

Méthode d'analyse en sécurité sanitaire des aliments

RÉFÉRENCE : ANSES/LSA aliments/LSA-INS-0084 - Version 08

Avril 2025

**DETERMINATION DE LA TENEUR EN PLOMB, CADMIUM, MERCURE,
ARSENIC, ETAIN ET CUIVRE DANS LES DENREES ALIMENTAIRES
D'ORIGINE ANIMALE**

**Dosage par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) après
digestion (acide) par voie humide**

Laboratoire de Sécurité des Aliments « site de Maisons-Alfort »

**Laboratoire National de Référence : *Eléments traces métalliques dans les denrées alimentaires
d'origine animale***

Historique de la méthode

Une méthode est mise à jour afin de prendre en compte des modifications.

Une modification est qualifiée de majeure lorsqu'elle concerne le processus analytique, le domaine d'application ou des points critiques de la méthode, dont la prise en compte peut modifier les performances de la méthode d'analyse et/ou les résultats. Une modification majeure induit des adaptations. La méthode ainsi modifiée a fait l'objet d'une nouvelle validation, totale ou partielle.

Une modification est qualifiée de mineure si elle apporte des précisions utiles ou pratiques, reformule les propos pour les rendre plus clairs ou plus précis, rectifie des erreurs bénignes. Une modification mineure est sans influence sur les performances de la méthode et ne requiert pas une nouvelle validation.

Le tableau ci-dessous récapitule l'historique des versions de la présente méthode, incluant la qualification des modifications.

Version	Nature des modifications (majeure/mineure)	Date	Principales modifications
V 00	-	28/01/2005	Création
V 03	majeure	31/01/2014	Mise à jour des paramètres instrumentaux suite à la re-caractérisation de la méthode sur un nouvel appareil (ICP-MS)
V 04	mineure	22/12/2015	Harmonisation au nouveau format de méthode ANSES, référencement selon ENNOV (outil électronique de gestion documentaire) et précision prise d'essai matrice miel
V 05	mineure	22/01/2016	Page de garde, référence de la méthode : application du modèle de l'Anses à la méthode « Anses Maisons-Alfort CIME 08 – révision 04 »
V06	majeure	23/05/2018	- Modification du titre : « Minéralisation par micro-ondes » remplacée par « digestion acide par voie humide »
V07	majeure	10/10/2022	- Extension de la méthode aux éléments cuivre et étain : modification du titre - Mise à jour des paramètres instrumentaux/analytiques (gamme étalon/étalons internes) suite à la re-caractérisation/validation de la méthode sur un nouvel appareil (ICP- MS/MS type Agilent 8900)
V08	majeure	11/04/2025	- Extension de la méthode aux matrices graisses et huiles d'origine animale

Avant-propos

La présente méthode a été développée par :

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments de Maisons-Alfort

Unité Eléments Traces et Nanomatériaux (ETNA)

Laboratoire National de Référence Eléments traces métalliques dans les denrées alimentaires d'origine animale

Adresse : 14 rue Pierre et Marie Curie – 94701 Maisons-Alfort Cedex

Contact : lnr.metaux.daoa@anses.fr

Sommaire

Historique de la méthode	2
Avant-propos	3
Avertissements et précautions de sécurité	5
1 Objet et domaine d'application	6
2 Documents de référence	6
3 Termes, sigles et définitions	6
4 Principe de la méthode	6
5 Appareillage et matériel	6
6 Réactifs	7
7 Échantillons	8
7.1 Conditions d'acceptation des échantillons	8
7.2 Conservation des échantillons avant analyse	8
8 Mode opératoire	8
8.1 Préparation des échantillons pour analyse	8
Exemple 1 : Digestion par micro-ondes en système fermé	10
Exemple 2 : Digestion par bloc chauffant en système ouvert	10
8.2 Gamme d'étalonnage	11
8.3 Analyse par ICP-MS	11
8.3.1 Généralités	11
8.3.2 Réglages de l'ICP-MS et vérification quotidienne des performances (<i>daily check</i>)	11
8.3.3 Interférences	12
8.4 Séquence analytique type pour l'analyse par l'ICP-MS	14
9 Résultats	14
9.1 Contrôle de la validité des résultats	14
9.2 Calculs et expression des résultats	14
10 Caractéristiques de performance de la méthode	16
Annexe 1 : Table des interférences isotopiques et polyatomiques potentielles selon l'isotope	18
Annexe 2 : Réactifs nécessitant des mesures de sécurité particulières	19

Avertissements et précautions de sécurité

Il convient que l'utilisateur de la présente méthode connaisse bien les pratiques courantes d'un laboratoire d'analyses chimiques. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation en vigueur.

Il est essentiel que les manipulations conduites conformément à la présente méthode soient exécutées par du personnel ayant reçu une formation appropriée.

Lors de l'utilisation de produits dangereux tels que les acides forts, il est nécessaire de travailler sous une hotte ventilée, de porter une blouse, des lunettes de sécurité et des gants de protection.



En cas de contact accidentel avec des produits dangereux (acides forts, ...), rincer abondamment à l'eau courante.

Les réactifs qui nécessitent des mesures particulières de sécurité sont listés en Annexe.

1 Objet et domaine d'application

Le texte décrit une méthode de dosage du plomb (Pb), du cadmium (Cd), du mercure (Hg), de l'arsenic (As), de l'étain (Sn) et du cuivre (Cu) dans les produits alimentaires d'origine animale (produits de la pêche (PP), produits carnés (PC), produits laitiers (PL), ovoproduits, miels ainsi que les graisses et huiles animales (graisses et huiles animales étant analysées pour tous ces éléments à l'exception de l'As)) par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) après digestion des échantillons par voie humide en milieu acide.

2 Documents de référence

- [1] NF EN 15763 : Dosage de l'arsenic, du cadmium, du mercure et du plomb par spectrométrie d'émission avec plasma induit par haute fréquence et spectromètre de masse (ICP-MS) après digestion sous pression
- [2] NF EN 17851 : Détermination des éléments Ag, As, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pb, Se, Ti, U et Zn dans les produits alimentaires par spectrométrie de masse avec plasma à couplage inductif (ICP-MS) après digestion sous pression
- [3] NF EN 15765 : Dosage de l'étain par spectrométrie de masse à plasma induit par haute fréquence (ICP-MS) après digestion sous pression
- [4] NF EN 13805 : Dosage des éléments traces - Digestion sous pression
- [5] NF EN 13804 : Détermination des éléments et de leurs espèces chimiques – Considérations générales et exigences spécifiques

3 Termes, sigles et définitions

Teneurs en Pb, Cd, Hg, As, Sn et Cu dans les produits alimentaires : teneurs en ces analytes, déterminées par le mode opératoire décrit dans le présent texte, exprimées en mg/kg.

4 Principe de la technique/méthode de dosage

La solution pour essai obtenue après digestion acide par voie humide est nébulisée et l'aérosol est transféré dans le plasma à couplage inductif (ICP) de l'ICP-MS. La température élevée du plasma provoque la désolvation, l'atomisation, et l'ionisation des atomes d'analytes. Les ions (M^+) ainsi générés sont extraits du plasma par un jeu de cônes puis transférés vers l'analyseur de masse (MS) de l'ICP-MS où ils sont séparés selon leur rapport masse sur charge (m/z , où $z=1$).

La détermination de la teneur en analytes est réalisée par le biais de l'approche de l'étalonnage externe avec utilisation d'étalons internes.

5 Appareillage et matériel

Avertissement : Des appellations commerciales ou fournisseurs peuvent être mentionnées dans le descriptif des appareils et matériels nécessaires à la mise en œuvre de la présente méthode. Ces informations sont données à l'intention des utilisateurs de la méthode et ne signifient nullement que l'Anses recommande l'emploi exclusif de ces matériels. Des matériels équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

Matériel courant de laboratoire et notamment :

- 5.1. Balance analytique de résolution 0,1 mg
- 5.2. Fioles jaugées de 50 et 100 mL, classe A
- 5.3. Pipettes automatiques à volumes variables
- 5.4. Récipients de digestion

Les récipients de digestion doivent être résistants aux acides forts et à la température et ne pas libérer de substances dans la solution de digestion au-delà des exigences de pureté de l'analyse.

Il est recommandé d'utiliser des récipients en quartz ou fluoro-polymères (Téflon) et il convient de les nettoyer avec de l'acide (par exemple acide nitrique dilué à 6% (v/v)) et de les rincer soigneusement avec de l'eau ultra-pure avant de les utiliser pour la digestion.

- 5.5. Flacons en polypropylène avec bouchons étanches d'une capacité de 50 mL ou équivalent (digiTubes SCP Science ou équivalent).

NB : Ces flacons peuvent être utilisés pour la reprise des échantillons après digestion (par micro-ondes) et la préparation de la gamme d'étalonnage, ou encore pour la digestion (par système de bloc chauffant). Il convient de vérifier leur volume périodiquement ou d'utiliser des fioles jaugées notamment dans les 2 premiers cas.

- 5.6. Système de digestion

Le système de digestion peut être un système ouvert ou fermé avec chauffage électrique ou aux micro-ondes.

- 5.7. Spectromètre de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)

Il est possible d'utiliser des ICP-MS équipés de cellules de réaction ou de collision afin de réduire les interférences polyatomiques.

6 Réactifs

Avertissement : Des appellations commerciales ou fournisseurs peuvent être mentionnées dans le descriptif des produits nécessaires à la mise en œuvre de la présente méthode. Ces informations sont données à l'intention des utilisateurs de la méthode et ne signifient nullement que l'Anses recommande l'emploi exclusif de ces produits. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

- 6.1. Eau ultrapure
- 6.2. Acide nitrique (HNO_3) d'une concentration supérieure ou égale à 65% (m/m)
- 6.3. Acide chlorhydrique (HCl) d'une concentration supérieure ou égale à 30% (m/m)
- 6.4. Peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) d'une concentration supérieure ou égale à 30% (m/m)
- 6.5. Solutions étalons individuelles prêtes à l'emploi de concentration 1000 mg/L : Pb, Cd, Hg, As, Sn et Cu

Note : une solution multi-élémentaires de Pb, Cd, Hg, As, Sn et Cu peut également être utilisée.

- 6.6. Solution étalon d'or (Au) prête à l'emploi de concentration 1000 mg/L

Note : L'or est utilisé pour stabiliser le mercure inorganique (Hg^{2+}) en solution et réduire les effets de mémoire de cet analyte.

- 6.7. Solutions étalons internes prêtes à l'emploi de concentrations 1000 mg/L

Les étalons internes utilisés doivent couvrir la plage de masses atomiques utilisée pour la détermination des éléments. Ils sont sélectionnés en fonction de leurs potentiels d'ionisation et de leurs masses atomiques. Il convient que leurs teneurs dans les échantillons soient négligeables.

Les éléments suivants peuvent être utilisés comme étalons internes : Scandium (Sc), Indium (In), Bismuth (Bi), Rhénium (Re), Yttrium (Y), Rhodium (Rh), Germanium (Ge), Gallium (Ga), Lutétium (Lu), Iridium (Ir).

6.8. Acide nitrique à 10% (v/v) à partir du réactif (6.2)

6.9. Acide nitrique à 6% (v/v) à partir du réactif (6.2)

6.10. Solution d'étalonnage de Pb, Cd, Hg et Sn à 1,0 mg/L dans HNO₃ à 6% (v/v) : dans une fiole de 100 mL (5.2), introduire à l'aide de pipettes (5.3), 100 µL de chaque solution étalon (Pb, Cd, Hg et Sn (6.5)), 6 mL d'acide nitrique (6.2) puis compléter avec de l'eau ultrapure (6.1). Cette solution est stable pendant au moins 2 mois au réfrigérateur à 5 ± 3 °C ou à température ambiante pour une durée dont la stabilité aura préalablement été démontrée.

6.11. Solution d'étalonnage de Cu et As à 1,0 mg/L dans HNO₃ à 6% (v/v) : dans une fiole de 100 mL (5.2), introduire à l'aide de pipettes (5.3), 100 µL de chaque solution étalon (Cu et As (6.5)), 6 mL d'acide nitrique (6.2) puis compléter avec de l'eau ultrapure (6.1). Cette solution est stable pendant au moins 2 mois au réfrigérateur à 5 ± 3°C ou à température ambiante pour une durée dont la stabilité aura préalablement été démontrée.

6.12. Solution des étalons internes de travail : Il convient que la concentration de la solution d'étalon interne diluée soit suffisamment élevée pour pouvoir donner une intensité de signal appropriée, idéalement comparable avec les intensités des analytes dans la partie haute de la gamme d'étalonnage.

Exemple : solution à 1,0 mg/L Bi, Y, Re et d'Au à 10,0 mg/L dans HNO₃ à 6% (v/v) : dans une fiole jaugée de 100 mL (5.2) introduire à l'aide de pipettes (5.3), 100 µL de chaque solution étalon interne (6.7), 1 mL de la solution étalon d'Au (6.6), 6 mL d'acide nitrique (6.2) puis compléter avec de l'eau ultrapure (6.1). Cette solution est stable pendant au moins 2 mois au réfrigérateur à 5 ± 3°C ou à température ambiante pour une durée dont la stabilité aura préalablement été démontrée.

Note : Le nettoyage/décontamination du matériel est nécessaire afin d'éliminer toute contamination avant utilisation. Par exemple, une décontamination avec de l'acide nitrique dilué (6.9), puis un rinçage à l'eau ultrapure (6.1) peut être effectuée.

7 Échantillons

7.1 Conditions d'acceptation des échantillons

Le laboratoire n'est pas responsable du processus d'échantillonnage. Il est important que le laboratoire reçoive un échantillon représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport ou de l'entreposage.

7.2 Conservation des échantillons avant analyse

L'échantillon doit être stocké selon sa nature de façon à éviter toute détérioration ou modification de sa composition chimique.

La température des réfrigérateurs et des congélateurs n'a pas d'incidence sur les produits soumis à essais concernant les éléments traces métalliques. Celle-ci est néanmoins surveillée par une centrale de mesure pour indication. Le stockage des échantillons se fait dans ce type d'enceinte afin de permettre une bonne conservation.

8 Mode opératoire

NB : le but de ce paragraphe est de rester général tout en spécifiant des préconisations pour la prise d'essai, l'ajout d'acide et la température de digestion.

8.1 Préparation des échantillons pour analyse

À toutes les étapes, il faut s'assurer que le niveau de contamination est le plus faible possible (décontamination de la verrerie et autres matériels en contact avec les échantillons/étalons, bonnes pratiques de laboratoire).

Il convient de décrire les modalités de préparation des échantillons dans un document spécifique, les dispositions relatives à la procédure ETNA LSA PS 0047 « Préparation des échantillons pour le contrôle officiel des métaux lourds dans les denrées alimentaires d'origine animale » peuvent être appliquées.

L'échantillon doit être à température ambiante et homogénéisé avant de procéder à la prise d'essai pour analyse.

- *Prise d'essai :*

La prise d'essai de l'échantillon doit être adaptée en fonction du système de digestion (capacité du récipient et augmentation de pression, le cas échéant). La digestion/minéralisation des matériaux riches en carbone (sucres, graisses, par exemple) peut entraîner des explosions (cas de digestion sous pression). Par conséquent, la masse maximale de l'échantillon dépend de la teneur en carbone et de la teneur en eau des échantillons. Il est donc nécessaire de respecter les instructions du fabricant du système utilisé pour la digestion de l'échantillon.

- *Ajout d'acide (pour la digestion de l'échantillon)*

Le volume de solution d'acide nécessaire à la dissolution (digestion) de l'échantillon dépend du système utilisé et de la nature de l'échantillon, l' HNO_3 est généralement utilisé (~ 3,0 mL). L'utilisation d'un mélange de HNO_3 et H_2O_2 en petite quantité (0,5 à 1,0 mL) est aussi possible afin d'augmenter la capacité oxydante de digestion et de limiter la formation d'oxydes d'azote. L'ajout d'une solution de HCl est également possible car il favorise la dissolution de certains composés, tels que les chlorures de plomb ; il minimise également l'adsorption de certains éléments sur les parois des récipients utilisés pour la digestion et/ou pour la reprise des solutions de minéralisats. Dans tous les cas, le programme de digestion doit être adapté en fonction des recommandations du fabricant du système de digestion utilisé.

Après l'ajout d'acide (ou de mélange des réactifs de digestion), agiter doucement le récipient de digestion afin d'éviter que des agglomérats d'échantillons n'adhèrent aux parois du récipient avant de fermer le récipient. Attendre ~ 30 minutes à température ambiante afin d'effectuer une pré-digestion (cas de digestion par système de minéralisation μ -ondes pour lequel une pré-digestion est recommandée) avant de lancer le programme de digestion. L'étape de pré-digestion peut durer plusieurs heures, voire toute une nuit, selon le type d'échantillon à digérer et le système de digestion utilisé (non nécessaire dans le cas où la digestion est effectuée par le biais d'un bloc chauffant ouvert).

- *Digestion*

Procéder à la digestion de l'échantillon, après ajout d'eau ultrapure si nécessaire, avec le système de digestion choisi. L'état final de digestion des échantillons dépend de la température de digestion. Plus celle-ci est élevée meilleure sera la qualité du minéralisat. La solution obtenue suite à la digestion doit être claire, sans particules en suspension et ayant un volume équivalent à celui précédant la digestion. Des exemples de digestion selon deux méthodes différentes sont donnés plus bas. Il convient d'adapter les prises d'essai, les volumes de solutions de digestion et les durées de chauffage en fonction des types d'appareils utilisés selon les recommandations du fabricant.

Laisser refroidir le récipient de digestion à température ambiante et le rincer (y compris le bouchon) avec de l'eau ultrapure (6.1). Transférer ensuite la solution obtenue dans une fiole jaugée de 50 mL (5.2) ou dans un flacon en polypropylène de 50 mL (5.5). Ajouter 100 μL de la solution d'étalons internes (6.12) et compléter au volume avec de l'eau ultrapure (6.1).

NB : Les solutions peuvent être filtrées à l'aide de filtre seringue si nécessaire (notamment si utilisation de système de bloc chauffant pour la digestion) ; dans ce cas, préciser le type de filtres utilisés (porosité et la composition chimique). Des seringues de 20 mL avec filtres 0,45 μm PVDF (Millex ou équivalent), ou encore des DigiFILTER 0,45 μm téflon (SCP SCIENCES ou équivalent) peuvent être utilisés.

NB : Toutes les solutions à analyser (y compris les blancs et les étalons) doivent contenir des étalons internes à la même concentration. La solution d'étalons internes peut également être ajoutée en ligne à l'aide d'une pompe péristaltique.

NB : Pour s'assurer de la validité (justesse) des résultats de l'analyse, il est nécessaire d'analyser parallèlement et dans les mêmes conditions, des matériaux de référence (MR) dont les teneurs en analytes sont connues. En l'absence de MR, la justesse est vérifiée par l'analyse des échantillons dopés à des niveaux de concentrations

connus (ajout). Des essais à blanc doivent également être réalisés pour s'assurer de l'absence de contamination. Il convient d'alterner la position du MR/ajout dans le système de digestion afin de tester l'efficacité de l'ensemble de ses positions.

Exemple 1 : Digestion par micro-ondes en système fermé

Prise d'essai : - produits secs et miels : $\approx 0,3 - 0,5$ g
 - produits frais : $\approx 0,5 - 1,0$ g pour les solides et jusqu'à $\approx 2,0$ g pour les liquides tels que le lait
 - graisses et huiles animales : $\approx 0,25$ g – $0,35$ g

Conditions de digestion : 3 mL HNO₃ (6.2) (attendre 30 minutes min) + 3 mL d'eau ultrapure (6.1)

Programme de digestion pour un système de digestion par micro-ondes type Anton Paar Multiwave PRO, 8 positions, pour les éléments Pb, Cd, Hg, As, Sn et Cu :

Étape	Puissance (W)	Rampe (min)	Palier (min)	Vitesse de refroidissement
1	500	0	1	1
2	800	10	0	1
3	1000	10	0	1
4	0	0	20	3

Note : La durée type de digestion est généralement comprise entre 15 et 30 minutes. Un programme inclut une phase à faible puissance pendant quelques minutes, suivie d'une ou plusieurs phases à forte puissance avec une augmentation graduelle entre les phases afin d'éviter des pics de pression à l'intérieur du récipient de digestion et enfin une phase de refroidissement pour faire diminuer la pression à l'intérieur du récipient. La régulation pendant la digestion peut se faire en température ou en pression, sur un ou plusieurs échantillons, en fonction du système micro-ondes utilisé.

Exemple 2 : Digestion par bloc chauffant en système ouvert

Prise d'essai : - produits secs : $\approx 0,2 - 0,5$ g
 - produits frais : $\approx 0,5 - 1,0$ g

Conditions de digestion : 5 mL HNO₃ dilué au ½ à partir de HNO₃ (6.2)

Le programme de digestion pour un système de digestion type bloc chauffant (modèle digiPrep SCP Science) ci-dessous est applicable aux éléments Pb, Cd, Hg, As et Cu (hors Sn) et aux matrices définies dans le domaine d'application hors graisses et huiles animales. Pour ces dernières matrices, la digestion par bloc chauffant n'a pas été évaluée.

Étape	Durée (min)	Température de travail (°C)
Rampe	45	65
Palier	15	
Rampe	20	95
Palier	120	

8.2 Gamme d'étalonnage

Les concentrations des solutions étalons de la gamme d'étalonnage doivent être choisies en fonction des concentrations attendues des analytes dans les échantillons et du domaine dynamique linéaire de la méthode.

NB : les concentrations en acide(s) ainsi qu'en étalons internes / Au doivent être semblables dans les échantillons et dans les solutions d'étalonnage.

Un exemple de préparation d'une gamme d'étalonnage est présenté ci-dessous, pour des solutions contenant respectivement 0 ; 1,0 ; 2,0 ; 5,0 ; 10,0 ; 20,0 µg/L de Pb, Cd, Hg et Sn ; 0 ; 1,0 ; 2,0 ; 5,0 ; 20,0 ; 40,0 µg/L de Cu et As, et uniformément 2,0 µg/L d'étalons internes et 20,0 µg/L d'Au.

Dans une fiole jaugée de 50 mL (5.2) ou dans un flacon en polypropylène de 50 mL (5.5), introduire à l'aide d'une pipette (5.3) :

	Std 0	Std 1	Std 2	Std 3	Std 4	Std 5
Volume (µL) de solution d'étalonnage à 1,0 mg/L en Pb, Cd, Hg et Sn (6.10)	0	50	100	250	500	1000
Volume (µL) de solution d'étalonnage à 1,0 mg/L en Cu et As (6.11)	0	50	100	250	1000	2000
Volume (µL) de solution d'étalons internes à 1,0 mg/L et Au à 10 mg/L (6.12)	100	100	100	100	100	100
Volume (mL) de solution de HNO ₃ (6.2)	3	3	3	3	3	3

Compléter jusqu'au repère de la fiole jaugée (ou du flacon en polypropylène) avec de l'eau ultrapure (6.1).

Il convient de préparer ces solutions extemporanément.

8.3 Analyse par ICP-MS

8.3.1 Généralités

La corrélation entre l'intensité du signal mesuré par l'ICP-MS et la concentration d'un analyte est linéaire sur plusieurs ordres de grandeur. Il est donc possible d'utiliser des fonctions d'étalonnage linéaires (telle que la méthode de régression linéaire) pour effectuer la quantification. Il convient de contrôler la linéarité des courbes d'étalonnage de chacun des analytes.

8.3.2 Réglages de l'ICP-MS et vérification quotidienne des performances (*daily check*)

Avant chaque série de mesurages, il est recommandé de préchauffer l'instrument en fonctionnement pendant au minimum 30 minutes, et de vérifier les performances de l'appareil (sensibilité et stabilité ainsi que le taux d'oxydes et d'ions doublement chargés) au moyen d'une solution d'optimisation (*tuning*) appropriée. Les temps d'introduction de l'échantillon et de rinçage doivent être adaptés en fonction de la longueur du circuit d'introduction d'échantillons et de la concentration des solutions à analyser, notamment pour le rinçage.

Exemple de réglages pour un ICP-MS triquadripolaire (ICP-QQQMS ou ICP-MS/MS) type Agilent 8900.

Paramètre	Réglage		
Système d'introduction de l'échantillon	Nébuliseur type concentrique micromist, débit 0,4 mL/min Chambre de nébulisation à double enceinte (<i>Scott type</i>) refroidie à $\approx 3^{\circ}\text{C}$ Pompe péristaltique (vitesse de rotation) : 0,1 rps		
Générateur de radiofréquences (RF)	Puissance incidente : 1500 W Puissance réfléchie : $< 5\text{ W}$		
Débits de gaz (pour l'ICP et la cellule de collision/réaction)	Plasma : 15 L/min Nébulisation : $\approx 1,1\text{ L/min}$ (à optimiser avant l'analyse) Auxiliaire : $\approx 0,9\text{ L/min}$ (à optimiser avant l'analyse) He (pour la cellule de collision) : $\approx 3,8$ à $\approx 4,2\text{ mL/min}$ (à optimiser)		
Interface	Cône « skimmer » en nickel, orifice 1,0 mm Cône « sampler » en nickel, orifice 0,4 mm Vide : Expansion : 2,0 mbar Analyseur : $2,0 \cdot 10^{-4}\text{ mbar}$		
Paramètres d'acquisition	Channels : 1 Replicates : 3 Sweep/replicate : 100		
Isotopes mesurés	Isotope de référence (cf. §10)	Mode d'analyse	Etalon interne
^{63}Cu , ^{65}Cu ^{75}As	^{63}Cu ^{75}As	He	Y
^{111}Cd , ^{114}Cd ^{118}Sn	^{114}Cd ^{118}Sn	No gaz	Re
^{202}Hg ^{206}Pb , ^{207}Pb , ^{208}Pb	^{202}Hg ^{208}Pb	No gaz	Bi

NB : D'autres isotopes peuvent être mesurés/considérés tels que ^{200}Hg , ^{201}Hg , ^{112}Cd ...

NB : La correction des effets matrice ou de fluctuation de la sensibilité instrumentale (*instrumental drift*) qui peuvent impacter les intensités des isotopes mesurés, est effectuée par le biais des étalons internes cf. paragraphe (6.7), selon un mode de correction adapté et défini sur l'ICP-MS utilisé.

Exemples :

- Correction par étalonnage interne spécifique : à chaque isotope mesuré, est associé un étalon interne spécifique tel que : $\text{Pb} \leftrightarrow \text{Bi}$ - $\text{Cd} \leftrightarrow \text{Re}$ - $\text{As} \leftrightarrow \text{Y}$ - $\text{Hg} \leftrightarrow \text{Bi}$ - $\text{Cu} \leftrightarrow \text{Y}$ - $\text{Sn} \leftrightarrow \text{Re}$
- Correction par interpolation : A chaque isotope mesuré est associé, 2, voire plusieurs étalons internes.

8.3.3 Interférences

8.3.3.1 Interférences isobariques

Les interférences isobariques consistent en un chevauchement de deux pics correspondant à deux isotopes ayant la même valeur m/z. Pour éliminer/diminuer ces interférences on dispose de plusieurs moyens selon les cas :

- si l'analyte répond mieux (plus sensible en ICP-MS) ou il est considérablement plus concentré dans l'échantillon soumis à essai que son isotope interférent, la quantification pourra s'effectuer sans aucune correction préalable.

- (ii) si l'intensité de l'isotope interférent est assez importante par rapport à celle de l'analyte, ce qui pourrait conduire à une surestimation de la teneur en analyte, un autre isotope de l'analyte doit être utilisé pour la mesure, à condition qu'il ne soit pas lui-même, interféré par d'autres isotopes et qu'il soit suffisamment sensible (ayant une abondance isotopique suffisante) pour l'analyse de l'échantillon.
- (iii) si les cas (i) et (ii) ne sont pas applicables, une correction mathématique de l'interférence isobarique est nécessaire.

NB : Dans la plupart des cas, ces types d'interférences sont connus et leurs corrections (s) sont intégrées dans le logiciel de pilotage de l'ICP-MS. La formule générale de correction d'une interférence isobarique est la suivante :

$$I_A = I_{m/z} - [I_2 \times (A_1/A_2)]$$

où

- I_A , intensité (corrigée) de l'isotope mesuré de l'analyte
- $I_{m/z}$, intensité mesurée au rapport masse/charge (m/z) d'intérêt
- I_2 , intensité d'un second isotope non-interféré de l'analyte interférent
- A_1 , abondance (%) de l'isotope interférent
- A_2 , abondance (%) du second isotope (non-interféré) de l'analyte interférent.

Observations :

- Si le second isotope de l'ion interférent est également interféré, une correction de cette interférence sera nécessaire.
- Si l'analyte répond moins bien que son interférent, on ne pourra pas le détecter.

Exemple de correction : ^{114}Cd interféré par ^{114}Sn

$$I(m/z\ 114) = I(^{114}\text{Cd}) + I(^{114}\text{Sn})$$

$$I(^{114}\text{Cd}) = I(m/z\ 114) - [I(^{118}\text{Sn}) \times (A^{114}\text{Sn} / A^{118}\text{Sn})]$$

$$\text{Comme Abondance } (^{114}\text{Sn}) / \text{Abondance } (^{118}\text{Sn}) = 0,66 / 24,22 = 0,027$$

$$I(^{114}\text{Cd}) = I(m/z\ 114) - 0,027 \cdot I(^{118}\text{Sn})$$

Les interférences isobariques sur les différents isotopes considérés du Pb, Cd, Hg, As, Cu et Sn sont présentés en Annexe 1.

8.3.3.2 Les interférences dues aux ions moléculaires

Des espèces atomiques prédominantes présentes dans le plasma, provenant du plasma même (Ar, H, O, N, C), des acides ou des solvants employés peuvent former des ions moléculaires (par recombinaison à la sortie de l'interface) ayant la même valeur m/z que l'isotope d'intérêt. Ces interférences sont également appelées *interférences spectrales polyatomiques*.

Le taux de formation de ces espèces dépend de la puissance du plasma, du débit de la nébulisation et de la composition de la matrice.

Ces interférences spectrales (polyatomiques) sont habituellement éliminées/diminuées en utilisant des ICP-MS équipés d'une cellule de collision/réaction. Il est également possible d'utiliser des équations de corrections qui sont généralement intégrées au logiciel.

Les interférences dues aux ions moléculaires sur les isotopes considérés du Pb, Cd, Hg, As, Sn et Cu sont présentés en Annexe 1.

8.3.3.3 Les interférences non spectrales (ou effets matrice)

Les interférences non spectrales (appelées également effets matrice) sont dues à la différence de comportement des analytes en milieu simple (cas des étalons préparés dans l'eau ultra-pure) et en présence d'une matrice plus

complexe (échantillons). La façon la plus simple de réduire les effets matrice consiste à diluer au maximum les échantillons tout en s'assurant de conserver une sensibilité optimale. Enfin, l'ajout d'étalons internes permet de compenser les changements de sensibilité liés notamment à la présence de sels dissous.

NB : Les effets matrices peuvent avoir un impact différent selon l'analyte ; par exemple, la présence de carbone dans la matrice peut entraîner une surestimation des résultats pour certains éléments tel que l'As et une sous-estimation des résultats pour d'autres éléments tel que le Pb.

8.4 Séquence analytique type pour l'analyse par l'ICP-MS

Analyser successivement les solutions d'étalonnage (8.2), le(s) essai(s) à blanc, le(s) matériau(x) de référence et/ou ajouts et les solutions pour essai.

Un étalon correspondant au milieu de gamme d'étalonnage (ex : standard 2) est analysé tous les 10 échantillons environ, selon la longueur de la séquence et la stabilité de la réponse instrumentale, afin de suivre la dérive de la sensibilité de l'appareil.

Un rinçage du système d'introduction avec une solution de HNO₃ dilué (ex : HNO₃ 10% (6.8) puis à 6% (6.9)) est réalisé entre chaque mesure.

Lorsque la concentration en analyte dans un échantillon ou MR est supérieure à la concentration du dernier point de la gamme d'étalonnage, procéder à sa dilution de manière à ce que la concentration en analyte après dilution soit comprise dans la gamme d'étalonnage. Les concentrations en acide(s) ainsi qu'en étalons internes/Au doivent être identiques dans les échantillons dilués et dans les solutions d'étalonnage.

9 Résultats

9.1 Contrôle de la validité des résultats

Les différents contrôles qualité internes mis en place permettent d'assurer la fiabilité des résultats d'une analyse suivant des critères prédéfinis. Ils consistent en une vérification des résultats par l'analyse de matériau(x) de référence et/ou d'ajouts, d'étalons de contrôle, d'essais à blanc conduits en parallèle lors de chaque série d'analyse.

9.2 Calculs et expression des résultats

Le calcul des concentrations de l'analyte est basé sur l'approche de la régression linéaire.

La teneur (T) d'un analyte dans l'échantillon, exprimées en mg/kg, est calculé selon la formule suivante :

$$T = \frac{(C_e - C_b) \times V \times f \times t}{m}$$

C_e, concentration de la solution pour essai, en µg/L

C_b, concentration de la solution de l'essai à blanc, en µg/L

V, volume de reprise, en L

m, masse de la prise d'essai, en g

f, facteur de dilution éventuel

t, facteur d'humidité éventuel ou facteur de correction matière sèche/matière fraîche éventuel.

NB : Les concentrations C_e et C_b sont calculées en utilisant la fonction d'étalonnage externe.

NB : Lorsqu'un résultat d'analyse concerne plusieurs isotopes d'un élément donné (comme le Cu, le Cd et le Pb), les masses considérées pour la quantification doivent être précisées.

Exemples :

- Un seul isotope « de référence » (le plus abondant par exemple) peut être considéré pour la quantification (ex : ^{208}Pb), et un second isotope (voire un troisième) peut éventuellement être utilisé comme « isotope de contrôle » (ex : ^{207}Pb).
- Plusieurs isotopes peuvent être considérés pour la quantification en appliquant une équation qui précise que l'intensité (globale) de l'analyte correspond à la somme des signaux de différents isotopes de l'analyte (ex : $^{208}\text{Pb} = ^{206}\text{Pb} + ^{207}\text{Pb} + ^{208}\text{Pb}$)
- Plusieurs isotopes peuvent être considérés pour la quantification en moyennant les résultats relatifs aux différents isotopes d'un analyte donné (ex : teneur en Pb = moyenne des teneurs des isotopes ^{206}Pb , ^{207}Pb et ^{208}Pb).

10 Caractéristiques de performance de la méthode















Les caractéristiques de performance ci-dessous ont été évaluées pour le dosage du **Pb, Cd, Hg, As, Sn et Cu dans les PP, PC, PL, ovoproduits et miels**, par ICP- MS/MS (type Agilent 8900) après minéralisation par micro-ondes en système fermé Anton Paar Multiwave Pro.

Caractéristique : paramètre de vérification	Analyte	Cu	As	Cd	Sn	Hg	Pb
	Isotope(s) mesuré(s)	⁶³ Cu, ⁶⁵ Cu	⁷⁵ As	¹¹¹ Cd, ¹¹⁴ Cd	¹¹⁸ Sn	²⁰² Hg	²⁰⁶ Pb, ²⁰⁷ Pb, ²⁰⁸ Pb
	Isotope(s) de référence/contrôle	⁶³ Cu puis ⁶⁵ Cu	⁷⁵ As	¹¹⁴ Cd puis ¹¹¹ Cd	¹¹⁸ Sn	²⁰² Hg	²⁰⁸ Pb puis ²⁰⁶ Pb puis ²⁰⁷ Pb
Étalonnage : Domaine de linéarité (µg/L)		0 - 40	0 - 40	0 - 20	0 - 20	0 - 20	0 - 20
Domaine d'application (µg/L)		0,56 à 100	0,10 à 295	0,010 à 100	0,35 à 100	0,10 à 100	0,060 à 100
Domaine d'application (µg/L)	Domaine basses conc.	0,56 - 3,1	0,10 – 0,20	0,010 - 0,50	0,35 - 100	0,10 - 1,10	0,060 - 1,0
	Domaine hautes conc.	≥ 3,1 - 100	≥ 0,20 - 295	≥ 0,50 - 100		≥ 1,10 - 100	≥ 1,0 - 100
Sensibilité : Limite de détection (µg/L)		0,17	0,030	0,003	0,11	0,030	0,018
Sensibilité : Limite de quantification (µg/L)		0,56	0,10	0,010	0,35	0,10	0,060
Justesse : Biais (%) en fonction de la concentration		-10,3 à -0,1	0,5 à 15,0	-24,1 à 8,2	-3,4 à 10,9	-8,9 à 11,7	-9,6 à 3,1
Répétabilité : CV _r (%) en fonction de la concentration	CV _r (%) basses conc.	6,8	7,3	7,2	3,7	7,3	9,2
	CV _r (%) hautes conc.	1,8	2,9	2,5		1,1	3,7
Fidélité intermédiaire : CV _{FI} (ou CV _R) (%) en fonction de la concentration	CV _{FI} (%) basses conc.	11,5	7,3	9,9	4,2	10,3	9,7
	CV _{FI} (%) hautes conc.	3,4	4,3	2,9		2,8	5,9
Incertitude de mesure U (k=2) en fonction de la concentration	U (k=2) basses conc.	25	15,5	21	9	22	21
	U (k=2) hautes conc.	7,5	9,5	6		6	13




















Les caractéristiques de performance ci-dessous ont été évaluées pour le dosage du **Pb, Cd, Hg, Sn et Cu** dans les **graisses et huiles d'origine animale**, par ICP- MS/MS (Agilent 8900) après minéralisation par micro-ondes en système fermé Anton Paar Multiwave Pro.

	Analyte	Cu	Cd	Sn	Hg	Pb
	Isotopes	⁶³ Cu ; ⁶⁵ Cu	¹¹¹ Cd ; ¹¹⁴ Cd	¹¹⁸ Sn	²⁰² Hg	²⁰⁶ Pb ; ²⁰⁷ Pb ; ²⁰⁸ Pb
	Isotope de référence / contrôle	⁶³ Cu puis ⁶⁵ Cu	¹¹⁴ Cd puis ¹¹¹ Cd	¹¹⁸ Sn	²⁰² Hg	Pb : ²⁰⁶ Pb+ ²⁰⁷ Pb+ ²⁰⁸ Pb
Domaine d'application	Domaine d'étalonnage (µg.L ⁻¹)	0 - 40	0 - 20	0 - 20	0 - 20	0 - 20
	Domaine d'application (µg.L ⁻¹)	0,56 - 100	0,010 - 100	0,35 - 100	0,10 - 100	0,060 - 100
	Domaine basses concentrations (µg.L ⁻¹)	0,56 – 1,12	0,010 – 5,00	0,010 – 5,00	0,10 – 5,00	0,060 – 5,00
	Domaine hautes concentrations (µg.L ⁻¹)	≥ 1,12 - 100	≥ 5,00 - 100	≥ 5,00 - 100	≥ 5,00 - 100	≥ 5,00 - 100
Quantification	LD (µg.L ⁻¹)	0,17	0,003	0,11	0,030	0,018
	LQ (µg.L ⁻¹)	0,56	0,010	0,35	0,10	0,060
Justesse	Biais (%) basses concentrations	-9,4 à 0,7	-3,4 à 7,8	-0,6 à 2,8	-10,3 à 13,8	-7,4 à 4,4
	Biais (%) hautes concentrations	-0,6 à 0,6	0 à 1,9	-1,8 à -2,0	-4,9 à 4,1	-2,5 à 0,4
Répétabilité	CV _r (%) basses concentrations	6,9	6,1	6,3	3,9	7,6
	CV _r (%) hautes concentrations	1,7	1,4	1,8	3,5	0,9
Fidélité intermédiaire	CV _{FI} (%) basses concentrations	12	9	7	8,3	10,2
	CV _{FI} (%) hautes concentrations	3,3	2,9	3,6	4,3	2,5
Incertitude de mesure	U (k=2) (%) basse concentrations	25	20	15	18	22
	U (k=2) (%) hautes concentrations	7	6	8	9	5

Annexe 1 : Table des interférences isotopiques et polyatomiques potentielles selon l'isotope.

Isotope	Abondance (%)	Interférence isobarique	Interférence polyatomique	Interférence majeure	Pictogramme sécurité
⁶³ Cu	69,17	—	³¹ P ¹⁶ O ₂ ⁺ , ⁴⁰ Ar ²³ Na ⁺ , ⁴⁷ Ti ¹⁶ O ⁺ , ²³ Na ⁴⁰ Ca ⁺ , ⁴⁶ Ca ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ³⁶ Ar ¹² C ¹⁴ N ¹ H ⁺ , ¹⁴ N ¹² C ³⁷ Cl ⁺ , ¹⁶ O ¹² C ³⁵ Cl ⁺	⁴⁰ Ar ²³ Na ⁺	
⁶⁵ Cu	30,83	—	⁴⁹ Ti ¹⁶ O ⁺ , ³² S ¹⁶ O ₂ ¹ H ⁺ , ⁴⁰ Ar ²⁵ Mg ⁺ , ⁴⁰ Ca ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ³⁶ Ar ¹⁴ N ₂ ¹ H ⁺ , ³² S ³³ S ⁺ , ³² S ¹⁶ O ¹⁷ O ⁺ , ³³ S ¹⁶ O ₂ ⁺ , ¹² C ¹⁶ O ³⁷ Cl ⁺ , ¹² C ¹⁸ O ³⁵ Cl ⁺ , ³¹ P ¹⁶ O ¹⁸ O ⁺ , ¹⁴ N ⁵¹ V ⁺	¹⁴ N ⁵¹ V ⁺	
⁷⁵ As	100	—	⁴⁰ Ar ³⁵ Cl ⁺ , ⁴⁰ Ca ³⁵ Cl ⁺	⁷⁵ ArCl ⁺	 
¹¹¹ Cd	12,8	—	⁹⁵ Mo ¹⁶ O ⁺ , ⁹⁴ Zr ¹⁶ O ¹ H ⁺ , ³⁹ K ₂ ¹⁶ O ₂ ¹ H ⁺ , ¹² C ⁹⁹ Tc ⁺	¹² C ⁹⁹ Tc ⁺	 
¹¹⁴ Cd	28,7	¹¹⁴ Sn (0,66)	⁹⁸ Mo ¹⁶ O ⁺ , ⁹⁸ Ru ¹⁶ O ⁺	¹¹⁴ Sn ⁺	 
¹¹⁸ Sn	24,2	—	¹⁰² Ru ¹⁶ O ⁺ , ¹⁰² Pd ¹⁶ O ⁺	¹⁰² Ru ¹⁶ O ⁺	
²⁰² Hg	29,9	—	²⁰¹ Hg ¹ H ⁺ , ¹⁷ O ¹ H ¹⁸⁵ Re ⁺ , ¹⁶ O ¹⁸⁶ W ⁺	¹⁷ OH ¹⁸⁵ Re ⁺	 
²⁰⁶ Pb	24,1	—	¹⁹⁰ Pt ¹⁶ O ⁺ , ¹ H ²⁰⁵ Tl ⁺	¹ H ²⁰⁵ Tl ⁺	
²⁰⁷ Pb	22,1	—	¹⁹¹ Ir ¹⁶ O ⁺ , ¹⁴ N ¹⁹³ Ir ⁺	¹⁴ N ¹⁹³ Ir ⁺	
²⁰⁸ Pb	52,4	—	¹⁹² Pt ¹⁶ O ⁺ , ¹⁶ O ¹⁹² Os ⁺	¹⁶ O ¹⁹² Os ⁺	

Annexe 2 : Réactifs nécessitant des mesures de sécurité particulières

RÉACTIFS	PICTOGRAMMES DE SÉCURITÉ
Acide nitrique (HNO ₃)	  
Acide chlorhydrique (HCl)	 
Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	 
Bismuth (Bi)	
Gallium (Ga)	
Germanium (Ge)	 
Indium (In)	
Iridium (Ir)	 
Lutétium (Lu)	
Or (Au)	
Rhénium (Re)	
Rhodium (Rh)	
Scandium (Sc)	
Yttrium (Y)	