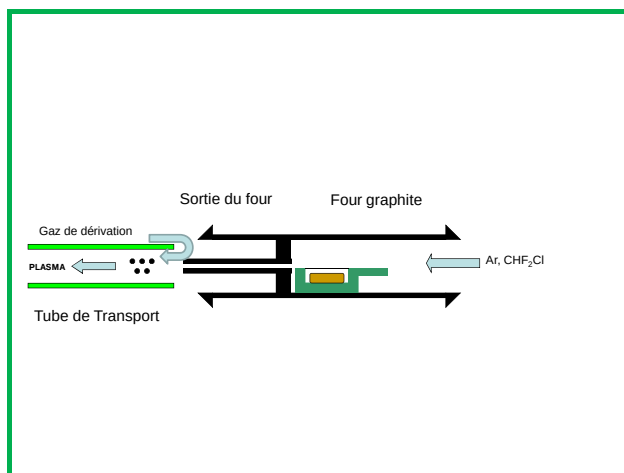


Figure 1b : Détail du système ETV.

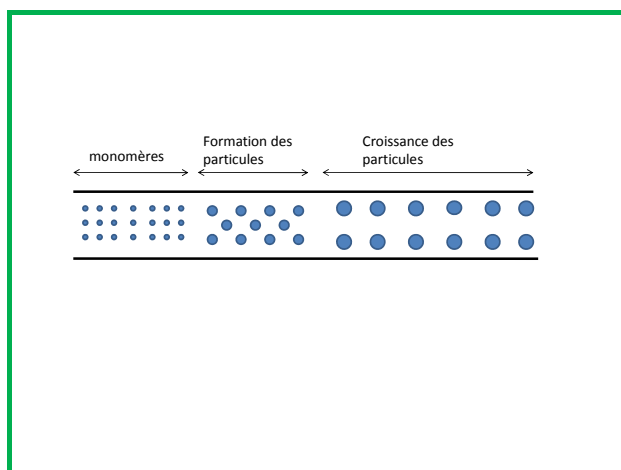


Figure 2 : Formation de l'aérosol dans le cas d'une condensation homogène.

coagulation des particules, à la perte par diffusion et à la thermophorèse. Ce système de modélisation simplifié a été étudié par Alonso et al. [42]. Dans ce système, on assume que des particules sont toutes de taille unique et sphériques. La coagulation est due à la collision entre deux particules et la constante de coagulation K est indépendante de la taille des particules. On suppose également que la perte par diffusion est simplement proportionnelle à la concentration du nombre de particules, avec une constante δ . Avec les considérations ci-dessus, les variations de la concentration de nombre de particules avec le temps peuvent être exprimées par :

$$\frac{dN}{dt} = -\frac{1}{2}KN^2 - \delta N \quad (2)$$

L'intégration de (2) avec comme conditions initiales $N = N_0$ au temps $t = 0$ mène à :

$$N = \frac{N_0 e^{-\delta t}}{1 + \left(\frac{KN_0}{2\delta}\right)(1 - e^{-\delta t})} \quad (3)$$

La pénétration au temps t peut être exprimée par $P(t) = N(t)/N_0$, où $N(t)$ est la concentration de particules de l'aérosol au temps t . La pénétration est donnée par $P = e^{-\delta t}$. Dans ces conditions, l'équation (3) devient :

$$\frac{PN_0}{N} - 1 = \frac{1}{2}KN_0 \frac{(1 - P)}{-\ln P} t \quad (4)$$

N_0 peut être évaluée en fonction du débit de Fréon. Il s'agit du débit d'atome de carbone. K peut être évalué selon Singh et al. [34]. Dans le cas simple où les particules sont d'une dimension uniforme, la pénétration peut être estimée au moyen de l'équation de Gromely-Kennedy. Cette équation exprime P en fonction du paramètre $\beta = Dt/R^2$ avec D : Coefficient de diffusion, t : temps et R : rayon du tube.

$$P = 0.819e^{-3.657\beta} + 0.0975e^{-22.3\beta} + 0.0325e^{-57\beta} \text{ for } \beta \geq 0.0312 \quad (5a)$$

$$P = 1 - 2.56\beta^{\frac{2}{3}} + 1.2\beta + 0.177\beta^{\frac{4}{3}} \text{ for } \beta < 0.0312 \quad (5b)$$

2.3. Thermophorèse

La thermophorèse est le phénomène physique dans lequel les particules d'un aérosol migrent dans la direction de la température décroissante une fois soumises à un gradient thermique et se déposent sur les parois froides (le tube de transfert dans le cas du système ETV-ICP). Les données expérimentales présentées par Grégoire et Sturgeon montrent une diminution exponentielle du dépôt d'analyte en fonction de la distance à l'ETV, le dépôt le plus important se produisant à la sortie de l'ETV [17].

La vitesse de thermophorèse d'une particule sphérique en suspension dans un gaz et soumise à un gradient de température est donnée par :

$$V_{th} = K_{th} v \Delta T / T \quad (6)$$

La vitesse thermophorétique (V_{th}) dépend de la viscosité cinématique (v) du gaz, de la température T , du gradient de la température (ΔT) et d'un coefficient thermophoretique K_{th} . K_{th} peut être estimé selon la littérature spécialisée [43-46]. Pour les particules de moins de 1000 nanomètres, la thermophorèse n'est pas une fonction de la dimension particulaire [45] et peut donc être calculée indépendamment de la coagulation brownienne qui elle est une fonction de dimension particulaire. Les modèles mathématiques décrivant la thermophorèse sont complexes et les solutions numériques prennent du temps. Heureusement, des corrélations semi-empiriques ont été développées pour permettre l'évaluation simple de l'efficacité thermophorétique totale E obtenu dans un écoulement laminaire. Selon Walker et al. [43], le pourcentage des particules qui sont déposées sur les parois d'un tube (efficacité cumulative) est donné par :

$$E = Pr K_{th} \frac{T_g - T_p}{T_p} \quad (7)$$

Pr est le nombre de Prandtl, T_g est la température du gaz et T_p est la température des parois.

3. Résultats de la simulation numérique

3.1. Coagulation dans le four graphite

L'avantage de la simulation mathématique est de pouvoir examiner l'influence des paramètres avec des valeurs diverses, sans expérimentation [46]. Avec la connaissance du

débit du gaz de réaction, N_0 est facilement déterminé. Le Tableau 1 expose les paramètres utilisés pour la simulation numérique. Lors du passage de l'aérosol dans le four, la concentration en nombre de particules diminue très rapidement avec près de l'entrée du réacteur ETV, puis cette diminution est fortement ralentie dans les autres parties du four graphite (Fig. 3).

Une propriété importante de beaucoup de processus particulaires est la distribution dimensionnelle des particules. En effet, beaucoup de résultats expérimentaux et de calculs numériques indiquent que la distribution de la dimension particulaire pendant la coagulation adapte une fonction log-normale [47-48]. Dans le modèle utilisé, on assume que les particules ont une taille unique. Cependant, cette dimension moyenne des particules diminue avec une augmentation du débit du gaz porteur (Fig. 4). La concentration initiale en monomère diminue par dilution. La probabilité des collisions est réduite, menant à la formation de plus petites particules. Les tailles calculées indiquent des diamètres compris entre 40 et 200 nanomètres. Sparks et al. ont examiné la distribution des dimensions de particules d'un échantillon transportée depuis un dispositif ETV [18]. La majorité des particules produites se situaient dans la gamme 100-200 nanomètres. Cette étude a cependant été réalisée sans Fréon.

Si les particules de carbone servent à la condensation des éléments, alors la quantité transportée sera dépendante de la surface disponible. Cette surface ne sera pas identique selon le débit du gaz porteur (Fig. 5). Un débit élevé favorisera une superficie élevée et, donc, une efficacité élevée de condensation pour les analytes.

3.2. Coagulation et thermophorèse simultanée dans le tube de transport

Les variations des deux débits d'argon doivent être étudiées simultanément pour obtenir l'efficacité maximum du transport des particules, et donc, les meilleures conditions de mesure analytique. Ainsi, il est possible de visualiser l'efficacité du transport des éléments vers le plasma en relation avec les conditions gazeuses de l'ETV (Fig. 6). On observe particulièrement une augmentation de l'efficacité du transport pour les très faibles débits de gaz porteur. On peut penser que, les faibles écoulements de gaz porteur favorise un refroidissement élevé de l'aérosol et donc des pertes réduites par thermophorèse. Cependant, ces faibles débits ne favorisent pas non plus une surface élevée pour la condensation. Si l'on considère que la quantité d'analyte transportée est proportionnelle à la surface de condensation disponible, on obtient alors la Figure 7. L'augmentation de la surface de

condensation correspond à un changement crucial de la quantité d'éléments transportée vers l'ICP avec une meilleure efficacité de transport pour les forts débits de gaz porteur qui favorisent la formation de particules fines. On se trouve donc devant deux phénomènes antagonistes.

Le comportement est différent selon le débit de gaz de dérivation. Pour les débits les plus élevés, l'efficacité de transport est accrue (Fig. 8). Le but du gaz de dérivation est bien d'augmenter le taux de refroidissement, pour diminuer les effets de la thermophorèse et il a donc un effet positif sur le transport de l'aérosol [49-52]. Si l'on tient compte de la surface des particules, le comportement est logiquement le même (Fig. 9) mais les meilleurs transports s'obtiennent pour les débits de gaz porteur élevés comme vue précédemment. Avec de faibles débits de gaz porteur, l'effet surface demeure important et une fraction des analytes n'atteint pas le plasma.

Au moyen de cette simulation, l'opérateur peut évaluer les conséquences liées aux changements des conditions opératoires, examiner de manière critique chaque paramètre en termes d'efficacité de transport de l'aérosol et choisir, à priori, les meilleures conditions gazeuses pour l'analyse élémentaire par ETV-ICP-AES. Cependant, cette modélisation numérique ne prend pas en compte les phénomènes qui se produisent dans le plasma. Si les débits de gaz jouent un grand rôle dans la formation de l'aérosol et dans son transport, ils jouent aussi un grand rôle dans le temps de séjour des particules et des analytes dans le plasma et, donc, sur les conditions d'atomisation, d'ionisation et d'excitation. On peut supposer qu'un débit de gaz important transportant une grande quantité de particules entraînera une perte d'énergie dans la partie centrale du plasma avec pour conséquence une baisse de la température et une baisse des intensités analytiques en comparaison de débits de gaz plus modérés.

4. Partie Expérimentale

4.1. Instrumentation

L'instrument ICP-AES utilisé, couplé à l'unité ETV, est un spectromètre Thermo Elemental (Franklin, MA, Etats-Unis) IRIS INTREPID qui offre la possibilité de travailler en vue axiale ou en vue latérale. Ce spectromètre est équipé d'une torche en quartz (diamètre interne de l'injecteur : 2.4 millimètres). La ligne de transfert entre les deux instruments est composée d'un tube de PTFE de 30 centimètres long et de 6 millimètres de diamètre extérieur

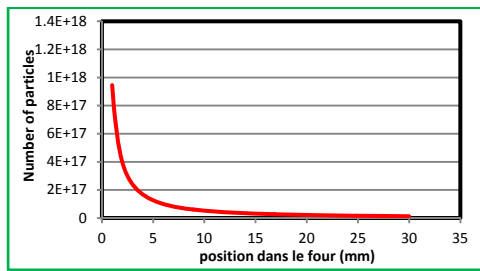


Figure 3: Concentration en particules de l'aérosol selon sa position dans le four (débit gaz d'entrée = 0.1 l min^{-1}).

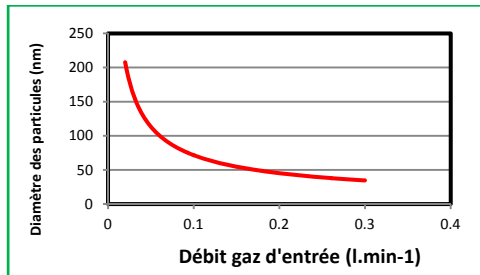


Figure 4 : Diamètre des particules calculé en fonction du débit du gaz d'entrée.

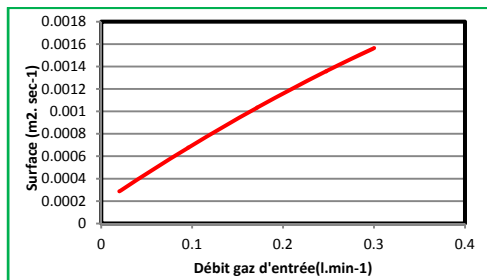


Figure 5 : Surface des particules calculée en fonction du débit du gaz d'entrée.

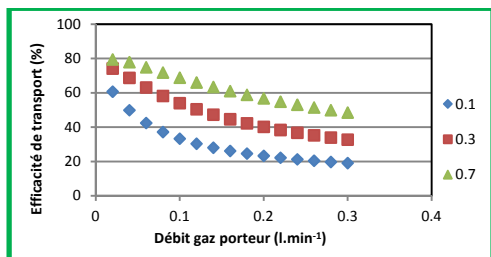


Figure 6 : Efficacité du transport des particules selon le débit du gaz d'entrée pour différents débits du gaz de dérivation (0.1; 0.3 and 0.7 l min⁻¹).

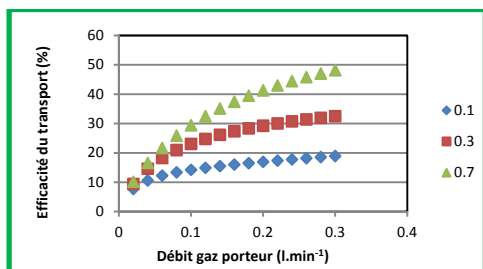


Figure 7 : Efficacité du transport des particules selon le débit du gaz d'entrée pour différents débits du gaz de dérivation (0.1; 0.3 and 0.7 l min⁻¹) et en considérant que cette efficacité est proportionnelle à la surface de condensation des particules.

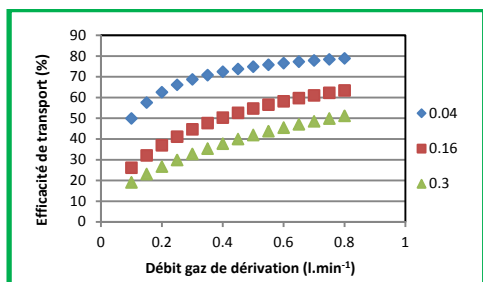


Figure 8 : Efficacité du transport des particules selon le débit du gaz de dérivation pour différents débits du gaz d'entrée (0.04; 0.16 and 0.30 l min⁻¹).

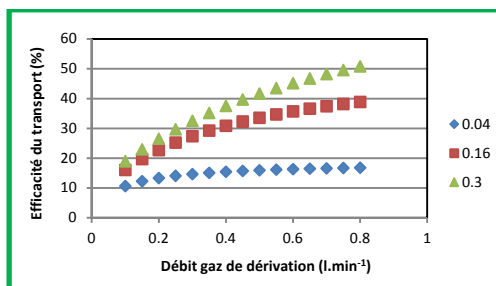


Figure 9 : Efficacité du transport des particules selon le débit du gaz de dérivation pour différents débits du gaz d'entrée (0.04; 0.16 and 0.30 l min⁻¹) et en en considérant que cette efficacité est proportionnelle à la surface de condensation des particules.

Table 1 : paramètres utilisés lors de la simulation.

Freon flow rate (ml min ⁻¹)	2.3
Carrier gas flow rate (l min ⁻¹)	0.02-0.3
Bypass gas flow rate (l min ⁻¹)	0.1-0.8
Furnace length : 30 mm	30
Transport tube lenght (mm)	300
Vaporization Temperature (°C)	1900
Wall Temperature (°C)	25

Table 2 : Conditions opératoires du spectromètre ICP.

Plasma	
Power (kW)	1.35
Argon flow rate (l min ⁻¹)	15
Auxilliary argon flow rate (l min ⁻¹)	1.5
Measured wavelenght (nm)	
Cd	214.4
I	183.0
Si	251.4
Pt	214.4

Table 3 : Programme thermique de l'ETV.

Program step	Temperature (°C)	Ramp (s)	Hold time (s)
pyrolysis I	270	30	60
pyrolysis II	420	30	30
vaporization	1900	15	15
cleaning	2300	2	15
cooling	20	60	10

(4 mm de diamètre intérieur). Les signaux transitoires obtenus sur les échantillons ont été intégrés dans le temps pour fournir les intensités analytiques. Les intensités ont été également mesurées aux côtés de chaque pic pour la correction de fond. Les paramètres de l'ICP-AES et le cycle thermique d'ETV sont récapitulés dans les tableaux 2 et 3 respectivement. Les mesures ont été réalisées selon les cas, en présence ou absence de gaz Fréon, et en présence ou absence d'eau.

4.2. Réactifs

Tous les réactifs utilisés étaient de qualité analytique. Une solution étalon multi-élémentaire contenant 800 $\mu\text{g.l}^{-1}$ de Cd, Cr, Cu, Mo, Ni, Pb et Zn a été préparée en diluant les volumes appropriés de solutions à 1000 mg.l^{-1} disponibles dans le commerce (Merck, Darmstadt, Allemagne) avec de l'eau ultrapure. Pour Pt, la solution étalon initiale contenait aussi 1000 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Pour tous ces éléments, le spectromètre ICP a été employé en visée axiale. Ces solutions ont été acidifiées avec 5% (v/v) de HNO_3 concentré (Baker analysed, Phillipsburg, NJ, Etats-Unis). Pour I et Si, l'ICP a été employée en visée latérale, moins sensible, et des solutions contenant 1000 mg.l^{-1} de chaque élément ont été utilisées.

De la cellulose purifiée a été employée en tant que support aux solutions étalons. La quantité de cellulose pesée dans les plateformes graphitiques était en général de 2 mg. Il a été observé que l'utilisation de la cellulose comme support aux solutions étalon améliore la qualité de l'étalonnage [13] pour l'analyse des végétaux. Pour cette raison, toutes les investigations sont menées systématiquement avec de la cellulose (sauf indication du contraire). Des parties aliquotes des solutions étalons (μl 10) ont été ajoutées manuellement sur la cellulose avec une micropipette. Chaque détermination s'est composée de trois répétitions des mesures des échantillons et le résultat a été pris pour être la moyenne.

5. Résultats expérimentaux et discussion

5.1. Etude des débits d'argon

L'influence des deux débits d'argon sur les intensités spectrales des éléments a constitué la première étude. Les réponses obtenues pour le Cd sont illustrées dans les Figures 10 et 11. Des résultats comparables ont été obtenus pour les autres éléments. Les écarts type relatifs obtenus sur des mesures pour cet élément variaient entre 2 et 5%.

Il peut être observé que sans écoulement de gaz porteur, il n'est pas possible de transporter les éléments à la sortie du four. Un écoulement croissant de gaz porteur correspond, dans un premier temps, à une augmentation importante des quantités d'éléments transportées dans l'ICP. Cependant, au-dessus d'un débit d'argon d'environ 0.1 l.min^{-1} , un renversement de tendance se produit avec un affaiblissement du signal analytique d'émission, suggérant que le gaz porteur provoque soit un effet thermophorétique sur les particules d'aérosol plus important que celui prévu par la simulation numérique, soit une modification des conditions d'atomisation, d'ionisation et d'excitation dans le plasma.

En ce qui concerne le gaz de dérivation, les plus faibles débits conduisent aussi à l'affaiblissement des intensités spectrales comme prévu par la modélisation (Fig. 11). Ce comportement est lié à un temps de séjour plus grand de l'aérosol dans le tube de transfert et à un plus fort gradient de température. Cependant, on observe également un effet dépressif sur les intensités spectrales pour des valeurs élevées du débit de ce gaz. Cet effet pourrait être assigné au temps de séjour des espèces d'analyte dans le plasma indiquant une dégradation des états d'ionisation/excitation. La température de la zone centrale du plasma dépend fortement du débit du gaz injecté dans la torche [53]. Une quantité de carbone est également présente avec les analytes, et sa vaporisation dans le plasma peut consommer une part considérable de l'énergie disponible, réduisant sa température [54-55].

Les deux courbes obtenues ont une forme de cloche montrant, à chaque fois, deux effets antagonistes. Le gaz porteur joue un rôle sur la surface disponible pour la condensation des éléments et sur la thermophorèse. Le gaz de dérivation accélère le refroidissement du gaz porteur et augmente ainsi l'efficacité de transport de l'aérosol. Inversement, il provoque un temps de séjour de l'aérosol dans le plasma plus court, qui affecte les propriétés du plasma lui-même et diminue le signal analytique. Ces effets peuvent être résumés par la Figure 12.

5.2. Etude du débit de Fréon

L'influence du gaz Fréon (à débit de 2.3 ml.min^{-1}) a été réalisée sur des éléments qui présentent des propriétés physiques et chimiques différentes, deux métaux (Pt et Cd), un métalloïde (Si) et un non-métal (I). Pour les éléments plutôt réfractaires (Pt et Si), la présence du Fréon est bénéfique et augmente l'intensité des signaux analytiques d'un facteur compris entre 2 et 3 (Fig.13). Des résultats comparables ont été obtenus avec d'autres éléments réfractaires comme Cr ou Ni.

La présence du gaz Fréon est importante car il contrôle à la fois la volatilité des éléments et la présence de sites de condensation dans l'aérosol. Les points d'ébullition des chlorures et des fluorures de ces éléments sont situés à des températures plus basses que celles des formes métalliques, des oxydes ou des carbures de ces mêmes éléments. Ils sont donc plus facilement vaporisés dans le four graphite. De plus la nature de ce gaz (CHF_2Cl) ajoute de l'hydrogène dans le plasma ce qui améliore ses propriétés thermiques [27,56]. Cependant, les intensités obtenus sans Fréon restent utilisables mais avec une baisse de la sensibilité analytique. Malgré le manque de sites de condensation, il est possible que ces éléments soient transportés après une condensation homogène.

Les éléments volatils (Cd et I) ont un comportement différent et l'absence de Fréon ne modifie pas leur réponse analytique. Pour ces éléments, les radicaux fluor et chlore n'améliorent pas beaucoup leur volatilité et la diminution du nombre de sites de condensation ne semble pas les affecter. Ce fait peut être expliqué soit par une volatilisation à basse température suivie d'une condensation homogène sous une forme métallique (pour Cd), une forme moléculaire (pour I) ou sous la forme d'oxydes, soit par la condensation possible de ces éléments sur des particules formées par l'échantillon lui-même. Le support de l'échantillon est formé de cellulose qui peut fort bien libérer des particules carbonées pendant l'étape de volatilisation.

Pour vérifier cette hypothèse, le signal analytique de deux éléments a été mesuré sur des solutions étalons, avec et sans cellulose, en fonction d'un débit croissant de Fréon. Les résultats, donnés dans la Figure 14, indiquent bien une influence du support qui se substitue au Fréon pour former des particules et un aérosol transportable.

5.3. Etude de la présence d'eau

Pour étudier l'influence de la présence d'eau dans l'aérosol produit par l'unité ETV, un nébulisateur pneumatique a été installé sur le tube de transfert à l'aide d'une pièce en forme de T. De l'eau purifiée a été nébulisée à des pressions croissantes. Cette procédure permet de déterminer l'effet progressif d'une augmentation de la quantité d'eau injectée. Sur la Figure 15, obtenue pour le silicium, il apparaît clairement une diminution du signal analytique en fonction de la pression de nébulisation.

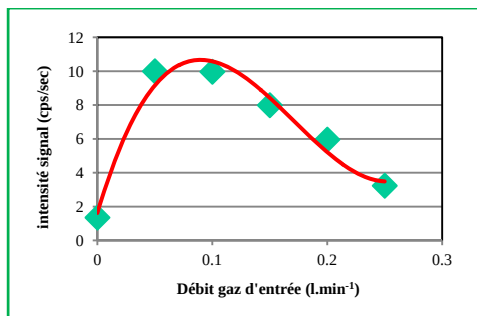


Figure 10 : Intensité du signal du Cd selon le débit du gaz d'entrée (débit gaz de dérivation = 0.3 l min⁻¹).

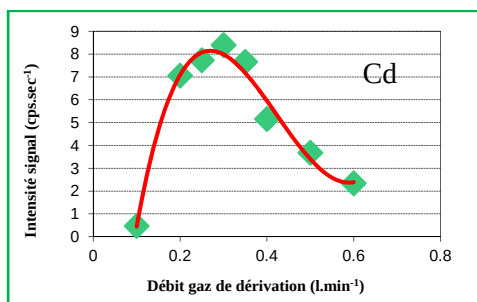


Figure 11 : Intensité du signal du Cd selon le débit du gaz de dérivation (débit gaz d'entrée = 0.1 l min⁻¹).

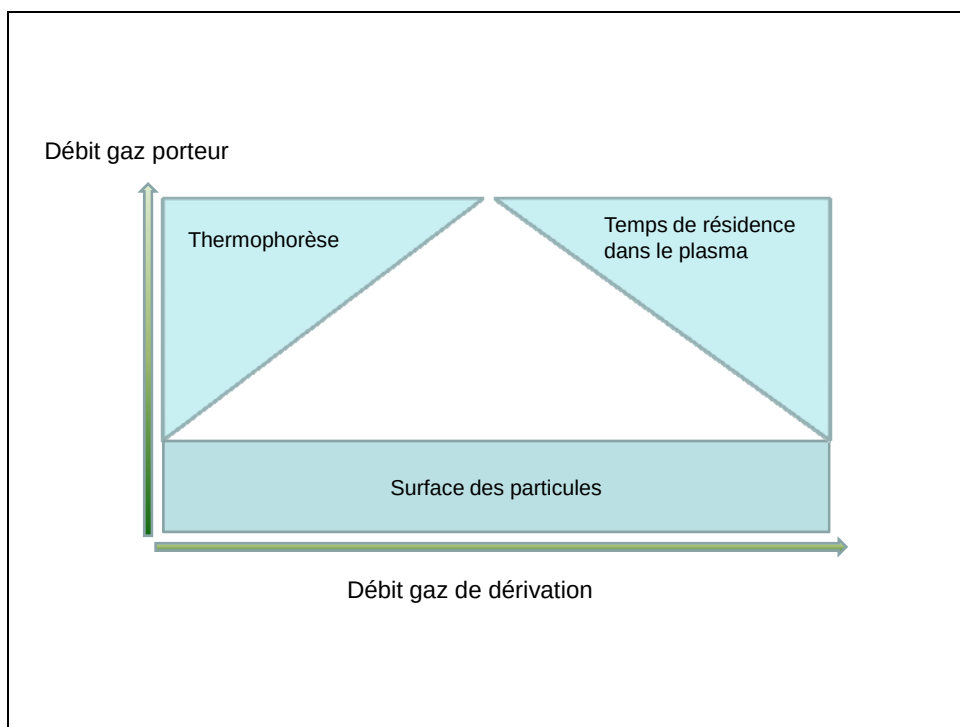


Figure 12 : Résumé des effets générés par les deux gaz de l'ETV.

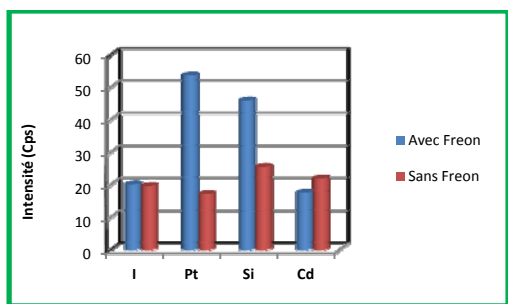


Figure 13 : Influence du Fréon (2.3 ml.min^{-1}) sur le signal analytique de quelques éléments.

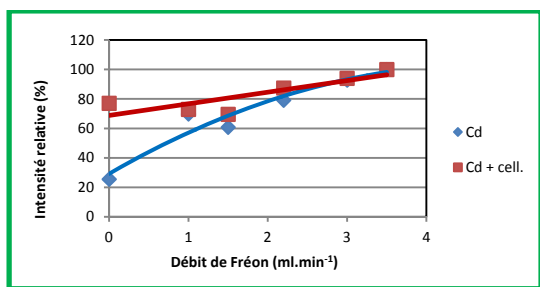


Figure 14 : Influence du débit de Fréon sur le signal analytique de Cd avec et sans support de cellulose.

Sur les figures 16 et 17, l'effet de l'introduction de l'eau dans l'aérosol a été étudié en fonction des débits de gaz porteur et de dérivation de l'ETV. Les intensités mesurées sont celles du silicium, un métalloïde. Les résultats obtenus sur un métal (Pt) et sur un non-métal volatile (I) sont tout à fait similaires. L'introduction d'eau semble avoir une influence négative sur les conditions d'excitation du plasma. La dissociation de l'eau est le phénomène prédominant et absorbe une part importante de l'énergie totale disponible du plasma au détriment de l'énergie disponible pour l'atomisation et l'excitation des éléments analysés. Il doit être noté que l'étude a été effectuée sans gaz de réaction. Pour cette raison, les débits gazeux qui correspondent à une intensité maximum du signal ne sont pas les mêmes que ceux présentés dans la Fig. 11.

De plus faibles températures de plasma sont probablement obtenues. En comparaison, un aérosol sec consommera moins d'énergie et permet d'atteindre des valeurs d'intensités plus élevées. Si l'échantillon se présente en l'absence de solvant, on peut penser que la dissociation des particules puis l'excitation des analytes débute dans le plasma, avec une température plus élevée. De plus, l'addition d'un nouveau gaz dans le tube de transport, via la pression de nébulisation, provoque une augmentation du débit de gaz injecté dans le plasma et donc une dégradation des conditions d'excitation conduisant à la baisse des intensités. Maintenant, il est possible que de l'eau injectée dans l'aérosol directement sous la forme de vapeur (à l'aide d'un dispositif de chauffage) permette une amélioration des performances du spectromètre ICP.

6. Conclusions

Les effets observés sur les intensités spectrales ont été premièrement assignés au transport de l'aérosol. Les gaz porteur et de dérivation dans l'unité ETV, exercent en effet une influence considérable sur les performances du système ETV-ICP-AES. Les deux gaz mentionnés tendent à être interdépendants d'une manière complexe et affectent simultanément le fonctionnement de l'ETV et le fonctionnement du plasma.

Il a été montré qualitativement, avec un modèle de prévision, que la production d'un aérosol fin est favorisée en utilisant un fort taux de refroidissement du gaz porteur, ce qui augmente aussi l'efficacité de transport. Inversement, un débit important de gaz porteur - ou un débit faible de gaz de dérivation - augmente la thermophorèse et limite l'efficacité de transport de l'aérosol entre l'ETV et la torche à plasma.

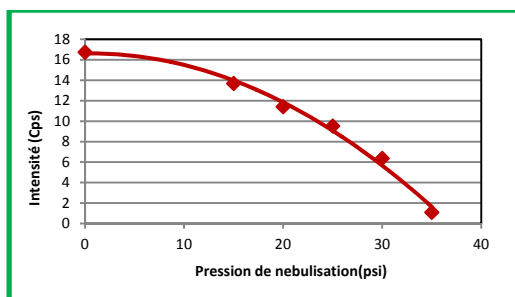


Figure 15 : Influence de la pression de nébulisation sur le signal analytique du silicium dans le cas d'une injection d'eau dans l'aérosol par une nébulisation pneumatique.

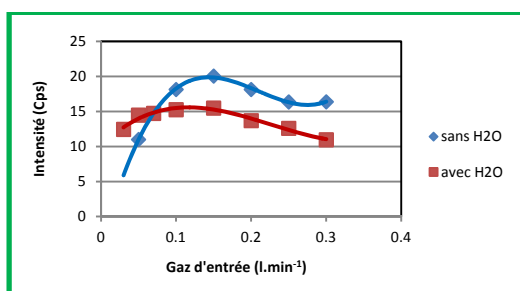


Figure 16 : Intensité du signal de Si (10 µg) selon le débit du gaz d'entrée (débit gaz de dérivation = 0.3 l min⁻¹) et la présence d'eau (15 psi).

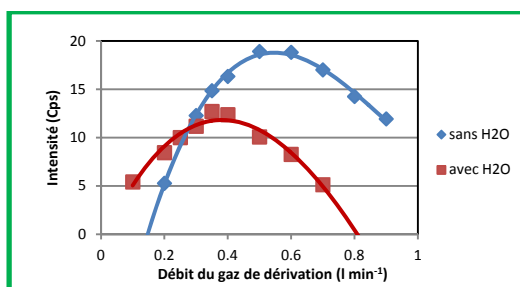


Figure 17 : Intensité du signal de Si (10 µg) selon le débit du gaz de dérivation (débit gaz d'entrée = 0.1 l min⁻¹) et la présence d'eau (15 psi).

Cependant, les taux de refroidissement les plus élevés sont réalisés par grands débits de gaz de dérivation. Cela se traduit par de temps de séjour de l'aérosol dans le plasma plus courts, diminuant l'intensité de signal. Ces effets concurrentiels ont comme conséquence la réalisation d'un compromis entre l'efficacité de la formation de l'aérosol sec, l'efficacité de transport des analytes entre l'unité d'ETV et l'ICP et le temps de séjour des espèces dans le plasma afin d'obtenir les meilleures intensités spectrales pour les éléments analysés.

Enfin, si la présence d'eau dans l'aérosol n'est pas vitale pour les analyses, il est clair, en revanche, que la présence de Fréon améliore grandement le signal analytique des éléments réfractaires en favorisant leur volatilisation et leur condensation.

Références

1. L.K. Olson, N.P. Vela, J.A. Caruso, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 355
2. R.E. Sturgeon, J.W. Lam, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 785
3. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1523
4. M. Resano, E. Garcia-Ruiz, F. Vanhaecke, C. Crespo, M.A. Belarra, *J. Anal. At. Spectrom.*, 19 (2004) 958
5. F. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens, R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 125
6. S. Boonen, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 271
7. Y. Okamoto, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367 (2000) 300
8. Po-Chien Li, Shiuh-Jen Jiang, *Anal. Chem. Acta*, 495 (2003) 143
9. G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Microchem. J.*, 54 (1996) 272
10. K.C. Friese, K.-H. Grobecker, U. Wätjen, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 370 (2001) 499
11. M. Ovari, G. Zaray, J. Hassler, *Microchem. J.*, 73 (2002) 125
12. F. Vanhaecke, M. Resano, L. Moens, *Anal. Bioanal. Chem.*, 374 (2002) 188
13. P. Masson, *Can. J. Anal. Sci. Spect.*, 5 (2005) 268
14. H. Matusiewicz, R.M. Barnes, *Appl. Spect.*, 38 (1984) 745
15. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 143 (1988) 1299
16. T. Kantor, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 58 (2003) 1901
17. D.C. Grégoire, R. E. Sturgeon, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 773
18. C.M. Sparks, J. Holcombe, T. L. Pinkston, *Spectrochim. Acta B*, 48 (1993) 1607
19. J.M. Mermet, *Anal. Chim. Acta*, 250 (1991) 85
20. C. Dubuisson, E. Poussel, J.M. Mermet, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 281
21. L. Gras, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 37

22. I. Novotny, J.C. Farinas, Wan Jia-liang, E. Poussel, J.M. Mermet, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 1517
23. B.L. Caughlin, M.W. Blades, *Spectrochim. Acta B*, 42 (1987) 353
24. J.P. Matousek, J.M. Mermet, *Spectrochim. Acta B*, 48 (1993) 835
25. J.F. Alder, R.M. Bombelka, G.F. Kirkbright, *Spectrochim. Acta B*, 35 (1980) 163
26. S. Nowak, J.A.M. van der Mullen, A.C.A.P. van Lammeren, D.C. Schram, *Spectrochim. Acta B*, 44 (1989) 411
27. Y.Q. Tang, C. Trassy, *Spectrochim. Acta B*, 41 (1986) 143
28. S.E. Long, R.F. Browner, *Spectrochim. Acta B*, 41 (1986) 639
29. S.E. Long, R.F. Browner, *Spectrochim. Acta B*, 43 (1988) 1461
30. P. Masson, A. Vives, D. Orignac, T. Prunet, *J. Anal. At. Spectrom.*, 15 (2000) 543
31. S. Maestre, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1209
32. J. Hassler, A. Detcheva, O. Forster, P.R. Prezl, K. Florian, *Annali di Chimica*, 89 (1999) 827
33. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 431
34. Y. Singh, J.R.N. Javier, S.H. Ehrman, M.H. Magnusson, K. Deppert, *J. Aerosol Sci.*, 33 (2002) 1309
35. S. Panda, S.E. Pratsinis, *Nanostructured Materials*, 5 (1995) 755
36. A. Kalani, P.D. Christofides, *Chem. Engng Sci.*, 54 (1999) 2669
37. J.M. Ren., E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 555
38. J.M. Ren., E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 567
39. D.M. Goltz, D.C. Grégoire, C.L. Chakrabarti, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 1365
40. N. Nonose, N. Matsuda, N. Fudagawa, M. Kubota, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1999) 1551
41. D.R. Lide, *Handbook of Chemistry and Physics*, 71st ed. CRC Press, Boca Raton, 2004-2005
42. M. Alonso, F.J. Alguacil, M.I. Martin, Y. Kousaka, T. Nomura, *J. Aerosol Sci.*, 30 (1999) 1191
43. K. L. Walker, G. M. Homsy, F.T. Geyling, *J. Colloid Interface Sci.*, 69 (1979) 138
44. Jyh-Shyan Lin, Chuen-Jinn Tsai, *J. Aerosol Sci.*, 34 (2003) 569
45. J.K. Walsh, A.W. Weimer, C.M. Hrenya, *J. Aerosol Sci.*, 37 (2006) 715
46. B. Schwade, P. Roth, *J. Aerosol Sci.*, 34 (2003) 339
47. S.H. Park, K.W. Lee, E. Otto, H. Fissan, *J. Aerosol Sci.*, 30 (1999) 3
48. L.B. Kiss, J. Söderlund, G.A. Niklasson, C.G. Granqvist, *Nanostructured Materials*, 12 (1999) 327

49. U. Schäffer, V. Krivan, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 482
50. T. Kantor, S. Güçer, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 763
51. N.G. Berrymann, T.U. Probst, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 783
52. L. Moens, P. Verrept, S. Boonen, F. Vanhaecke, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 463
53. J.A. Horner, G. M. Hieftje, *Spectrochim. Acta B*, 53 (1998) 1235
54. K.E.A. Ohlsson, G.M. Hieftje, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 1805
55. G. Grindlay, L. Gras, J. Mora, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 63 (2008) 234
56. P.E. Walters, C.A. Barnardt, *Spectrochim. Acta B*, 43 (1988) 325

3^{ème} Partie

Développements et applications de la vaporisation électrothermique couplée à la spectrométrie d'émission atomique ICP pour l'analyse élémentaire directe dans les végétaux

Ce chapitre décrit l'ensemble des développements et des applications mis en œuvre avec l'ETV pour l'analyse élémentaire dans les végétaux. Il se compose de plusieurs parties distinctes : quatre articles publiés entre 2005 et 2011, un article soumis en 2014 et de deux études non publiées traitant, l'une des effets de matrice pendant l'analyse des végétaux, l'autre des sources de variabilités et des incertitudes de mesure.

Détermination des éléments en trace dans les végétaux par couplage vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission par plasma inductif à haute fréquence

Résumé

Une méthode couplant la vaporisation électrothermique et un spectromètre d'émission par plasma inductif à haute fréquence simultané par détection CCD a été développée pour la détermination directe de Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni et Pb dans les poudres végétales. Les échantillons ont été pesés dans des nacelles en graphite qui étaient ensuite introduites dans un four cylindrique en graphite chauffé électriquement. Un programme thermique a été construit pour décomposer la partie organique de la matrice à 270°C et 420°C, puis pour vaporiser les éléments jusqu'à 2400°C. Les effets de matrices sont négligeables pour une quantité d'échantillon analysé comprise entre 1 et 2 mg. Mais la méthode était affectée pour des masses d'échantillon supérieures. La méthode a été appliquée à l'analyse d'échantillons de références. Une calibration externe avec des solutions aqueuses déposées sur un support solide constitué de cellulose (et qui simule une matrice végétale) a montré son efficacité. La méthode a montré une bonne justesse dans une gamme de concentrations allant de 0.1 à 50 $\mu\text{g g}^{-1}$ selon les éléments. Cependant, les coefficients de variation obtenus variaient généralement entre 3 et 20% voire 30% et plus. La cause de cette variabilité est principalement l'hétérogénéité des échantillons. Enfin, les limites de détections calculées sont du même ordre de grandeur que celles obtenues pour les liquides avec un nébuliseur concentrique classique.

Determination des Elements en Trace dans les Végétaux par Couplage Vaporisation Electrothermique-Spectrométrie d'Emission par Plasma Inductif à Haute Frequence

Pierre Masson*

Contribution from: USRAVE, Centre de Recherches INRA de Bordeaux, B.P. 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

Received: May 31, 2005

Accepted (in revised form): August 15, 2005

Résumé

Une méthode couplant la vaporisation électrothermique et un spectromètre d'émission par plasma inductif à haute fréquence simultanément par détection CCD a été développée pour la détermination directe de Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni et Pb dans les poudres végétales. Les échantillons étaient pesés dans des nacelles en graphite qui étaient ensuite introduites dans un four cylindrique en graphite chauffé électriquement. Un programme thermique a été construit pour décomposer la partie organique de la matrice à 270°C et 420°C, puis pour vaporiser les éléments jusqu'à 2400°C. Les effets de matrices étaient minimisés entre 1 et 2 mg d'échantillon analysé mais la méthode était affectée pour des quantités d'échantillon supérieures. La méthode a été appliquée à l'analyse d'échantillons de références. Un étalonnage externe avec des solutions aqueuses déposées sur un support solide constitué de cellulose (et qui simule une matrice végétale) a montré son efficacité. La méthode a montré une bonne justesse dans une gamme de concentrations allant de 0.1 à 50 µg/g selon les éléments. Cependant, les coefficients de variation obtenus variaient généralement entre 3 et 20 %, voire 30 % et plus. Les causes de cette variabilité étaient principalement l'hétérogénéité des échantillons. Enfin, les limites de détections calculées étaient du même ordre de grandeur que celles obtenues pour les liquides avec un nébuliseur concentrique classique.

Abstract

A solid sampling electrothermal vaporization method

Dédié à Jean-Michel Mermet à l'occasion de sa dernière conférence

*To whom correspondence should be addressed: masson@ferrade.bordeaux.inra.fr

Volume 50, No. 5, 2005

coupled with simultaneous inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with CCD detector was developed for the determination of Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni and Pb in plant powders. The samples were weighed in graphite cups and loaded into a cylindrical graphite furnace which was heated electrically. A multi-step furnace temperature programme was created to decompose the organic part of the matrix at 270°C and 420°C and, then, to vaporize the elements until 2400°C. Although plasma robustness minimizes matrix effects in the range 1-2 mg, intensity suppression persists for higher sample weight. The applicability of the method was demonstrated by the analysis of reference materials. External calibration with aqueous standard on solid support (cellulose, simulating plant matrix) has proven to be successful. The accuracy was good in the concentration range of 0.1 to 50 µg/g but the precision ranged between 3 and 20 % relative standard deviation and sometimes 30 %. This variability was principally caused by the lack of homogeneity of the samples. The calculated detection limits were in the range of the detection limits obtained on liquid samples with an axial ICP and a classical concentric nebulizer.

Keywords: electrothermal vaporization, inductively coupled plasma, trace elements, plant sample.

Introduction

La détermination des éléments en traces dans les végétaux est couramment utilisée dans les études environnementales. La majorité de ces éléments peuvent être déterminés quantitativement par spectrométrie atomique d'émission par plasma inductif à haute fréquence (ICP-AES) ou par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif à haute fréquence (ICP-MS). Les techniques

ICP fournissent en effet une réponse rapide, sensible et précise en analyse végétale (1,2). Cependant, la grande majorité des appareillages sont équipés de systèmes d'introduction de solutions (nébulisation). Cela impose de convertir les végétaux sous une forme liquide pour les introduire dans le plasma. Cette étape est potentiellement polluante et peut entraîner des pertes d'échantillon. Elle est également consommatrice de temps. De plus, l'efficacité du transport des éléments avec une nébulisation pneumatique classique reste faible (1-2 % de la solution liquide) et limite donc les performances des spectromètres.

La production directe d'un signal analytique à partir d'un échantillon solide permet d'éliminer ces inconvénients. La vaporisation électrothermique (ETV) permet de créer un aérosol directement analysable par les spectromètres à partir d'une poudre (3-7). Il s'agit donc d'un moyen attirant d'introduire l'échantillon pour les méthodes ICP. Le principe consiste à déposer l'échantillon solide dans un four en graphite chauffé électriquement et à analyser les éléments vaporisés de cette manière. La quantité d'échantillon nécessaire est limitée à 1-5 mg. De plus, entre 20 et 80 % des éléments contenus initialement dans l'échantillon parviennent au plasma (8-12). Cet excellent rendement produit *a priori* une diminution significative des limites de détection. Un autre avantage fondamental de l'ETV est que la vaporisation de l'échantillon est séparée dans l'espace et dans le temps des processus d'atomisation, de ionisation et d'émission permettant une optimisation séparée de l'ETV et de l'ICP. Plusieurs applications de l'ETV ont été rapportées telles que l'analyse de polymères (5, 13-16), de céramiques (17-21), d'aliments (13,22,23), d'échantillons biologiques (24-26) et même de solutions (27-28). L'ETV apparaît également appropriée à la détermination des métaux dans les échantillons environnementaux (13-15, 29-33). Cependant, les études menées dans les végétaux concernent un nombre très limité d'éléments.

L'analyse directe sur solide par vaporisation électrothermique possède aussi un certain nombre d'inconvénients qui ne permet pas une utilisation plus généralisée de cette technique. Travailler directement sur le solide suppose la présence de la matrice entière dans le vaporisateur. Les faibles quantités de poudre d'échantillon sont pesées et manipulées difficilement. Un autre problème est l'étalonnage (5,6,22,34). Certains utilisateurs ont adopté les matériaux de référence aux teneurs certifiées (29). D'autres auteurs préfèrent un étalonnage externe à partir d'une gamme classique en

solution aqueuse (13) ou la méthode des ajouts dosés (23,29,32). Les effets de matrice sont aussi souvent cités comme désavantage, spécialement pour les échantillons complexes (22,35-37). Une altération de l'efficacité du transport entre l'ETV et l'ICP est généralement à l'origine d'un changement de signal. Ces effets de matrices varient considérablement en fonction de la composition des échantillons. De plus, il est connu que certains éléments tels que Ca ou Mg (en grandes quantités dans les végétaux) influencent considérablement les caractéristiques du plasma et les signaux analytiques en ICP (38-42). Enfin, la faible précision des résultats est aussi l'un des principaux obstacles à l'utilisation en routine de l'ETV (6,25,32,43).

Les performances des prescriptions d'analyse semblent donc fortement dépendantes à la fois des caractéristiques physico-chimiques de l'échantillon, de sa vaporisation à hautes températures, de l'efficacité du transport des éléments volatilisés de l'ETV à la torche et du comportement de ces éléments dans le plasma. Aussi, notre objectif était d'établir les possibilités du couplage ETV-ICP-AES pour accomplir la détermination simultanée de quelques éléments en trace (Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni et Pb) sur des poudres végétales. Les principaux facteurs qui affectaient la formation des signaux analytiques étaient la température de pyrolyse, la température de vaporisation et la concentration de la matrice. Ces paramètres expérimentaux ont été examinés de façon critique pour assurer un signal maximum pour chaque élément. Étant donné la complexité des échantillons végétaux, plusieurs matériaux présentant des propriétés différentes en terme d'origine, de composition de matrice, de volatilité et de concentrations en éléments ont été sélectionnés. La justesse et la précision des mesures ont été contrôlées ensuite sur des échantillons de référence certifiés. Enfin, les limites de la méthode en termes de sensibilité et de variabilité ont été discutées.

Matériel et Méthodes

Appareillages

Un vaporisateur électrothermique ETV 4000 (Spectral Systems, Fürstfeldbruck, Allemagne) a été utilisé. Cette unité était constituée principalement par un four en graphite en forme de tube supporté par deux électrodes elles-mêmes en graphite et recouvert d'une enceinte refroidie par une circulation d'eau. Le chauffage était assuré par un courant électrique et contrôlé électroniquement, le four pouvant être amené jusqu'à 3000°C. Les échantillons étaient pesés dans des nacelles en graphite

en forme de bateau qui étaient ensuite introduites dans le four à l'aide d'une pince. Pour éviter tout effet mémoire ou pollution, les nacelles ont été nettoyées individuellement avant usage, dans le four graphite, par l'application d'un programme à haute température (2600°C). Le chargement de l'échantillon s'effectuait par l'une des extrémités du dispositif qui était refermée pendant le cycle thermique. Après fermeture de l'extrémité du four, le programme thermique était mis en route. Le programme était constitué de trois étapes : pyrolyse, vaporisation et nettoyage. Pendant le cycle thermique, un premier flux d'argon transférait les vapeurs formées vers la sortie du four. Un gaz de réaction (CHClF_2) était également introduit. La fonction du Fréon était de créer les conditions de formation de composés métal-halogènes facilement volatiles et donc, d'augmenter l'efficacité de la vaporisation et la sensibilité (4,19, 44-47). Une seconde arrivée d'argon froid était située derrière le four, permettant la condensation rapide des vapeurs formées par la vaporisation. L'échantillon était donc transporté dans le plasma sous la forme d'un aérosol sec constitué d'agrégats (48). L'unité était interfacée au spectromètre via in tube de Téflon (30 cm de long, 6 mm de diamètre intérieur). Les conditions opératoires de l'ETV sont résumées dans le Tableau 1.

Le spectromètre ICP-AES utilisé était un IRIS INTREPID à double visée axiale et radiale de Thermo Elemental (Franklin, MA, USA). Les paramètres expérimentaux de l'ICP (Tableau 1) ont été choisis pour obtenir les conditions les plus robustes. C'étaient ceux utilisés quand des solutions minéralisées sont introduites dans le plasma via un nébuliseur ultrasonique. La fenêtre de mesure de l'ICP était celle de l'ultra violet (170 – 238 nm). Les longueurs d'ondes sélectionnées pour chaque élément sont indiquées dans le Tableau 2. Toutes ces raies sont ioniques et donnent les meilleurs résultats quand le spectromètre est couplé avec un nébuliseur ultrasonique (2). Pour les mesures, l'intensité globale de chaque raie était utilisée. Les signaux analytiques étaient transitoires,

Tableau 1. Paramètres expérimentaux de l'ICP et de l'ETV.

ICP-AES	
Puissance (kW)	1.35
Débit d'argon (L/min)	15
Débit d'argon auxiliaire (L/min)	1.0
ETV	
Débit d'argon entrée (L/min)	0.30
Débit d'argon sortie (L/min)	0.15
Débit de Fréon (mL/min)	2.30

Volume 50, No. 5, 2005

Tableau 2. Données spectroscopiques.

Elément	Longueur d'onde (nm)	Atome/Ion (I/II)
Cd	214.438	II
Co	228.616	II
Cr	205.552	II
Cu	224.700	II
Mo	202.030	II
Ni	216.556	II
Pb	220.353	II

conséquence du chauffage brusque de l'échantillon. Les deux instruments -ETV et ICP- étaient synchronisés pour que la vaporisation de tous les éléments soit intégrée à la période de collection des données.

Echantillons et Réactifs

Tous les réactifs utilisés étaient de qualité analytique. Des solutions étalons multiélémentaires (1.6, 0.8, 0.4, 0.2 et 0.1 mg/L) contenant Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni et Pb ont été préparées par dilution adéquate de solutions monoélémentaires Merck Titrisol (Merck, Darmstadt, Germany) dans de l'eau distillée et de l'acide nitrique (5 % v/v).

Un échantillon de contrôle du laboratoire (maïs V463) et des échantillons de référence au teneurs certifiées (CRMs) en provenance de l'IRMM (Institute of Reference Materials and Measurements, Brussels, U.E.) : CRM 279 (laitue de mer), CRM 62 (feuilles d'olivier) et CRM 281 (rye grass) ont été utilisés pour les phases de mises au point. La justesse et la précision de la prescription d'analyse ont également été contrôlées grâce à ces échantillons. Les poudres végétales ont été pesées dans les nacelles de graphite sur une balance Metler AT 261 avec une précision de 0.01 mg. De la cellulose purifiée par un lavage acide (Baker analyzed, Phillipsburg, NJ, USA) a servi de support pour établir les courbes d'étalonnage. L'avantage de la cellulose était de pouvoir simuler une matrice végétale. La cellulose était alors insérée dans des nacelles en graphite et additionnée de 10 µL de chaque solution. Les concentrations finales d'étalon étaient donc respectivement de 16, 8, 4, 2 et 1 ng plus le blanc.

Résultats et Discussion

Etape de pyrolyse

Les matériaux végétaux sont largement organiques et la plus grande partie possible de la matière organique, plus volatile que les éléments analysés, doit être éliminée

pendant une première étape de pyrolyse. Cela évite une surcharge du plasma et des effets de matrice prononcés. Le comportement d'un végétal pendant l'étape de pyrolyse a été étudié en mesurant la perte de masse que subissent plusieurs échantillons de matrices différentes (V463, cellulose, CRMs 281, 279 et 62) à différentes températures dans le four graphite pendant une minute. Les prises d'essais étaient d'environ 5 mg.

La Figure 1 montre les courbes thermogravimétriques obtenues sur les différents échantillons végétaux. Les valeurs rapportées indiquent le rapport entre la masse restante par rapport à la masse initiale. La période de décomposition apparaît entre 150 et 550°C mais la plus grande perte de masse se situe entre 200 et 300°C. Ces courbes sont bien reproductibles entre elles. Il n'existe pas de sérieuses différences dans le comportement thermique de ces matériaux pourtant d'origines diverses. Il est intéressant de noter qu'un échantillon synthétique de cellulose avait le même comportement thermogravimétrique que les poudres végétales. Cependant, cet échantillon présentait une perte de masse limitée jusqu'à 270°C et une pyrolyse presque complète dès 320°C. Cette étude réalisée directement dans les cuvettes en graphite est en accord avec d'autres travaux (31,49-50). Ces études fournissent d'ailleurs d'intéressantes données qui aident à la compréhension de la pyrolyse. La décomposition de la matière organique d'origine végétale est un procédé complexe dans lequel trois phases apparaissent. Une déshydratation entre 70 et 120°C, une décomposition exothermique prononcée entre 200 et 300°C avec pertes gazeuses de CO_2 , H_2O , O_2 , N_2 et, enfin, l'oxydation des

composés les plus résistants entre 400 et 600°C.

La température finale de pyrolyse doit être sélectionnée comme la plus haute température possible qui ne donne lieu à aucune perte de l'élément le plus volatil. La température de pyrolyse peut être donc stoppée à 420°C où approximativement 70% de la matrice ont été éliminés. Pour des températures plus élevées, la décroissance de masse n'évolue pratiquement plus et une situation plus compliquée est rencontrée car la vaporisation d'un élément volatil comme le cadmium devient possible. Il a en effet été rapporté que le signal analytique du Cd diminue si la température de pyrolyse dépasse 500°C (23). Quoiqu'il en soit, il semblait pertinent d'appliquer une rampe de montée en température et de multiplier les étapes de pyrolyse pendant le programme thermique de l'ETV. Dans ces conditions, 270°C et 420°C étaient les deux températures choisies pour construire le programme de pyrolyse de l'ETV.

Par ailleurs, la période de chauffage devait être optimisée en mesurant le taux d'élimination de quelques végétaux (V463, CRM 281) à ces températures, en fonction du temps. Ici aussi, les prises d'essais étaient d'environ 5 mg. La Figure 2(a) montre l'évolution de la perte de masse de ces échantillons à 270°C. Après 60 secondes, aucune perte significative de masse sur les échantillons n'était mesurée. La Figure 2(b) montre l'évolution de la perte de masse à 420°C après un préchauffage de 60 secondes à 270°C. La perte de masse semblait réduite au-delà de 30 secondes.

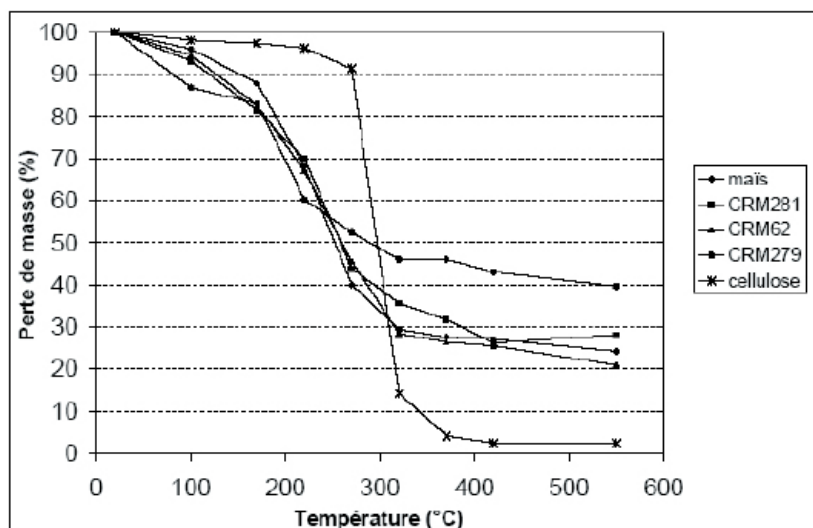


Figure 1 : Evolution de la perte de masse en fonction de la température pour différents végétaux.

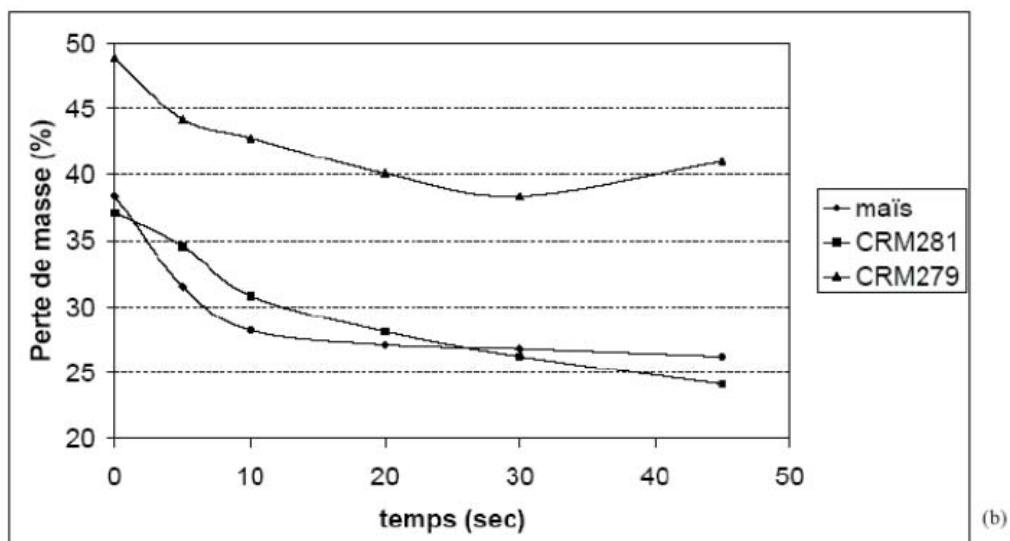
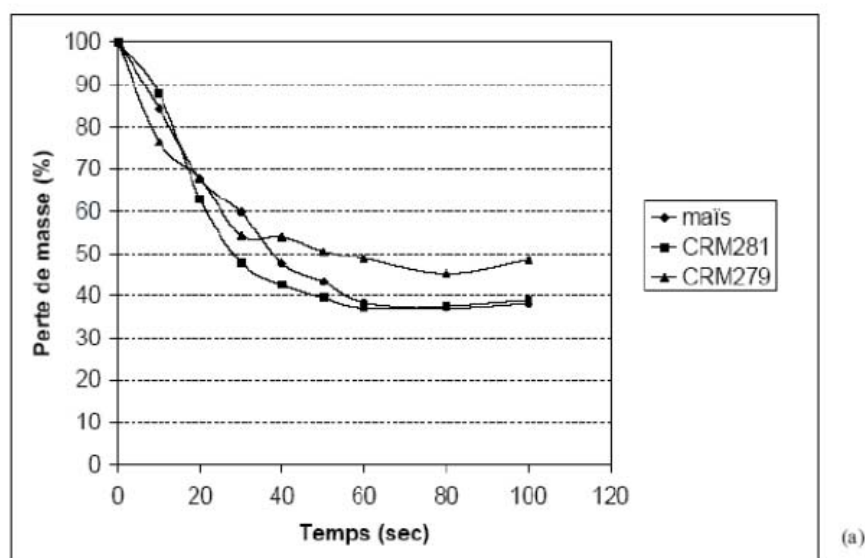


Figure 2. Evolution de la perte de masse en fonction du temps à 270°C (a) et 420°C (b).

Étape de vaporisation

Cette étape implique des réactions dans la phase solide et dans la phase gazeuse. Grâce au Fréon, les éléments peuvent être vaporisés à des températures plus faibles que dans une atmosphère d'argon pur. Les points d'ébullition des halogénures formés sont sensiblement inférieurs à celles des carbures ou des oxydes des mêmes métaux (51). L'optimisation de la température du four était donc nécessaire pour assurer les meilleures performances possibles de la méthode. Ici, les signaux analytiques des éléments par unité de masse ont été mesurés en fonction de la température dans la gamme 500-2600°C, l'étape de pyrolyse, définie préalablement, restant constante. Chaque échantillon était constitué d'environ 2 mg de cellulose additionnés de 10 µL de solution étalon à 0.8 mg/L. Cinq répétitions ont été effectuées pour chaque température et la moyenne a été reportée pour construire les courbes.

La Figure 3 montre l'évolution de l'intensité des métaux étudiés en fonction de la température. Elle indique un comportement similaire pour tous les éléments. Les signaux analytiques augmentaient graduellement avec la température, en particulier à partir de 800°C. En effet, c'est à partir de 750°C que le gaz halogéné influençait la vaporisation, les métaux de transition se volatilisant jusqu'à 1800-2000°C. Certains métaux montrent aussi une volatilisation en deux étapes (Ni, Co, Cr et Cu), la première entre 800 et 1200°C, la suivante à partir de

1400°C. Les intensités semblaient se stabiliser vers 1800-2000°C. Les intensités de Cr et Mo semblaient stables à partir de 1600°C. Ces éléments sont pourtant connus pour être réfractaires et formés des carbures. Aucune augmentation n'apparaissait au dessus de 2000°C sauf pour Cr (2200°C) et curieusement pour Pb (2600°C). Cet élément est connu pour être très volatil. Il s'agissait peut-être d'un effet mémoire des nacelles.

Le développement d'un programme de montée en température pour l'ETV est compliqué quand le but est la détermination multiélémentaire. La température doit être la plus faible possible pour éviter des dommages au four. Cependant, de hautes températures sont requises pour la vaporisation complète des éléments possédant un point d'ébullition élevé. Un compromis a été trouvé pour permettre une vaporisation efficace de ces éléments avec des volatilités différentes : 1900°C a été choisi comme premier palier de vaporisation suivi d'une étape à 2400°C pour les éléments les plus réfractaires. Le Tableau 3 décrit le programme thermique final.

Effets de matrice

Une des données les plus intéressantes à connaître en ETV-ICP-AES est la relation entre l'intensité du signal analytique et la masse de l'échantillon. Le protocole suivant a été utilisé. Les intensités des éléments étudiés ont été mesurées avec cinq répétitions sur plusieurs échantillons (V463, CRM 281 et CRM 279) en fonction

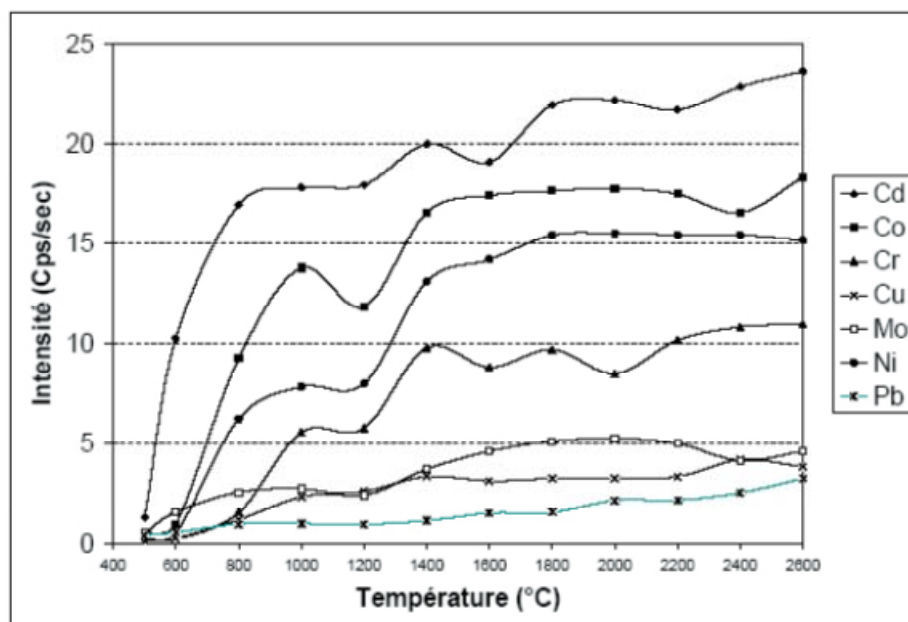


Figure 3. Evolution l'intensité des éléments étudiés en fonction de la température. Etude sur cellulose additionnée de solution étalon (8 ng pour chaque élément).

Tableau 3. Cycle thermique de l'ETV.

Etape	Temps (sec)	Température (°C)
début	0	20
séchage	30	270
pyrolyse	90	270
pyrolyse	120	420
pyrolyse	150	420
vaporisation	165	1900
vaporisation	180	1900
nettoyage	182	2400
nettoyage	197	2400
refroidissement	257	20

de prises d'essais croissantes de 1 à 3 mg. Les mesures ont été rapportées à l'unité de masse et comparé aux intensités mesurées sur 1 mg. Une courbe horizontale indique l'absence d'interférences non spectrales. Une perte d'horizontalité indique une interférence. Les résultats sont présentés dans la Figure 4. L'influence de la matrice végétale dans les conditions de mesures utilisées n'était pas insignifiante. Cette influence était beaucoup plus marquée pour le CRM 281 que pour le maïs. Une baisse d'intensité nette des éléments a ainsi été enregistrée sur le CRM 281 à partir de 2 mg. Il se passait la même chose pour le CRM 279. Par contre, les signaux analytiques apparaissaient moins perturbées par une augmentation de masse de l'échantillon de maïs, à l'exception de Cd, Mo et Pb. Ce type de diminution du signal analytique a été précédemment rapporté dans la littérature. Par exemple, Belarra *et al.* (35) ont obtenu des valeurs de Cd sous-estimées pour des masses supérieures à 2.3 mg dans des boues de stations d'épuration. Quoi qu'il en soit, les résultats obtenus permettaient de déterminer la quantité maximum de matrice tolérable pour la méthode. Des résultats corrects ne semblaient pouvoir être obtenus qu'entre 1 et 2 mg d'échantillon. Pour des prises d'essais plus importantes, la suppression était trop prononcée pour que les mesures soient utilisables.

Dans les végétaux, la vaporisation des éléments majeurs (K, Ca, Mg), présents en fortes concentrations pouvait être la cause majeure des interférences dans le plasma. Il n'était pas possible de vaporiser sélectivement ces éléments avant ou après la période de mesure. Pour vérifier cette hypothèse, les signaux analytiques fournis par de la cellulose additionnée d'un ajout de solution étalon (8 ng par élément) ont été comparés aux signaux issus d'échantillons de cellulose identiques mais additionnée également d'une forte quantité d'éléments

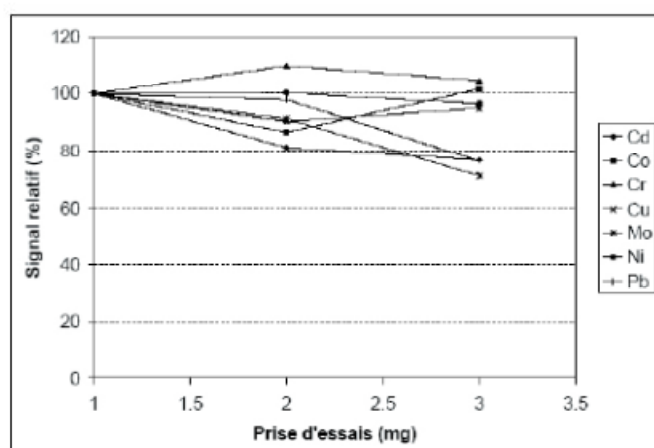
majeurs contenus dans les végétaux (K, Ca, Mg, P). Cet ajout était constitué de 20 µL d'une solution contenant: 400 mg/L K, 100 mg/L Ca, 80 mg/L Mg et 80 mg/L P, soit environ deux fois les concentrations habituelles des végétaux. Les résultats moyens obtenus sur cinq répétitions sont rapportés sur le Tableau 4. Aucune diminution significative des intensités ne peut être observée.

Étalonnage et matériaux de références

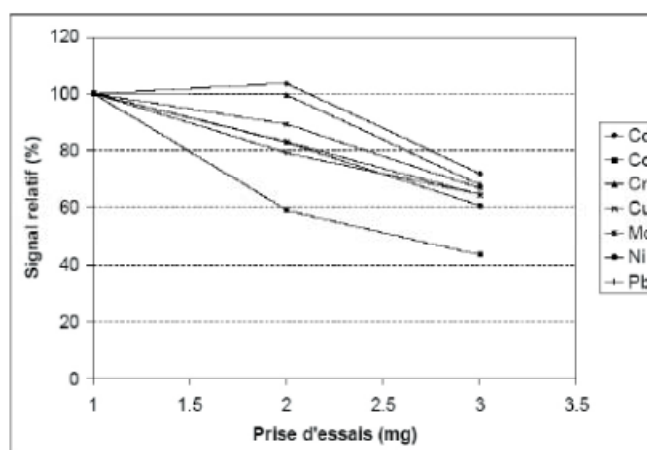
Dans le cas d'un étalonnage externe à partir d'une gamme classique en solution aqueuse, les conditions de vaporisation et de transport des éléments peuvent être différentes entre une poudre et un liquide à cause de leur nature et de leur volume respectif. Cependant, cette méthode reste la plus simple et la plus prometteuse, en particulier si les solutions sont déposées sur un support solide comme la cellulose, simulant un échantillon végétal. Pour tester la pertinence de cette approche, des courbes d'étalonnage ont été établies à partir d'un dépôt de solutions étalons (10 µL) avec et sans cellulose. Les courbes d'étalonnage obtenues étaient linéaires. Chacun de ces étalonnages a été ensuite utilisé pour analyser l'échantillon de rye grass CRM 281 avec cinq répétitions.

Les moyennes obtenues (Tableau 5) montrent que, quelque soit le procédé d'étalonnage, les valeurs étaient similaires pour Co et Cu. Par contre, il apparaît clairement un comportement différent pour les autres éléments. Un étalonnage sans cellulose conduisait à une surestimation des concentrations en Cd, Cr, Mo et Pb ainsi qu'à une sous-estimation des concentrations en Ni. Pour Cd, Cr, Mo et Pb, la cellulose permet d'obtenir un signal analytique supérieur sur les points de la gamme. Il est possible que la cellulose participe à la formation des agrégats de l'aérosol à la sortie du four. Certains éléments trouvent là un support favorable pour leur condensation et l'efficacité de leur transport vers le plasma s'en trouve augmenté. En ce qui concerne le nickel, le phénomène produit est difficile à expliquer. Quoi qu'il en soit, ces résultats suffisent pour conclure sur la pertinence de notre stratégie d'étalonnage avec cellulose.

L'efficacité de la méthode ETV-ICP-AES a ensuite été testée par l'analyse d'autres échantillons aux teneurs certifiées. Les matériaux de références sont indispensables dans l'évaluation des méthodes analytiques. Cinq répétitions ont été effectuées et les résultats donnés dans le Tableau 6 sont la moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation. Dans l'ensemble, les résultats analytiques obtenus sont justes et donc en accord avec la quantité d'élément introduit dans l'ETV. Il n'y a pas



(a)



(b)

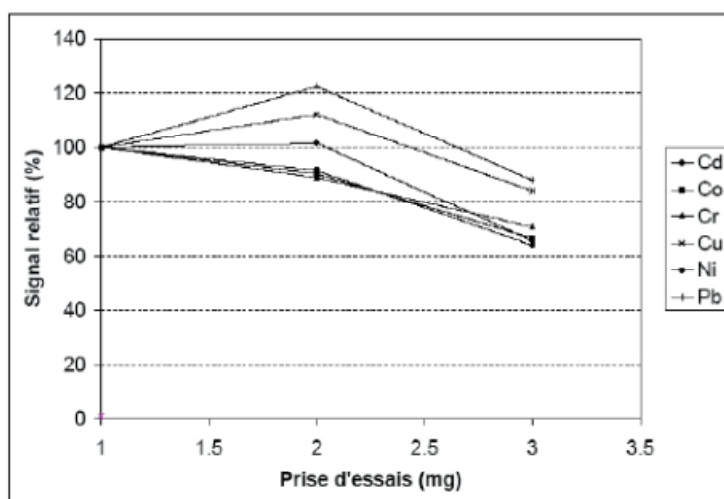


Figure 4. Effet de la quantité d'échantillon analysée sur le signal des éléments pour (a) le V463; (b) le CRM281; (c) le CRM279.

(c)

Tableau 4. Influence des éléments majeurs (K: 8 µg, Ca: 2 µg, Mg: 1.6 µg et P: 1.6 µg) sur l'intensité des éléments en traces.

Elément	intensité sans ajout (cps/sec)	intensité avec ajout (cps/sec)
Cd	12.23	16.97
Co	27.67	25.36
Cr	8.24	8.37
Mo	6.11	5.99
Ni	7.05	6.94
Pb	2.69	2.55

de différences significatives entre les valeurs obtenues et les valeurs certifiées en considérant l'intervalle de confiance à 95 % (2 écart types). Ces résultats montrent que l'efficacité du procédé de vaporisation est le même pour toutes les matrices. Cependant, quelques cas demandent une attention spéciale. Les déterminations de Pb sont compliquées par l'apparition d'une interférence spectrale due au cuivre. Elle est particulièrement visible sur le spectre du CRM62 (riche en cuivre). Pour cet échantillon, les résultats sont fortement surestimés. Pour l'échantillon CRM 279, les valeurs en chrome et cuivre sont bien en deçà des concentrations attendues. Les échantillons marins présentent toujours des matrices très complexes (matière organique, sels minéraux) ce qui les rend difficile à analyser. Il est possible d'ajouter un modificateur chimique pour rendre la partie organique de la matrice plus volatile pendant la pyrolyse (8,23,52). Ici, les analyses du chrome et du cuivre ont été fortement améliorées par l'ajout de 20 µL d'acide nitrique concentré dans les nacelles avant la pyrolyse. L'acide nitrique est un oxydant puissant qui permet une micro minéralisation en voie humide in situ. Inversement, cet ajout d'acide nitrique n'a pas amélioré les résultats sur le CRM 281. C'est également une source de pollution potentielle.

Si les concentrations sont en accord avec les valeurs certifiées, elles sont accompagnées par des coefficients de variation compris généralement entre 3 et 20 % mais qui peuvent atteindre plus de 30 %. Cette large incertitude est un problème bien connu de la vaporisation électrothermique. Les coefficients de variations de 10 à 20 % sont habituels et des valeurs comprises entre 30 et 40 % ne sont pas rares (6,32,43). Ces forts coefficients de variations n'étaient pas indicatifs d'un défaut de la méthode mais du manque d'homogénéité des échantillons en poudre devant les faibles prises d'essais. Les

échantillons végétaux sont constitués de nombreuses phases solides qui présentent des propriétés chimiques (matières organiques et minérales), physiques (densité) et morphologiques (forme et taille) différentes qui doivent être prise en compte quand l'homogénéité et, par conséquent, la précision des analyses obtenue est concernée. Pour augmenter la précision, il semble donc nécessaire de réduire significativement la taille des particules solides. Cela nécessite l'utilisation de broyeurs capables de fournir une poudre très fine avec un haut degré d'homogénéité.

Limites de détection

Les limites de détection, les plus faibles concentrations qui peuvent être détectées en étant statistiquement différente du blanc, étaient définies comme trois fois l'écart-type de la détermination du blanc ce qui correspond à un niveau de confiance de 99.8 %. Les limites de détections ont été déterminées à partir des différentes mesures des blancs effectuées lors des analyses quantitatives. Elles sont réunies dans le Tableau 7 et comparées à celles obtenues en utilisant des nébuliseurs pneumatique et ultrasonique (calculées en µg/g pour une prise d'essais de 1 g d'échantillon digéré dans 100 mL). Les valeurs obtenues sont du même ordre de grandeur que celles calculées pour un nébuliseur pneumatique concentrique classique. Une amélioration spectaculaire de ces limites avec l'ETV était attendue. Il faut reconnaître que ce n'était pas le cas ici. L'ETV conduisait à un signal transitoire qu'il fallait intégrer pendant un temps assez long (100 sec.). Cette période était cinq fois supérieure au temps de mesure utilisé pendant l'analyse en continu des solutions (20 sec.). Il en résultait un bruit de fond supérieur, avec pour conséquence des limites de détection un peu décevantes.

Tableau 5. Résultats ($\mu\text{g/g}$) obtenus sur le CRM281 (rye-grass) pour deux modes d'étalonnage (avec et sans cellulose).

	Cd	Co	Cr	Cu	Mo	Ni	Pb
sans cellulose							
moyenne (n=5)	0.060	0.134	2.38	8.77	1.42	0.680	4.24
écart type (n=5)	0.012	0.023	0.67	0.67	0.13	0.540	0.57
C. V. %	20.0	17.2	28.2	7.6	9.2	79.6	13.4
avec cellulose							
moyenne (n=5)	0.094	0.137	1.86	8.61	0.85	2.77	3.32
écart type (n=5)	0.021	0.022	0.34	0.39	0.04	0.36	0.37
C. V. %	22.3	16.3	18.4	4.5	5.0	12.9	11.0
valeur certifiée	0.120 ± 0.003	$[0.117]^*$	2.14 ± 0.12	9.65 ± 0.38	0.84 ± 0.06	3.00 ± 0.17	2.38 ± 0.11

* La valeur entre parenthèses n'est pas certifiée.

Tableau 6. Résultats ($\mu\text{g/g}$) obtenus sur le CRM62 (feuilles d'olivier) et le CRM279 (laitue de mer) sans ajout de HNO_3 et sur le CRM281 (rye-grass) et le CRM279 (laitue de mer) avec un ajout de $20 \mu\text{L}$ de HNO_3 . Les concentrations représentent la moyenne $\pm$ l'écart type (n=5).

	Cd	Co	Cr	Cu	Mo	Ni	Pb
CRM62							
concentration	0.096 ± 0.007	0.15 ± 0.02	1.72 ± 0.64	41.95 ± 1.17	0.217 ± 0.028	1.48 ± 0.51	40.92 ± 1.50
C. V. %	7.3	12.2	37.6	2.8	12.8	34.4	3.7
valeur certifiée	0.100 ± 0.020			46.60 ± 1.80	$[0.200]^*$		25.00 ± 1.50
CRM279							
concentration	0.244 ± 0.020	1.50 ± 0.12	4.64 ± 0.34	4.89 ± 0.72	0.323 ± 0.035	7.25 ± 2.17	12.37 ± 0.62
C. V. %	8.1	8.0	7.3	14.7	10.8	29.9	5.0
valeur certifiée	0.274 ± 0.022		$[10.7]$	13.14 ± 0.037			13.48 ± 0.36
CRM281 avec HNO_3							
concentration	0.102 ± 0.005	0.130 ± 0.034	2.64 ± 0.10	12.03 ± 0.36	0.97 ± 0.11	3.05 ± 0.28	2.59 ± 0.37
C. V. %	5.3	25.6	11.7	3.0	11.2	9.3	14.1
valeur certifiée	0.120 ± 0.003	$[0.117]$	2.14 ± 0.12	9.65 ± 0.38	0.84 ± 0.06	3.00 ± 0.17	2.38 ± 0.11
CRM279 avec HNO_3							
concentration	0.291 ± 0.024	2.43 ± 0.12	10.33 ± 1.80	11.24 ± 1.49	0.371 ± 0.116	13.97 ± 0.63	11.61 ± 0.50
C. V. %	8.2	5.0	17.4	13.2	31.3	4.5	4.3
valeur certifiée	0.274 ± 0.022		$[10.7]$	13.14 ± 0.037			13.48 ± 0.36

* Les valeurs entre parenthèses ne sont pas certifiées mais indicatives.

Tableau 7. Limites de détection (en ng/g) obtenues pour l'ICP avec différents systèmes d'introduction.

	Cd	Co	Cr	Cu	Mo	Ni	Pb
Vaporisation électrothermique	14	27	242	293	136	243	221
Nébulisation ultrasonique	2	4	7		9	12	88
Nébulisation pneumatique	13	55	56	116	76	61	365

Conclusions

Dans l'état actuel des choses et en se basant sur les résultats des échantillons certifiés, il peut être conclu que la méthode est potentiellement juste à condition de soigner la stratégie d'étalonnage et d'éviter les effets de matrice par des prises d'essais trop importantes. Dans de bonnes conditions opératoires, l'efficacité du transport ne doit pas être dépendante de l'élément ou de la matrice analysée. Bien que le système ETV-ICP-AES souffre d'un inconvénient concernant la précision, il offre la possibilité d'une détermination rapide (environ 5 minutes par échantillon) des éléments en traces dans les végétaux. La précision peut éventuellement être améliorée par un broyage approprié. Néanmoins, l'ETV n'est pas encore suffisamment développée pour que toutes les sources d'erreurs soient comprises et qu'une correction appropriée puisse être mise en œuvre. Quoi qu'il en soit, la technique ETV-ICP-AES est une technique valable mais perfectible, appropriée quand la rapidité est plus importante que la précision.

Remerciements

Ce travail de recherches était supporté financièrement par la région Aquitaine (convention 20040309007A).

Références

1. P. Masson, *Spectrochim. Acta Part B*, **54**, 603 (1999).
2. P. Masson P., D. Orignac, A. Vives and T. Prunet, *Anal. Chim. Acta*, **27**, 813 (1999).
3. R.E. Sturgeon and J.W. Lam, *Spectrochim. Acta Part B*, **14**, 785 (1999).
4. T. Kantor, *Spectrochim. Acta Part B*, **56**, 1523 (2001).
5. F. Vanhaecke, M. Resano and L. Moens, *Anal. Bioanal. Chem.*, **374**, 188 (2002).
6. M.A. Belarra, M. Resano, F. Vanhaecke and L. Moens, *Trends Anal. Chem.*, **12**, 828 (2002).
7. L.K. Olson, N.P. Vela and J.A. Caruso, *Spectrochim. Acta Part B*, **50**, 355 (1995).
8. J. Bernhardt, T. Buchkamp, G. Herman and G. Lasnitschka, *Spectrochim. Acta Part B*, **54**, 1821 (1999).
9. J. Bernhardt, T. Buchkamp, G. Herman and G. Lasnitschka, *Spectrochim. Acta Part B*, **55**, 49 (2000).
10. C.M. Sparks, J. Holcombe and T. L. Pinkston, *Spectrochim. Acta Part B*, **48**, 1607 (1993).
11. D.C. Grégoire and R. E. Sturgeon, *Spectrochim. Acta Part B*, **54**, 773 (1999).
12. U. Schäffer, V. Krivan, *Anal. Chem.*, **70**, 482 (1998).
13. M. Resano, E. Garcia-Ruiz, F. Vanhaecke, C. Crespo and M.A. Belarra, *J. Anal. At. Spectrom.*, **19**, 958 (2004).
14. M. Resano, M. Verstraete, F. Vanhaecke, L. Moens, A. van Alphen and E.R. Denoyer, *J. Anal. At. Spectrom.*, **15**, 389 (2000).
15. M.A. Belarra, M. Resano and R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**, 489 (1998).
16. M.A. Belarra, M. Resano, S. Rodriguez, J. Urchaga and J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta Part B*, **54**, 787 (1999).
17. M.C. Wende and J.A.C. Broekaert, *Spectrochim. Acta Part B*, **57**, 1897 (2002).
18. H. Nickel and Z. Zadgorska, *Spectrochim. Acta Part B*, **50**, 527 (1995).
19. J.M. Ren and E.D. Salin, *Spectrochim. Acta Part B*, **49**, 555 (1994).
20. J.M. Ren and E.D. Salin, *Spectrochim. Acta Part B*, **49**, 567 (1994).
21. Peng Tianyou, du Pingwu, Hu Bin and Jiang Zucheng, *Anal. Chim. Acta*, **421**, 75 (2000).
22. R.W. Fonseca, and N.J. Miller-Ihli, *Spectrochim. Acta Part B*, **51**, 1591 (1996).
23. Po-Chien Li and Shih-Jen Jiang, *Anal. Chim. Acta*, **495**, 143 (2003).
24. Y. Okamoto, *Fresen. J. Anal. Chem.*, **367**, 300 (2000).

25. K.C. Friese, K.-H. Grobecker and U. Wätjen, *Fresen. J. Anal. Chem.*, **370**, 499 (2001).
26. M. Ovari, G. Zaray and J. Hassler, *Microchem. J.*, **73**, 125 (2002).
27. J. Comte, P. Bienvenu, E. Brochard, J.M. Fernandez and G. Andreoletti, *J. Anal. At. Spectrom.*, **18**, 702 (2003).
28. B. Fairman and T. Catterick, *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**, 863 (1997).
29. L. Moens, P. Verrept, S. Boonen, F. Vanhaecke and R. Dams, *Spectrochim. Acta Part B*, **50**, 463 (1995).
30. F. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens and R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**, 125 (1997).
31. G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens and R. Dams, *Microchem. J.*, **54**, 272 (1996).
32. S. Boonen, F. Vanhaecke, L. Moens and R. Dams, *Spectrochim. Acta Part B*, **51**, 271 (1996).
33. Yi-Ching Li, Shih-Jen Jiang, Shu-Feng chen, *Anal. Chim. Acta*, **372**, 365 (1998).
34. M. Berglund and D.C. Baxter, *Spectrochim. Acta Part B*, **47**, 1567 (1992).
35. M.A. Belarra, C. Crespo, M.P. Martinez-Garbayo and J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta Part B*, **52**, 1855 (1997).
36. S. Maestre and M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta Part B*, **56**, 1209 (2001).
37. L. Gras and M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta Part B*, **55**, 37 (2000).
38. M. Iglesias, T. Vaculovic, J. Studynkova, E. Pousel and J.-M. Mermet, *Spectrochim. Acta Part B*, **59**, 1841 (2004).
39. M. Stephan, P. Musil, E. Poussel and J.-M. Mermet, *Spectrochim. Acta Part B*, **56**, 443 (2001).
40. I.B. Brenner and A.T. Zander, *Spectrochim. Acta Part B*, **55**, 1195 (2000).
41. I.B. Brenner I.B., A. Le Marchand, C. Daraed and L. Chauvel, *Microchem. J.*, **63**, 344 (1999).
42. G.C.Y. Chan and W.T. Chan, *Spectrochim. Acta Part B*, **58**, 1301 (2003).
43. M.A. Belarra, M. Resano and J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 547 (1999).
44. T. Kantor and S. Güçer, *Spectrochim. Acta Part B*, **54**, 763 (1999).
45. T. Kantor, *Spectrochim. Acta Part B*, **55**, 431 (2000).
46. D.M. Goltz, D.C. Grégoire and C.L. Chakrabarti, *Spectrochim. Acta Part B*, **50**, 1365 (1995).
47. C.D. Skinner and E.D. Salin, *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**, 725 (1997).
48. T. Kantor, *Spectrochim. Acta Part B*, **43**, 1299 (1988).
49. P. Mader, V. Haber and J. Zelinka, *Analisis*, **25**, 175 (1997).
50. G. Galbacs, T. Kantor, L. Moens and R. Dams, *Spectrochim. Acta Part B*, **53**, 1335 (1998).
51. D.R. Lide ed., "Handbook of Chemistry and Physics 71st edition", CRC Press, Boca Raton, USA, 1990.
52. P. Mader, J. Szakova and E. Curdova, *Talanta*, **43**, 521 (1996).

Détermination directe des éléments majeurs dans les échantillons végétaux par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif

Résumé

Ce travail a démontré la capacité de la vaporisation électrothermique à devenir un système valable d'introduction des échantillons solides dans un spectromètre ICP-AES pour l'analyse élémentaire des végétaux. La détermination de Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na et Zn a été étudiée sur des échantillons constitués de poudres végétales. L'obtention de bons résultats pour ces éléments majeurs des plantes a nécessité quelques conditions opératoires particulières. La grande sensibilité de la méthode a rendu obligatoire l'utilisation du spectromètre en visée radiale. Le comportement des éléments pendant la vaporisation a été étudié entre 500 et 2600°C. Un étalonnage externe a été mis en œuvre utilisant un matériau solide (cellulose) dopé par des solutions aqueuses d'étalons. Cependant, les performances de la méthode analytique sont dépendantes des débits du gaz vecteur constitué d'argon. La justesse de la méthode a été testée sur trois échantillons de référence. Les résultats obtenus sont en accord avec les valeurs certifiées. Cependant, K est rarement quantifié à cause de l'excès de sensibilité de la méthode. A partir d'un étalonnage sans cellulose, les concentrations mesurées pour Fe sont sous-estimées et celles de Zn sont surestimées. Les coefficients de variation variaient entre 3 et 23%, et les limites de détection entre 1 et 80 ng g⁻¹ selon l'élément, pour une prise d'essai typique de 2 mg.

Direct determination of major elements in solid plant materials by electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry

Pierre Masson*

USRAVE, Centre de Recherches INRA de Bordeaux, B.P. 81, 33883 Villenave d'Ornon Cedex, France

Received 3 April 2006; received in revised form 13 June 2006; accepted 6 July 2006

Available online 11 September 2006

Abstract

The present work demonstrates the capability of electrothermal vaporization (ETV) to become an important tool of solid sample introduction in ICP-AES for plant sample analysis. Direct determination of Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na and Zn was investigated in powdered plant samples. Obtaining good results for major elements in plant samples was governed by some special operating conditions. The sensitivity of the method necessitated the use of ICP in radial view configuration. The behavior of elements during vaporization was studied between 500 and 2600 °C. External calibration was carried out using solid external (cellulose) spiked with aqueous standard solutions. However, performances of the analytical method were found dependent of argon flow rates. Analytical accuracy of the method was tested in three reference materials. Analytical results agreed with certified values when cellulose was used in calibration. However, K could not be determined because of excessive sensitivity. Without cellulose, it was found that Fe results were underestimated and Zn results overestimated. Relative standard deviations varied from 3 to 23%. Limits of detection varied from 1 to 80 ng g⁻¹ from one element to the other for a typical mass sample of 2 mg.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Electrothermal vaporization; Inductively coupled plasma; Plant sample; Major elements

1. Introduction

Electrothermal vaporization (ETV) is now a well established sample introduction device for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [1]. As the vaporization and the atomization/ionization/excitation of elements were realized in two separate steps, the ETV and ICP operating parameters can be optimized independently. Concerning ICP-AES, robust conditions are generally defined as high RF power and wide internal diameter of the torch injector [2,3]. Concerning ETV working conditions, direct analysis of solid samples requires a specific study of analyte behavior in sample matrix used. The main goal in developing solid sample introduction technique is to separate in time the vaporization of analytes from the vaporization of matrix components but also to achieve

efficient transport of volatilized elements to ionization source [4].

However, working directly with solid samples involves some operational problems. Sample manipulation [4] and calibration [4–9] were considered problematic. Today, recent developments gave us tools to minimize these drawbacks. Different systems, specifically dedicated for this purpose, are now commercially available and make possible multi-element analysis on environmental or biological samples [10–21]. Accurate method for multi-element analysis of some trace elements in plant matrices has been reported recently [10] using ETV and axial view ICP-AES. In this study, cellulose was chosen as support for calibration. In these conditions, transport efficiency did not depend on element in sample matrix or on cellulose.

Now, the intention of the present work was to demonstrate the capability of solid sampling ETV-ICP to accomplish the simultaneous determination of major elements (Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na and Zn) in plant materials. These elements are essential in plant development. Creating a rapid method to measure those in plant samples will be welcome for agronomic

* Tel.: +33 5 57 12 24 05; fax: +33 5 57 12 23 99.

E-mail address: masson@bordeaux.inra.fr.

studies. Determination of some major elements (Cu, Fe Mn) in plant samples using ETV was rarely reported. Therefore, literature on this subject concerns especially atomic absorption spectrometry [16,22–25]. However, in the case of ICP analysis, the concentrations of these elements encountered in plant samples (at the g kg^{-1} level) required some adaptations in comparison with trace elements analysis. Sensitivity of the method becomes a drawback for these analytes because it is difficult to dilute the samples with ETV. The problem is usually solved by using less sensitive lines. Here, the sensitivity of the method was also decreased with the use of ICP in radial view configuration.

A short study of vaporization temperatures was first carried out. Next, the influence of argon flow rates were studied on signal intensities of analytical elements on cellulose spiked with standard solution and a true plant sample (maize). Finally, accuracy and precision of the whole procedure were controlled on various certified reference materials presenting different properties in terms of origin, matrix composition and concentration range of elements.

2. Experimental

2.1. Apparatus and conditions

An ETV 4000 (Spectral systems, Fürstfeldbruck, Germany) electrothermal vaporizer was used. The ETV 4000 unit is a commercially available system containing graphite-tube furnace, power supply, gas supply, water cooler and autosampler. Graphite sample holders (in boat shape) can be easily and reproducibly loaded into the cylindrical graphite furnace with the aid of a pair of tweezers. After loading the sample, one end of the furnace is closed using a shutter. Operation of the ETV was completely computer controlled. The temperature of various steps of heating program and the time period can be selected. The temperature ranges from room temperature up to about 3000 °C. During the temperature program, argon gas flow rates originating from both end of the graphite tube remove all vapors. Metal ions are transformed into volatile metal halogenides by addition of halogen containing reaction gas (CHClF_2) which was active (2.3 ml min^{-1}) before starting the vaporization step and improve the volatilization of elements [26–30]. In fact, several elements studied form fluoride or chloride compounds which have boiling points at lower temperatures than the corresponding oxide or carbide. For example, the boiling points of Al, AlF_3 and Al_2O_3 are, respectively, 2519 °C, 1276 °C (sublimation) and 3000 °C. The influence of this gaseous modifier was not studied here. Construction designs of the ETV 4000 were reported by Hassler et al. [31].

The simultaneous ICP instrument was a Thermo Elemental (Franklin, MA, USA) dual view IRIS INTREPID ICP-AES spectrometer with CCD detector and equipped with a standard extended torch and a quartz injector tube (2.4 mm i.d.). For this study, the instrument was used with radial view. However, in this configuration, height of measurement was fixed. Operating parameters of the ICP for multi-element measurement were selected in a previous work [10]. They were remained constant in this work and summarized in Table 1 as well as spectral

Table 1
Operating parameters of the ETV atomizer and ICP spectrometer

ETV	
Carrier argon flow rate (l min^{-1})	0.3
Bypass argon flow rate (l min^{-1})	0.1
Freon flow rate (ml min^{-1})	2.3
Sample mass analyzed (mg)	1–5
Plasma	
Power (kW)	1.35
Argon flow rate (l min^{-1})	15
Auxilliary argon flow rate (l min^{-1})	1.5
Measured wavelength (nm)	
Al	396.1
Ca	318.1
Cu	324.7
Fe	238.2
K	766.4
Mg	279.0
Mn	259.3
Na	589.5
Zn	213.8

lines chosen for this study. ETV–ICP produces a transient signal as a consequence of pulsed heating of the ETV. Peak area of the transient signal was integrated over time and was used for data handling. For background correction, intensities were also measured to the sides of each peak. ETV unit was interfaced to the ICP via a 30 cm long and 6 mm internal diameters PTFE tubing. The sample vapors were injected directly into the plasma.

2.2. Reagents and samples

All reagents used were analytical grade. Five multi-element standard solutions containing, respectively, Al (0, 5, 10, 20 and 40 mg l^{-1}), Ca (0, 12.5, 25, 50 and 100 mg l^{-1}), Fe (0, 2, 4, 8 and 16 mg l^{-1}), K (0, 50, 100, 200 and 400 mg l^{-1}), Mg (0, 10, 20, 40 and 80 mg l^{-1}), Mn (0, 2, 4, 8 and 16 mg l^{-1}), Na (0, 5, 10, 20 and 40 mg l^{-1}) and Zn (0, 2, 4, 8 and 16 mg l^{-1}) were prepared by diluting appropriate volumes of 1000 mg l^{-1} commercially available stock solutions (Merck, Darmstadt, Germany) with distilled water. These solutions were acidified by 5% (v/v) of concentrated HNO_3 (Baker analyzed, Phillipsburg, NJ, USA).

Acid washed cellulose (Baker analyzed, Phillipsburg, NJ, USA) and maize sample (entire plant) were the two solid materials used in the investigation. The maize sample is an internal reference material produced in our laboratory. This sample is composed of various maize samples dried, crushed, mixed and stabilized using gamma radiation. This sample is also used to adapt or develop analytical methods for plant samples because it is less expensive than true certified reference materials. Cellulose was used to study the vaporization of elements. Cellulose and maize were used in the investigation of the dependence of the analyte transport efficiencies with the different argon gas flows. The accuracy of the method was ultimately controlled using three types of NIST (National Institute of Standard and Technology, Gaithersburg, MD, USA) standard reference materials

(SRMs): SRM 1568 (rice flour), SRM 1573a (tomato leaves), and SRM 1575a (pine needles).

2.3. Measurements

Before performing measurements, a purification process involving halocarbon assisted thermal purification at 2600 °C was performed on graphite boats. Next, samples were introduced manually into purified graphite boat on a Metler microbalance with a precision of 0.01 mg. The amount of cellulose weighed was typically 2 mg. Aliquots of the standard solutions (10 µl) had been introduced manually on the cellulose powder by means of a micropipette. For other samples, obtained results were divided by corresponding sample mass weighed in order to have comparable values (reported to the mass unit).

During the optimization of the ETV parameters, three replicate measurements of spiked cellulose and maize sample were carried out for each condition investigated. Result was taken to be the mean. Concerning reference materials, every determination consisted of five replicate measurements of samples and results were, in this case, taken to be the mean and standard deviation values to appreciate the precision of the method. Purified cellulose with additions of standard solutions was used to determine calibration curves.

3. Results and discussion

3.1. Vaporization temperatures

Plant materials are largely organic. Pyrolysis step facilitates the removal of matrix prior to the vaporization of analytes. From a chemical point of view, plant samples can be regarded as mixtures of cellulose, hemicelluloses, lignin and several minor components [32]. Optimization of the pyrolysis of plant samples step have been investigated in a previous work [10]. On the contrary, vaporization temperatures established for trace elements analysis were not necessary adapted to the determination of major elements. Elements such as alkali metals or alkaline earth metals could have different behaviors from transition metals ones.

Vaporization involves processes in the solid phase and in the gaseous phase. In any case, it is essential to control the process of vaporization efficiently. The vaporization step of the heating cycle was optimized by measuring element signal intensities generated by cellulose spiked with the medium standard solution as a function of the temperatures. Fig. 1 shows for Al, Ca and Fe the effect of the vaporization temperature on signal intensities. The others elements showed exactly the same behavior. All target elements were vaporized under halocarbon vapors at approximately the same time, in the temperature range of 1400–2000 °C. Temperature above 2300 °C guarantees complete evaporation of elements from the sample. No vaporization temperature below 1400 °C must be used.

No shift of the peak signals appears, suggesting that no compound of lower volatility is formed in the condensed phase. Because the final aim of this investigation was to determine simultaneously all elements, thermal cycle previously optimized

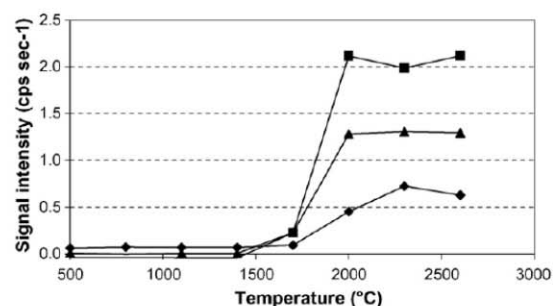


Fig. 1. Effect of the vaporization temperature on signal intensities for Al (◆), Ca (■) and Fe (▲). Matrix = cellulose spiked with 100 ng Al, 250 ng Ca and 40 ng Fe.

for trace elements [10] could be used. The vaporization temperatures selected (1900 and 2400 °C) were high enough for the least volatile analyte. However, direct insertion of more than 5 mg solid sample posed sometimes problems on the stability of the plasma. The presence of significantly larger amounts of matrix constituents could lead to extinguish the plasma. In these conditions, a new step in the heating cycle was introduced at 600 °C to remove the most resistant organic compounds of plant samples [19,33]. The final heating program is given in Table 2.

3.2. Argon gas flow rates

Before and during evaporation process, a mixture of carrier gas (argon) and reaction gas (Freon) is guided through the heating tube and over the sample. Additionally, at the end of the heating-tube and at the front of the transport tube a second argon flow is added named bypass flow [34]. This gas leads to the rapid condensation of the sample vapors. Several works demonstrated the utility of this second argon flow [34–37]. Therefore, the formation of aerosol was explained by Kantor [38] with physical considerations. Next, the total flow of gas carries the aerosol particles into the plasma. It has been demonstrated that the formation of a stable aerosol is required to guarantee transport efficiency of the volatilized analytes from the ETV unit to the ICP torch [38–40]. Therefore, the observation zone was fixed in the radial view ICP used. Position of analytical zone in the plasma was then related to gaseous conditions. From the point of view of maximum available efficiency, the variation of the two argon flow rates must be studied simultaneously to reach the best compromise conditions for multi-element measurement.

For this study, the two mentioned argon flow rates were optimized together with an experimental design. The element signal

Table 2
Thermal cycle of the ETV

Program step	Temperature (°C)	Ramp (s)	Hold time (s)
Pyrolysis I	270	30	60
Pyrolysis II	600	30	30
Vaporization	1900	15	15
Cleaning	2400	2	15
Cooling	20	60	10

Table 3

Effect of carrier and bypass gas flow rates on the emission signal intensities (cps s⁻¹) of some elements (Al, Ca and Fe)

Carrier flow rate (l min ⁻¹)	Bypass gas flow rate (l min ⁻¹)				
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Al					
0.00			0.22		
0.05		4.14		5.20	
0.10	4.65		8.00		5.87
0.15		6.47		7.37	
0.20			5.96		
Ca					
0.00			0.01		
0.05		2.41		3.45	
0.10	2.27		4.26		1.90
0.15		4.57		3.61	
0.20			3.43		
Fe					
0.00			0.02		
0.05		0.92		0.98	
0.10	0.93		0.90		0.56
0.15		1.07		0.64	
0.20			0.79		

Matrix = cullose spiked with 100 ng Al, 250 ng Ca and 40 ng Fe.

intensities generated by cellulose spiked with the medium standard solution were presented in function of the two argon flow rates. The response surfaces obtained for Al, Ca and Fe were illustrated in Table 3. Thus, it is possible to visualize the transport efficiency of element in relation with the gaseous conditions of ETV. Comparable plots were obtained for others elements. The relative standard deviations obtained on measurements for each element varied between 5 and 20%. It can be then noted that signal intensities showed no significant changes for each individual element for bypass gas flow rate included between 0.4 and 0.2 l min⁻¹ and carrier gas flow rate included between 0.05 and 0.20 l min⁻¹. Decay of emission intensities were especially observed only without carrier gas flow rate and, to a certain extent, for the extreme values of bypass argon gas flow rate.

Concerning the carrier gas, it can be expected that without gas flow, no argon was available to transport elements to the exit of the furnace. Increasing carrier gas flow corresponded to significant change in the amount of hot vapor of the sample components mixed with the cold gas behind the vaporization cell and then transported in the ICP torch. For a 0.10 l min⁻¹ bypass flow rate, gravitational settling of aerosol particles can occur along the length of the transfer tube [39,40] and a fraction of analytes did not reach the plasma. For the highest bypass flow rate (0.50 l min⁻¹), the depressive effect observed on spectral line intensities could be assigned to the residence time of the analyte species which decreased in the plasma zone used for observation.

However, for accurate results, experimental domain for optimum signal intensities must be the same for sample and calibration. Transport efficiency of volatilized elements was verified by measuring element signal intensities per mass unit sample on maize sample as a function of the two argon gas flow rates. Response surfaces obtained for Al, Ca and Fe were illustrated in

Table 4

Effect of carrier and bypass gas flow rates on the emission signal intensities (cps s⁻¹) of some elements (Al, Ca and Fe)

Carrier flow rate (l min ⁻¹)	Bypass gas flow rate (l min ⁻¹)				
	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Al					
0.00			2.83		
0.05		3.33		5.49	
0.10	4.90		5.17		5.79
0.15		7.20		5.09	
0.20			5.78		
Ca					
0.00			2.30		
0.05		8.78		9.38	
0.10	7.04		10.66		6.65
0.15		9.91		6.37	
0.20			7.56		
Fe					
0.00			1.33		
0.05		2.40		2.22	
0.10	2.53		2.49		2.01
0.15		2.46		1.87	
0.20			2.43		

Matrix = maize sample.

Table 4. It appeared that, in comparison with spiked cellulose, decay of the emission signals were not significant for the extreme flow rates of bypass argon (0.10 and 0.50 l min⁻¹). This tendency was verified for all elements. It could perhaps be explained by the nature of the sample matrix. In the case of maize sample, aerosol generated was probably transported more easily from ETV unit to the plasma. From analytical point of view, 0.30 and 0.10 l min⁻¹ were chosen for bypass gas flow rate and carrier gas flow rate, respectively, in the next experiments. These values appeared as the best compromise conditions for multi-element measurement.

3.3. Analyze of certified reference materials

On the base of the previous observations obtained with the cellulose sample and the maize powder sample, the analytical method created was employed for plant samples with certified values. For this purpose, the standard reference materials NIST 1568 (rice flour), NIST 1573a (tomato leaves) and NIST 1575a (pine needles) were used. The results obtained were presented in Table 5 and show good agreement between the found values and the certified ones. The calibration with cellulose produced then accurate results, showing that this calibration form was very effective for major elements and trace elements in plant samples [10]. The linearity of the standards was satisfactory for all species ($r^2 > 0.99$).

However, K was not determined in samples. In fact, K is very concentrated in plant samples. Here, the concentration of K is high enough to saturate the optical detector at 766 nm. Usually, the problem can be solved by using another wavelength but the only other wavelength available for K (404 nm) on this spectrometer lacked of sensitivity. This situation was the same for the determination of Ca in NIST 1573a which has very

Table 5

Results ($\mu\text{g g}^{-1}$) for elements in certified plant samples NIST 1575a (pine needles), NIST 1568a (rice flour) and NIST 1573a (tomato leaves)

	Al	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Na	Zn
NIST 1575a								
Mean ($n=5$)	535	2375	2.8	43	1026	485	70	38
S.D.	22	68	0.1	4	21	30	2	2
R.S.D.	4.1	2.9	4.6	8.4	2.0	6.1	3.2	3.9
Certified value	580 $\pm$ 30	2500 $\pm$ 100	2.8 $\pm$ 0.2	46 $\pm$ 2	1060 $\pm$ 170	488 $\pm$ 12	63 $\pm$ 1	38 $\pm$ 2
NIST 1568a								
Mean ($n=5$)	3.9	150	1.4	3.2	730	22.1	7.5	19.4
S.D.	0.9	17	0.8	1.5	112	1.5	1.5	2.3
R.S.D.	23.0	11.3	57.1	47.7	15.3	6.9	20.0	11.9
Certified value	4.4 $\pm$ 1.0	118 $\pm$ 6	2.4 $\pm$ 0.3	7.4 $\pm$ 0.9	560 $\pm$ 20	20 $\pm$ 1.6	6.6 $\pm$ 0.8	19.4 $\pm$ 0.5
NIST 1573a								
Mean ($n=5$)	557		5.46	350	11757	242	146	29.8
S.D.	45		0.54	33		19	5	1.2
R.S.D.	8.1		9.9	9.6		7.9	3.7	4.1
Certified value	598 $\pm$ 12		4.70 $\pm$ 0.14	368 $\pm$ 7	(12000)	246 $\pm$ 8	136 $\pm$ 4	30.9 $\pm$ 0.7

The value in the parentheses is not certified but only indicative. The calibration was carried out with standard solutions on cellulose.

Table 6

Results ($\mu\text{g g}^{-1}$) for elements in the NIST 1575a (pine needles) certified plant sample

	Al	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	Na	Zn
NIST 1575a								
Mean ($n=5$)	567	2680	2.9	27	1088	517	67	47
S.D.	42	128	0.2	4	68	32	5	3
R.S.D.	7.4	4.8	6.9	12.8	6.2	6.1	7.1	6.7
Certified value	580 $\pm$ 30	2500 $\pm$ 100	2.8 $\pm$ 0.2	46 $\pm$ 2	1060 $\pm$ 170	488 $\pm$ 12	63 $\pm$ 1	38 $\pm$ 2

Calibration was carried out against aqueous standard solutions without cellulose. The calibration was carried out with standard solutions without cellulose.

high concentration of Ca (50.5 mg g^{-1}). The relative standard deviations obtained were below 10% for NIST 1573a and NIST 1575a. They appeared sometimes enough high (50%) for the less mineralized sample (NIST 1568a). Obtaining repeatable results in the determination of elements by ICP-AES with ETV as introduction device depends on the homogeneity of samples [41] especially in consideration of the mass weighed (1–3 mg). The rice flour sample was the less mineralized sample. In this case, the results can indicate that the distribution of elements was non-homogeneous through the various particles constituting the sample. However, the precisions obtained for majors elements were better than those obtained for trace elements [10]. No signal suppression was observed indicating that matrix effects are absent under the experimental conditions defined. No obvious memory effect was noticed during the analysis.

When calibration against aqueous standards was used without cellulose the results appeared also good in NIST 1575a (Table 6) except for Fe and Zn. Concerning Zn, overestimated concentration was observed. An explanation was that without cellulose, less organic matter was vaporized at the same time of metal. It results a decrease in the concentration of stable particles formed at the end of the furnace. The concentration of particles in the vapor is insufficient to promote good condensation of Zn atoms on these nuclei transported to the plasma. Concerning Fe, the obtained concentration appeared underestimated. An explana-

tion of this phenomenon was difficult to find. However, the calibration with cellulose produced accurate results, showing that this calibration form was very effective.

3.4. Detection limits

The detection limits of studied elements are given in Table 7. They were obtained from the peak area and three times the standard deviation of the background noise measured with ten replicates of the platform alone empty. The sensitivities attained with ETV-ICP-AES were better than those obtained on solutions with radial ICP equipped with pneumatic nebulization [42].

Table 7

Detection limits (ng g^{-1}) for 2 mg of sample

Element	Detection limit
Al	20
Ca	80
Cu	1
Fe	20
Mg	40
Mn	1
Na	40
Zn	4

4. Conclusions

The determination of major elements with ETV–ICP–AES in plant sample is fairly simple. ETV offers the possibility of in situ sample preparation by selective vaporization of different sample components, using appropriate heating programs. A multi-step furnace temperature program, consisting of a drying step, a pyrolysis step, a vaporization step and finally a high temperature cleaning step is enough to fulfill this requirement. Calibration with cellulose and aqueous standards produced accurate results in good agreement with certified values. The calibration mode suggested that the addition of cellulose as simulated plant matrix has beneficial effect on the similarity between sensitivities established for solid samples and aqueous standard solutions.

However, it was clear that metals contained within the plant must behave not differently than they would have as metals salts present on the outside of cellulose. For this, the two argon flow rates were of vital importance to obtain the best signal intensities for elements. They were responsible of three competitive effects, efficiency of formation of dry aerosol, transport efficiency of analytes between ETV unit and ICP–AES and residence time of the species in the plasma.

To date, the analysis of plant powder samples by electrothermal vaporization is a good alternative to major element detection in digested plant samples. Compared to routine liquid analysis with digestion procedures, the present approach was extremely easy and fast. However, ETV remains an appropriated sample introduction system when the speed with which results are obtained is considered more important than precision. Therefore, elements present in high concentration in the plant sample (K, and sometimes Ca) can produce signal intensities too high for measurement. This last aspect can be considered as the more important limitation of the method.

Acknowledgment

This research was supported by the regional council of Aquitaine with the agreement 20040309007A.

References

- [1] T. Kantor, *Spectrochim. Acta B* 56 (2001) 1523.
- [2] J.M. Mermet, *Anal. Chim. Acta* 250 (1991) 85.
- [3] C. Dubuisson, E. Poussel, J.M. Mermet, *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 281.
- [4] M.A. Belarra, M. Resano, F. Vanhaecke, L. Moens, *Trends Anal. Chem.* 12 (2002) 828.
- [5] F. Vanhaecke, M. Resano, L. Moens, *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 188.
- [6] R.W. Fonseca, N.J. Miller-Ihli, *Spectrochim. Acta B* 51 (1996) 1591.
- [7] L. Moens, P. Verrept, S. Boonen, F. Vanhaecke, R. Dams, *Spectrochim. Acta B* 50 (1995) 463.
- [8] M. Berglund, D.C. Baxter, *Spectrochim. Acta B* 47 (1992) 1567.
- [9] S. Boonen, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Spectrochim. Acta B* 51 (1996) 271.
- [10] P. Masson, *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.* 50 (2005) 268.
- [11] T. Buchkamp, G. Hermann, *Spectrochim. Acta B* 54 (1999) 657.
- [12] M. Resano, E. Garcia-Ruiz, F. Vanhaecke, C. Crespo, M.A. Belarra, *J. Anal. At. Spectrom.* 19 (2004) 958.
- [13] F. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens, R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.* 12 (1997) 125.
- [14] Y.-C. Li, S.-J. Jiang, S.-F. Chen, *Anal. Chim. Acta* 372 (1998) 365.
- [15] S. Boonen, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Spectrochim. Acta B* 51 (1996) 271.
- [16] J. Bernhardt, T. Buchkamp, G. Herman, G. Lasnitschka, *Spectrochim. Acta B* 55 (2000) 449.
- [17] Y. Okamoto, *Fresenius J. Anal. Chem.* 367 (2000) 300.
- [18] P.-C. Li, S.-J. Jiang, *Anal. Chem. Acta* 495 (2003) 143.
- [19] G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Microchem. J.* 54 (1996) 272.
- [20] K.C. Friese, K.-H. Grobecker, U. Wätjen, *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001) 499.
- [21] M. Ovari, G. Zaray, J. Hassler, *Microchem. J.* 73 (2002) 125.
- [22] M.A. Belarra, C. Crespo, M.P. Martínez-Garbayo, J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta B* 52 (1997) 1855.
- [23] M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 489.
- [24] T. Buchkamp, G. Herman, *Spectrochim. Acta B* 54 (1999) 657.
- [25] J. Bernhardt, T. Buchkamp, G. Herman, G. Lasnitschka, *Spectrochim. Acta B* 54 (1999) 1821.
- [26] J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B* 49 (1994) 555.
- [27] J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B* 49 (1994) 567.
- [28] D.M. Goltz, D.C. Grégoire, C.L. Chakrabarti, *Spectrochim. Acta B* 50 (1995) 1365.
- [29] D.R. Lide, *Handbook of Chemistry and Physics*, 71st ed., CRC Press, Boca Raton, 2004–2005.
- [30] T. Kantor, *Spectrochim. Acta B* 55 (2000) 431.
- [31] J. Hassler, A. Detcheva, O. Forster, P.R. Prezl, K. Florian, *Ann. Chim.* 89 (1999) 827.
- [32] G. Varhegyi, M.J. Antal Jr., E. Jakab, P. Szabo, *J. Anal. Appl. Pyrol.* 42 (1997) 73.
- [33] P. Mader, V. Haber, J. Zelinka, *Analyst* 25 (1997) 175.
- [34] T. Kantor, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B* 58 (2003) 1901.
- [35] U. Schäffer, V. Krivan, *Anal. Chem.* 70 (1998) 482.
- [36] T. Kantor, S. Güçer, *Spectrochim. Acta B* 54 (1999) 763.
- [37] N.G. Berrymann, T.U. Probst, *Fresenius J. Anal. Chem.* 355 (1996) 783.
- [38] T. Kantor, *Spectrochim. Acta B* 143 (1988) 1299.
- [39] C.M. Sparks, J. Holcombe, T.L. Pinkston, *Spectrochim. Acta B* 48 (1993) 1607.
- [40] D.C. Grégoire, R.E. Sturgeon, *Spectrochim. Acta B* 54 (1999) 773–786.
- [41] M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 547.
- [42] P. Masson, J.M. Esvan, *Analyst* 23 (1995) 437.

Sources de variabilité des mesures pendant l'analyse élémentaire dans les échantillons végétaux par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif

Résumé

Quand la vaporisation électrothermique (ETV) est utilisée comme système d'introduction des échantillons solides dans un spectromètre d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES) pour la détermination élémentaire, le manque d'homogénéité des faibles prises d'essais (habituellement 1-3mg) cause des grandes variabilités sur les mesures obtenues. Ici, la contribution de la taille des particules de l'échantillon sur la précision a été étudiée pour différents éléments. Pour cela, un échantillon de maïs a été broyé pendant des temps variables avec un broyeur oscillo-vibrant. Les éléments en trace ont été analysés sur les poudres résultantes avec cinq répétitions et le coefficient de variation (CV) obtenu a été discuté en fonction du broyage. Les valeurs de CV étaient proches de 30% sur l'échantillon brut. Les valeurs ont été abaissées sous les 15% après un broyage de 3 minutes. Concernant les éléments majeurs, les précisions obtenues sont clairement meilleures. La corrélation entre variances et concentrations a ensuite été étudiée pour trois échantillons végétaux différents. Dans tous les cas, la distribution des éléments majeurs est plus homogène à travers les différentes particules constitutives des échantillons. L'obtention de résultats répétables en ETV-ICP-AES est donc conditionnée à la représentativité de l'échantillon mais aussi à la concentration de l'élément.

Sources of variability in application of electrothermal vaporization-inductively coupled plasma for plant samples analysis

Abstract

When electrothermal vaporization is used as sample introduction system for elemental determination by inductively coupled plasma methods, the lack of homogeneity of small sample used (1-3 mg) appeared as the main cause of the high variance values obtained. In this paper, the contribution of particle size of the sample into the precision was investigated. For this, a maize sample was ground during various times. Trace elements were analyzed in the resulting powders with five replicates and the relative standard deviations (RSD) were studied in function of the grinding. The RSD values were close to 30 % for the coarse sample. The RSD values were less than 15% in all cases after that the sample was ground during 3 minutes. Concerning major elements, the precisions obtained were clearly better. The relationship between the variance and the concentration of elements was investigated in three different plant samples. In all cases, the distribution of major elements was more homogeneous through the various particles constituting the sample. Obtaining repeatable results in the determination of metals by ETV-ICP-AES in plant samples is then conditioned by the representativity of the sample but also by the concentration of analyte.

Keywords: Electrothermal Vaporization; Inductively Coupled Plasma; Plant Sample; Variability.

1. Introduction

Solid sampling using electrothermal vaporization (ETV) is an alternative and attractive sample introduction system for atomic absorption spectrometry, inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) or inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [1-3]. Solid sampling limits the sample size required, avoids dissolution and dilution steps and reduces the risk of contamination or analyte loss. Numerous applications concerning the determination of metals on various solid matrices have been reported in the literature [4-22]. ETV has shown its relevance especially to obtain fast and accurate results for major and trace elements in plant samples [23-24]. However, for all ETV methods mentioned, the determination of elements is characterized by a large uncertainty. The relative standard deviation (RSD) values reported in the literature are usually between 10 and 20% and values between 30 and 40 % are not uncommon [25].

Different researchers have attributed this poor precision of results to various causes: the weighing and transport of the sample to be atomized; irreproducibility of the position in which the different samples are deposited in the ETV atomizer, which may lead to changes in the atomization process and the non-homogeneity of the sample vaporized [25-27]. With regard to the introduction of solid samples into the graphite furnace, different systems, specifically dedicated for this purpose, are now commercially available which facilitate the step of manipulation. Platforms in a boat form containing the solid samples are easily and reproducibly introduced in the graphite tube, thanks to a stop at its centre [20]. This satisfactorily solves the question of sample introduction. Therefore, according to Belarra et al., it can be claimed that the effect of working with very small samples on the total variance is far more important than any of the other factors [25].

According to Friese et al., the maximum contribution of the ETV method to the RSD is approximately 5% [10]. In these conditions, it seems reasonable to assume that the imprecision obtained in the determination of metals is caused by the lack of homogeneity within the small samples (0.5-3 mg) recommended for analysis [4,12,25,26]. This amount may be too small to be adequately representative of the whole sample. The most obvious solution to solve the problem would be to increase the size of the sample. However, the dimensions of ETV atomizers available do not allow any substantial increase in the amount of sample vaporized beyond 5 mg. Furthermore, matrix effect occurred when more than a specific mass is used [27-29]. Problems may also arise due to the excessive sensitivity of the

technique and analytical signals obtained may be too high for measurement [27]. Another method reported for improving the homogeneity of samples is the reduction of particle size. In this way, the effects due to segregation can be avoided. Belarra et al. have found that the RSD value obtained on Fe concentration in a rice sample decreased from 40% to less than 20% after reduction of particle size [25]. This procedure increases the time needed to obtain results and the risk of contamination.

The aim of the present work was to study the causes of the variability obtained during the direct determination of metals in plant samples by ETV-ICP-AES. Changes in repeatability with sample size were investigated on a maize sample (entire plant). A grinding mill can supply very fine powder for plant sample with a high degree of homogeneity. Grinding, mixing and homogenization were then carried out on this sample at various levels. Next, precisions of results obtained on major and trace elements were investigated according to the characteristics of the powder obtained. Precision of results was also investigated according to the concentration of element of interest. Tomato leaves, pine needles and maize samples were used in this study. The three plant samples chosen had different nature and covered a wide range of concentrations of various elements. In these two ways, the particles size effects and the distribution of metals in the samples were explored and discussed critically.

2. Experimental

2.1. Apparatus and conditions

An ETV 4000 (Spectral systems, Fürstentfeldbruck, Germany) electrothermal vaporizer was used. The ETV 4000 unit is a commercially available system consisting of graphite-tube furnace, power supply, gas supply, water cooler and autosampler. Graphite sample holders (in boat shape) are easily and reproducibly loaded into the cylindrical graphite furnace with the aid of a pair of tweezers. After loading the sample, one end of the furnace is closed using a shutter. The operation of the ETV was completely computer controlled. Construction design and working conditions of the ETV system is reported by Hassler et al [20]. The ICP instrument was a Thermo Elemental (Franklin, MA, USA) dual view IRIS INTREPID ICP-AES spectrometer equipped with a standard extended torch and a quartz injector tube (2.4 mm internal diameter). For this study, the instrument was used with lateral view for major elements and with axial view for trace elements. Operating parameters of ICP-AES for multi-element measurement were summarized in Table 1 as well as spectroscopic

lines chosen for this study. The ETV unit was interfaced to the ICP via a 30 cm long and 6 mm internal diameter PTFE tubing. The sample aerosol was transported directly into the plasma.

2.2. Reagents and samples

All reagents used were analytical grade. For major elements, five multi-element standard solutions containing respectively Al (0, 5, 10, 20 and 40 mg l⁻¹), Ca (0, 12.5, 25, 50 and 100 mg l⁻¹), Fe (0, 2, 4, 8 and 16 mg l⁻¹), K (0, 50, 100, 200 and 400 mg l⁻¹), Mg (0, 10, 20, 40 and 80 mg l⁻¹), Mn (0, 2, 4, 8 and 16 mg l⁻¹), Na (0, 5, 10, 20 and 40 mg l⁻¹) and Zn (0, 2, 4, 8 and 16 mg l⁻¹) were prepared by diluting appropriate volumes of 1000 mg l⁻¹ commercially available stock solutions (Merck, Darmstadt, Germany) with distilled water. Concerning trace elements, five multi-element standard solutions containing respectively 0, 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 mg l⁻¹ of Cd, Co, Cr, Cu, Mo, Ni and Pb were prepared by diluting appropriate volumes of commercially available stock solutions (Merck, Darmstadt, Germany) with distilled water. These solutions were acidified with 5% (v/v) of concentrated HNO₃ (Baker analyzed, Phillipsburg, NJ, USA).

Standard reference materials (SRMs) 1573a (tomato leaves) and 1575a (pine needles) issue from NIST (National Institute of Standard and Technology, Gaithersburg, MD, USA) and maize sample were the three solid materials used in this study. The maize sample is an internal reference material produced in our laboratory. This sample is composed of various maize samples dried, crushed, mixed and stabilized using gamma radiation. The maize sample was ground by a Retsch MM2000 mixer mill. This grinder allowed grinding but also homogenization simultaneously.

2.3. Measurements

ETV-ICP produces a transient signal as a result of pulsed heating of the ETV. Peak area of the transient signal was integrated over time and was used for data handling. Samples were introduced manually into purified graphite boat on a Metler microbalance with a precision of 0.01 mg. For samples, amounts weighed varied between 1 and 3 mg. The obtained peak areas were divided by corresponding sample mass weighed in order to have comparable values (concentration in µg g⁻¹). Every determination consisted of five replicate measurements of samples and results were taken to be the RSD values.

Purified cellulose with additions of standard solutions was used to establish calibration curves. The amount of cellulose weighed was typically 2 mg. Aliquots of the standard solutions (10 µl) had been introduced manually on the cellulose powder by means of a micropipette. The linearity of the standards was satisfactory for all species ($r^2 > 0.99$).

3. Results and discussion

3.1. Sampling study

Four aliquots of about 1 g of maize sample were ground during respectively 1, 2, 3 and 10 minutes. The purpose of this grinding/homogenization of the sample material was to achieve the most uniform possible distribution of all the elements in the sample. The results given in Figure 1 show the relationships between the relative standard deviation obtained for Cd (similar results were obtained for Cr and Ni) and Ca (similar results were obtained for Al and Mn) and the time of grinding of maize sample.

For trace elements (Cd, Cr and Ni), the effect of sample particle size appeared to be an important factor. When the sample remained coarse for analysis, the RSD values were close to 30%. When the sample was ground during 3 minutes, the relative standard deviation was less than 15% in all cases. Next, the precision of measurement on sample was more improved after 10 minutes of grinding but more slightly. Concerning major elements (Al, Ca and Mn), the results obtained were similar to those obtained for trace element and show clear improvement in precision when grinding occurred before measurements. This effect of particle size was verified on other elements. The results given in Table 2 show the RSD values obtained on the initial sample and the RSD values observed when the maize sample was ground during 10 minutes. The RSD obtained with the pulverized samples were in all cases lower than that for the original sample.

From a chemical point of view, plant samples can be regarded as mixtures of cellulose, hemicelluloses, lignin, starch and several minor components [30]. Plant samples consist also of numerous solid phases differing in their chemical, physical and morphological properties. The geometric shapes vary from fibres to isometric compact particles. These large differences in particles shape and density should be taken in account when the homogeneity of these materials and consequently the precision of the analytical results obtained are concerned. The initial maize powder was sieved at 500 µm. After 10 minutes, the resulting particles would pass through a 50-µm sieve.

According to Jackson, a sample should contain at least 1000, but preferably 3000-4000 particles to adequately represent the bulk [31]. This criterion concerns initially soil and sediment samples but it may be applied to plant samples. Assuming an average volumetric mass of 0.4 g cm^{-3} for plant, the minimum sampling of plant (sieved to $500 \text{ }\mu\text{m}$) which should be selected for analysis is 26 mg and the optimum around 100 mg. Inversely, if 2 mg sample mass are introduced in ETV from a uniformly ground plant, the particles can take the size of $130 \text{ }\mu\text{m}$ at the maximum. However, the sample preparation step would be expensive in satisfying this rigorous criterion of representative sampling. The imperfection in homogeneity can be compensated to a certain degree by increasing the dispensed sample mass and the number of replicates measurements. Therefore, the sample preparation step increases the risk of contamination according the chemical composition of the grinding mill. However, the results showed that particle size of plant sample had a significant effect on elemental determinations with ETV-ICP-AES. The precision of measurements could be effectively decreased, especially for the finely ground samples.

3.2. Element distribution

It can be noted from the above results that the precisions obtained on major element determinations were better than those obtained for trace elements. During a previous study, low variability ($\leq 10\%$) was obtained on the determination of major elements in plant samples [24]. It can be expected that, in this case, the distribution of elements are homogeneous through the various particles constituting the sample.

In Figure 2, the relationships between the concentrations of elements in the maize sample and the relative standard deviation obtained on their determinations is shown. The results are given for the initial maize sample and for the maize sample ground during 10 minutes. For the initial maize sample, the variance seems then to be very closely related to the analyte content of the sample, especially concerning the analytes below $10 \text{ }\mu\text{g g}^{-1}$. Next, it was observed a slightly decrease of variability as a function of concentration. For the ground sample, the effect was less pronounced. However, it was also observed a linear decrease of concentration as a function of mass.

This observation was verified for two another plant samples, the reference materials NIST 1573a (tomato leaves) and NIST 1575a (pine needles). The results given in Figures 3&4 exhibited the same behaviour of uncertainties under the working conditions than for the maize

sample. The variance appeared also to be closely related to the analyte content. The relative standard deviations obtained on major elements were below 12% for the tomato leaves material and between 7.5 and 5% for the pine needles material. These values represented the maximum contribution of the method to the coefficient of variation of the results [10]. The RSD values appeared sometimes very high (60%) for the minor elements. The effect was less pronounced for pine needles sample. Tomato leaves and pine needles powders present certainly differences in their particle size. It seemed that the NIST 1575a was the most homogeneous. However, these results indicated a better distribution of major elements in the different particles constituting the powdered samples.

4. Conclusions

The non-homogeneity of plant samples is the principal cause of poor precision of results in the determination of elements by ICP-AES with ETV as introduction device, especially in consideration of the mass weighed (1-3 mg). The effect of sample particle size appeared as the most important factor. From the size of the sample particles, will depend the particular analytical purpose. However, reduction of particle size proves to be valid for obtaining repeatable results in the determination of elements in plant sample. Reducing significantly the size of solid particles by grinding must be accompanied with homogenization to ensure the representativity of the sample. Sample grinding should be undertaken only when justified by a significant improvement in precision. Grinding the specimen may lead to an additional risk of contamination.

References

1. L.K. Olson, N.P. Vela, J.A. Caruso, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 355
2. R.E Sturgeon, J.W. Lam, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 785
3. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1523
4. M. Resano, E. Garcia-Ruiz, F. Vanhaecke, C. Crespo, M.A. Belarra, *J. Anal. At. Spectrom.*, 19 (2004) 958
5. F. Vanhaecke, M. Resano, L. Moens, *Anal. Bioanal. Chem.*, 374 (2002) 188
6. S. Boonen, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 271
7. Y. Okamoto, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367 (2000) 300
8. Po-Chien Li, Shiuh-Jen Jiang, *Anal. Chem. Acta*, 495 (2003) 143
9. G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Microchem. J.*, 54 (1996) 272
10. K.C. Friese, K.-H. Grobecker, U. Wätjen, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 370 (2001) 499

11. M. Ovari, G. Zaray, J. Hassler, *Microchem. J.*, 73 (2002) 125
12. F. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens, R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 125
13. M. Resano, M. Verstraete, F. Vanhaecke, L. Moens, A. van Alphen, E.R. Denoyer, *J. Anal. At. Spectrom.*, 15 (2000) 389
14. J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 567
15. G. Zaray, T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 489
16. Guoqiang Xiang, Zucheng Jiang, Man He, Bin Hu, *Spectrochim. Acta B*, 60 (2005) 1342
17. Jiang Zucheng, Hu Bin, Qin Yongchao, Zeng Yun'e, *Microchem. J.*, 53 (1996) 326
18. J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 555
19. M.C. Wende, J.A.C. Broekaert, *Spectrochim. Acta B*, 57 (2005) 1897
20. J. Hassler, A. Datcheva, O. Forster, P.R. Prezl, K. Florian, *Annali di Chimica* 89 (1999) 827
21. K. Florian, J. Hassler, N. Pliesovska, W. Schron, *Microchem. J.*, 54 (1996) 375
22. A.S. Masquelin A.S., F. Kaveh, A. Asfaw, C.J. Oates, D. Beauchemin, *Geochem. Eplo. Environ. Anal.*, 13 (2013) 11
23. P. Masson, *Can. J. Anal. Sci. Spect.*, 50 (2005) 268
24. P. Masson, *Talanta*, 71 (2007) 1399
25. M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 489
26. M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 547
27. M.A. Belarra, M. Resano, F. Vanhaecke, L. Moens, *Trends in Analytical Chemistry*, 21 (2002) 828
28. M.A. Belarra, M. Resano, S. Rodriguez, J. Urchaga, J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 787
29. M.A. Belarra, C. Crespo, M.P. Martinez-Garbayo, J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta B*, 52 (1997) 1855
30. G. Varhegyi, M. J. Antal Jr, E. Jakab, P. Szabo, *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 42 (1997) 73
31. M.L. Jackson, in *Soil chemical analysis* (ed. M.L. Jackson), 1958, Prentice-Hall, INC, Englewood Cliffs, N.J., USA.

Table 1 : Operating parameters of the ETV atomizer and ICP spectrometer.

ETV	
Carrier argon flow rate (l min ⁻¹)	0.3
Bypass argon flow rate (l min ⁻¹)	0.1
Freon flow rate (ml min ⁻¹)	2.3
sample mass analyzed (mg)	1-5
Plasma	
Power (kW)	1.35
Argon flow rate (l min ⁻¹)	15
Auxilliary argon flow rate (l min ⁻¹)	1.5
Measured wavelenght (nm)	
Al	396.1
Ca	318.1
Mn	259.3
Cd	214.4
Cr	205.5
Ni	216.5

Table 2: Relative standard deviation values obtained on the determination of various elements in maize sample without grinding and after 10 min. of grinding.

	Time of grinding	
	0 min	10 min
major elements		
Al	10.0	7.8
Ca	10.4	3.6
Cu	10.6	8.1
Fe	38.5	6.9
Mn	12.6	3.6
Na	9.8	1.3
Zn	12.8	8.2
trace elements		
Cd	29.6	8.1
Co	13.8	17.0
Cr	35.2	14.1
Mo	24.9	16.2
Ni	31.0	12.0
Pb	10.6	5.2

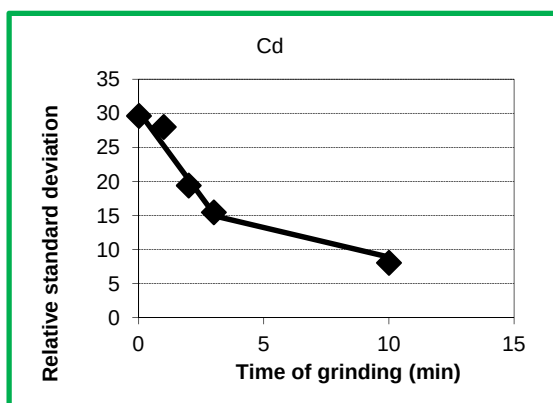
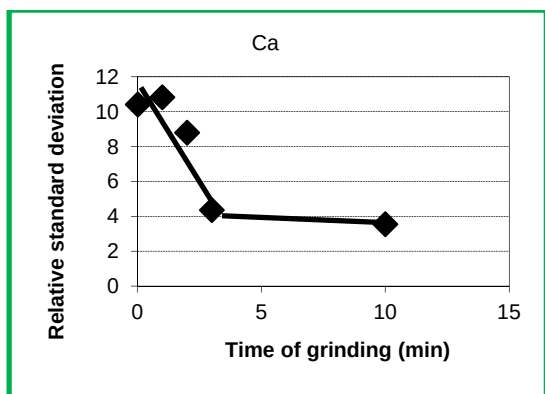


Figure 1: Influence of the grinding time on the relative standard deviation (n=5) of Ca and Cd in maize powder sample.

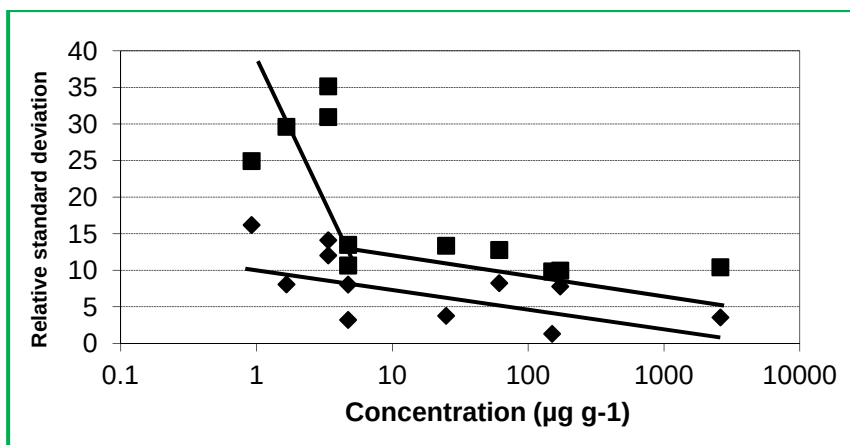


Figure 2 : Influence of element concentration on the analytical relative standard deviations (n=5) in maize sample depending of the grinding conditions. (♦) 10 min. of grinding, (■) no grinding.

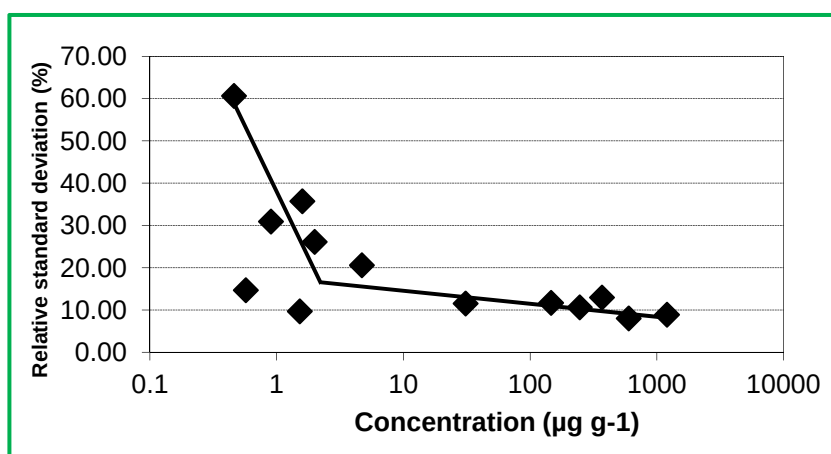


Figure 3: influence of element concentration on the analytical relative standard deviations (n=5) in tomato leaves sample.

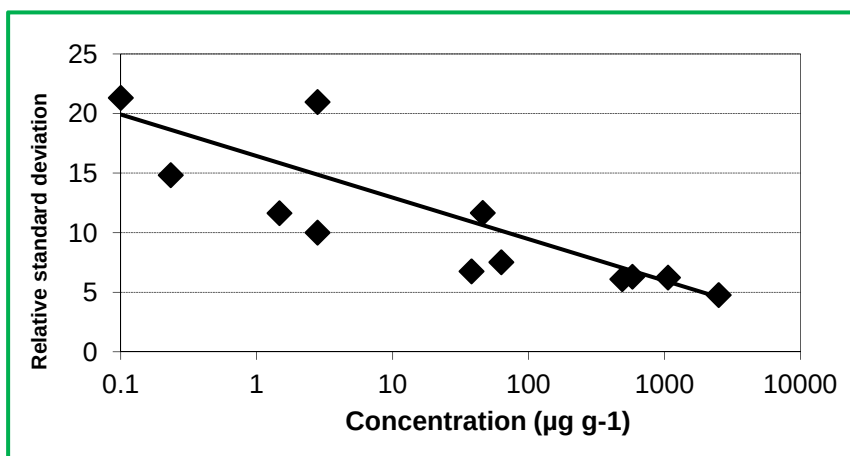


Figure 4: influence of element concentration on the analytical relative standard deviations (n=5) in pine needles sample.

Effets de matrice pendant l'analyse directe des végétaux solides par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif

Résumé

La vaporisation électrothermique (ETV) est un système d'introduction des échantillons solides dans un spectromètre d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP-AES) qui est connu pour souffrir d'effets de matrice importants. L'influence d'une augmentation de la quantité d'échantillon introduite dans l'ETV a été étudiée pour deux échantillons végétaux différents (feuilles de tomates et maïs). Les éléments en trace ont été mesurés avec un spectromètre ICP avec visée axiale. Les éléments majeurs ont été mesurés un spectromètre ICP en visée radiale. Avant la vaporisation, la matière organique a été détruite selon trois méthodes différentes : une pyrolyse à 420°C, une pyrolyse à 600°C et une calcination préalable à 480°C en présence d'oxygène. Les résultats ont montré que la masse d'échantillon affecte significativement les intensités des signaux analytiques des éléments en trace dans les conditions de pyrolyse. Inversement, la masse n'affectait pas les résultats après calcination. L'effet de suppression peut être attribué au refroidissement du plasma par les composants de la matrice dont la quantité augmente avec la masse de l'échantillon. Ces composés se sont pas détruits par la pyrolyse et donc transportés dans le plasma. Le spectromètre ICP-AES en configuration de visée radiale est également moins sensible aux interférences et les éléments majeurs ont pu être mesurés sans inconvénients en conditions de pyrolyse, jusqu'à 4 mg d'échantillon. Cependant, la calcination produit la formation de composés réfractaires de Al et Fe qui ne sont pas évaporés facilement et génèrent une perte dans le four graphite.

Matrix effects during direct plant samples analysis by solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry

Abstract

Electrothermal vaporization (ETV) sample introduction in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) is known to suffer from severe matrix effects. The influence of an increasing amount of sample introduced into ETV was investigated for two plant materials (tomato leaves and maize). Trace elements (Cd, Cr) were measured with axial view ICP-AES. Major elements (Al, Fe) were measured with radial view ICP-AES. Before vaporization, the organic matter was destroyed according three protocols: pyrolysis at 420°C, pyrolysis at 600°C and previous dry ashing at 480°C. The results showed that sample mass affected significantly the signal intensities of trace elements in pyrolysis conditions. Inversely, sample mass did not affect the results when dry ashing occurred. The suppression effect could be attributed to the cooling of the central channel of the plasma by matrix components which increased with mass sample. These compounds were not removed during pyrolysis and were consequently transported in the plasma. The radial view configuration of ICP-AES was less sensitive to interference and major elements were measured without drawback under pyrolysis conditions for masses until 4 mg. However, dry ashing produced the formation of refractory of Al and Fe compounds which were not easily vaporized and generated losses of analytes in graphite furnace.

Keywords: Electrothermal vaporization; Inductively coupled plasma, matrix effects, plant sample.

1. Introduction

Solid sampling using electrothermal vaporization (ETV) is an alternative and attractive sample introduction system for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) or inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [1-3]. Direct production of an analytical signal from a powdered sample offers numerous advantages. Small sample size is required and minimum sample preparation avoids time-consuming dissolution and dilution steps reducing risks of sample contamination. Numerous applications have been reported in the literature, especially concerning biological and environmental samples [4-13]. However, working directly with solids poses some problems. Matrix effects are often cited especially related with complex matrices such as plant samples.

Several authors have reported matrix effects in ETV for various sample types such as polymers or food [14-17]. It was found that the results depend on the mass of sample used. It can result in a significant analytical error for samples introduced in high quantities in the graphite furnace. Alteration in transport efficiencies from ETV to ICP is generally assumed to be the origin of the signal suppression [15,18]. Matrix effects can also be due to changes in the vaporization process of analytes from the sample due to bulk matrix effects [19]. These interferences are specific to the ETV system. However, the amounts of vaporized matrix reaching the plasma could load the plasma considerably resulting in analytical signal suppression [18]. Therefore, matrix components may also interfere with the spectra of the analytes. Studies of ETV have been focused on the transport from the vaporizer to the plasma. There remains an incomplete understanding of matrix effects with regard to excitation conditions in the plasma. To our knowledge, emission intensity changes due to modification of plasma characteristics during ETV sample introduction into ICP have been little studied [20].

Non spectroscopic matrix interferences are commonly observed in ICP-AES when analyzing liquid samples. The alkali and alkaline earth metal elements are known to produce a significant suppression effect on the intensity of lines of high excitation energies for continuous sample introduction [21-23]. It is assumed that interferences result from changes in the excitation conditions in the plasma itself such as electron number density and ionization temperatures. Plant samples usually contain high concentrations of elements such as calcium and potassium. Interferences generated by plant matrices have been reported in axial-view ICP equipped with pneumatic nebulizer and ultrasonic nebulizer and can at times be quite

severe [24-25]. However, it seems that the plasma behaviour is not easily modified by the presence of salts when analysis is carried out with ETV-ICP-AES under dry plasma conditions [19-20]. No significant change was observed in the signals of some trace elements in synthetic plant samples consisting of by cellulose and various concentrations of K, Ca and Mg [26]. According to Zucheng [27], high concentrations (5 mg ml^{-1}) of alkali and alkaline earth elements are tolerable under fluorination conditions.

Matrix effects must be considered and compensated to obtain accurate analytical results. The objective of this study was to evaluate and to understand the mechanisms of matrix effects occurring in ETV-ICP-AES during plant sample analysis. The most interesting data to study matrix effects is the relationship between the signal intensity and the sample mass. The influence of an increasing amount of plant materials was then investigated on the spectroscopic lines intensities of some elements. For this, two different plant matrices (maize and tomato leaves) were used. Trace elements (Cd, Cr) were investigated with axial view configuration [26] and major elements (Al, Fe) were investigated with lateral view configuration [28]. Matrix effects on the analytical method were also measured under various pyrolysis conditions. ETV offers the possibility of in-situ sample preparation using an appropriate heating program with a pyrolysis step that facilitates the removal of matrix, allowing effective vaporization of the analytes before measurement. With organic samples, the matrix is generally more volatile than the analyte. It is necessary to eliminate as much organic compounds as possible during the pyrolysis step to reduce matrix effects [18]. Here, the organic matter of plant samples was destroyed according to three protocols: pyrolysis at 420°C , pyrolysis at 600°C and previous dry ashing at 480°C in a muffle furnace in presence of oxygen. Oxygen can help to remove the matrix at a lower temperature [18].

2. Experimental

2.1. Apparatus and conditions

An ETV 4000 (Spectral systems, Fürstfeldbruck, Germany) electrothermal vaporizer was used. The ETV 4000 unit is a commercially available system containing graphite-tube furnace, power supply, gas supply, water cooler and autosampler. Graphite sample holders (in boat shape) are easily and reproducibly loaded into the cylindrical graphite furnace with the aid of a pair of tweezers. After loading the sample, one end of the furnace is closed using a shutter. The operation of the ETV was completely computer controlled. The temperature of various steps of the heating program and the time period can be selected. The

temperature ranges from room temperature up to about 3000°C. During the temperature cycle, an argon gas flow removes all vapors from the graphite tube. The metal ions are transformed into volatile metal halogenides by addition of halogen containing reaction gas (CHClF_2), which was active (2.3 ml min^{-1}) before starting the vaporization step. The chlorides and fluorides produced were easily vaporized from the graphite furnace because the boiling points of these compounds are much lower than of those carbides or oxides [29-32]. A coolant argon gas flow was introduced downstream of the evaporation tube. Rapid cooling of atoms and formed molecules enhances the formation of stable and transportable aerosol [33-35]. The construction design of the ETV system is reported by Hassler et al [36]. The ETV unit was interfaced to the ICP via 30-cm long and 4-mm internal diameter PTFE tubing. The sample aerosol was transported directly into the plasma.

The simultaneous ICP instrument was a Thermo Elemental (Franklin, MA, USA) dual view IRIS INTREPID ICP-AES spectrometer with CCD detector and equipped with a standard extended torch and a quartz injector tube (2.4 mm internal diameter). The instrument was used in lateral view for the determination of Al and Fe and in axial view for the determination of Cd and Cr. Operating parameters of ICP-AES and ETV for multi-element measurement were selected as in previous works [26,28]. They are summarized in Table 1 as well as the spectroscopic lines chosen for this study. ETV-ICP produces a transient signal issued from pulsed heating of the ETV. Peak area of the transient signal was integrated over time and was used for data processing.

2.2. Reagents and samples

All reagents used were analytical grade. Five multi-element standard solutions containing respectively Al (0, 5, 10, 20 and 40 mg l^{-1}), Fe (0, 2, 4, 8 and 16 mg l^{-1}), Cd (0, 2, 4, 8 and $16 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$) and Cr (0, 2, 4, 8 and 16 mg l^{-1}) were prepared by diluting appropriate volumes of commercially available stock solutions (Merck, Darmstadt, Germany) with distilled water. These solutions were acidified by 5% (v/v) of concentrated HNO_3 (Baker analyzed, Phillipsburg, NJ, USA).

Standard reference materials (SRMs) 1573a (tomato leaves) issue from NIST (National Institute of Standard and Technology, Gaithersburg, MD, USA) and maize sample (entire plant) were the two solid materials used to assess matrix effects. The maize sample is an internal reference material produced in our laboratory. This sample is composed of various

maize samples dried, crushed, mixed and stabilized using gamma radiation. The concentrations (certified values for SRM 1573a, indicative values for maize sample) of the investigated elements are listed in Table 2. Dry ashing at 480°C was obtained by separate thermal pretreatment in a muffle furnace.

2.3. Measurements

Before performing measurements, a purification process involving halocarbon assisted thermal purification at 2600°C was performed on graphite boats. Next, samples were introduced manually into purified graphite boats on a Metler microbalance with a precision of 0.01 mg. For samples, amounts weighed varied between 1 and 5 mg. The obtained results were divided by the corresponding sample mass in order to have comparable values (concentration in $\mu\text{g g}^{-1}$). Every determination consisted of five replicate measurements of samples and results were taken to be the mean values.

Purified cellulose with additions of standard solutions was used to establish calibration curves. The amount of cellulose weighed was typically 2 mg. Aliquots of the standard solutions (10 μl) had been introduced manually on the cellulose powder by means of a micropipette. The linearity of the standards was satisfactory for all species ($r^2 > 0.99$).

3. Results and discussion

3.1. Determination of trace elements

Ideally, for elimination of sample-dependent matrix interference, analyte signal response would be independent of the chemical form of the analyte and independent of the matrix. The results given in Figure 1 exhibit the typical behaviour of Cd (Fig. 1a) and Cr (Fig. 1b) under the working conditions for the tomato leaves sample. With pyrolysis at 420°C, the sample mass strongly affected Cd determination. Underestimated result was already obtained for only 1 mg in tomato leaves. It was necessary to take about 0.5 g of sample to get an acceptable concentration ($1.53 \mu\text{g g}^{-1}$). Next, it was observed a linear decrease of concentration in function of mass. The relative standard deviations obtained on measurements varied between 2 and 13%. The results could then be considered as significant. For Cr, correct results were obtained if a maximum of 2 mg were used and underestimated results are obtained with greater amounts of sample. For Cd, the same behaviour can be observed on maize sample (Fig. 2a) but the measured concentrations were less affected. Accurate results were found until 2 mg. Inversely, mass did not affect the determination of Cr. It appeared that

matrix effects were related to the nature of plant powder. From a chemical point of view, plant samples can be regarded as mixtures of cellulose, hemicelluloses, lignin, starch and several minor components [37]. Tomato leaves and maize samples certainly present differences in their organic matrix composition.

When a pyrolysis step at 600°C was used in the heating cycle, the most resistant organic compounds of plant samples were removed [10,38]. Accurate results were obtained for Cr determinations with up to 4 mg for each sample. However, high variabilities (5-25% for tomato leaves, 2-40% for maize) on the concentrations were sometimes observed. Concerning Cd, severe losses occurred. The situation was complicated because Cd vaporization and matrix vaporization temperatures were similar. This problem was previously reported [39]. When Cd was vaporized alone, it was possible that the concentration of atoms in the vapour state could be insufficient to promote self nucleation or homogeneous condensation [40-41]. In this case, Cd atoms were lost in the cooler parts of the ETV cell and in the transport tube before they can be enter in the argon plasma. For organic matrices, the most widely used approach involves a modifier, such as palladium, which interacts with the analyte to allow higher pyrolysis temperatures without analyte losses [14,18,39]. However, Pd may react with Freon to form volatile halides.

After dry ashing, the sample mass does not significantly affect the concentration obtained for Cd in the two plant samples. Acceptable results were also observed for Cr determinations with up to 5 mg for maize and up to 4 mg of tomato leaves but the obtained concentrations presented high variability (20-40%). However, the matrix interferences were especially observed with a pyrolysis step. The organic part of the plant matrix was then not sufficiently eliminated. It can be expected that changes in transport efficiencies from ETV to ICP [15,18] or in plasma characteristics [18] were at the origin of the signal suppression. In the two cases, aerosol formation influences the analytical sensitivity and the susceptibility to matrix interference.

The primary transport of analytes from the ETV to the ICP is particles [40,42]. Particles are formed after the vaporization of matrix compounds. Condensation of the analyte vapours take place on these stable nuclei, which enhance the transport efficiency of the analytes from the vaporizer into the plasma. It can be expected that an increase in sample mass and vapour concentration results in an increase of the particle concentration or in an

increase of the particle size by coagulation of the finer particles. Through this process, the analytes remained embedded in the particles and were deposited in the tubing by gravitational or streaming forces. Losses of analytes in the transfer tube have been observed previously [33,42-43]. On the other hand, vaporization of higher masses may result in a greater amount of aerosol reaching the plasma. In these conditions, the energy required for particle dissociation was substantial. It may represent a large fraction of the total energy available in the central channel of the plasma. This process was accompanied by a decrease in excitation temperatures resulting in significant signal suppression.

The two explanations were consistent with the fact that matrix is efficiently removed during the ashing step or during pyrolysis at 600°C (for Cr) where more organic matter was eliminated. However, no conclusion can be reached on the relative importance of these mechanisms. To study matrix effect in more detail, an additional experiment has been conducted on major elements with ICP-AES in lateral view configuration. Lateral view ICP-AES is known to be less sensitive to matrix effects occurring in the plasma itself. If the signal suppressions were only due to transport losses, then, the effects on major elements should be the same as on trace elements. If not, then, the effects were due to changes in the plasma characteristics.

3.2. Determination of major elements

The results given in Figure 3 exhibit the relationships between the concentrations of Al and Fe in tomato leaves and sample mass. Within the experimental error (in the range 1-16%), no influence of the increasing amount of plant sample transferred into the plasma was observed with up to 4 mg when pyrolysis at 420°C was used. It can be noted that overestimated Fe concentration was obtained for a mass of 1 mg. This phenomenon has been observed previously [16]. Accurate results were also obtained for Al and Fe with pyrolysis at 600°C but with up to 2 mg. For higher masses, it was observed a linear decrease of concentration in function of mass. No interference was observed for Al with dry ashing of sample. Inversely, underestimated results were obtained for Fe.

As it can be seen in Figure 4, Al and Fe analytical signals were less affected with the maize sample in the mass range analyzed. The relative standard deviations obtained on measurements varied between 1 and 12%. As for trace elements, the matrix effects were related to the nature of plant material. Nevertheless, dry ashing of sample at 480°C gave

underestimated concentrations of Al and Fe. This may be explained by the fact that these partial losses of metals were mainly due the formation of stable binary and tertiary oxides in an oxygen rich environment. The presence of Freon in the graphite furnace during the vaporization step should enhance metal vaporization. Here, Al and Fe were present at high concentrations in comparison with trace elements. The concentration of Freon was perhaps not sufficient to form volatile chloride and fluoride compounds with the total amounts of Al and Fe. It appeared then that best results on major elements were obtained when pyrolysis occurred at 600°C. This was opposed to the investigations on trace elements.

However, the suppression effect observed in ETV-ICP-AES for plant samples could be attributed to matrix components which are not removed during the ashing step and which are consequently transported to the plasma together with analytes [7]. In these conditions, the dissociation of carbon particles became a predominant phenomenon in the plasma. Therefore, using ETV, it is not possible to get the same plasma excitation conditions obtained for the conventional sample introduction system [19]. In the absence of water, it was reported that the injection of dry aerosol corresponds to excitation temperatures and electron density in plasma lower than those observed for the conventional injection of wet aerosol [44-46]. The energy consumption for the vaporization of particles changed then significantly the plasma conditions in the axial zone. It results in a poor energy transfer in the central channel of the plasma. In lateral view, the plasma behaviour was not easily modified by the matrix when the analysis was carried out under dry plasma conditions. In axially viewed ICP, the emission from the excited analytes in the central channel of the plasma is isolated from the surrounding argon radiation. It was proposed to use the Ar_2^+ signal as an internal standard to correct the matrix effects in ETV-ICP-MS [47]. The spectroscopic line of Ar may be also proposed as an internal standard to compensate matrix effect in ETV-ICP-AES.

4. Conclusions

Under the conditions used in this work, it appeared that the transport efficiency for plant samples was not significantly changed with the sample mass and that matrix effects were induced by the amount of aerosol introduced into the plasma. The suppression effect could be attributed to cooling of the plasma by matrix particles entering the central channel. The dissociation and ionization of the concomitant compounds consumed a lot of energy, resulting in a change in excitation conditions of the plasma. The phenomenon was especially visible in the axial zone. If the matrix is removed efficiently by dry ashing, signal suppression

should be unimportant with axial observation. However, dry ashing could become a drawback for analysis of elements present in large quantities in plant samples such as Fe. These elements could be measured with lateral view ICP-AES after a simple pyrolysis step.

References

1. L.K. Olson, N.P. Vela, J.A. Caruso, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 355
2. R.E. Sturgeon, J.W. Lam, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 785
3. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1523
4. M. Resano, E. Garcia-Ruiz, F. Vanhaecke, C. Crespo, M.A. Belarra, *J. Anal. At. Spectrom.*, 19 (2004) 958
5. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens, R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1997) 125
6. Yi-Ching Li, Shiuh-Jen Jiang, Shu-Feng Chen, *Anal. Chim. Acta*, 372 (1998) 365
7. S. Boonen, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Spectrochim. Acta B*, 51 (1996) 271
8. Y. Okamoto, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367 (2000) 300
9. Po-Chien Li, Shiuh-Jen Jiang, *Anal. Chem. Acta*, 495 (2003) 143
10. G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, *Microchem. J.*, 54 (1996) 272
11. K.C. Friese, K.-H. Grobecker, U. Wätjen, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 370 (2001) 499
12. M. Ovari, G. Zaray, J. Hassler, *Microchem. J.*, 73 (2002) 125
13. F. Vanhaecke, M. Resano, L. Moens, *Anal. Bioanal. Chem.*, 374 (2002) 188
14. M. Resano, M. Verstraete, F. Vanhaecke, L. Moens, A. van Alphen, E.R. Denoyer, *J. Anal. At. Spectrom.*, 15 (2000) 389
15. G. Ertas, J.A. Holcombe, *J. Anal. At. Spectrom.*, 18 (2003) 878
16. M.A. Belarra, C. Crespo, M.P. Martinez-Garbayo, J.R. Castillo, *Spectrochim. Acta B*, 52 (1997) 1855
17. M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998), 489
18. M.A. Belarra, M. Resano, F. Vanhaecke, L. Moens, *Trends in analytical chemistry*, 21 (2002) 828
19. L. Gras, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 55 (2000) 37
20. S. Maestre, M.T.C. de Loos-Vollebregt, *Spectrochim. Acta B*, 56 (2001) 1209
21. J.W. Olesik, E.J. Williamsen, *Appl. Spectrosc.*, 43 (1989) 1223
22. I.B. Brenner, M. Zischka, B. Maichin, G. Knapp, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 1257
23. X. Romero, E. Poussel, J.M. Mermet, *Spectrochim. Acta B*, 52 (1997) 495
24. P. Masson, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 603
25. P. Masson, D Orignac, A. Vive, T. Prunet, *Analisis*, 27 (1999) 813

26. P. Masson, *Can. J. Anal. Sci. Spect.*, 50 (2005) 268
27. Jiang Zucheng, Hu Bin, Qin Yongchao, Zeng Yun'e, *Microchem. J.*, 53 (1996) 326
28. P. Masson, *Talanta*, 71 (2007) 1399
29. J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 555
30. J.M. Ren, E.D. Salin, *Spectrochim. Acta B*, 49 (1994) 567
31. D.M. Goltz, D.C. Grégoire, C.L. Chakrabarti, *Spectrochim. Acta B*, 50 (1995) 1365
32. D.R. Lide, *Handbook of Chemistry and Physics*, 71st ed. CRC Press, Boca Raton, 2004-2005.
33. U. Schäffer, V. Krivan, *Anal. Chem.*, 70 (1998) 482
34. T. Kantor, S. Güçer, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 763
35. N.G. Berrymann, T.U. Probst, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 355 (1996) 783
36. J. Hassler, A. Detcheva, O. Forster, P.R. Prezl, K. Florian, *Annali di Chimica*, 89 (1999) 827
37. G. Varhegyi, M. J. Antal Jr, E. Jakab, P. Szabo, *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 42 (1997) 73
38. P. Mader, V. Haber, J. Zelinka, *Analisis*, 25 (1997) 175
39. M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 14 (1999) 547
40. T. Kantor, *Spectrochim. Acta B*, 43 (1988) 1299
41. T. Kantor, *Spectrochim. Acta*, 55 (2000) 431
42. D.C. Grégoire, R. E. Sturgeon, *Spectrochim. Acta B*, 54 (1999) 773
43. C.M. Sparks, J. Holcombe, T. L. Pinkston, *Spectrochim. Acta B*, 48 (1993) 1607
44. Y.Q. Tang, C. Trassy, *Spectrochim. Acta B*, 41 (1986) 143
45. M. Murillo, J.M. Mermet, *Spectrochim. Acta B*, 42 (1987) 1151
46. B.L. Caughlin, M.W. Blades, *Spectrochim. Acta B*, 42 (1987) 353
47. F. Vanhaecke, G. Galbacs, S. Boonen, L. Moens, R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.*, 12 (1995) 1047

Table 1 : Operating parameters of the ETV atomizer and ICP spectrometer.

ETV	
Carrier argon flow rate (L min ⁻¹)	0.3
Bypass argon flow rate (L min ⁻¹)	0.1
Freon flow rate (mL min ⁻¹)	2.3
sample mass analyzed (mg)	1-5
Plasma	
Power (kW)	1.35
Argon flow rate (L min ⁻¹)	15
Auxilliary argon flow rate (L min ⁻¹)	1.5
Measured wavelenght (nm)	
Cd	214.4
Cr	205.5
Al	396.1
Fe	238.2

Table 2 : elemental composition (μg g⁻¹) for plant samples

	Al	Cd	Cr	Fe
Tomato leaves				
concentration	598	1.52	1.99	368
uncertainty	12	0.04	0.06	7
Maize				
concentration	189	1.55	3.37	343
uncertainty	7	0.07	1.22	12

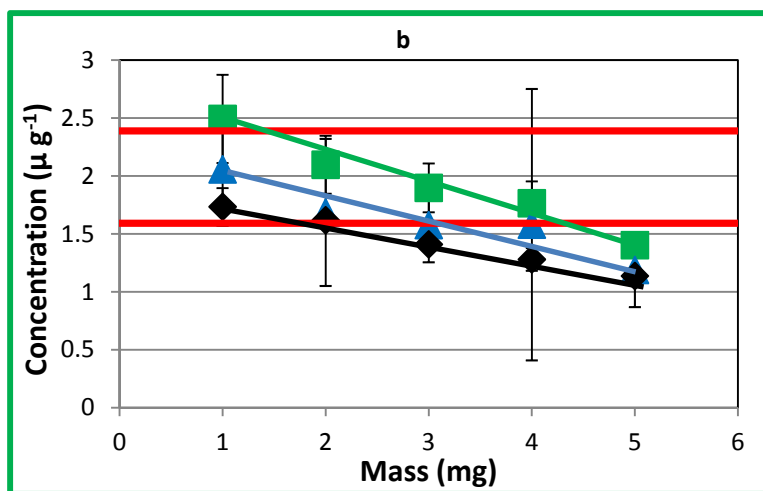
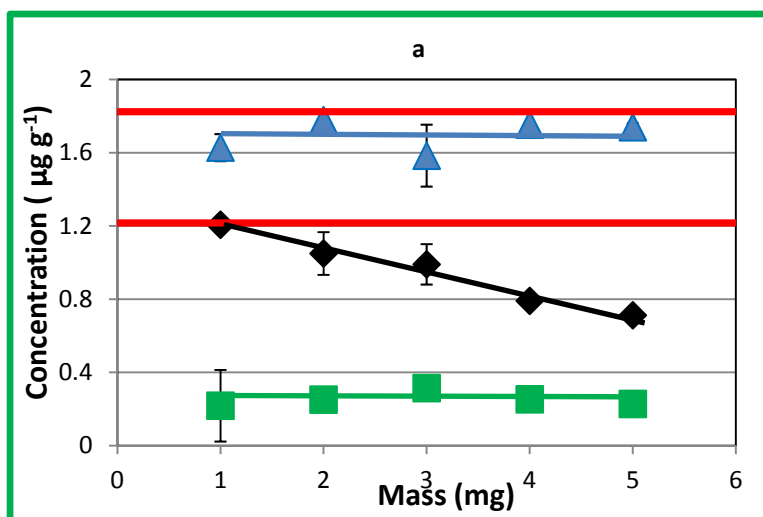


Figure 1: Influence of the sample mass on the analytical measured concentrations of Cd (a) and Cr (b) in tomato leaves sample (NIST SRM 1573a) depending to the pyrolysis conditions: (♦) 420 °C, (■) 600 °C, (▲) dry ashing at 480 °C. The red lines indicate the certified value $\pm$ 20%.

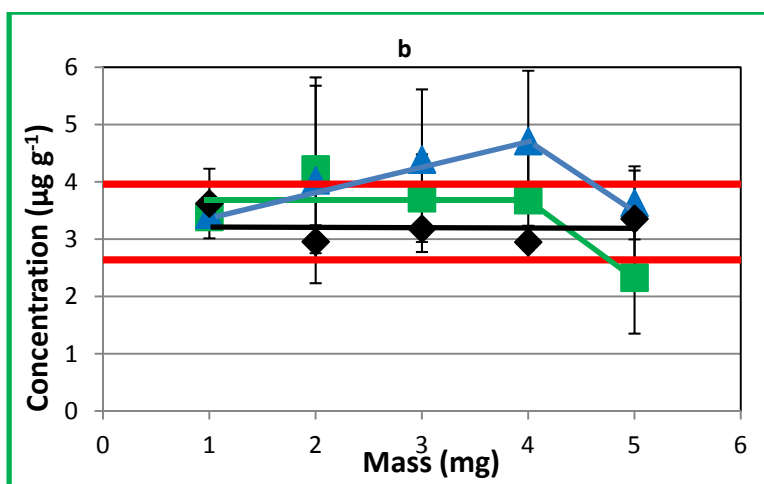
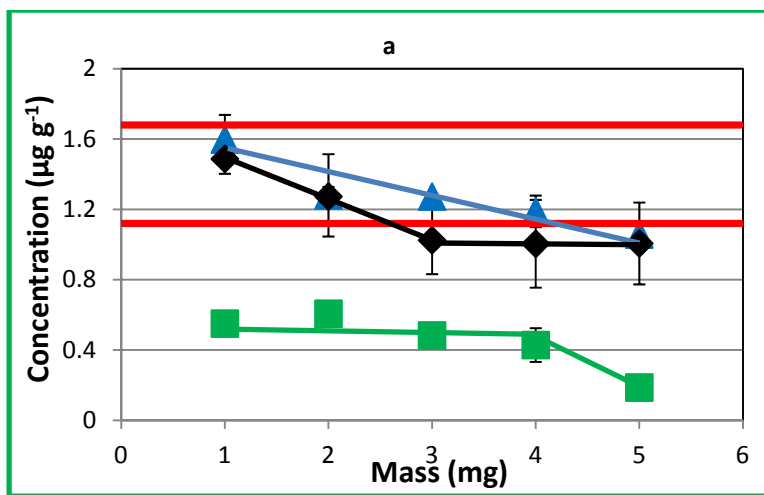


Figure 2: Influence of the sample mass on the analytical measured concentrations of Cd (a) and Cr (b) maize sample depending to the pyrolysis conditions: (♦) 420 °C, (■) 600 °C, (▲) dry ashing at 480 °C. The red lines indicate the reference value $\pm 20\%$.

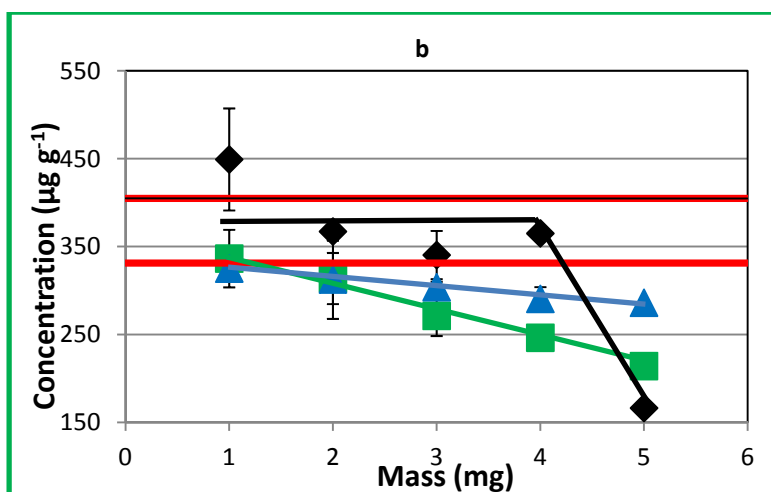
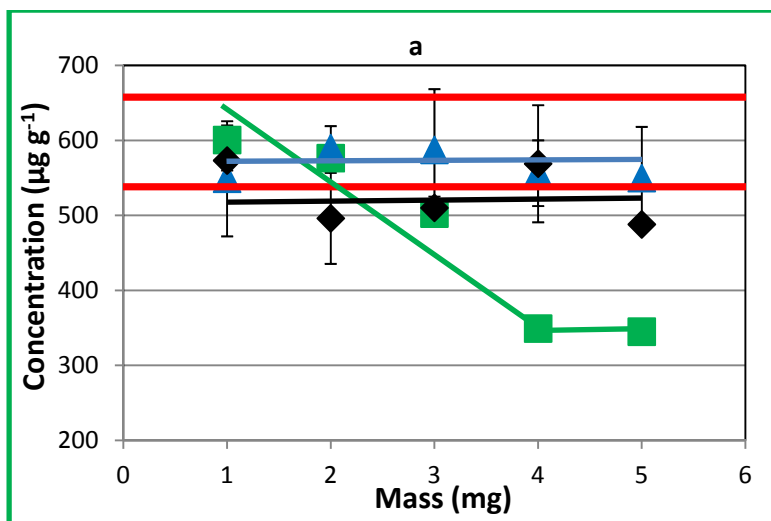


Figure 3: Influence of the sample mass on the analytical measured concentrations of Al (a) and Fe (b) in tomato leaves sample (NIST SRM 1573a) depending to the pyrolysis conditions: (♦) 420 °C, (■) 600 °C, (▲) dry ashing at 480 °C. The red lines indicate the certified value $\pm 10\%$.

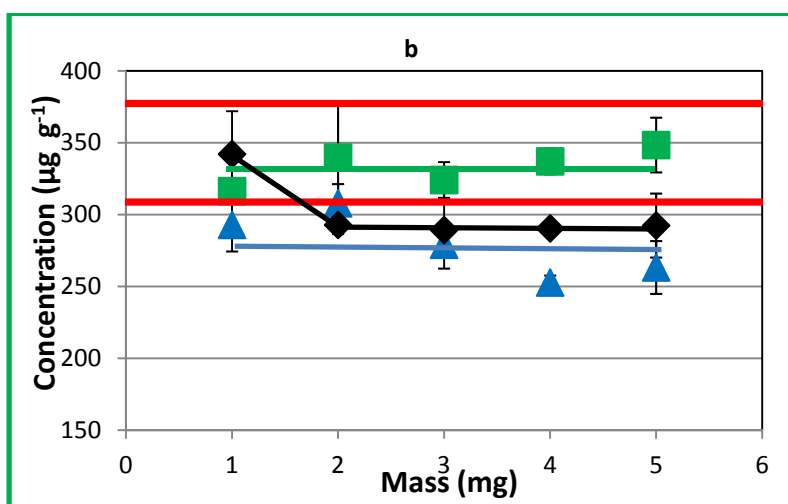
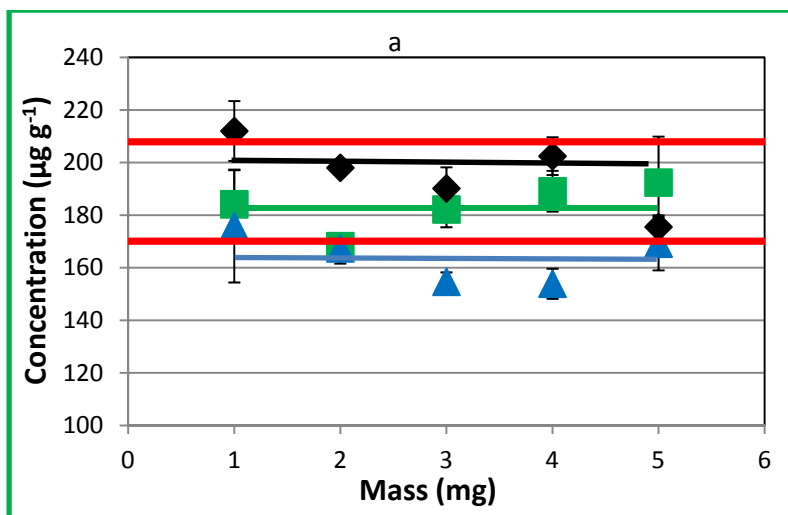


Figure 4: Influence of the sample mass on the analytical measured concentrations of Al (a) and Fe (b) in maize sample depending to the pyrolysis conditions: (♦) 420 °C, (■) 600 °C, (▲) dry ashing at 480 °C. The red lines indicate the reference value $\pm 10\%$.

Application de l'analyse directe des échantillons végétaux solides par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif : détermination de Cd et Si dans des buts environnementaux

Résumé

La détermination des teneurs élémentaires dans les végétaux est habituellement destinée aux études agronomiques ou environnementales. L'analyse directe des solides est possible quand la vaporisation électrothermique (ETV) est utilisée comme système d'introduction des échantillons en spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif (ICP-AES). Ici, le couplage ETV-ICP-AES a été utilisé dans le cadre de deux applications particulières pour les plantes. La première application concernait la détermination de Cd dans de très petits échantillons végétaux. Plusieurs matériaux de référence ont été utilisés pour valider la justesse de la méthode. Le contrôle qualité incluait aussi l'analyse systématique d'un échantillon de référence dans chaque série d'échantillons inconnus. Les performances de la méthode ont pu ainsi être illustrées par une carte de contrôle. La deuxième application concernait la mesure des quantités de Si dans les plantes. La quantification de Si a été réalisée sur des échantillons issus de test inter-laboratoires. Une limite de détection de $30 \mu\text{g g}^{-1}$ a été obtenue. Dans tous les cas, l'étalonnage a été réalisé au moyen de solution étalons déposées sur un support de cellulose.

Application of direct solid analysis of plant samples by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: Determination of Cd and Si for environmental purposes[☆]

Pierre Masson^{a,*}, Maxime Dauthieu^b, Fabienne Trolard^c, Laurence Denaix^b

^a INRA, USRAVE, Centre de Recherches de Bordeaux, B.P. 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

^b INRA, UMR 1220 TCEM, Centre de Recherches de Bordeaux, B.P. 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France

^c INRA, Unité de recherche Géochimie des Sols et des Eaux, Europôle de l'Arbois, B.P. 80, 13545 Aix en Provence cedex 4, France

Received 1 September 2006; accepted 16 January 2007

Available online 23 January 2007

Abstract

Elemental determinations are usually performed on plant samples for agronomic or environmental studies. Direct solid sampling is possible when electrothermal vaporization (ETV) is used as a method of sample introduction in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). ETV-ICP-AES was applied for elemental determinations in plant samples. The first application aimed at Cd determinations in very small size plant material samples. Several reference plant materials were used to validate the accuracy of the method. Quality control included the systematic analysis of a reference sample in each batch of unknown samples. The performance of the method in time was illustrated by a control chart. The second application aimed at the content of Si in plant materials. Quantification of Si in plant samples was carried out using samples issued from an inter-laboratory test. Detection limit of 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ was achieved for Si. In all cases, quantification was accomplished easily by means of aqueous standard solutions deposited on cellulose support.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Electrothermal vaporization; Inductively coupled plasma; Plant samples; Cadmium; Silicon.

1. Introduction

Due to environmental considerations, there is an increasing demand of simple techniques for heavy metal analysis in agrosystems. Human activities involve modifications of the composition of soils. The toxicity of heavy metal such as Cd is related to effects on plant growth and detailed information on plant constituents can be highly variable. Genotypical variations in the uptake of Cd are observed in numerous plant species [1,2]. Studies of the distribution of Cd in the different parts of plants (leaves, stems, roots) are of increasing interest for environmental

or physiological research. Dissolution of solid material prior inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) analysis is the usually way of elemental determination in plant samples. However, the digestion of plant materials is time-consuming and requires highly dangerous acids at high temperature. Therefore, amount of material available for such of samples may be very small, especially for young plants which start to grow. With current digestion methods, the dilution rate is too high for a quantitative determination of Cd with ICP-AES. The concentrations in solution are generally below the limits of quantification (except with inductively coupled plasma mass spectrometry). In these conditions, it can be expected that the direct analysis of solid plant samples is the best adapted technique for accurate determination Cd.

Due to agronomic considerations, there is also an increasing demand of simple techniques for silicon analysis in agrosystems. Si is after oxygen, the second most abundant element in Earth crust. However, the essential character of Si in plant remains largely unexplored. In recent years, research interest on

[☆] This paper was presented at the VII European Furnace Symposium on Atomic Absorption Spectrometry, Electrothermal Vaporization and Atomization (VII EFS) and XII Solid Sampling Colloquium with Atomic Spectrometry (XII SSC), held in St. Petersburg, Russia, July 2–7, 2006 and is published in the special issue of Spectrochimica Acta Part B, dedicated to that conference.

* Corresponding author. Tel.: +33 5 57 12 24 05; fax: +33 5 57 12 23 99.

E-mail address: masson@bordeaux.inra.fr (P. Masson).

the role of silicon in plants has increased [3,4]. Several investigations have shown a lack of silicon in cereal growth [5,6]. The research is severely hampered by analytical difficulties encountered when determining Si in biological samples. The more traditional methods reported require sample dissolution with HF in closed vessel or with alkaline fusion [7–9]. These methods are time-consuming and hazardous. It can be expected that the direct analysis of solid plant samples is more adapted to overcome these analytical difficulties.

Electrothermal vaporization (ETV) coupled with ICP methods have shown considerable potential for the analysis of various solid matrices directly [10–17]. The use of ETV introduction into an ICP for biological samples is well established, especially with the use of slurries [18–25]. This approach is also of particular interest for materials or elements that cannot or only with great difficulty be brought into solution. Some papers have been published on Si determination using solid sampling by ETV but the matrices studied were polyamides or ceramics [26,27]. Direct solid analysis of plants using ETV is also viable [28–34]. In the case of plant samples, the organic matrix composition consisted of cellulose, hemicellulose, starch and lignin [35]. It is known that organic matrices are particularly well suited for direct analysis in a graphite furnace because these types of matrices can be very efficiently removed during the pyrolysis step and thus the subsequent vaporization of the analytes is almost free from matrix effects. However, plant samples were generally used during ETV studies to verify the accuracy of the final method, as well as other environmental materials. Specific studies using ETV technique where the first purpose is plant sample analysis remain few investigated. The intention of the present application was to demonstrate the capability of solid sampling ETV-ICP-AES to accomplish the determination of Cd and Si in plant materials.

Cd is present in trace amount in plant samples and axial view configuration of ICP-AES was used [33]. A study concerning matrix effects was first carried out. Accuracy of the whole procedure was controlled on various certified reference materials. Finally, ETV coupled with ICP-AES is used to determine Cd in various parts of plant samples. Some results are presented. However, the need of quality assurance for measurements is essential to ensure good comparability of data. During the period time (6 months) where the different plant samples were analyzed, five replicates of a reference material were integrated in each batch of samples. A control chart based on the mean of results was constructed and presented.

Si is present in large amount in plant samples (0.1–2% dry matter) and radial view configuration of ICP-AES was used. Optimization of ETV operating parameters has been investigated in previous work [34] but short studies of vaporization temperatures and matrix effects were carried out specifically for Si. Appropriate reference plant materials with certified values in Si were difficult to obtain. In the absence of these materials, the best way to evaluate quality performance of an analysis method is to participate in an independent proficiency testing scheme. Accuracy and precision of our ETV method were checked by comparing results with those obtained in the evaluating program

organized by the University of Wageningen (The Netherlands) named International Plant Exchange (IPE) [36]. Analyses were carried out on ten plant materials, presenting different properties in terms of origin, matrix composition and concentration range of Si.

2. Experimental

2.1. Apparatus and conditions

An ETV 4000 (Spectral systems, Fürstenfeldbruck, Germany) electrothermal vaporizer was used. The ETV 4000 unit consists of a commercially available graphite-tube furnace, power supply, gas supply, water cooler and autosampler [37]. Graphite sample holders (in boat shape) are easily loaded into the cylindrical graphite furnace with the aid of a pair of tweezers. After loading the sample, one end of the furnace is closed using a shutter. The heating cycle of the ETV was completely computer controlled. The temperature ranges from room temperature up to about 3000 °C. During the heating cycle, argon gas flow removes all vapors in the graphite tube. The elements are generally transformed into volatile halogenide compounds by the addition of halogen containing reaction gas (CHClF_2 , 2.3 ml min^{-1}). Chlorides and fluorides produced were easily vaporized from the graphite furnace because the boiling points of these compounds are much lower than carbides or oxides of the same elements [38–40]. A second argon gas flow was introduced after the evaporation tube. Rapid cooling of atoms and molecules formed enhances the formation of stable and transportable aerosol [41–43]. The ETV unit was interfaced to the ICP via 30 cm long and 6 mm internal diameter PTFE tubing. The sample aerosol was transported directly into the plasma.

The simultaneous ICP instrument was a Thermo Elemental (Franklin, MA, USA) dual view IRIS INTREPID ICP-AES spectrometer with CCD detector and equipped with a standard extended torch and a quartz injector tube (2.4 mm internal diameter). For this study, the instrument was used with axial view for Cd determinations and with radial view for Si determinations. Operating parameters of ICP-AES and ETV for multi-element measurement were selected in previous works [33,34]. They are summarized in Table 1. The heating program

Table 1
Operating parameters of the ETV atomizer and ICP spectrometer for Cd and Si determinations

<i>ETV</i>	
Carrier argon flow rate (L min^{-1})	0.3
Bypass argon flow rate (L min^{-1})	0.1
Freon flow rate (mL min^{-1})	2.3
<i>Plasma</i>	
Power (kW)	1.35
Argon flow rate (L min^{-1})	15
Auxiliary argon flow rate (L min^{-1})	1.5
<i>Measured wavelength (nm)</i>	
Cd	214.4
Si	251.4

Table 2
Thermal cycle of the ETV (for Cd and Si)

Program step	Temperature (°C)	Ramp (s)	Hold time (s)
Pyrolysis I	270	30	60
Pyrolysis II	420	30	30
Vaporization	1900	15	15
Cleaning	2400	2	15
Cooling	20	60	10

is given in Table 2. The same thermal cycle was used for Cd and Si determinations. ETV-ICP produces a transient signal as a consequence of pulsed heating of the ETV. The transient signal was integrated over time and was used in data handling. Cd and Si signals were measured at 214.4 nm and 251.4 nm, respectively.

2.2. Reagents and samples

For Cd determinations, five standard solutions containing respectively 0, 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 mg L⁻¹ were prepared by diluting appropriate volumes of available commercial stock solutions (Merck, Darmstadt, Germany) with distilled water. These solutions were acidified with concentrated HNO₃ (Baker analyzed, Phillipsburg, NJ, USA) for a final concentration of 5% (v/v).

Standard reference materials SRM 1573a (tomato leaves) and SRM 1575a (pine needles) from NIST (National Institute of Standard and Technology, Gaithersburg, MD, USA) and certified reference materials CRM 281 (rye grass), CRM 062 (olive leaves) and CRM 189 (Wholemeal flour) issue from the IRMM (Institute of Reference Materials and Measurements, Brussels, U.E.) were the certified plant samples used to verify the accuracy of the method for Cd determinations. Five replicates were made for all samples. These samples consisted of dried powders. The analyzed samples are roots and leaves from *Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia. These samples were grown on soil contaminated with Cd from atmospheric fallout. At different stage, the leaves and roots were harvested, washed with deionized water and frozen at -80 °C. Before use, they were freeze-dried and ground. Dry ashing of samples at 480 °C was obtained by separate thermal pre treatment in muffle furnace.

For Si determinations, five standard solutions containing respectively 0, 250, 500, 1000 and 2000 mg L⁻¹ were prepared by diluting appropriate volumes of available commercial stock solutions (Merck, Darmstadt, Germany) with distilled water. Concerning the IPE testing scheme, many plant samples were sent each year to our laboratory. Ten were selected for the present study. These samples consisted of dried powders prepared by the University of Wageningen (The Netherlands).

2.3. Measurements

Before performing measurements, a purification process involving halocarbon assisted thermal purification at 2600 °C was performed on graphite boats. Next, samples were introduced manually into a purified graphite boat on a Metler microbalance with a precision of 0.01 mg. Amounts weighed

varied between 1 and 5 mg. The obtained results were divided by corresponding sample mass weighed in order to have comparable values (concentration in µg g⁻¹). Every determination consisted of five replicate measurements of samples and the mean was taken as a representative value.

Quantification on the ETV-ICP-AES instruments was accomplished against aqueous solutions on purified cellulose. Cellulose was found to be the ideal support for matrix matching of calibration curves. Cellulose simulated the organic part of plant sample and it was found that transport efficiency of elements in sample matrix or on cellulose was the same [33,34]. Amount of cellulose weighed was typically 2 mg. Aliquots of the standard solutions (10 µL) was introduced manually on the cellulose powder by means of a micropipette.

3. Results and discussion

3.1. Quantification of Cd

ETV coupled with axial view ICP-AES was used to determine Cd in various parts of plant samples (*A. thaliana*). Before measurements in plant samples, matrix effects were considered to obtain accurate analytical results on Cd determinations. Several authors have reported matrix effects in ETV for various sample types [44–47]. It was found that the results depend on the mass of sample used. The influence of an increasing amount of SRM NIST 1573a (tomato leaves) was investigated on the spectral line intensity of Cd. The result is shown in Fig. 1. The organic sample material was destroyed according to three protocols: pyrolysis at 420 °C, pyrolysis at 600 °C and previous dry ashing at 480 °C in a muffle furnace in the presence of oxygen. The ETV 4000 unit cannot handle oxygen ashing directly in the graphite furnace. With pyrolysis at 420 °C, the sample mass strongly affected the Cd determination. Underestimated result was already obtained for only 1 mg in tomato leaves. It was necessary to take about 0.5 mg of sample to obtain acceptable concentration (1.53 µg g⁻¹). Next, a linearly decrease of concentration was observed in function of mass. When a pyrolysis step at 600 °C was used in the heating cycle, the most resistant organic compounds of plant samples were removed [30,48] but severe losses of Cd occurred. The situation was complicated because both Cd vaporization and

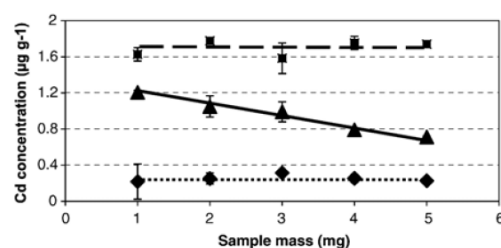


Fig. 1. Influence of the sample mass on analytical concentration of Cd in the NIST 1573a (tomato leaves) depending of the pyrolysis conditions: (▲, —) 420 °C, (◆, ...) 600 °C, (■, —) dry ashing at 480 °C. The error bars indicate the standard deviation obtained for 5 replicates.

Table 3

Results ($\mu\text{g g}^{-1}$) for Cd in certified plant samples SRM 1575a and SRM 1573a from NIST and CRM 281 (rye grass), CRM 62 (olive leaves) and CRM 189 (wholemeal flour) from IRMM

	SRM 1575a	SRM 1573a	CRM 281	CRM 62	CRM 189
Mean ($n=5$)	0.200	1.486	0.103	0.098	0.062
St. dev. ($n=5$)	0.030	0.136	0.012	0.004	0.020
RSD%	15.0	9.2	12.1	4.1	32.1
Certified value	0.233 ± 0.004	1.520 ± 0.040	0.120 ± 0.003	0.100 ± 0.020	0.071 ± 0.003

The certified values and uncertainties are given in the certificates delivered with each sample.

matrix vaporization occurred at this temperature. This problem was previously reported [49]. After dry ashing, and within the experimental error, no influence of an increasing amount of plant sample transferred into the plasma was observed until 5 mg. The accuracy of the method was also verified by using some reference materials with certified values for Cd. Reference materials are certainly the most popular tools to prove accuracy of an analytical process [50]. The results obtained (mean, standard deviation and relative standard deviation of five replicates) are presented in Table 3. Good agreement is obtained between the found values and the certified values at the 95% confidence level.

For some plants growing in very contaminated soil, the total dry mass ranged from 0.9 to 7.7 mg. The bulk of various plant matrices were removed with previous oxygen ashing. Despite this very small size material, ETV technique was able to measure concentrations of trace elements as cadmium, in shoots of *A. thaliana* growing on weakly and strongly contaminated soils (Fig. 2). This will provide useful data to have a better comprehension of accumulation and distribution of trace elements in plants [51,52]. The quality of measurements was verified by using a reference material with certified values for Cd. During the period of time (6 months) when the different plant samples were analyzed, the reference sample SRM 1573a was inserted with five replicates in each batch of unknown plant samples analyzed in our laboratory. The Cd concentration values are presented as the mean and the standard deviation. The data were compared using the quality control charts. The charts are composed of the running mean and the control lines

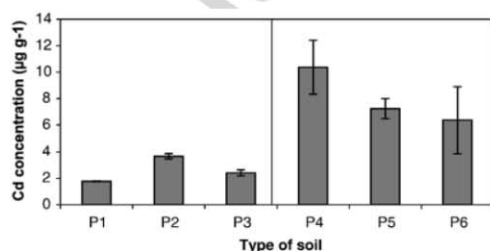


Fig. 2. Concentration of Cd in young shoots of *Arabidopsis thaliana* measured in two soils weakly (P1, P2, P3) and strongly (P4, P5, P6) contaminated. The error bars indicate the standard deviation obtained for 5 replicates.

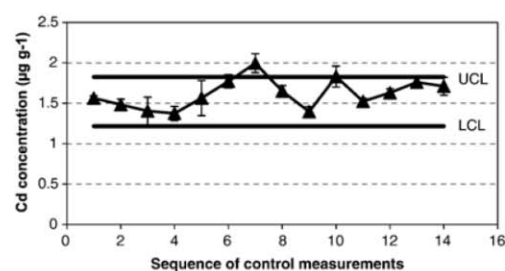


Fig. 3. Control chart of Cd concentration. Each point is the observed value of Cd in the SRM NIST 1573a (tomato leaves). Certified value = $1.52 \pm 0.04 \mu\text{g g}^{-1}$. UCL = upper control limit (certified value + 20%); LCL = lower control limit (certified value - 20%). The error bars indicate the standard deviation obtained for 5 replicates.

(certified value $\pm 20\%$). When a certified reference material is used as in our example, it is preferable to establish a tolerance value around the expected value. In view of the heterogeneity of the plants samples with respect of sample amount used in ETV, a deviation of the concentration of $\pm 20\%$ with the respect to the nominal value could be considered as acceptable. The inhomogeneity of the sub samples used is the principal reason for the poor precision of the technique [46,53].

Fig. 3 illustrates the long-term ETV-ICP-AES method performance for Cd. The control chart allows evaluation of method performance during a longer period of time [54]. The data obtained reflect the sum of variations of sample inhomogeneity and analytical method variance. When the control value falls within the limits, the run can be classified as “in-control”. When the control value is outside the limits, the run must be classified as “out-of-control”. The seventh point was beyond the upper control line. This deviation of results outside the control levels might be an indication of insufficient homogeneity and/or low quality of the analytical method. The samples associated to this result were re-analyzed. Inspection of the other data generated indicated that a generally good response was obtained over several months. The method maintained good accuracy. No increasing or decreasing response was observed. Statistical analysis revealed the absence of significant difference between input groups. The relative standard deviations (between 2 and 14 %) showed that the certified value was in agreement with the measured concentration. The accumulation of results on the reference sample demonstrated also the traceability of data.

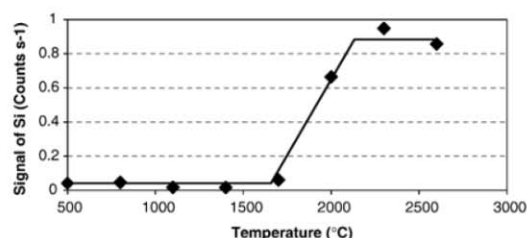


Fig. 4. Effect of the vaporization temperature on the signal intensity for Si.

3.2. Quantification of Si

Before measurements in plant samples, it was essential to control efficiently the process of vaporization of Si. Fig. 4 show the behavior of Si signal intensities generated by cellulose spiked with 5 μg of element as a function of temperature. Under halogenating vapors, Si was vaporized in the temperature range of 1600–2100 $^{\circ}\text{C}$. No significant silicon losses can be observed for temperatures below 1600 $^{\circ}\text{C}$ and temperatures above 2300 $^{\circ}\text{C}$ guarantee complete evaporation of element. The vaporization curve of Si was similar to this obtained by Resano et al. for polyamide samples [26]. Si showed exactly the same behavior as the other major elements [34]. Therefore, the same heating cycle defined for the determination of major elements in plant samples was used.

Matrix effects must be also considered to obtain accurate analytical results. As for Cd, the influence of an increasing amount of SRM NIST 1573a (tomato leaves) was investigated on the spectral line intensity of Si. However, a simple pyrolysis step at 420 $^{\circ}\text{C}$ was used. The result is given in Fig. 5. Within the experimental error, no influence of an increasing amount of plant sample transferred into the plasma was observed up to 4 mg. Si determination in plant materials appeared to be little affected by matrix effects when ICP-AES with radial viewing was used.

For the IPE samples, Si levels are reported as the mean and the standard deviation of five replicates. The obtained results are compared with those of all the other members of the exchange program. The results of each participant were collected and processed at the Wageningen University [36]. For statistical calculations, a mean value and a standard deviation value were calculated using all reported data. They are considered as recommended values. The participation in a recognized proficiency testing scheme provides samples with a wide variety of matrices and large concentration range. Usually, the first stage in producing a score from a result X (a single measurement of analyte concentration in a test material) is obtaining the estimate of the bias, thus: $\text{bias} = x - X$, where x is the true concentration of analyte. Most proficiency test programs proceed by comparing the estimate of the bias with a standard error. An obvious approach is to form a z -score given by: $z = (x - X) / \sigma$, represent-

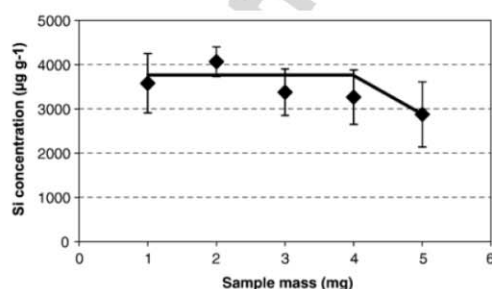


Fig. 5. Influence of the sample mass on the concentration of Si found in NIST 1573a (tomato leaves). Pyrolysis at 420 $^{\circ}\text{C}$ was used. The error bars indicate the standard deviation obtained for 5 replicates.

Table 4

Si concentrations (mg g^{-1}) in various plant samples from inter-laboratory tests

	Cherry laurel	Potato	Lucerne	Camation	Sunflower
Mean ($n=5$)	0.25	0.29	0.48	1.68	2.00
St. dev. ($n=5$)	0.06	0.07	0.20	0.30	0.20
RSD%	17.3	24.1	41.2	17.7	10.0
Mean IPE	0.36	0.45	0.85	4.83	2.41
St. dev. IPE	0.17	0.22	0.54	2.41	0.24
z -score	0.65	0.74	0.69	1.31	1.72

	Barley grain	Grass	French bean	Bokashi	Oilpalm leaf
Mean ($n=5$)	2.41	10.62	13.36	15.55	17.01
St. dev. ($n=5$)	1.58	0.93	2.76	1.46	2.37
RSD%	65.7	8.7	20.7	9.4	13.9
Mean IPE	4.01	11.33	11.70	18.73	19.11
St. dev. IPE	3.45	0.88	2.12	5.68	3.11
z -score	0.46	0.81	0.78	0.56	0.68

Calibration was carried out against aqueous standard solutions with cellulose.

ing the maximum allowable variation consistent with valid data. A z -score <1 can be considered as very good result. A z -score between 1 and 2 can be considered as acceptable result and a z -score >2 can be considered as unacceptable result.

Concerning the 10 plant samples analyzed, results of Si determination are given in Table 4 which included the z -score values. In comparison with the given IPE values, the agreement was good. The dispersion of results appeared high. It was an indication of insufficient homogeneity of plant powders. Therefore, the standard deviation values calculated with the IPE values demonstrate also the inherent variability due to different methods employed by various laboratories which used digestion of samples with HF or alkaline fusion.

This correlation between our results and the IPE values is an important aspect of the quality for demonstrating the correctness of the method. For samples with the higher silicon content, a sample mass of 1 mg was considered suitable. For the determination in samples with the lower silicon content, a sample mass of approximately 3 mg could be preferred. The detection limit was calculated at 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ for Si in 2 mg of sample. The value obtained is sufficient for some relevant Si determination in plants.

4. Conclusions

In spite of the fact that ETV-ICP-AES remains few used in environmental studies, it offers great interest in some circumstances. For small size plant samples, it can be stated that solid sampling ETV-ICP-AES is a method capable to provide reliable quantifications of major and trace elements. However, the precision is sometimes limited by the inhomogeneity of the distribution of elements in powdered samples. ETV-ICP-AES provides also reliable results for elements which are difficult to bring into solution. Determination of Si in plant samples illustrated this application. In all cases, accurate quantification can be accomplished easily by means of aqueous standard solutions. Compared to routine liquid analysis with digestion procedures, the present approach was extremely easy and fast.

In the majority of cases, ETV-ICP-AES provides a significant reduction in analysis time and costs.

Acknowledgment

This research was supported by the regional council of Aquitaine with the agreement 20040309007A.

References

- [1] M.K. John, C.J. van Laerhoven, Differential effects of cadmium on lettuce varieties, *Environ. Pollut.* 10 (1976) 163–173.
- [2] M. Mench, J. Tancogne, A. Gomez, C. Juste, Cadmium availability to *Nicotiana tabacum* L., *Nicotiana rustica* L. and *Zea mays* L. grown in soil amended or not amended with cadmium nitrate, *Biol. Fertil. Soil* 8 (1989) 48–53.
- [3] R. Hammerschmidt, Silicon and plant defense: the evidence continues to mount, *Physiol. Mol. Plant P.* 66 (2005) 117–118.
- [4] E. Epstein, Silicon, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50 (1999) 641–664.
- [5] N.K. Savant, L.E. Damoff, G.H. Snyder, Depletion of plant-available silicon in soils: a possible cause of declining rice fields, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 28 (1997) 1245–1252.
- [6] M.D. Winslow, K. Okada, F. Correa-Victoria, Silicon deficiency and the adaptation of tropical rice ecotypes, *Plant Soil* 188 (1997) 239–248.
- [7] M. Rafi, E. Epstein, R.H. Falk, Silicon deprivation causes physical abnormalities in wheat (*Triticum aestivum* L.), *J. Plant Physiol.* 151 (1997) 497–501.
- [8] A. Anasuya, S. Bapurao, P.K. Paranjape, Fluoride and silicon content of foods from normal and endemic fluorotic areas in India, *J. Food Compos. Anal.* 10 (1997) 43–48.
- [9] H.G. Taber, D. Shogren, G. Lu, Extraction of silicon from plant tissue with dilute HCl and HF and measurement by modified inductive coupled argon plasma procedures, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 33 (2002) 1661–1670.
- [10] M. Resano, E. Garcia-Ruiz, F. Vanhaecke, C. Crespo, M.A. Belarra, Evaluation of solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma mass spectrometry and solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry for the direct determination of Cr in various materials using solution-based calibration approaches, *J. Anal. At. Spectrom.* 19 (2004) 958–965.
- [11] F. Vanhaecke, M. Resano, L. Moens, Electrothermal vaporization ICP-mass spectrometry (ETV-ICP-MS) for the determination and speciation of trace elements in solid samples — a review or real-life applications from the author's lab, *Anal. Bioanal. Chem.* 374 (2002) 188–195.
- [12] S. Boonen, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, Direct determination of Se and As in solid certified reference materials using electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 51 (1996) 271–278.
- [13] K.C. Friese, K.-H. Grobecker, U. Wätjen, Development of an electrothermal vaporization ICP-MS method and assessment of its applicability to studies of the homogeneity of reference materials, *Fresenius J. Anal. Chem.* 370 (2001) 499–507.
- [14] M. Ovari, G. Zaray, J. Hassler, Solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometric method for analysis of amphipods (*Dikerogammarus villosus*) samples, *Microchem. J.* 73 (2002) 125–130.
- [15] M.A. Belarra, M. Resano, S. Rodriguez, J. Uchaga, J.R. Castillo, The use of chemical modifiers in the determination of cadmium in sewage sludge and tin in PVC by solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 54 (1999) 787–795.
- [16] M.C. Wende, J.A.C. Broekaert, Direct solid sampling electrothermal vaporization for alumina by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 57 (2005) 1897–1904.
- [17] L. Moens, P. Verrept, S. Boonen, F. Vanhaecke, R. Dams, Solid sampling electrothermal vaporization for sample introduction in inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 50 (1995) 463–475.
- [18] Y.-C. Li, S.-J. Jiang, S.-F. Chen, Determination of Ge, As, Se, Cd and Pb in plant materials by slurry sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 372 (1998) 365–372.
- [19] P.-C. Li, S.-J. Jiang, Electrothermal vaporization inductively coupled plasma-mass spectrometry for the determination of Cr, Cu, Cd, Hg and Pb in rice flour, *Anal. Chim. Acta* 495 (2003) 143–150.
- [20] B. Hu, B.Z. Jiang, Y. Zeng, Slurry sample introduction with fluorinating electrothermal vaporization for the direct ICP-AES determination of boron in plant leaves, *Fresenius J. Anal. Chem.* 340 (1991) 435–438.
- [21] Y. Qin, J. Zucheng, Y. Zeng, B. Hu, Effect of particle size in the analysis of botanical samples by slurry sampling and fluorination-electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 455–457.
- [22] J. Zucheng, B. Hu, Y. Qin, Y. Zeng, Fluorination assisted electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry: an effective method for direct determination of refractory elements in solid biological samples, *Microchem. J.* 53 (1996) 326–336.
- [23] D. Pozebon, V.L. Dressler, A.J. Curtius, Determination of trace elements in biological materials by ETV-ICP-MS after dissolution or slurry formation with tetramethylammonium hydroxide, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 1101–1105.
- [24] A. Mroczek, R. Wennrich, G. Werner, W. Schrön, Investigation of phosphorus release from different compounds in electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry in the absence and presence of modifiers and its application to plant analysis, *Spectrochim. Acta Part B* 55 (2000) 1527.
- [25] S.Z. Chen, Study on the direct analysis of solid powder biological samples using fluorination assisted electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with PTFE slurry modifier, *Fresenius J. Anal. Chem.* 334 (1999) 556–559.
- [26] M. Resano, M. Verstraete, F. Vanhaecke, L. Moens, Direct determination of trace amounts of silicon in polyamides by means of solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 17 (2002) 897–903.
- [27] H.M. Dong, V.V. Krivan, Direct solid-sampling electrothermal atomic absorption spectrometry methods for the determination of silicon in oxides of niobium, titanium and zirconium, *Spectrochim. Acta Part B* 56 (2001) 1645–1656.
- [28] F. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens, R. Dams, Solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry for the determination of arsenic in standard reference materials of plant origin, *J. Anal. At. Spectrom.* 10 (1995) 81–87.
- [29] Y. Okamoto, Direct determination of lead in biological samples by electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry (ETV-ICP-MS) after furnace-fusion in the sample cuvette-tungsten boat furnace, *Fresenius J. Anal. Chem.* 367 (2000) 300–305.
- [30] G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Dams, Determination of cadmium in certified reference materials using solid sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry supplemented with thermogravimetric studies, *Microchem. J.* 54 (1996) 272–286.
- [31] G. Galbacs, T. Kantor, L. Moens, R. Dams, Mass spectrometric studies of thermal decomposition products of reference materials for the use in solid sampling atomic spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 53 (1998) 1335–1346.
- [32] O. Mestek, I. Tresl, R. Koplik, H. Pavelkova, M. Suchanek, B. Vanas, Custom-made interface between electrothermal vaporiser and inductively coupled plasma-mass spectrometer: determination of nickel by isotope dilution in plant samples, *Talanta* 55 (2001) 595–603.
- [33] P. Masson, Détermination des éléments en trace dans les végétaux par couplage vaporisation électrothermique — spectrométrie émission atomique par plasma inductif à haute fréquence (in French), *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.* 50 (2005) 268–279.
- [34] G. P. Masson, Direct determination of major elements in solid plant materials by electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Talanta* 71 (2007) 1399–1404.

- [35] G. Varhegyi, M.J. Antal Jr., E. Jakab, P. Szabo, Kinetic modeling of biomass pyrolysis, *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 42 (1997) 73–87.
- [36] D. van Dijk, Wageningen evaluating programmes for analytical laboratories (WEPAL): a world of experience, *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 33 (2002) 2457–2465.
- [37] J. Hassler, A. Detcheva, O. Forster, P.R. Prezl, K. Florian, Working with a modern ETV-device and an ICP-CID-spectrometer, *Ann. Chim.* 89 (1999) 827–836.
- [38] J.M. Ren, E.D. Salin, Direct solid analysis using furnace vaporization with freon modification and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry-I. Vaporization of oxides and carbides, *Spectrochim. Acta Part B* 49 (1994) 555–566.
- [39] D.M. Goltz, D.C. Grégoire, C.L. Chakrabarti, Mechanism of vaporization of yttrium and rare earth elements in electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 50 (1995) 1365–1382.
- [40] D.R. Lide, *Handbook of Chemistry and Physics*, 71st ed CRC Press, Boca Raton, 2004–2005.
- [41] U. Schäffer, V. Krivan, A graphite furnace electrothermal vaporization system for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Anal. Chem.* 70 (1998) 482–490.
- [42] T. Kantor, S. Güçer, Efficiency of sample introduction into inductively coupled plasma by graphite furnace electrothermal vaporization, *Spectrochim. Acta Part B* 54 (1999) 763–772.
- [43] N.G. Berrymann, T.U. Probst, Parameter optimization of electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry for oligoelement determination in standard reference materials, *Fresenius J. Anal. Chem.* 355 (1996) 783–788.
- [44] M. Resano, M. Verstraete, F. Vanhaecke, L. Moens, A. van Alphen, E.R. Denoyer, Simultaneous determination of Co, Mn, P and Ti in PET samples by solid sampling electrothermal vaporization ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* 15 (2000) 389–395.
- [45] M.A. Belarra, C. Crespo, M.P. Martinez-Garbayo, J.R. Castillo, Direct determination of metals in solid samples by graphite-furnace atomic absorption spectrometry: Does sample mass influence the analytical results? *Spectrochim. Acta Part B* 52 (1997) 1855–1860.
- [46] M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, Discrimination of the causes of imprecision in the direct determination of metals in organic solid samples by electrothermal atomization atomic absorption spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 13 (1998) 489–494.
- [47] G. Ertas, J.A. Holcombe, Use of a simple transient extension chamber with ETV-ICPMS: quantitative analysis and matrix effects, *J. Anal. At. Spectrom.* 18 (2003) 878–883.
- [48] P. Mader, V. Haber, J. Zelinka, Classical dry ashing of biological and agricultural materials. Part I. Following the course of removal of organic matrix, *Analisis* 25 (1997) 175–183.
- [49] M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, Theoretical evaluation of solid sampling-electrothermal atomic absorption spectrometry for screening purpose, *J. Anal. At. Spectrom.* 14 (1999) 547–552.
- [50] Ph. Quevauviller, W. Cofino, L. Cortez, Use of reference materials in accreditation systems for environmental laboratories, *TrAC, Trends Anal. Chem.* 17 (1998) 241–248.
- [51] P. Carrier, A. Baryla, M. Havaux, Cadmium distribution and micro-localization in oilseed rape (*Brassica napus*) after long-term growth on cadmium-contaminated soil, *Planta* 215 (2003) 939–950.
- [52] M. Greger, M. Löfstedt, Comparison of uptake and distribution of cadmium in different cultivars of bread and durum wheat, *Crop Sci.* 44 (2004) 504–507.
- [53] M.A. Belarra, M. Resano, F. Vanhaecke, L. Moens, Direct solid sampling with electrothermal vaporization/atomization: what for and how? *TrAC Trends Anal. Chem.* 12 (2002) 828–839.
- [54] E.A. Hanlon, Quality control procedures for plant analysis, in: Y.P. Kalra (Ed.), *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*, CRC press, Boca Raton, 2000, pp. 199–208.

Détermination directe du phosphore dans des échantillons végétaux solides par vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif

Résumé

Le phosphore (P) n'est pas un élément habituellement déterminé par vaporisation électrothermique à cause de sa volatilité et du manque de sensibilité de la mesure. Cependant, l'analyse directe de P dans les végétaux à l'état solide est possible quand la vaporisation électrothermique (ETV) est couplée avec la spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif (ICP-AES). L'obtention de bons résultats reste néanmoins liée au choix des conditions opératoires. Les concentrations étudiées, élevées, ont nécessité l'utilisation du spectromètre en configuration de visée radiale afin de diminuer la sensibilité. Le comportement de P pendant la vaporisation a été étudié entre 270 et 1900°C. Un étalonnage externe a été mis en œuvre utilisant un matériau solide (cellulose) dopé par des solutions étalons. Plusieurs matériaux de référence ont été utilisés pour valider la justesse de la méthode. Les résultats analytiques sont en accord avec les valeurs certifiées quand la cellulose est utilisée au cours de l'étalonnage. Les coefficients de variations obtenus sont compris entre 2 et 14% et la limite de détection a été mesurée à 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ pour une prise d'essai typique de 2 mg.

Cite this: *J. Anal. At. Spectrom.*, 2011, **26**, 1290

www.rsc.org/jaas

TECHNICAL NOTE

Direct phosphorus determination on solid plant samples by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry

Pierre Masson*

Received 14th September 2010, Accepted 25th November 2010

DOI: 10.1039/c0ja00156b

Phosphorus (P) is not a typical element that is determined with the electrothermal vaporization (ETV) technique because of its volatility and its lack of sensitivity. However, direct solid sampling is possible when ETV is coupled with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) for the determination of P in plant samples. Obtaining good results was governed by some special operating conditions. The concentrations studied necessitated the use of the ICP spectrometer in radial view configuration. The behavior of P during vaporization was studied between 270 and 1900 °C. External calibration was carried out using solid external (cellulose) spiked with aqueous standard solutions. Several reference plant materials were used to validate the accuracy of the method. Analytical results agreed with certified values when cellulose was used in calibration. Relative standard deviations varied from 2 to 14%. A detection limit of 30 $\mu\text{g g}^{-1}$ was achieved for a typical mass sample of 2 mg.

1. Introduction

Phosphorus (P) plays an important role in the environment, especially concerning plant growth and biological activity. Due to this essential agronomic character, there is an increasing demand of simple techniques for the rapid analysis of P in plants. Generally, the determination of P in biological samples requires dissolution of solid material by acid digestion prior to inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES) analysis. However, the digestion of plant materials is time-consuming and requires highly dangerous acids at high temperature.¹ Therefore, the amount of material available for some samples may be very small, especially for young plants which start to grow. In these conditions, it can be expected that the direct analysis of solid plant samples is more adapted to overcome these analytical difficulties.

Electrothermal vaporization (ETV) coupled with ICP methods have shown considerable ability for the direct analysis of various solid matrices.^{2–4} Some papers have been published on P determination using solid sampling by ETV but the matrices studied were steels or polymers.^{5,6} More recently, Resano *et al.* proposed the direct determination of P in biological samples using a solid sampling-high resolution-continuum source electrothermal spectrometer.⁷ Direct solid analysis of plant samples using ETV is also viable and can be used as a sampling system for the simultaneous determination of major elements.^{8–10} However, P was not investigated in this last study because it presents no sensitive spectral line in the window of wavelengths used. The

main resonance lines for P are in the vacuum-ultraviolet, inaccessible during the analysis of the other elements. Therefore, P is not a typical element analysed by ETV because of its volatility.¹¹ P represents then a challenging element for this technique.

The aim of this study was to demonstrate the capability of solid sampling ETV-ICP-AES to accomplish the determination of P in plant materials. P is present in a large amount in plant samples (0.1–1% dry matter). At these concentrations, the sensitivity of the method could become a drawback because it is difficult to dilute the samples with ETV. Here, the sensitivity of the method was also decreased with the use of ICP in the radial view configuration. Optimization of ETV operating parameters has been investigated in previous work.¹⁰ However, a short study was focused on the thermal release of P depending of the temperature. Matrix effects were also carried out specifically for P. Next, accuracy and precision were verified with appropriate reference plant materials with certified values in P. It was easy to obtain several materials presenting different properties in terms of origin, matrix composition and concentration range of P.

2. Experimental

2.1. Apparatus and conditions

An ETV 4000 (Spectral systems, Fürstentfeldbruck, Germany) electrothermal vaporizer was used. This unit consists of a graphite-tube furnace, power supply, gas supply, water cooler and autosampler.¹² Graphite sample holders are easily loaded into the cylindrical graphite furnace with the aid of a pair of tweezers. After loading the sample, one end of the furnace is closed using a shutter. The heating cycle of the ETV was completely computer controlled. The temperature ranges from

INRA, USRAVE, Centre de Recherches de Bordeaux, B.P. 81, 33883 Villenave d'Ornon cedex, France. E-mail: masson@bordeaux.inra.fr; Fax: +(33) 05 57 12 23 99; Tel: +(33) 05 57 12 24 02

room temperature up to about 3000 °C. The heating program is given in Table 1. During the heating cycle, argon gas flow containing a reaction gas (CHClF_2 , 2.3 ml min^{-1}) removes all vapors in the graphite tube. The elements are generally transformed into volatile halogenide compounds by the addition of halogen. A second argon gas flow was introduced after the evaporation tube. Rapid cooling of atoms and molecules formed enhances the formation of stable and transportable aerosol.¹³ The ETV unit was interfaced to the ICP *via* 30 cm long and 6 mm internal diameter PTFE tubing. The sample aerosol was injected directly into the plasma.

The simultaneous ICP instrument was a Thermo Elemental (Franklin, MA, USA) dual view IRIS INTREPID ICP-AES spectrometer with CCD detector and equipped with a standard extended torch and a quartz injector tube (2.4 mm internal diameter). For this study, the instrument was used with radial view. In this configuration, the height of measurement was fixed. Operating parameters are summarized in Table 2. The spectral line chosen for this study was 185.9 nm. The peak area of the transient signal was integrated over time and was used for data handling. For background correction, intensities were also measured to the sides of each peak.

2.2. Reagents and samples

For calibration, a standard solution containing 80 mg l^{-1} of P was prepared by diluting appropriate volumes of available commercial stock solutions (Merck, Darmstadt, Germany) with distilled water. Analyses were carried out on eight plant materials: standard reference materials SRM 1573a (tomato leaves), SRM 1575a (pine needles), SRM 1547 (apple leaves) and SRM 1568a (rice flour) from NIST (National Institute of Standard and Technology, Gaithersburg, MD, USA) and certified reference materials CRM 100 (beech leaves), CRM 101 (spruce needles), CRM189 (wholemeal flour) and CRM 129 (hay powder) issue from the IRMM (Institute of Reference Materials and Measurements, Brussels, U.E.). These samples consisted of dried powders. They were used to verify the accuracy of the method for P determinations.

2.3. Measurements

Before performing measurements, a purification process involving halocarbon assisted thermal purification at 2400 °C was performed on graphite boats. Next, samples were introduced manually into a purified graphite boat on a metrological controlled Mettler microbalance AT261 DR (Mettler, Greifensee, Switzerland) with a precision of 0.01 mg. Amounts weighed varied between 1 and 5 mg. The obtained results were divided by corresponding sample mass weighed in order to have

Table 1 Thermal cycle of the ETV

Program step	$T/^\circ\text{C}$	Ramp/s	Hold time/s
pyrolysis I	270	30	60
pyrolysis II	420	30	30
vaporization	1200	5	20
cleaning	2300	5	15
cooling	20	60	10

Table 2 Operating parameters of the ETV atomizer and ICP spectrometer for P determinations

ETV	
Carrier argon flow rate/ l min^{-1}	0.3
Bypass argon flow rate/ l min^{-1}	0.1
Freon flow rate/ ml min^{-1}	2.3
Plasma	
Power/kW	1.35
Argon flow rate/ l min^{-1}	15
Auxiliary argon flow rate/ l min^{-1}	1.5
Measured wavelength/nm	185.9

comparable values (concentration in $\mu\text{g g}^{-1}$). Every determination consisted of five replicate measurements of samples and the mean was taken as a representative value.

Quantification on the ETV-ICP-AES instrument was accomplished against aqueous solution on purified cellulose. Cellulose was found to be the ideal support for matrix matching of calibration curves. Cellulose simulated the organic part of plant sample and it was found that transport efficiency of elements in sample matrix or on cellulose was the same.¹⁰ The amount of cellulose weighed was typically 2 mg. Aliquots of the standard solution (10, 20, 30 and 40 μl) were introduced manually on the cellulose powder by means of a micropipette. It should be noted that the analyses of cellulose blank gave no significant signal.

3. Results and discussion

3.1. Vaporization of P

Before measurements in plant samples, it was essential to control the process of vaporization of P. The optimization of the pyrolysis of plant samples step has been investigated in a previous work.¹⁰ Vaporization temperatures established for metal analysis were not necessarily adapted to the determination of P. Vaporization involves processes in the solid phase and in the gaseous phase. The vaporization step of the heating cycle was optimized by measuring the element signal intensity generated by cellulose spiked with 1.6 μg of P in the temperature range of 270–1900 °C (Fig. 1). Under halogenating vapors, temperatures above 800 °C guarantee complete evaporation of element. No vaporization temperature below 700 °C must be used.

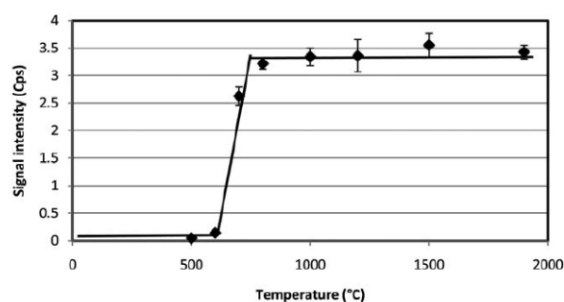


Fig. 1 Effect of the vaporization temperature on signal intensities for P. Matrix = cellulose spiked with 1.6 μg P. The error bars indicate the standard deviation obtained for 5 replicates.

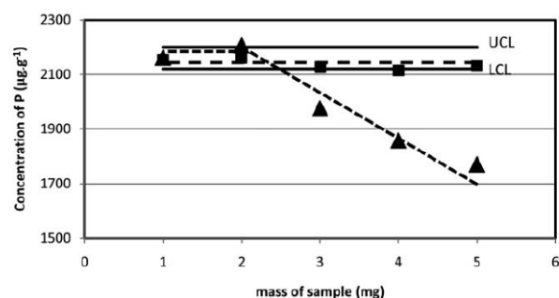


Fig. 2 Influence of the sample mass on analytical concentration of P in the NIST 1573a (tomato leaves) depending of the vaporization temperature: (■, - - -) 1200 °C, (▲, - - -) 1900 °C. Certified value = $2.16 \pm 0.08 \text{ mg g}^{-1}$. UCL = upper control limit (certified value + 10%); LCL = lower control limit (certified value - 10%).

In comparison with others works, there is no loss of P at a temperature below 500 °C.^{6,11} The formation of molecular species which volatilize at low temperature, during the pyrolysis step, is not evident. However, the pyrolysis step was carried out without oxygen. P appeared then as a volatile element in comparison with the other major elements of plant samples which are vaporized at 1900 °C.¹⁰ This lower volatility of P compounds could be used to decrease the matrix effect.

3.2. Matrix effect

Matrix effects must be also considered to obtain accurate analytical results. Several authors have reported matrix effects in ETV for various sample types.^{6,10} It was found that the results depend on the mass of sample used.¹⁴ However, it is known that organic matrices are particularly well suited for direct analysis in ETV because these types of matrices can be very efficiently removed during the pyrolysis step and thus the subsequent vaporization of the analytes is almost free from matrix effects. Therefore, it has been seen that the vaporization of P can be separate in time from the vaporization of analytes, and from the vaporization of the other matrix components according to the temperature.

The influence of an increasing amount of SRM NIST 1573a (tomato leaves) was investigated on the spectral line intensity of P. The organic sample material was destroyed according to pyrolysis at 420 °C. Two vaporization temperatures were investigated: 1200 and 1900 °C. The result is shown in Fig. 2. At 1900 °C, an underestimated result was obtained for 3 mg in tomato leaves. It was necessary to take less than 2 mg of sample to obtain an acceptable concentration. Next, a linear decrease of

concentration was observed in function of mass. At 1200 °C, and within the experimental error, no influence of an increasing amount of plant sample was observed up to 5 mg. P determination in plant materials appeared to be little affected by matrix effects when a moderate vaporization temperature was used. It can be expected that analyte signal was not affected by the presence of a high concentration of elements (Ca, K, Mg) which were not vaporized at 1200 °C. Inversely, these elements decreased the plasma energy available, and then, improved the matrix effect, at 1900 °C.

3.3. Quantification of P

On the base of the previous observations obtained with the cellulose sample, the analytical method created was employed for plant samples. The accuracy of the method was verified by using some reference materials with certified values for P. The goal was to show the agreement of the method for a large diversity of matrices. Reference materials are certainly the most efficient tools to prove accuracy of an analytical process. The results obtained (mean, standard deviation and relative standard deviation of five replicates) are presented in Table 3. Good agreement is obtained between the measured concentrations and the certified values at the 95% confidence level. The calibration with cellulose then produced accurate results, showing that this calibration form was very effective for major elements and trace elements in plant samples.¹⁰ Fig. 3 represents the typical calibration curve obtained during analysis. The linearity of the standards was satisfactory for all species ($r^2 > 0.99$).

The method also maintained good precision. The relative standard deviations varied between 2 and 10%, except for the NIST 1575a sample. Obtaining repeatable results in the determination of elements by ICP-AES with ETV as an introduction device depends on the homogeneity of samples especially in consideration of the mass weighed (1–3 mg).¹⁵ In the case of the NIST 1575a sample, the results can indicate that the distribution of elements was non-homogeneous through the various particles constituting the sample. The non-homogeneity of the sub samples used is generally the principal reason for the precision problem of the ETV technique. However, for major elements in plant samples such as P, the precision remains at an acceptable level, below 10%. Obtaining repeatable results on real samples analysis must be accompanied by efficient grinding to reduce significantly the size of solid particles and by homogenization to ensure the representativity of the sample. No signal suppression was observed indicating that matrix effects are absent under the experimental conditions defined. No obvious memory effect was noticed during the analysis.

Table 3 Results ($\mu\text{g g}^{-1}$) for P in certified plant samples^a

	CRM100 beech leaves	CRM101 spruce needles	CRM129 hay powder	CRM189 wholemeal flour	NIST1568a rice flour	NIST1575a pine needles	NIST1547 peach leaves
mean ($n = 5$)	1605	1801	2296	5342	1616	1222	1370
s ($n = 5$)	23	38	73	382	120	170	136
reference	1555 ± 40	1690 ± 40	2360 ± 70	[5300]	1530 ± 80	1070 ± 80	1370 ± 70

^a The value in the brackets is not certified but only indicative.

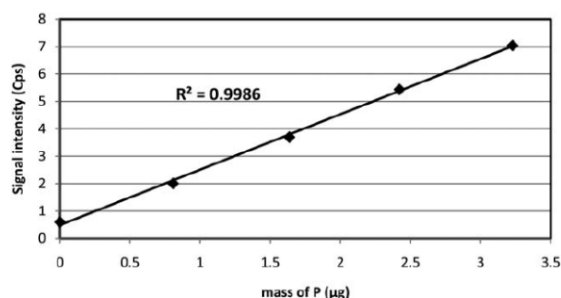


Fig. 3 Calibration curve obtained with ETV-ICP-AES for P analysis.

3.4. Detection limit

The detection limit was calculated at $30 \mu\text{g g}^{-1}$ for P in 2 mg of sample. It was obtained from the peak area and three times the standard deviation of the background noise measured with ten replicates of the empty platform alone. The value obtained is sufficient for some relevant P determination in plants and is comparable to the limit obtained with solid sampling-continuum source electrothermal spectrometer.⁷

4. Conclusions

Determination of P in plant samples with solid sampling ETV illustrated the possibility to separate the analyte of interest from the interfering matrix components by applying an optimized heating program. This application also offers great interest in some circumstances such as analysis of small size plant samples. ETV-ICP-AES provides reliable results in all cases and accurate quantification can be accomplished easily by means of aqueous standard solutions. Compared to routine liquid analysis with digestion procedures, the present approach was extremely easy

and fast. In the majority of cases, ETV-ICP-AES provides a significant reduction in analysis time and costs. The main advantage of ETV technique for the determination of phosphorus was the absence of matrix interference.

Acknowledgements

This research was supported by the regional council of Aquitaine with the agreement 20040309007A.

References

- 1 P. Masson and J. M. Esvan, *Analisis*, 1995, **23**, 437–440 (in French).
- 2 F. Vanhaecke, M. Resano and L. Moens, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2002, **374**, 188–195.
- 3 M. C. Wende and J. A. C. Broekaert, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2005, **57**, 1897–1904.
- 4 L. Moens, P. Verrept, S. Boonen, F. Vanhaecke and R. Dams, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1995, **50**, 463–475.
- 5 D. M. Hughes, D. C. Grégoire, H. Naka Chuni and L. Chakrabarti, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1998, **6**, 1079–1085.
- 6 M. Resano, M. Verstraete, F. Vanhaecke, L. Moens, A. van Alphen and E. R. Denoyer, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2000, **15**, 389–395.
- 7 M. Resano, J. Briceno and M. A. Belarra, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2009, **24**, 1343–1354.
- 8 F. Vanhaecke, S. Boonen, L. Moens and R. Dams, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1995, **10**, 81–87.
- 9 G. Galbacs, F. Vanhaecke, L. Moens and R. Dams, *Microchem. J.*, 1996, **54**, 272–286.
- 10 P. Masson, *Talanta*, 2007, **71**, 1399–1404.
- 11 A. Mroczek, R. Wennrich, G. Werner and W. Schrön, *Spectrochim. Acta, Part B*, 2000, **55**, 1527.
- 12 J. Hassler, A. Detcheva, O. Forster, P. R. Prezl and K. Florian, *Annali di Chimica*, 1999, **89**, 827–836.
- 13 T. Kantor and S. Güçer, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1999, **54**, 763–772.
- 14 M. A. Belarra, C. Crespo, M. P. Martinez-Garbayo and J. R. Castillo, *Spectrochim. Acta, Part B*, 1997, **52**, 1855–1860.
- 15 M. A. Belarra, M. Resano and J. R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 1998, **13**, 489–494.

Cartographie des éléments minéraux dans des feuilles de tabac par couplage vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif

Résumé

Les végétaux sont des organismes complexes qui sont à la base de la chaîne alimentaire. Les végétaux absorbent et stockent les éléments minéraux selon l'environnement dans lequel ils se développent. Un déficit en éléments essentiels (Ca, K, Mg, P et S) peut empêcher la croissance des plantes. Des concentrations élevées en éléments toxiques (Cd, Pb, Hg) peuvent altérer les fonctions biochimiques jusqu'à la mort des cellules. La détermination des éléments essentiels ou des éléments toxiques dans les végétaux prend alors une importance vitale.

Cependant, il est admis que la composition élémentaire déterminée sur les tissus sélectionnés peut fournir des informations plus spécifiques que celles provenant de l'analyse des plantes entières. L'identification du stockage des ions est d'intérêt croissant pour les sciences de l'environnement et de l'alimentation. Pour obtenir des données au sujet de l'accumulation des éléments, des méthodes permettant de cartographier la composition chimique de l'échantillon à l'état solide doivent être utilisées. Mais en chimie analytique, l'application de techniques quantitatives d'imagerie pour les échantillons biologiques reste un défi.

Dans ce travail, nous avons évalué la faisabilité de l'analyse directe du solide par couplage vaporisation électrothermique - spectrométrie d'émission atomique par plasma inductif (ETV-ICP-AES) afin d'obtenir des images quantitatives de divers éléments dans des feuilles de tabac. La technique ETV n'exige pas de préparation particulière des échantillons excepté le séchage des feuilles.

Pour démontrer les possibilités de la méthode, des feuilles issues de plants ayant poussé sur des sols soit contaminés, soit non-contaminés en métaux ont été choisies comme échantillons. Cela permet d'effectuer une comparaison sur leurs distributions élémentaires respectives. Ces feuilles ont été coupées en petites sections et analysées. Le cadmium et le plomb ont été choisis pour être analysés car ces éléments sont fortement toxiques pour les systèmes biologiques, même à faibles concentrations ($10\text{-}100\text{ }\mu\text{g g}^{-1}$). D'autres éléments tels que P, S, Mg et Zn ont également été analysés. P et S sont les éléments essentiels impliqués dans la

détoxification de la plante. Pour l'étalonnage, de la cellulose dopée par des solutions multi-élémentaires a été employée. Des échantillons de référence aux teneurs certifiées (NIST SRM 1547 feuilles de pêcher et NIST SRM 1573a feuilles de tomate) ont été utilisés pour vérifier l'exactitude des mesures.

Les images des éléments choisis ont montré une distribution non-homogène dans les feuilles ainsi qu'un comportement très différent d'un élément à l'autre. Ces résultats peuvent fournir de nouvelles connaissances au sujet du rôle physiologique de l'élément pendant la croissance et le développement des plantes, aussi bien que dans des réactions de défense en réponse à un stress environnemental.

Imaging of elements in leaves of tobacco by solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (SS-ETV-ICP-AES)

Abstract

Plants take up and store elements according to the environment in which they are growing. Because plants are at the base of the food chain, the determination of essential elements or toxic elements in plant materials is of importance. However, it is assumed that the element content determined on selected tissues may provide more specific information than that derived from the whole plant analysis. In this work, we assessed the feasibility of solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (SS-ETV-ICP-AES) analyses for quantitative imaging of various elements in plant leaves. The ETV technique does not require any sample preparation with the exception of drying of leaves. Leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum*) were selected to be used as samples. To produce a two dimensional image, sections cut from leaf samples were analyzed. Cd, Pb, P, S, Mg and Zn were chosen for measurements. Cellulose doped with multi-element solution standards was used as calibration samples. Two standard reference materials (NIST SRM 1547 Peach Leaves and NIST SRM 1573a Tomato leaves) were used to verify the accuracy of measurements with good agreement between the measured concentrations and the certified values. Quantitative imaging of the selected elements revealed different behaviors. Notable accumulation of Pb was clearly identified in the central vein. Cd and Zn were accumulated at the tip of the leaf. Mg, P and S showed homogeneous distributions over the whole leaf.

Keywords: Electrothermal vaporization; Inductively coupled plasma; Plant samples; Imaging technique.

1. Introduction

Plants are complex organisms which are at the base of the food chain. Plants take up and store elements according to the environment in which they are growing. Macro-elements (Ca, K, Mg, P and S) are essential and play a key role in the development and metabolism of plants. They are uptaken in high amounts by plants but deficiencies can inhibit metabolic processes and plant growth [1,2]. Micro elements (Cu, Mn, Fe, Ni, Zn) are also essential but can cause toxic effects if a certain level is exceeded in the plant. Other elements, without physiological role, can be uptaken by plant and can be toxic even in small amounts (Cd, Pb, Hg) with alteration of biochemical functions [3]. However, each plant reacts differently according to its environment, has specific nutritive requirements and is more or less tolerant of toxic elements.

The determination of essential elements or toxic elements is then of key importance to evaluate the nutritional status of crops of economic interest. Generally, the determination of elements in plant materials is carried out in samples properly collected, cleaned, dried, crushed and homogenized. Next, samples were dissolved using dry-ashing followed by the dissolution of ash in acid, or using a mixture of mineral acid such as HNO_3 and/or strong oxidative reagent such as H_2O_2 [4]. Obtained solutions were then analyzed by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES), inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) or atomic absorption spectrometry (AAS). The sample preparation is time consuming and increases the risk of contamination. Therefore, this analytical approach does not offer spatial distribution at tissue level.

However, it is assumed that the element content determined in selected regions of a plant tissue (root, stem, leaves, flowers, fruits, or seeds) may provide more specific information than that derived from whole plant analysis. More interest is attached to the element distribution and ion storage in environmental science and food production to explore the mechanisms involved in tolerance and detoxification. Detailed investigation of spatial macro and micro elements distribution could open new insights for plant physiology. Understanding plant uptake and accumulation of toxic elements is also important to identify accumulator species for the removal of elements from the soil (phytoremediation) [5]. For these reasons, elemental mapping of sample in solid state could help to provide data on the spatial location of elements but quantitative imaging techniques for biological samples remain still then a challenging task in analytical chemistry.

Spectrometry imaging has emerged as an important tool in the last decade to provide new multiplexed information in many application fields due to its ability to acquire elemental or molecular specific images. Imaging techniques applied to investigate the distribution of inorganic species in plant samples include synchrotron radiation X-ray fluorescence [6-7], proton induced X-ray analysis (PIXE) [8], scanning electron microscopy coupled with electron dispersive x-Ray spectroscopy [9]. However, these X-ray methods are generally not sensitive enough for trace metal imaging [10]. Mass spectrometry techniques provide also multi-element and isotope analysis in the field of plant research. Secondary ion mass spectrometry (SIMS) has been used to image metals and metal containing species in plant science [11-13]. SIMS is able to map elemental distributions at high resolution, down to 50 nm and can detect low concentrations. However, a major problem in SIMS analysis is the strong matrix effects of the ion yields and it is difficult to quantify the analytical data [14]. Serious problems occur in SIMS if no suitable matrix-matched reference materials for imaging mass spectrometry are available. Quantification of the analytical data is very difficult as the relative sensitivity factors of elements varied as a function of matrix up to several orders of magnitude [15]. The main drawback of SIMS is very large matrix effects and high formation rate of polyatomic ions which do not allow an easy measurement.

The most recently developed technique, Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) and Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LA-ICP-MS) have also presented a significant potential within the plant science, allowing to explore elemental distribution on leaf surfaces [16-17]. LA and LIBS techniques allow real-time multi-element analysis in-situ. Their advantages are a very simple sample preparation due to direct solid sampling, low sample consumption and the capability of analysis with high spatial resolution, determined by the size of the laser craters produced within the material (100 µm). These methods then easily provide direct information on elemental distribution of plant leaves [18-19]. However, LIBS is not suitable for trace elements because its lack sensitivity [20-22]. Conversely, LA-ICP-MS is also a method of choice for the trace and isotope analysis of solid samples. LA-ICP-MS has been applied to studying the distribution of elemental composition in cross sections of tobacco tissue [16], sunflower [23-25], oak leaves [26] and various other plants leaves [17,22,27].

Due to less matrix effects and significant lower formation rate of polyatomic ions, the measurements by LA-ICP-MS are relatively simple. However, calibration remains

challenging. For plant leaves analysis, for example, it is next to impossible to prepare standard samples from leaves for quantitative measurements. The strategy consists generally to use solid matrix-matched standard with certified reference materials or synthetic laboratory standards [28]. The difficulty to find a matrix that exactly matches the characteristics of the sample at an appropriate calibration range is the main limitation of the laser ablation approach. Therefore, these techniques rely generally to the surface of sample but not necessary on bulk analysis of the sample.

For solving these drawbacks, a new strategy must be developed. In this work, a new approach to generate elemental image of plant material was developed using solid sampling - electrothermal vaporization-inductively coupled plasma- atomic emission spectrometry (SS-ETV-ICP-AES). ETV is one of the few techniques that have the potential to overcome the requirements for LA. To our knowledge, previous investigation dealing with spatial distribution in biological tissues using ETV was not found in the literature [29]. As for LA, ETV offers direct analysis of solid samples without sample preparation and without matrix effects during the measurements [30]. Compared to the LA techniques, ETV allows easy quantification procedures with simple standard solutions [31].

In this study, this tool was used to investigate the elemental distribution of toxic and essential elements in leaves of tobacco plants (*Nicotiana tabacum*) issue from contaminated and uncontaminated soils. The aim of the present study was firstly to investigate the accumulation of Cd and Pb. These elements are highly toxic for biological organisms in small concentrations 10-100 $\mu\text{g g}^{-1}$ [32-33]. P, S, Mg and Zn were also chosen for measurement. P and S are essential elements involved in detoxification. ETV-ICP-AES should provide direct information concerning the physiological role of elements during plant growth and development, as well as in defense reactions as a response to environmental stress.

2. Experimental

2.1. Apparatus and conditions

A Spectral Systems (Fürstfeldbruck, Germany) ETV 4000 electrothermal vaporizer was used. The ETV 4000 unit is equipped with graphite furnace-coated tube and platforms containing the solid samples. These boat-shaped platforms were easily loaded into the cylindrical graphite furnace with a pair of tweezers. After loading the sample, one end of the furnace is closed using a shutter. The operations of the ETV were completely computer

controlled. The temperature of various steps of heating program and time period can be selected. Temperature ranges from room temperature up to about 3000°C. During the temperature program, carrier and bypass argon gas flow rates originating from both end of the graphite tube remove all vapors. Steps of drying, ashing and vaporization of the samples were optimized in a previous work [30]. They were as previously selected in this study.

The ICP instrument was a Thermo Elemental (Franklin, MA, USA) axial view IRIS INTREPID ICP-AES spectrometer equipped with a standard extended torch and a quartz injector tube (2.4 mm internal diameter). For this study, the instrument was used with axial view for Cd determinations and with lateral view for Si determinations.

The ICP conditions were selected to maximize ion signals and to minimize matrix effects. The transfer line between the two instruments consisted of a 30-cm long, 4-mm i.d. PTFE tubing. Peak area of the transient signal was integrated over time and was used for data processing. The analytical intensities were measured during the transient signal. For background correction, intensities were also measured on the sides of each peak. Operating parameters of ICP-AES and ETV were summarized in Table 1 as well as the spectroscopic lines chosen for this study.

2.2. Reagents

All reagents used were analytical grade. Quantification on the ETV-ICP-AES instrument was accomplished against aqueous solutions on purified (acid washed) cellulose (Baker analyzed, Phillipsburg, NJ, USA). For Cd, Pb and Zn determinations, four multi-element standard solutions containing respectively 0, 400, 800 and 1600 $\mu\text{g L}^{-1}$ were prepared by diluting appropriate volumes of available commercial stock solutions (Merck, Darmstadt, Germany) with distilled water. For Mg and P, four multi-element standard solutions containing respectively 0, 40, 80 and 160 mg L^{-1} were prepared by diluting appropriate volumes of available commercial stock solutions with distilled water. These solutions were acidified by 5% (v/v) of concentrated HNO_3 (Baker analyzed, Phillipsburg, NJ, USA). Cellulose was found to be an ideal support for standard solutions. Cellulose simulated the organic part of plant sample and it was observed that cellulose improved the quality of calibration [30]. The amount of cellulose weighed in graphitic platforms was typically 2 mg. Aliquots of standard solutions (20 μl) were introduced manually on the cellulose powder by means of a micropipette.

Mapping the distribution of metals in plant leaves requires analysis at different times. Standard reference materials SRM 1573a (tomato leaves) and SRM 1547 (peach leaves) issued from NIST (National Institute of Standard and Technology, Gaithersburg, MD, USA) were the certified plant samples used to verify the accuracy of the method. Five replicates were made for all samples. These samples consisted of dried powders. Every determination involved five replicate measurements of the samples.

For the quantitative determination of S, it was not possible to obtain an appropriate calibration with standard solutions. This element is very volatile, especially in the mineral form, and losses occurred during the heating program of ETV, giving no analytical signal. Inversely, S was under organic forms in plant samples, less volatile and giving analytical signal. For this element, calibration was carried out with the standard reference materials.

2.3. Plant samples

The analyzed samples were two leaves of tobacco plants (*Nicotiana tabacum*). The tobacco plants were cultivated in a greenhouse with an environment-controlled room at a temperature of 25°C. The first plant was grown on a soil contaminated by Cd, Pb and Zn. The second plant was grown on an uncontaminated soil and served as reference. Leaves (the seventh up from the root) were collected throughout the cultivation period (after 45 days of cultivation), washed with Milli-Q water and dried at 50°C. Before use, the area of the leaf surfaces were cut out with a ceramic knife, and subdivided into about one hundred twenty quadratic field of about 0.5-1 cm². Each of the fields was analyzed as a single sample. Each field was then subdivided in two sections, one for the measurement of Cd, Pb and Zn with the ICP instrument in axial view, one for the determination of Mg, P and S in lateral view.

Samples were introduced manually into purified graphite boat on a Metler microbalance with a precision of 0.01 mg. Amounts weighed varied generally between 2 and 5 mg. Samples were weighed and dry-ashed at 480°C in a muffle furnace by separate thermal pre treatment. This procedure avoided matrix effects in the plasma [30]. The contents of elements in the leaves were normalised to the mass. For this, the analytical signals were divided by the mass weighed.

3. Results and discussion

The quality of measurements obtained in this study, was verified on the two standard reference materials NIST SRM 1547 and NIST 1573a inserted with five replicates in each batch of unknown plant samples analyzed. The concentrations measured are presented as the mean and the standard deviation and were in agreement with the certified values (Table 2). Pb is not certified. Obtaining repeatable results for the determination of trace elements by ICP-AES with ETV as introduction device depends on homogeneity of samples [34]. Here, the relative standard deviations were between 5 and 16 % and the results then validated the analytical procedure.

3.1. Cd, Pb and Zn distributions in the leaves

To obtain two-dimensional images of element distribution in the plant leaf, the whole sample was cut out and analyzed piece by piece. All the elements measured were clearly pictured by ETV-ICP-AES and the images are shown in Fig.1. Accumulation areas can be observed. The distribution of elements differed according to the element and depending on the environment where plants were cultivated. In the control sample, Cd appeared homogeneously distributed in all regions of the leaf. This is due to the very low concentrations measured in this sample (below 1 $\mu\text{g.g}^{-1}$). Inversely, in the contaminated leaf, Cd is not homogeneously distributed and is mainly concentrated at the tip of the structure. Zn presented a distribution close to Cd with high contents in the tip of leaf. This can be explained by the fact that these two elements have the same chemical properties and the same behavior. The maximum Zn concentrations were also found in the vein near the petiole and at the bottom edge around the petiole.

This behavior is different of those observed by Becker et al. on a tobacco leaf using LA-ICP-MS where Cd and Zn accumulated near the veins [16]. On sunflower leaves, reported results showed also that Cd and Zn were accumulated at the veins [25]. However, LA-ICP-MS does not take account the whole sample and is generally limited to surface analysis. Furthermore, the element concentrations may vary significantly according to the tobacco species and the bioavailability of metals in soil as well as the characteristics of the soils where the plant is cultivated. Additionally, the Cd concentrations measured by Becker et al. in tobacco leaf were smaller (max. 5 $\mu\text{g.g}^{-1}$) than in the present work (up to 30 $\mu\text{g.g}^{-1}$).

The results observed for Pb were quite different. Specifically, high contents of Pb were located in the central vein of leaf. This location of Pb in the central veins was always demonstrated well by LA-ICP-MS measurements on tobacco leaf [16] and other plants [27]. In contrast, Pb was located at the tip of oak leaves [26]. The veins are the pathway for transporting nutrient elements and toxic elements. The tobacco plant seems to sequester Pb in the veins to avoid its disadvantageous influences on the photosynthetic reactive tissue. The contaminated leaf presented chlorosis regions, but a direct correlation between the accumulation of Cd, Zn or Pb in a specific region of the leaf and morphological problems in the leaf was not observed.

3.2. Mg, P and S distributions in the leaves

To explore the effect of Cd and Pb stress on nutrient uptake by the tobacco plant, Mg, P and S were also inspected by quantitative imaging with ETV-ICP-AES.

Mg is the main element responsible for photosynthesis. It could be expected that environmental stress induced either accumulation of the nutrient in cells to avoid decrease in photosynthetic activity, or a decrease of its concentration due to less efficient metabolism activity. No significant change can be observed in the concentrations of Mg in the damaged leaf in comparison to the control leaf (Fig. 2).

P serves as a constituent of nucleic acids and adenosine triphosphate (ATP). Nucleic acids are constituents of all cells and contain high amounts of P. This leads to the assumption that P shall be homogeneously distributed in the plant leaf. However, the maximum P concentrations were found on the edges. The measured concentrations of this essential element in the damaged leaf appeared slightly lower than those observed in the control leaf. P appeared then as the only element affected by the high concentrations of Cd, Pb and Zn. This stress remained weak in our experimentation but decrease of P can reduce the ATP mechanism which participates to the energy exchange. In some metal-tolerant plants, phosphate in cell wall is found to sequester excess metals (31-32).

S is an important component of amino acids and proteins and can serve to stock excess of metal with phytochelatins which are involved in binding with metals and detoxification. In these conditions, it can be expected that the concentrations of S increase in the regions of metal accumulation due to activation of the metabolism of S, accompanied by an important

uptake of the element. However, concentrations of S in the damaged leaf were not increased and there is no relationship between S location and metal distribution. The distribution of S was essentially homogeneous in all regions of the two leaves.

It was clear that the nutrient elements were not really affected by the high concentrations of Cd, Pb and Zn. Tobacco is known as a very metal tolerant plant and can accumulate high concentrations of toxic elements in their leaves without suffering from any impairment of growth.

4. Conclusions

ETV-ICP-AES was successfully applied to investigate accumulation of Cd, Pb and other essential elements of interest in the leaves of tobacco. Quantitative imaging revealed the inhomogeneous distribution of elements. Excess of Cd and Zn tended to be focused on peripheral regions and the tip of the leaf, and Pb was accumulated near the central vein. The elemental distributions differed according to the element and there is no correlation between essential element locations and toxic element locations.

However, ETV-ICP-AES provided a promising method for the two-dimensional imaging of plant organs. Particularly, its capability for analysis a large area (7 cm x 20 cm) was demonstrated. This tool may be used to monitor pollution levels but can also provide new knowledge concerning the physiological role of element during plant growth and development, as well as in defense reactions as a response to environmental stress. The examination of the spatial organization of elements in biological tissue could also establish multivariable ionic signatures of physiological states associated with mineral nutrient homeostasis that exists in plant.

References

1. F.J.M. Maathuis, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12 (2009) 250
2. R. Hänsch, R.R. Mendel, *Curr. Opin. Plant Biol.*, 12 (2009) 259
3. P.C. Nagajyoti, K.D. Lee, T.V.M. Sreekanth, *Environ. Chem. Lett.*, 8 (2010) 199
4. M. Hoenig, H. Beaten, S. Vanhentenrijk, E. Vassileva and Ph. Quevauviller, *Anal. Chim. Acta*, 358 (1998) 85
5. S. Clemens, M.G. Palmgren, T. Krämer, *TRENDS in Plant Science*, 7 (2002) 309
6. M.P. Isaure, A. Frayssé, G. Deves, *Biochimie*, 88 (2006) 1583.

7. J.Y. Shi, Y.X. Chen, Y.Y. Huang, W. He, *Micron*, 35 (2004) 557.
8. F.J. Ager, M.D. Ynsa, J.R. Dominguez-Solis, C. Gotor, M.A. Respaldiza, L.C. Romero, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, 189 (2002) 494.
9. M.P. Isaure, B. Fayard, G. Saffet, S. Pairis, J. Bourgignon, *Spectrochim. Acta B*, 61 (2006) 1242
10. J.S. Becker, M.V. Zoriy, C. Pickhardt, N. Palermo_Gallagher, K. Zilles, *J. Anal. At. Spectrom.*, 77 (2005) 3208.
11. C. Dérue, D. Gibouin, M. Demarty, M.C. Verdus, F. Lefebvre, M. Thellier, C. ripoli, *Microsc. Res. Technol.*, 69 (2006) 53.
12. K.E. Smarta, M.R. Kilburna, C.J. Saltera, J.A.C Smith, C.R.M. Governor, *Int. J. Mass spectrum.*, 260 (2007) 107.
13. K.L. Moore, E. Lombi, Fang-Jie Zhao, *Anal. Bioanal. Chem.*, 402 (2012) 3263
14. D. Touboul, F. Halgand, A. Brunelle, R Kersting, E. Tallarek B. Hagenhoff, O. Laprevote, *Anal. Chem.*, 76 (2004) 1550.
15. J.S. Becker, M. Zoriy, A. Matusch, B. Wu, D. Salber, C. Palm, J.S. Becker, *Mass spectrum. Rev.*, 29 (2010) 156
16. J.S. Becker, R.C. Dietrich, A. Matusch, D. Pozebon, V.L. Dressler, *Spectrochim. Acta B*, 63 (2008) 1248
17. Bei Wu, Yingxu Chen, J.S. Becker, *Anal. Chim. Acta*, 633 (2009) 165
18. Bei Wu, M. Zoriy, Yingxu Chen, J.S. Becker, *Talanta*, 78 (2009) 132
19. J.S. Becker, M. Zoriy, V.L. Dressler, Bei Wu, J.S. Becker, *Pure Appl. Chem.*, 80 (2008) 2643
20. O. Samek, J. Lambert, R. Hergenröder, M. Liska, J. Kaiser, K. Novotny, S. Kukhlevsky, *Laser Phys. Lett.*, 3 (2006) 21
21. D. Santos Jr, L.C. Nunes, G.G.A. de Carvalho, M. da Silva Gomes, P.F. de Souza, F. de Olivera Leme, L.G.C. dos Santos, F.J. Krug, *Spectrochim. Acta B*, 71-72 (2012) 3
22. M. Galiova, J. Kaiser, K. Novotny, J. Novotny, T. Vaculovic, M. Liska, R. Malina, K. Stejskal, V. Adam, R. Kizek, *Appl. Phys. A*, 93 (2008) 917
23. J. Kaiser, M. Galiova, K. Novotny, C. Cervenka, L. Reale, J. Novotny, L. Liska, O. Samek, V. Kanicky, A. Hrdlicka, K. Stejskal, V. Adam, R. Kizek, *Spectrochim. Acta B*, 64 (2009) 67
24. M.A. Oseas da Silva, M. A. Zezzi Arruda, *Metallomics*, 5 (2013) 62
25. A. Kötshau, G. Büchel, J.W. Einax, C. Fischer, W. Von Tümpling, D. Merten, *Microchem. J.*, 110 (2013) 783

26. E. Hoffmann, C. Lüdke, J. Skole, H. Stephanowitz, E. Ullrich, C. Colditz, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 367 (2000) 579
27. M. Galiova, J. Kaiser, K. Novotny, M. Hartl, R. Kizek, P. Babula, *Microscop. Reas. Tech.*, 74 (2011) 845
28. D. Hare, C. Austin, P. Doble, *Analyst*, 127 (2012) 1527
29. M. Resano, F. Vanhaecke, M.T.C. de Loos-Vollebergt, *J. Anal. At. Spectrom.*, 23 (2008) 1450
30. P. Masson, M. Dauthieu, F. Trolard and L. Denaix, *Spectrochim. Acta B*, 62 (2007) 224
31. P. Masson, *Can. J. Anal. Sci. Spect.*, 5 (2005) 268
32. C.D. Foy, R.L. Chaney, M.C. White, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 29 (1978) 511
33. M. Pal, E. Horvath, T. Janda, G. Szalai, *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 169 (2006) 239
34. M.A. Belarra, M. Resano, J.R. Castillo, *J. Anal. At. Spectrom.*, 13 (1998) 489

Table 1 : Operating parameters of the ETV atomizer and ICP spectrometer.

ETV	
Carrier argon flow rate (L min ⁻¹)	0.3
Bypass argon flow rate (L min ⁻¹)	0.1
sample mass analyzed (mg)	1-5
Plasma	
Power (kW)	1.35
Argon flow rate (L min ⁻¹)	15
Auxilliary argon flow rate (L min ⁻¹)	1.0
Measured wavelenght (nm)	
axial view	
Cd	214.4
Pb	220.4
Zn	206.2
radial view	
Mg	202.6
P	185.9
S	182.0

Table 2 : Results (in µg g⁻¹) obtained on standard reference materials
Calibration was carried out against aqueous standard solutions with cellulose.

	Mg	P	Cd	Zn
	NIST 1547	NIST 1547	NIST 1573a	NIST 1573a
mean (n=5)	4372	1350	1.60	29.3
st. dev. (n=5)	207	83	0.26	3.5
reference	4320 ± 80	1370 ± 70	1.52 ± 0.04	30.9 ± 0.7

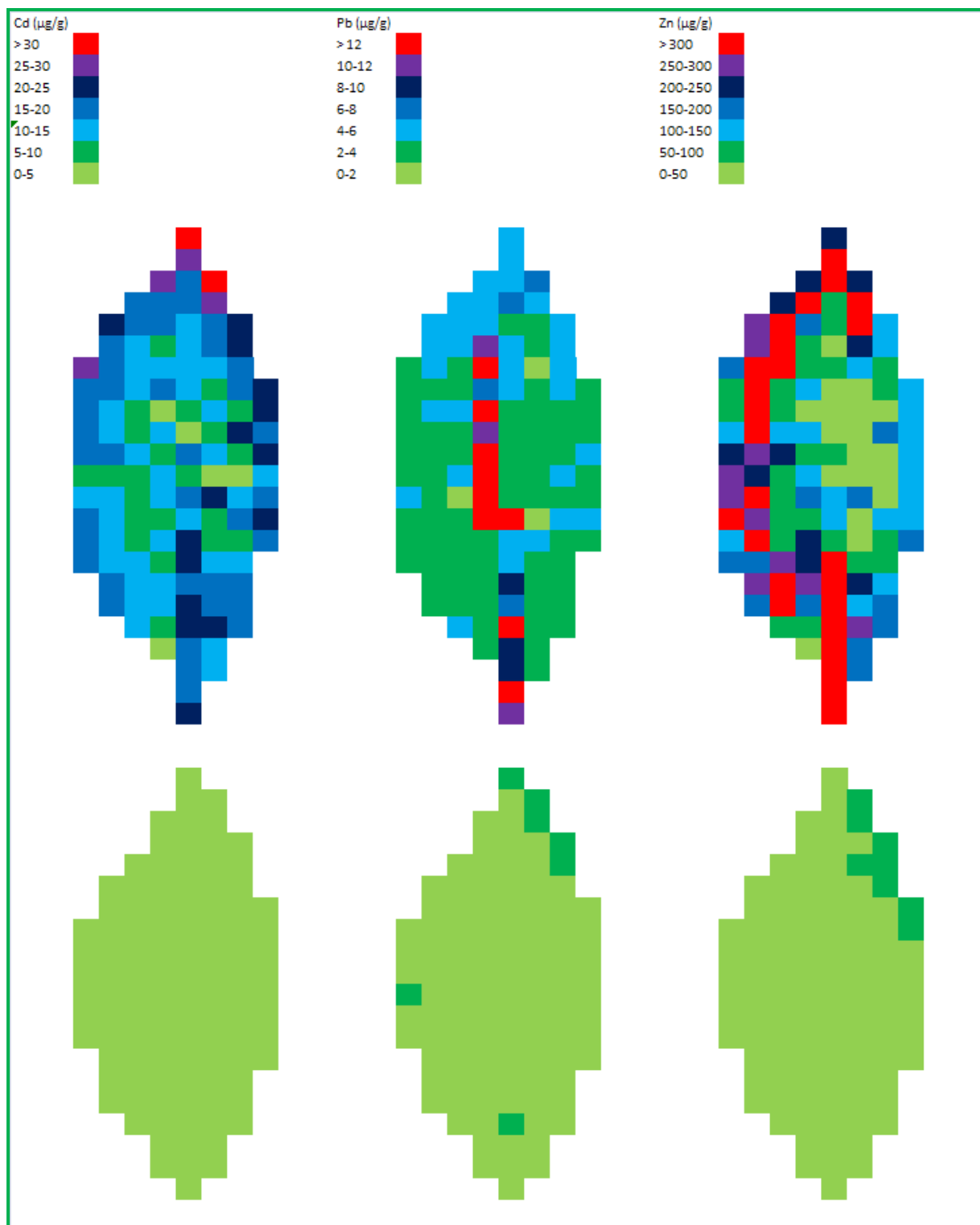


Figure 1 : Two-dimensional images of Cd, Pb and Zn distribution in contaminated (top) and uncontaminated (bottom) tobacco plant leaves.

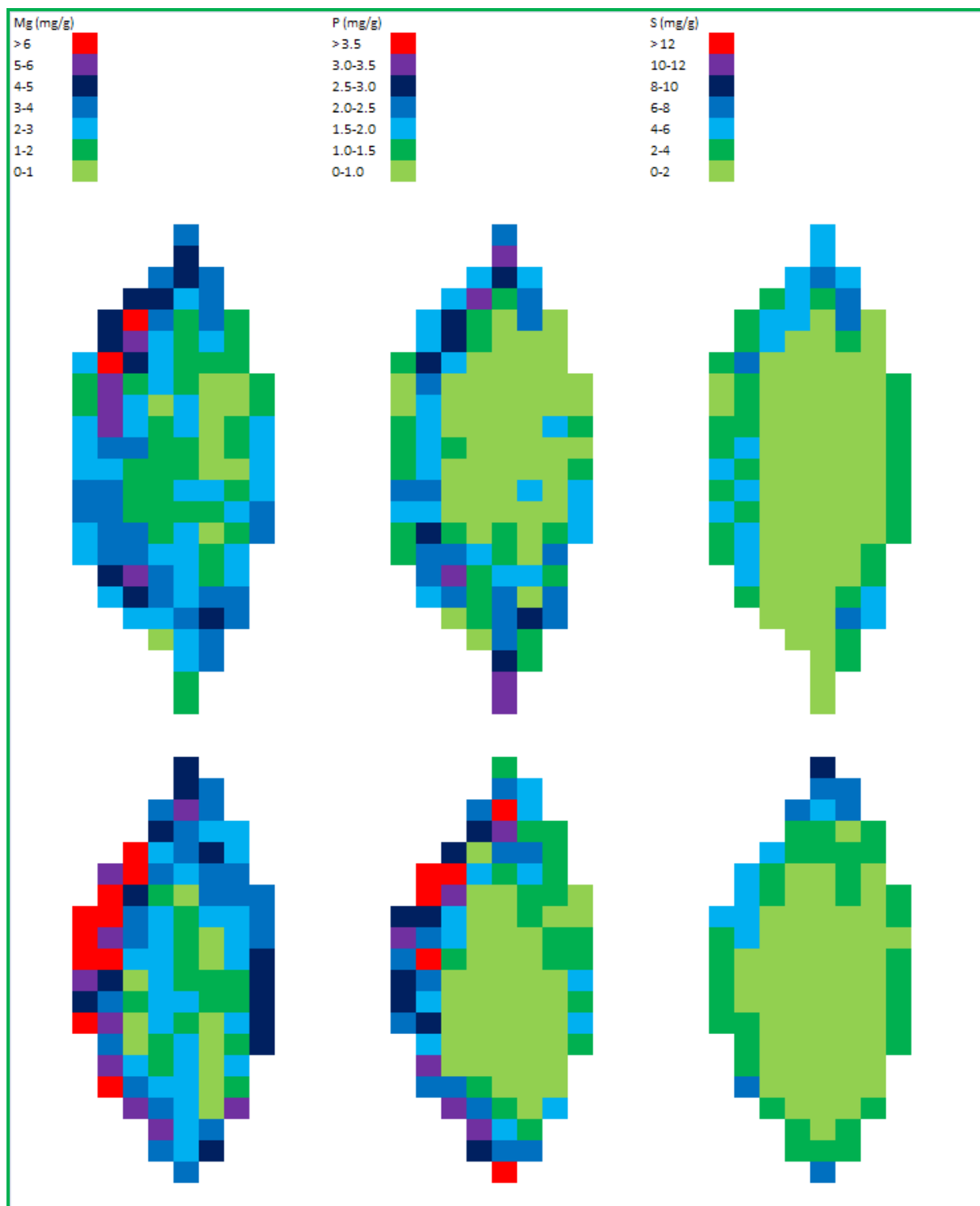


Figure 2 : Two-dimensional images of Mg, P and S distribution in contaminated (top) and uncontaminated (bottom) tobacco plant leaves.

CONCLUSIONS et PERSPECTIVES

Depuis l'introduction des spectromètres ICP, le développement des systèmes d'introduction d'échantillons a été l'un des thèmes les plus abordés par les chercheurs. Dans ce cadre, la vaporisation électrothermique a été envisagée, en particulier pour l'analyse directe des solides. Ce système d'introduction était très attirant parce que combinant simplicité, sensibilité et rapidité, et limitant en plus les pertes, les contaminations et l'utilisation de réactifs corrosifs et dangereux. L'ETV permettait aussi de traiter les très petits échantillons sans les inconvénients liés à la dilution produite par la mise en solution. Très en vogue à la fin des années 1980s et au début des années 1990s, l'ETV a ensuite perdu un peu de son intérêt à cause de l'introduction de nouveaux systèmes d'introduction plus accessibles tels que le nébulisateur microflow en 1995 capable de traiter de faibles échantillons, ou l'ablation laser peut-être plus facile à mettre en œuvre pour l'analyse des solides. De plus, la démocratisation des spectromètres ICP-MS, très sensibles, et l'évolution technologique dont ils ont fait l'objet (cellule de collision/réaction) a rendu possible l'analyse des éléments en traces dans beaucoup de laboratoire grâce à une limitation plus efficace des interférences isobariques.

L'ETV offre, cependant, certains avantages uniques comme la possibilité de séparer la volatilisation de la matrice et de l'analyte dans le temps, avec une réduction significative des interférences spectrales et des effets de matrices, et une sensibilité améliorée en comparaison des nébulisateurs pneumatiques. La faible quantité nécessaire pour une analyse (quelques mg) et la possibilité d'analyser une vaste gamme de solides de nature différente continue de séduire les analystes.

L'ensemble de ce travail avait pour but d'évaluer scientifiquement une unité de vaporisation électrothermique Spectral System ETV 4000 et de développer des applications originales ayant trait à l'analyse élémentaire dans les végétaux et pouvant se révéler utiles à la communauté scientifique des sciences de l'agronomie, de l'alimentation et de l'environnement. Les conclusions et les perspectives sont compilées ici.

Fonctionnement de l'ETV et génération de l'aérosol

La génération de l'aérosol et son transport vers le plasma est une caractéristique fondamentale du fonctionnement d'une unité ETV. Elle est celle qui conditionne ses performances analytiques. Elle est dépendante des débits de gaz vecteurs et influence de manière significative à la fois la sensibilité des mesures, les effets de matrice et la qualité de l'étalonnage.

Les résultats obtenus ont permis de montrer que l'optimisation des paramètres opératoires est d'une grande importance. Ainsi, les débits des deux gaz argon, la présence de Fréon (pour les éléments réfractaires,- mais pas pour les éléments volatils) conditionnent à la fois la formation et le transport de l'aérosol, la thermophorèse qui agit sur la perte d'éléments pendant le transport et enfin le temps de résidence de l'aérosol dans le plasma. Le signal ICP dépend fortement de la nature de l'aérosol.

Avec l'ablation laser, il a été démontré qu'un plasma humide est plus robuste et plus tolérant à la charge de matrice qu'un plasma sec et permet de réduire les effets de matrice. Avec l'ETV, un plasma humide impacte la sensibilité des mesures. En effet, la vaporisation électrothermique produit déjà un flux très important de particules (bien supérieur à l'ablation laser) qui affectent le plasma en absorbant une partie de son énergie.

Si l'addition d'eau n'apparaît pas justifiée, plusieurs autres aspects peuvent, cependant, être testés d'un point de vue technique. Par exemple, il serait intéressant d'utiliser de l'hélium comme gaz vecteur en lieu et place de l'argon. L'hélium présente un potentiel d'ionisation plus élevé (1.5 fois), une conductivité thermique plus forte (10 fois) et une densité plus faible (10 fois). Un gaz moins dense permettra une plus grande dispersion de l'aérosol et diminuera donc les collisions entre particules. Cela limitera la croissance des agrégats et favorisera la formation d'un aérosol plus fin, plus facilement détruit dans le plasma. La forte conductivité thermique de l'hélium devrait aussi permettre de refroidir l'aérosol après sa vaporisation, diminuant ainsi les pertes par thermophorèse avec une efficacité de transport améliorée.

Une grande attention devrait aussi être portée sur la caractérisation de l'aérosol (des aérosols ?), en particulier sur la distribution granulométrique des particules produites ainsi que sur leurs compositions chimiques, en fonctions des conditions opératoires (débits de gaz,

température de vaporisation). Cela passe par la collecte des particules en fonction de leur taille avec, par exemple, l'utilisation d'un impacteur basse pression (Low-pressure impaction) suivie d'une caractérisation des agrégats par microscopie électronique à balayage associée à la microanalyse X (SEM-EDX).

Avec le même objectif de mieux connaître le fonctionnement des unités ETV, il serait intéressant d'envisager une unité ETV du point de vue du génie des procédés (ou génie chimique). Comme l'ont justement fait remarquer Lam et Sturgeon, une unité ETV peut être considérée comme un réacteur chimique à haute température. Mais l'efficacité du transport de l'aérosol est un paramètre influencé par de nombreux facteurs. Identifier, comprendre et quantifier ces facteurs reste fondamental. Dans ces conditions, un logiciel de simulation numérique, prenant en compte l'ensemble des phénomènes physico-chimiques qui se produisent dans le four pourrait certainement parfaire notre connaissance de son fonctionnement. Ce logiciel serait également d'une grande utilité pour optimiser rapidement (et sans expérimentations) la qualité des mesures effectuées par le spectromètre en terme de sensibilité et de robustesse. La première approche de simulation numérique qui a été présentée utilise un modèle simple mais peut constituer une base pour des investigations plus élaborées.

Analyse de poudres végétales

L'analyse de poudres végétales par ETV-ICP-AES a démontré une bonne sensibilité, comparable à celle obtenue sur solutions avec l'utilisation d'un nébulisateur ultrasonique, mais avec un gain de temps incomparablement supérieur. Le principal point faible réside dans le manque de répétabilité des mesures pour les éléments en trace. La cause de ce phénomène n'est pas liée à la technique en elle-même, mais à l'hétérogénéité des poudres. Les poudres végétales sont des matrices complexes, composées de particules de tailles et de natures chimiques différentes (cellulose, hémicellulose, lignine, amidon...). Ce manque de précision peut être réduit par un broyage adapté des échantillons. Le choix du broyeur pendant l'étape de préparation des échantillons devient donc fondamentale et les broyeurs à billes (de type oscillo-vibrant ou planétaire) qui permettent à la fois d'obtenir une poudre très fine et une grande homogénéité doivent être favorisés.

Cependant, la vaporisation électrothermique ne doit pas être considérée comme un système d'introduction d'échantillon standard, au contraire d'un nébulisateur pneumatique. Quand le volume d'un échantillon est suffisant, l'utilisation d'une méthode classique avec

mise en solution donnera des résultats plus précis. Dans ce cas de figure, à savoir l'analyse d'un lot d'échantillons, le grand intérêt de l'ETV est de pouvoir réaliser une détermination semi-quantitative rapide sur un très grand nombre d'éléments (60 et plus). Cette méthode de détection de la présence -ou non- d'un élément donné permettrait de sélectionner les échantillons qui méritent une analyse quantitative précise de leur composition. La très faible prise d'essais permet de conserver le volume d'échantillon intact pour des analyses complémentaires avec mise en solution et détermination finale par ICP-MS pour les éléments en traces par exemple.

La vaporisation électrothermique reste, tout de même, une technique alternative attractive pour la mesure des éléments qui sont difficiles ou complexes à mettre en solution (illustré par l'exemple du silicium). Quoi qu'il en soit, l'utilisation de l'ETV demande une grande expertise et doit donc être réservé pour traiter des problèmes analytiques particuliers, qui ne peuvent pas être résolus facilement par d'autres stratégies.

Analyse d'échantillons entiers, cartographie et autres applications

Le principal intérêt de l'ETV reste l'analyse directe des solides. C'est dans ce domaine que cette technique montre de grands avantages et ouvre de nouvelles stratégies d'analyses.

L'imagerie, par exemple, a été développée pour obtenir une distribution des éléments minéraux dans des organes végétaux. L'identification des zones de stockage des éléments toxiques est d'un grand intérêt pour les sciences de l'environnement ou de l'alimentation. Cependant, la technique ETV manque de résolution spatiale en comparaison de l'ablation laser (1-5 mm contre 100 μm).

Une étude similaire sur la localisation des éléments pourrait être réalisée par ablation laser-ICP-MS. L'imagerie quantitative croisée d'une feuille par deux techniques différentes serait riche d'enseignement, avec d'un côté une technique capable d'une grande résolution mais limitée à l'analyse de surface (ablation laser), et de l'autre côté une technique beaucoup moins résolutive (vaporisation électrothermique) mais sans doute plus juste (en tout cas plus facile à étalonner) et qui prend en compte la totalité de l'échantillon. Quelle que soit la technique utilisée, l'imagerie devrait avoir des conséquences sur les études concernant l'absorption le transport et le stockage des ions minéraux dans les plantes.

L'ETV apparaît aussi comme un outil adapté à l'analyse d'échantillons qui nécessitent de mettre en œuvre une préparation complexe et longue. Ainsi, l'analyse d'échantillons liquides compliqués comme les sèves ou les huiles végétales doit pouvoir également tirer profit de l'ETV. Enfin, l'ETV permet surtout l'analyse d'échantillons de tailles trop réduites pour pouvoir être traités classiquement, avec minéralisation, du fait du taux de dilution. Cependant, l'analyse d'ultra trace dans ce type de matrice devra s'envisager avec un couplage ETV-ICP-MS. C'est dans ce but, que la vaporisation des végétaux en l'absence de Fréon a été testée. La présence de Fréon dans le plasma risquerait de compliquer fortement les mesures étant donné les interférences isobariques potentielles que ce gaz peut provoquer (présence des atomes H, C, F et Cl). L'autre problème à régler en spectrométrie ICP-MS est le choix d'un étalon interne pour corriger les effets de matrice. On peut alors imaginer l'utilisation d'un élément comme Pd, servant à la fois d'étalon interne mais aussi de modificateur de matrice comme en spectrophotométrie d'absorption atomique par électrothermie.

L'utilisation de la spectrométrie ICP-MS ouvrirait aussi la porte aux études de spéciation, à savoir la séparation, l'identification et la quantification des différentes formes chimiques dans lesquelles un élément donné est présent dans un échantillon donné. On peut ainsi concevoir une spéciation directe basée sur des températures de vaporisation différentes des espèces chimiques considérées. Leur séparation serait réalisée en augmentant progressivement la température du four. Cette procédure pourrait même être améliorée par l'utilisation de modificateurs chimiques adaptés et favorisant soit la volatilité de telle ou telle forme chimique. On est bien là dans la fonction de « réacteur thermochimique » de l'ETV avec prétraitement *in-situ* de l'échantillon.

ANNEXES

Les annexes présentées ici correspondent au dossier déposé auprès de la DIVA de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour pour solliciter l'obtention du doctorat par la procédure VAE. Cela comprend :

- Un curriculum vitae
- Un livret d'expériences et de compétences
- Un récapitulatif des publications et communications

CURRICULUM VITAE

Pierre MASSON

48 ans, entré à l'INRA en 1992

INRA- USRAVE

Centre de Recherches de Bordeaux-Aquitaine

71, Avenue Edouard Bourleaux

CS20032

33882 Villenave d'Ornon cedex

Tél. : 05 57 12 24 02

Fax : 05 57 12 23 99

masson@bordeaux.inra.fr

INGENIEUR CHIMISTE

ENS de Chimie de Rennes – 1990

20 ANS D'EXPERIENCE DANS L'ANALYSE VEGETALE et ENVIRONNEMENTALE

PRINCIPALES REALISATIONS

ICP-AES

- Mise au point des conditions d'analyse des éléments en trace (Cd, Co, Cr, Mo, Ni et Pb) dans les végétaux par couplage entre ICP-AES à visée axiale et nébulisation ultrasonique.
- Optimisation des conditions d'analyse de l'arsenic et du sélénium dans les végétaux par couplage entre ICP-AES à visée axiale et génération d'hydruure.

ICP-MS

- Mise au point des conditions d'analyse des éléments minéraux (majeurs et traces) dans les végétaux par ICP-MS.
- Mise au point des conditions d'analyse des lanthanides et des actinides dans les végétaux par ICP-MS.
- Mise au point des conditions d'analyse de Pd, Pt et Rh dans les végétaux par couplage entre ICP-MS et nébulisation ultrasonique.

ETV

- Etudes théoriques et appliquées de la vaporisation électrothermique
- Mise au point des conditions d'analyse des éléments majeurs dans les végétaux par couplage ETV- ICP-AES (visée radiale).
- Mise au point des conditions d'analyse des éléments en traces dans les végétaux par couplage ETV-ICP-AES (visée axiale).

Absorption atomique

- Mise au point de l'analyse du thallium, de l'étain, de l'antimoine dans les sols et les végétaux par spectrophotométrie d'absorption atomique par électrothermie.

Chromatographie ionique

- Etude de l'influence des solvants organiques sur la séparation et la détermination des acides carboxyliques.
- Détermination des ions chlorures, nitrates et sulfates dans les végétaux.
- Détermination de trace de phosphore ($<1 \mu\text{g/L}$) dans des solutions de sols.
- Spéciation du phosphore dans des solutions de sols.

Assurance Qualité

- Elaboration d'une méthode d'assurance qualité pour l'analyse des ions par chromatographie ionique.
- Etude des sources d'incertitudes dans le cadre de l'analyse élémentaire sur les matrices végétales.

Management

- Directeur d'unité entre juillet 2006 et avril 2007 puis entre septembre 2009 et juin 2010.
- Encadrement et organisation d'un laboratoire de 10 personnes.
- Gestion administrative et financière.

Enseignement

- Cours donnés à l'ENITA de Bordeaux : sensibilisation des futurs ingénieurs agronomes à la chimie analytique et aux difficultés rencontrées pendant le cycle d'une analyse.
- Formation théorique et technique à la chromatographie ionique d'agents du centre INRA de Bordeaux.

Livret d'expériences et de compétences

Les systèmes d'introduction des échantillons en spectrométrie plasma adaptés à l'analyse des éléments en trace dans les végétaux

Les végétaux constituent un composant important des écosystèmes parce qu'ils se situent à l'interface des milieux biotique et abiotique. Ce sont des organismes autotrophes. Ils produisent leur propre matière organique à partir des sels minéraux puisés dans le sol et du dioxyde de carbone, assimilé par les feuilles grâce à l'énergie solaire (photosynthèse).

Bien que les végétaux montrent une faculté naturelle à sélectionner les éléments chimiques dont ils ont besoin, cette sélection est parfois limitée pour les éléments en trace ($\leq 1 \text{ mg g}^{-1}$). Les végétaux ont une grande habilité à s'adapter aux conditions chimiques de l'environnement et peuvent accumuler ces éléments en trace, en particulier les métaux, dans leurs tissus. Les concentrations des éléments en trace dans les végétaux sont souvent corrélées positivement avec l'abondance de ces éléments dans les sols, provenant de sources naturelles ou anthropogéniques.

Les végétaux sont donc des bons indicateurs de pollutions et peuvent servir pour mesurer l'état environnemental d'un site donné. Les plantes sont aussi des réservoirs intermédiaires à travers lesquels les éléments provenant du sol passent vers les animaux et l'homme. Le rôle significatif des végétaux dans le cycle des éléments en trace et la contamination de la chaîne alimentaire est illustré dans de nombreuses publications. L'intérêt pour l'abondance des éléments en trace dans les végétaux provient donc du secteur agricole qui participe activement aux transferts de ces éléments vers l'homme via la chaîne alimentaire, du contrôle de l'environnement et de la distribution des polluants.

Une meilleure compréhension des principes biogéochimiques qui contrôlent les cycles des éléments est donc une des clés du management des éléments en trace dans l'environnement et un pré-requis pour diminuer les risques de contamination. Cependant, l'amélioration des connaissances sur les cycles de ces éléments passe nécessairement par une augmentation du champ d'investigation dans l'environnement et, surtout, par des avancées en matière de chimie analytique.

L'analyse des teneurs élémentaires dans les végétaux a donc sa raison d'être et a toujours nécessité des développements méthodologiques. Cela inclut les étapes de préparation mais aussi les techniques de mesure. Habituellement, l'échantillon se présente sous la forme d'une solution liquide à cause de son homogénéité, de sa facilité de manipulation et pour satisfaire les besoins des systèmes d'introduction de la plupart des techniques spectroscopiques utilisées en routine dans les laboratoires d'analyse. Pour les végétaux, initialement solides, la préparation des échantillons et leur mise en solution n'est pas un problème. Ces étapes peuvent être rapidement achevées par plusieurs procédures appropriées. Les erreurs dues aux contaminations ou aux pertes sont habituellement résolues si les précautions nécessaires sont prises concernant les réactifs, les outils et la manière de travailler.

Le problème est différent pour la détermination finale des éléments en trace. La technique de mesure utilisée doit être choisie en considération de l'objectif final et l'obtention de résultats justes et précis. Les techniques de spectrométrie plasma, ICP-AES et ICP-MS, sont les plus communément employées dans les laboratoires pour l'analyse élémentaire des végétaux. Ces deux techniques peuvent répondre dans une large gamme de concentrations aux besoins exprimés en analyse de routine. Cela est dû à leur possibilité multi-élémentaire, leur stabilité, leur rapidité et leur sensibilité (pour l'ICP-MS). L'expérience a montré cependant que la qualité de l'analyse est liée aux concentrations recherchées ou à la taille de l'échantillon initial. C'est particulièrement vrai pour les éléments présents en très faibles concentrations ($\leq 1 \mu\text{g l}^{-1}$) ou les très petits échantillons (quelques mg). Dans ces conditions, le dispositif d'introduction des échantillons dans les spectromètres représente un point critique pour l'obtention de résultats cohérents.

Le but principal d'un système d'introduction d'échantillon est de faire parvenir la quantité maximum d'analyte dans le plasma. Pour les échantillons liquides, cela comprend un nébuliseur qui transforme la solution en aérosol et une chambre de nébulisation qui modifie les caractéristiques de l'aérosol avant son entrée dans le plasma à travers le tube d'injection de la torche. Le système choisi conditionne donc la sensibilité des mesures. Les nébuliseurs pneumatiques sont les plus utilisés en ICP pour la génération d'aérosol à cause de leur simplicité, leur robustesse, leur facilité d'emploi et leur faible coût. Leur principal inconvénient est leur faible efficacité de transport (environ 2%), ce qui les rend inadaptés pour la détermination des éléments les moins concentrés dans les végétaux (As, Cd, Mo, Pb...).

Cela conduit donc à reconsidérer les systèmes d'introduction destinés aux échantillons végétaux afin de repousser les limites de quantification.

L'amélioration des systèmes d'introduction d'échantillon a toujours été l'objet d'études dans le monde de la spectrométrie atomique. Une grande variété de systèmes ont été développés pour tenter de résoudre les problèmes de sensibilité analytique, le but ultime restant la réalisation d'un système permettant le transport de 100% de l'analyte vers la source d'ionisation. Ainsi, la nébulisation ultrasonique, la génération d'hydrures et la vaporisation électrothermique constituent trois approches différentes qui peuvent, dans des cas particuliers, résoudre les limitations des nébuliseurs pneumatiques, et améliorer considérablement la détermination des éléments en trace dans les végétaux.

Les **Nébuliseurs ultrasoniques** sont souvent employés pour améliorer la sensibilité des mesures. La solution est pompée à la surface d'un transducteur piézo-électrique. L'interaction entre les ondes ultrasoniques et le film liquide fournit un aérosol très fin. Une augmentation du transport de l'aérosol vers le plasma est obtenue. Les problèmes associés à l'introduction des liquides et au manque d'efficacité du transport peut être aussi résolu en présentant l'analyte dans le plasma sous forme gazeuse. Le principal avantage est d'obtenir une efficacité de transport proche de 100 %. La **génération d'hydrures** prend avantage de la capacité de certains éléments (As, Se) à former des hydrures volatiles pour améliorer les limites de détection en comparaison de la nébulisation de solutions. Enfin, la production directe d'un signal analytique à partir de l'échantillon solide offre aussi un nombre important d'avantages. Il n'y a plus de dilution induite par la minéralisation et les risques de pertes d'analytes ou de contaminations durant cette étape sont éliminés. C'est dans ce but que la **vaporisation électrothermique (ETV)** a été créée. Le principe consiste à déposer l'échantillon solide dans un four en graphite chauffé électriquement et à analyser les éléments vaporisés de cette manière à l'aide de spectromètres ICP-AES ou ICP-MS.

Cependant, ces systèmes d'introduction peuvent être aussi responsables d'erreurs de mesures, attribuées aux effets de matrice et dues à la différence de composition des solutions d'étalonnage et des échantillons. Selon la nature de la matrice analysée, le danger d'interférences spectrales et non-spectrales sur le signal analytique lui-même est présent et la justesse des résultats est souvent difficile à assurer. De plus, et dans tous les cas, peu d'applications sont disponibles dans la littérature concernant l'analyse des végétaux et les

problèmes associés à ces techniques (difficulté d'étalonnage, analyse des petits échantillons, limitation des interférences, matrices complexes et fortement chargées). Dans ce mémoire, ces trois modes ont été utilisés et développés afin de dépasser les limites des nébuliseurs pneumatiques classiques et faire face à toutes les éventualités que peuvent poser l'analyse des éléments en trace dans les échantillons végétaux. La nature des échantillons a nécessité une approche méthodique pour minimiser ou éliminer les effets de matrice et a imposé des conditions opératoires propres à chaque système d'introduction en fonction des phénomènes de transport de l'aérosol.

L'utilisation d'un nébuliseur ultrasonique améliore les limites de quantification d'un facteur 10 pour les métaux en comparaison d'un nébuliseur pneumatique. Ce nébuliseur génère aussi des effets de matrice plus marqués. Les effets de matrices se caractérisent par une diminution des signaux issus des raies ioniques et une augmentation des signaux issus des raies atomiques en ICP-AES. Cet effet est causé par la présence des éléments majeurs (K, Ca, Mg), facilement ionisables et qui perturbent les rapports ion/atome dans le plasma. Cet effet est minimisé par une forte puissance du plasma. Ce nébuliseur souffre également des effets négatifs liés à un excès de solvant parvenant dans le plasma. Pour réduire la quantité de solvant, il est équipé d'une unité de dessolvation : une première cellule de chauffage où le solvant est totalement ou partiellement évaporé, et une deuxième cellule où les vapeurs sont éliminées. Les conditions opératoires (températures d'évaporation et de condensation, débit du gaz de transport) déterminent la fraction de solvant et d'analyte transportée. Une diminution du signal est observée pour les quantités importantes d'eau liées à une dessolvation incomplète qui consomme l'énergie disponible du plasma, change son environnement thermique et perturbe les conditions d'excitation des analytes. Inversement, une augmentation du signal est obtenue pour les dessolvations les plus complètes. Seul un choix rigoureux des conditions opératoires du nébuliseur permet d'obtenir un comportement similaires des solutions d'étalonnage, peu chargées et des échantillons aux matrices plus complexes, et, donc, des résultats justes. L'utilisation de ce système, et de son apport en sensibilité, a permis des applications qui n'auraient pas été possibles sur les végétaux avec un simple nébuliseur pneumatique (détermination de Cd, Ca, Mo et Pb en ICP-AES, détermination de Pd, Pt et Rh en ICP-MS). Il apparaît également que ce système pose des problèmes insolubles pour la détermination d'As ou Se qui doivent être analysés de préférence avec la génération d'hydrures.

La génération d'hydrures est une technique d'introduction qui a été peu étudiée en association avec les spectromètres ICP-AES ou ICP-MS, à plus forte raison pour l'analyse d'échantillons environnementaux. Il y avait là un manque certain d'informations concernant les effets de matrices potentiels sur les réactions chimiques préalables et les interférences spectrales. Les investigations menées, ont permis de définir les conditions opératoires adaptées à l'analyse d'As et Se dans les végétaux. L'utilisation de la génération d'hydrure abaisse les limites de quantification pour As et Se dans la gamme des $0.10 \mu\text{g l}^{-1}$. De plus, la technique de génération d'hydrures permet de réduire les effets de matrice. En effet, la séparation physique qui a lieu entre l'analyte et l'échantillon limite les influences spectrales et non spectrales des autres constituants minéraux des plantes, ce qui permet l'analyse de toutes les matrices. Quoiqu'il en soit, les conditions de formation des hydrures ne sont pas uniformes pour tous les éléments. La combinaison de la génération d'hydrure avec l'ICP-MS est encore plus sensible (limite de détection $0.02 \mu\text{g l}^{-1}$) sous réserve que certaines interférences isobariques soit résolues. La mesure des deux isotopes les plus abondants ^{80}Se et ^{78}Se , sont perturbés par des ions polyatomiques produits dans le plasma $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ et $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^+$. Ce couplage forme un bon choix pour l'analyse de Se en ultra-traces dans les végétaux. L'utilisation d'une cellule de collision en ICP-MS avec un mélange de gaz He/H₂ permet de s'affranchir de ces interférences, en particulier pour ^{78}Se qui donne les meilleurs résultats sur les matrices végétales.

Comparée aux deux autres systèmes, la vaporisation électrothermique présentait des inconvénients supplémentaires : difficulté d'étalonnage car le rendement de la vaporisation et l'efficacité du transport des éléments peut-être différent entre une poudre (échantillon) et un liquide (solution d'étalonnage) à cause de leur nature et leur volume respectif, et grandes variabilités sur les concentrations mesurées causée par le manque d'homogénéité des petits échantillons (quelques mg). Le mode d'étalonnage de l'ETV a mis en lumière des problèmes de fond liés aux phénomènes physiques qui gouvernent son fonctionnement, en particulier la dynamique de l'aérosol formé. L'utilisation d'un support de cellulose pour les étalons a permis d'harmoniser la formation de l'aérosol entre l'échantillon et l'étalon, et d'obtenir des résultats justes. Grâce à des études fondamentales et la conception d'un modèle mathématique qui simule la dynamique de l'aérosol formé, les meilleures conditions opératoires peuvent être définies selon l'élément analysé et sans expérimentation. Pour augmenter la précision, il est nécessaire de réduire significativement la taille des particules solides. Il existe plusieurs broyeurs capables de fournir une poudre très fine avec un haut degré d'homogénéité. La

précision a ainsi pu être augmentée d'un facteur 3 sur les éléments en trace. Les solutions trouvées étaient totalement inédites et introuvables dans la littérature. Les résultats obtenus permettent aujourd'hui des applications qui n'aurait pas pu voir le jour autrement (analyses de petits échantillons, analyse d'éléments difficile à mettre en solution tels que Si ou la détection rapide de la présence d'éléments particulier dans les matrices végétales).

Les besoins en analyse de métaux en traces sur les végétaux sont donc étroitement corrélés aux besoins de l'agronomie et de l'environnement, et le choix de la mise en œuvre d'une technique dans le laboratoire est directement dépendant des critères édictés par celui-ci entre une productivité analytique importante et d'excellentes limites de quantification. Ainsi, plusieurs systèmes d'introduction de l'échantillon doivent être disponibles en fonction des éléments d'intérêt et des matrices analysées pour assurer la détermination finale des éléments dans les meilleures conditions.

BIBLIOGRAPHIE

PUBLICATIONS dans des journaux internationaux à comité de lecture

En tant qu'auteur principal

P. Masson and J.M. Esvan, Détermination simultanée par spectrométrie d'émission en plasma induit de N, P, K, Ca, Cu, Mg, Fe, Mn et Zn dans les végétaux à partir d'une minéralisation unique, *Analisis*, 23 (1995) pp 437-440.

P. Masson, A. Gomez and A. Tremel, Suitability of open system digestions for the determination of thallium in environmental samples, *Communications in soil science and Plant analysis*, 27 (1996) pp 109-118.

P. Masson, G. Hilbert and D. Plenet, Ion chromatography methods for the simultaneous determination of mineral anions in plant sap, *Journal of Chromatography A*, 752 (1996) pp 298-303.

P. Masson and M.H. Andrieu, Simultaneous analysis of nitrogen, potassium, calcium and magnesium in digested plant samples by ion chromatography, *Analisis*, 24 (1996) pp 380-382.

P. Masson, Matrix effects during trace element analysis in plant samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with axial view configuration and pneumatic nebulizer, *Spectrochimica Acta part B*, 54 (1999) pp 603-612.

P. Masson, D. Orignac, A. Vives and T. Prunet, Matrix effects during trace element analysis in plant samples by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with axial view configuration and ultrasonic nebulizer, *Analisis*, 27 (1999) pp 813-820.

P. Masson, A. Vives, D. Orignac and T. Prunet, Influence of the aerosol desolvation from ultrasonic nebulizer on the matrix effect in axial view inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 15 (2000) pp 543-547.

P. Masson, Influence of organic solvents in the mobile phase for the determination of carboxylic acids and inorganic anions in grape juices by ion chromatography, *Journal of Chromatography A*, 881 (2000) pp 387-394.

P. Masson, C. Morel, E. Martin, A. Oberson and D. Friesen, Comparison of trace levels of soluble P in soil water extracts determined by colorimetric, ion chromatography and inductively coupled plasma techniques, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32 (2001) pp 2241-2253.

P. Masson, D. Orignac and T. Prunet, Optimization of selenium determination in plant samples by hydride generation and axial view inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 545 (2005) pp 79-84.

P. Masson, F. deRaemaecker and F. Bon, Quality control procedures for chloride and nitrate ions analysis in plant samples by ion chromatography, *Accreditation and Analytical Quality*, 10 (2005) pp 439-443.

P. Masson, Détermination des éléments en trace dans les végétaux par couplage vaporisation électrothermique – spectrométrie d'émission atomique par plasma, *Canadian Journal of Analytical Science and Spectroscopy*, 50 (2005) pp 268-279.

P. Masson, T. Prunet and D. Orignac, Arsenic determination in plant samples by hydride generation and axial view inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Microchimica Acta*, 154 (2006) pp 229-234.

P. Masson, Determination of major elements in plant material by electrothermal vaporization inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Talanta*, 71 (2007) pp 1399-1404.

P. Masson, M. Dauthieu, F. Trolard and L. Denaix, Applications of electrothermal vaporization - inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for elemental determinations in plant samples, *Spectrochimica Acta Part B*, 62 (2007) pp 224-230.

P. Masson, Quality control techniques for routine analysis with liquid chromatography in laboratories, *Journal of Chromatography A*, 1158 (2007) pp 168-173.

M. Cyprien, M. Barbaste and P. Masson, Comparison of open digestion methods and selection of internal standards for the determination of Rh, Pd and Pt in plant samples by ICP-MS, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 88 (2008) pp 525-537.

P. Masson, T. Dalix, and S. Bussi re, Determination of major and trace elements in plant samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 41 (2010) pp 231-243.

P. Masson, Direct analysis of P in plant samples by solid Sampling with electrothermal vaporization-ICP-AES, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2011, 26 (6), 1290-1293.

P. Masson, T. Prunet, S. Desalme, Experimental and theoretical determination of the minimum sub-sampling size needed to obtain a specified analytical uncertainty on a plant sample, *Accreditation and Analytical Quality*, (2012), soumis   publication.

En tant que collaborateur

M. Mench, V. Sappin-Didier, M. Löffler, A. Gomez and P. Masson, A mimicked in-situ remediation study of metal-contaminated soils with emphasis on cadmium and lead, *Journal of Environmental quality*, 23 (1994) pp 58-63.

E. Saur, C. Brechet, C. Lambrot and P. Masson, Micronutrient composition of xylem sap and needles as a result of P-fertilization in maritime pine, *Trees*, 10 (1995) pp 52-54.

V. Sappin-Didier, M. Mench, A. Gomez and P. Masson, Evaluation par des extractions sélectives de l'immobilisation du cadmium après l'apport de matériaux inorganiques dans deux terres polluées, *C.R. Académie des Sciences Paris, Sciences de la Vie*, 320 (1997) pp 413-419.

A. Tremel, P. Masson, T. Sterckeman, D. Baize and M. Mench, Thallium in french agrosystems -I Thallium contents in arable soils, *Enviromental Pollution*, 95 (1997) pp 293-302.

A. Tremel, P. Masson, H. Garraud, O.F.X. Donard, D. Baize and M. Mench, Thallium in french agrosystems -II Concentration of thallium in field-grown rape and some other plant species, *Enviromental Pollution*, 97 (1997) pp 161-168.

CHAPITRES D'OUVRAGE

M. Mench, V. Amans, V. Sappin-Didier, S. Fargues, A. Gomez, M. Löffler, P. Masson and D. Arrouays, A study of additives to reduce availability of Pb in soil to plants. In Remediation of Soils Contaminated with Metals, Iskandar I. K. & Adriano D. C. (eds), Science Review s, Northwood, UK, 1997. pp.185-202.

V. Sappin-Didier, S. Brayette, C. Jade, D. Baize, P. Masson, M. Mench, Phytodisponibilité du cadmium pour le blé. Rôle des paramètres pédologiques et agronomiques. In Les éléments en traces métalliques dans les sols, approches fonctionnelles et spatiales. Baize D. & Tercé M.(eds), INRA édition, Paris, 2002.

P. Masson, Chapter 14 - Quantitative Analysis—Method Validation—Quality Control, In High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis, Hajnos M. & Sherma J. (eds), CRC Press, Boca Raton, 2010.

AUTRES PUBLICATIONS

F. Trolard, P. Masson, S. Kirman, G. Bourrié et M. Barbaste, Biogéochimie du silicium dans les écosystèmes cultivés. Rapport final, 2006, Projet innovant 2005-2006 du Département E&A, 11 pages.

D. Orignac, P. Masson, M. Barbaste, Prélèvements de terrain et préparation d'échantillons végétaux en vue de l'analyse d'éléments minéraux : Quel gants choisir ?, Cah. Tech. Inra, 2011, 72, 07-12.

F. Bon, D. Orignac, T. Prunet, P. Masson, M. Barbaste, Décontamination de la vaisselle de laboratoire en vue de l'analyse d'éléments en traces par ICP-OES : Est-ce toujours nécessaire ?, Cah. Tech. Inra, 2011, 72, 13-18.

COMMUNICATIONS A DES CONGRES

1994

M. Mench, V. Sappin-Didier, M. Löffler, A. Gomez, P. Masson, S. Fargues. A mimicked in-situ remediation study of metal-contaminated soils. Workshop 1992, Association Française Interprofessionnelle du Cadmium, 03/1994, pp 48-56, Paris, France.

1995

A. Tremel, P. Masson, T. Sterckeman, D. Baize, M. Mench, Preliminary investigation on thallium in soils in France. 3th international conference on the biogéochimie of trace elements, 15-19 Mai 1995, Paris, France (poster).

V. Sappin-Didier, C. Quetel, M. Mench, P. Masson, Remediation of a metal-contaminated soil : Cd, Ni, and Zn mobility following a one time application of steel at various rates. 3 international conference on the biogéochimie of trace elements, 15-19 Mai 1995, Paris, France (communication orale).

1997

J. Boisson, V. Sappin-Didier, M. Mench, P. Masson, P. Solda, J. Vangronsveld, Influence of beringite and steel shots on the mobility and bioavailability of cadmium and nickel : a field

study. 4th international conference on the biogéochimie of trace elements, 1997, Berkley, USA (poster).

1999

P. Masson, D. Orignac, T. Prunet and A. Vives, Simulation of matrix effects encountered in plant sample during trace elements analysis by axial view inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, 1999, Pau, France (poster).

M. Mench, T. De Koe, J. Vangronsveld, S. Bussiere, J. Boisson and P. Masson, Remediation of the jales mine spoil by inactivation and photostabilisation : study in lysimeters. 5th international conference on the biogéochimie of trace elements, 1999, Wien, Austria (poster).

2000

V. Sappin-Didier, S. Brayette, C. Jade, P. Masson and M. Mench, Cadmium phyto-availability in sandy and calcareous soils assessed by the ^{109}Cd exchange kinetic technique. international conference of humic substances, 22-26 may 2000, Capri, Italy (poster).

L. Denaix, P. Masson and L. Carrilho de Almeida, Speciation of zinc using chromatography in soil solutions extracted from soils contaminated by industrial deposition. international conference of humic substances, 22-26 may 2000, Capri, Italy (poster).

2001

L. Denaix, L. Carrilho de Almeida and P. Masson, Zn and Cd uptake by lettuce sativa depending on pH in soils contaminated by industrial dust fallout. 6th international conference on the biogéochimie of trace elements, july 29-august 2 2001, Guelph, Canada (poster).

V. Sappin-Didier, M. Mench, D. Baize, S. Brayette, C. Jade, P. Masson, Relationship between indicators of Cd exposure and Cd in wheat grain (QUASAR program, France). 6th international conference on the biogéochimie of trace elements, july 29-august 2 2001, Guelph, Canada (poster).

2002

L. Denaix, I. Lamy, P. Masson and M. Mench, Composition or speciation in the soil solution, WG2 Workshop, 25-27 April 2002, Villenave d'Ornon, France (poster).

V. Sappin-Didier, M. Mench, D. Baize, P. Masson, Cadmium dans les grains de blé d'hiver pour 10 séries de sols français (programme AGREDE). Journées Nationales de l'étude des sols, 2002, 22-24 octobre, France, pp13-14 (communication orale).

L. Denaix, V. Sappin-Didier, P. Masson, Relation entre l'accumulation d'éléments traces métalliques dans les légumes et la composition chimique de la solution du sol, 1ère rencontre nationale de la recherche sur les sites et sols pollués, 2002, 12-13 décembre, Paris, 7p.

2003

M. Mench, L. Denaix, M. Riff, F. Van Oort, P. Masson, Phytotoxic risk due to Zn exposure: a PNEC value base on biomarker responses and Zn speciation, 7th ICOBTE, 2003, Uppsala, Sweden (poster).

Laurence Denaix, L. Carrilho de Almeida, Pierre Masson, Michel Mench, Valéris Sappin-Didier, Exposition aux éléments en traces métalliques et accumulation dans les végétaux

consommés. Colloque « Devenir et effets des contaminants métalliques dans les agrosystèmes et écosystèmes terrestres. Influence de l'usage des sols », 2003, Lille, France (poster).

2004

P. Masson, M. Barbaste, détermination des éléments en traces dans les végétaux par couplage ETV-ICP-AES, Forum Labo, 2004, 23-26 Mars, Paris, France (communication orale).

P. Masson, L'ETV : un outil innovant d'analyse directe des solides, Journées rencontre en mesures chimiques, 2004, 18-19 Mai, Bordeaux, France (communication orale).

P. Masson, C. Morel, A. Vives, Ion chromatography method for the separation and the determination of phosphate, polyphosphate and phytate ions in environmental matrices, 25th international symposium of chromatography, 2004, 5-8 octobre, Paris, France (poster).

P. Masson, M. Barbaste, Utilisation de l'ETV pour l'analyse des échantillons environnementaux, Séminaire du club "spectrométrie atomique du cercle des sciences analytiques, 2004, 26 novembre, Paris, France (communication orale).

2005

P. Masson, Sources de variabilité dans l'analyse des végétaux par vaporisation électrothermique-spectrométrie d'émission atomique, Spectratom, 2005, 06-08 avril, Pau, France (communication orale).

P. Masson, Dominique Orignac, Thierry Prunet, Détermination du sélénium et de l'arsenic dans les végétaux par génération d'hydrures et spectrométrie d'émission atomique par plasma à visée axiale, Spectratom, 2005, 06-08 avril, Pau, France (poster).

F. Lavillenie, P. Masson, D. Orignac, M. Barbaste, Minéralisation voie sèche avec élimination de la silice : Réflexions sur une simplification de la méthode CII, 81^{ème} réunion du Comité Inter Instituts d'études analytiques, 2005, Zurich, Suisse (communication orale).

M. Dauthieu, L. Denaix, P. Masson, M. Potin-Gauthier, Croissance et accumulation de métaux chez *A. thaliana* sauvage et mutée pour la nicotianamine synthase, à deux niveaux de contamination, Séminaire Toxicologie Nucléaire, 06-08 décembre 2005, Paris, France (poster).

P. Masson, La vaporisation électrochimique : un outil pour l'analyse végétale et environnementale, Séminaire Toxicologie Nucléaire, 06-08 décembre 2005, Paris, France (poster).

2006

P. Masson, F. de Raemaeker, F. Bon, T. Dalix, Procédures d'assurance qualité pour l'analyse des sulfates dans les végétaux par chromatographie ionique Forum Labo, 2006, 28-31 Mars, Paris, France (poster).

P. Masson, analyse du silicium dans les végétaux par couplage etv-icp-aes Forum Labo, 2006, 28-31 Mars, Paris, France (poster).

P. Masson, Use of electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for plant samples analysis, VII European Furnace Symposium and XII Solid Sampling Colloquium, 2006, 02-07 July, Saint-Petersburg, Russia (communication orale).

P. Masson, M. Dauthieu, F. Trolard, L. Denaix, Practical applications of electrothermal vaporization-inductively coupled plasma atomic emission spectrometry in plant samples

analysis, VII European Furnace Symposium and XII Solid Sampling Colloquium, 2006, 02-07 July, Saint-Petersburg, Russia (poster).

P. Masson, M. Dauthieu, L. Denaix, Détermination du cadmium et du zinc dans les feuilles et les racines d'*Arabidopsis thaliana* par couplage ETV-ICP-AES, Séminaire Toxicologie Nucléaire, 05-07 décembre 2006, Paris, France (poster).

2007

M. Cyprien, P. Masson, Détermination des éléments du groupe du platine (Pd, Pt, Rh) dans les végétaux, Spectratom, 2007, 21-24 mai, Pau, France (poster).

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

2009

T. Dalix, P. Masson, Détermination de l'arsenic dans les végétaux par ICP-MS après calcination des échantillons, Spectratom, 2009, 11-14 mai, Pau, France (poster).

P. Masson, Quality control procedures for routine analysis by ion chromatography. Part I: Instrument qualification, International Ion Chromatography Symposium, 2009, 21-24 september, Dublin, Ireland (poster).

P. Masson, Quality control procedures for routine analysis by ion chromatography. Part II: Accuracy and precision, International Ion Chromatography Symposium, 2009, 21-24 september, Dublin, Ireland (poster).

2010

P. Masson, A simplified mathematical model for predicting performance of electrothermal vaporization - inductively coupled plasma atomic emission spectrometry under various streaming conditions, European Symposium on Atomic Spectrometry, 2010, 5-8 september, Wroclaw, Poland (communication orale).

P. Masson, Direct determination of phosphorus in plant samples by electrothermal vaporization - inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, European Symposium on Atomic Spectrometry, 2010, 5-8 september, Wroclaw, Poland (poster).

2011

P. Masson, B. Gornard, T. Dalix, Comparison of three sample introduction systems for selenium determination in plant samples using collision cell ICP-MS, Winter Plasma Conference, 2011, Zaragoza, Spain (poster).

M. Barbaste, S. Desalme, T. Dalix, P. Soulé, D. Orignac, P. Masson, F. Bon, T. Prunet, From fresh plant from field to ICP-OES and ICP-MS analysis: How to master results quality in an accredited laboratory? Winter Plasma Conference, 2011, Zaragoza, Spain (poster).

T. Prunet, P. Masson, P. Soulé, T. Dalix, S. Desalme, Broyage des végétaux : évaluation de l'incertitude, un challenge pour le métrologue, 15th International Congress of Metrology, 2011, 3-6 october, Paris, France (poster).

2012

P. Masson, T. Prunet, S. Desalme, Incertitudes associées à la préparation de l'échantillon dans l'analyse environnementale avec l'exemple d'un végétal, Spectratom, 2012, 19-22 juin, Pau, France (poster).

P. Masson, T. Dalix, Détermination des terres rares et des actinides dans les végétaux par ICP-MS, Spectratom, 2012, 19-22 juin, Pau, France (communication orale).

2013

P. Masson, M. Barbaste, L'analyse élémentaire dans les végétaux : histoire, applications et perspectives, Spectratom, 2013, 28-28 juin, Mont Tremblant, Québec, Canada (communication orale).

T. Dalix, P. Masson, J. Mure d'Alexis, G. Daugey, T. Prunet, Détermination de l'antimoine dans les végétaux par ICP-MS, Spectratom, 2013, 28-28 juin, Mont Tremblant, Québec, Canada (poster).

T. Prunet, P. Masson, P. Soulé, S. Desalme, F. Bon, D. Orignac, Détermination expérimentale et théorique de la prise d'essais critique pour obtenir une incertitude spécifiée pendant l'analyse d'un échantillon végétal, Spectratom, 2013, 28-28 juin, Mont Tremblant, Québec, Canada (poster).

2014

P. Masson, Three ways to investigate the analytical signal in electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, European Symposium on Atomic Spectrometry, 2014, 16-21 march, Prague, Czech Republic (poster).

P. Masson, Imaging of elements in leaves of tobacco by solid sampling-electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (SS-ETV-ICP-AES), European Symposium on Atomic Spectrometry, 2014, 16-21 march, Prague, Czech Republic (poster).

P. Masson, Cartographie du cadmium et du plomb dans des feuilles de tabac par couplage vaporisation électrothermique-spectrométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ETV-ICP-AES), Spectratom, 2014, 20-23 mai, Pau, France (poster).

Applications de la vaporisation électrothermique couplée à la technique ICP-AES pour la détermination élémentaire dans les végétaux : une stratégie permettant l'analyse directe des échantillons à l'état solide

Résumé:

Parmi les systèmes dédiés à l'analyse directe des solides, la vaporisation électrothermique occupe une place de choix. Elle offre plusieurs avantages. Le temps de préparation des échantillons est considérablement réduit. Il n'y a pas de dilution induite par la minéralisation et les risques de pertes ou de contaminations durant cette étape sont éliminés. Son principe de fonctionnement consiste à transformer, par chauffage, quelques milligrammes d'échantillon en un aérosol, qui est ensuite transporté dans un spectromètre d'émission atomique par plasma à couplage inductif, où la composition élémentaire est mesurée. Une première étude fondamentale a permis de mieux comprendre la dynamique de l'aérosol formé et de définir les meilleures conditions opératoires. L'utilisation de cette technique pour la détermination élémentaire dans les végétaux a présenté cependant des difficultés supplémentaires : difficulté d'étalonnage, effets de matrice et grandes variabilités sur les concentrations mesurées. L'utilisation d'un support de cellulose pour les solutions étalons a permis d'harmoniser les conditions de formation de l'aérosol pour l'échantillon et pour l'étalon, et d'obtenir ainsi des résultats justes. Les effets de matrices ont pu être considérablement réduits par une calcination préalable des échantillons. Le manque de précision des mesures, causée par le manque d'homogénéité des échantillons, a pu être limitée en réduisant significativement la taille des particules solides. Ces résultats obtenus sur des poudres ont permis d'autres applications comme l'analyse d'échantillons entiers ou la cartographie de la composition chimique d'organes végétaux.

Application of the electrothermal vaporization method coupled with simultaneous inductively coupled plasma atomic emission spectrometry for the elemental determinations in plant samples: A strategy for the direct analysis of samples in the solid state.

Abstract:

Among the systems dedicated to the direct analysis of the solids, electrothermal vaporization takes up a place of choice. It offers several advantages. The preparation time of the samples is considerably reduced. There is no dilution induced by the digestion and the risks of losses or contaminations during this stage are eliminated. Its functioning consists to convert, by heating, a few milligrams of sample into an aerosol which is then transported in an inductively coupled plasma atomic emission spectrometer, where the elemental composition of the sample is determinate. A first fundamental study allowed to better understand the dynamics of the formed aerosol and to define the best operating conditions. However, the use of this technique to determine the elemental composition of solid plant samples presented additional difficulties: difficulty of calibration, matrix effects and important imprecision on the measured concentrations. The use of a cellulose support for the standard solutions allowed to harmonize the formation of the aerosol between the sample and the standard, and to obtain accurate results. The matrix effects can be considerably reduced by a preliminary dry-ashing of the samples. The variability of measurements, caused by the lack of homogeneity of the samples, was limited by reducing significantly the size of the solid particles. These results, obtained on powders, allowed other applications as the analysis of whole plant samples or the imaging of the chemical composition of plant organs.