

Méthode d'analyse en sécurité sanitaire des aliments

RÉFÉRENCE : ANSES/LSAliments/LSA-INS-0087 - Version 04

Janvier 2016

**DETERMINATION DES TENEURS EN PLOMB ET EN CADMIUM DANS LES
PRODUITS CARNES, LES PRODUITS DE LA PECHE ET LE MIEL**

Minéralisation par digestion DigiPREP et mesure par spectrométrie d'absorption
atomique électrothermique

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

**Laboratoire national de référence éléments traces métalliques
dans les denrées alimentaires d'origine animale**

Le présent document est, sous sa forme électronique, mis à la disposition des utilisateurs en tant que méthode d'analyse. Ce document est la propriété de l'Anses. Toute reproduction, qu'elle soit totale ou partielle, n'est autorisée qu'à la condition expresse que la source soit citée, par exemple en faisant mention de sa référence (incluant sa version et année) et de son titre.



Historique de la méthode

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

Les modifications sont repérées dans le texte par un trait dans la marge.

Une modification est considérée comme majeure dès lors qu'elle concerne des parties clés ou le fond même de la méthode, dont la prise en compte est susceptible d'améliorer significativement la portée ou le résultat de la méthode d'analyse. Une modification majeure induit en général des adaptations importantes. La méthode ainsi modifiée a fait l'objet d'une nouvelle validation.

Une modification est considérée comme mineure si elle apporte des précisions utiles ou pratiques, reformule les propos pour les rendre plus clairs ou plus précis, rectifie des erreurs bénignes. Les caractéristiques de performance de la méthode ainsi améliorée ne sont pas modifiées; elle n'a pas fait l'objet d'une nouvelle validation.

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

Version	Nature des modifications	Date	Principales modifications
V 00	-	19/04/2010	Création
V 01	mineure	10/09/2010	Mise à jour de la référence de la méthode en accord avec le nouveau nom de l'agence « Anses »
V 02	majeure	02/08/2011	Extension de la méthode à la matrice miel
V 03	mineure	22/12/2015	Harmonisation au nouveau format de méthode ANSES et référencement selon ENNOV (outil électronique de gestion documentaire) + mise à jour références bibliographiques et précision longueurs d'ondes de mesure
V 04	mineure	22/01/2016	Page de garde, référence de la méthode : application du modèle de l'Anses à la méthode « Anses Maisons-Alfort CIME 12 – révision 03 »



Avant-propos

La présente méthode a été développée par :

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments de Maisons-Alfort

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 : Rachida CHEKRI - rachida.chekri@anses.fr



Sommaire

Avant-propos.....	3
Avertissements et précautions de sécurité	5
1 Objet et domaine d'application.....	6
2 Références bibliographiques	6
3 Sigles et définitions	6
4 Principe de la méthode	6
5 Appareillage et matériels	6
6 Réactifs	7
7 Préparation des solutions.....	7
8 Décontamination du matériel	8
9 Echantillons	8
9.1 Echantillonnage	8
9.2 Conservation des échantillons avant analyse.....	8
10 Mode opératoire.....	8
10.1 Préparation des échantillons pour analyse	8
10.2 Digestion	8
10.2.1.2 Matériaux de référence et/ou ajouts	9
10.2.2 Digestion par voie humide.....	9
10.2.2.1 Programme de digestion.....	9
10.2.2.2 Refroidissement.....	9
10.3 Préparation de la gamme d'étalonnage et solutions pour essai.	9
10.3.1 Gamme d'étalonnage	9
10.3.2 Echantillons	10
10.3.3 Détermination.....	10
11 Résultats.....	10
11.1 Contrôle qualité	10
11.2 Calculs et expression des résultats	11



Avertissements et précautions de sécurité

Il convient que l'utilisateur de la présente méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. 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 nationale en vigueur.

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

Lors de l'utilisation de produits dangereux tels que les acides forts, irritants, évitez tout contact avec la peau.

En cas de contact accidentel, rincer abondamment à l'eau courante.

Il est  (obligatoire) de travailler :

- sous une hotte ventilée
- de porter une blouse 
- des lunettes et des gants de protection  

Les réactifs listés ci-dessous nécessitent des mesures particulières de sécurité :

REACTIFS	PICTOGRAMMES DE SECURITE
Acide nitrique	 
Plomb	  
Cadmium	  



1 Objet et domaine d'application

Le texte décrit une méthode par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) pour la détermination des teneurs en plomb et en cadmium dans les produits carnés, les produits de la pêche et le miel.

Cette méthode est également applicable pour la détermination des teneurs en plomb et en cadmium dans le lait sec dont les teneurs sont supérieures à 0,100 mg.kg⁻¹ en plomb et 0,040 mg.kg⁻¹ en cadmium.

2 Références bibliographiques

- [1] Feinberg M., Ducauze C., Minéralisation du plomb et du cadmium des tissus animaux en vue de leur dosage par spectrométrie d'absorption atomique. Bulletin de la Société Chimique de France, 1978, n° 11-12, p. 419-425.
- [2] Note d'application SCP SCIENCE : Animal Feed, AOAC 957.02 (a)1
- [3] AFNOR-FD EN V 03-115 Analyse de produits agricoles et alimentaires – Guide pour l'utilisation des matériaux de référence.
- [4] AFNOR-NF EN V 03-110 Protocole de caractérisation en vue de la validation d'une méthode d'analyse quantitative par construction du profil d'exactitude

3 Sigles et définitions

Teneurs en plomb (Pb) et en cadmium (Cd) dans les produits carnés, les produits de la pêche et le miel : teneurs en ces analytes, déterminées par les modes opératoires décrits dans le présent texte, exprimées en mg.kg⁻¹.

4 Principe de la méthode

- 4-1 Digestion de l'échantillon en présence d'acide nitrique dilué, dans un DigiTUBE placé dans un bloc de chauffage en carbone graphite contrôlé en température.
- 4-2 Préparation de la solution d'essai par reprise du minéralisat avec de l'eau déionisée.
- 4-3 Mesure des teneurs des éléments par spectrométrie d'absorption atomique électrothermique

5 Appareillage et matériels

Avertissement : Des appellations commerciales ou fournisseurs peuvent être mentionnés dans le descriptif des appareils et matériels nécessaires à la mise en œuvre de la présente méthode. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la méthode et ne signifie 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 (classification I), de résolution 0,1 mg.

5-2 Fioles jaugées (en verre borosilicaté), classe A.

5-3 Pipettes automatiques (Biohit ou équivalent).

5-4 DigiTUBES (SCP SCIENCES) avec bouchons.

5-5 DigiPREP MS (SCP SCIENCES)

5-6 DigiFILTER (SCP SCIENCES) 1,0 micron

5-7 Spectromètre d'absorption atomique piloté par micro-ordinateur, équipé d'un passeur d'échantillons, d'un correcteur de fond non spécifique, de lampes à cathode creuse de plomb et de cadmium, d'un atomiseur électrothermique (Varian SpectrAA 220Z ou équivalent). On peut également utiliser des lampes de plomb et de cadmium sans électrode (EDL).

6 Réactifs

6.1 Acide nitrique - HNO_3 - d'une concentration supérieure ou égale à 65 % (Suprapur ou équivalent).

6-2 Dihydrogénophosphate d'ammonium - $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ - (Merck pour analyse ou équivalent)

6-3 Nitrate de magnésium - $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2, 6\text{H}_2\text{O}$ - (Merck pour analyse ou équivalent)

6-4 Solution étalon de plomb prête à l'emploi à 1 g.l^{-1} (Merck ou équivalent)

6-5 Solution étalon de cadmium prête à l'emploi à 1 g.l^{-1} (Merck ou équivalent)

7 Préparation des solutions

L'eau utilisée au cours des différentes manipulations est déionisée (type Milli Q+)

7-1 Acide nitrique à 50% (v/v) à partir du réactif (6-1).

7-2 Solution de modifiant de matrice : solution aqueuse de dihydrogénophosphate d'ammonium (6-2) à 1 % (m/v) et de nitrate de magnésium (6-3) à 0,05 % (m/v).

7-3 Solution de plomb à 200 mg.l^{-1} dans HNO_3 à 10% : dans une fiole jaugée de 50 ml (5-2), introduire à l'aide d'une pipette automatique (5-3) 10 ml de solution de plomb à 1 g.l^{-1} (6-4), ajouter 5 ml de HNO_3 (6-1); compléter avec de l'eau déionisée, agiter.

7-4 Solution de cadmium à 100 mg.l^{-1} dans HNO_3 à 10% : dans une fiole jaugée de 100 ml (5-2), introduire à l'aide d'une pipette automatique (5-3) 10 ml de solution de cadmium à 1 g.l^{-1} (6-5), ajouter 10ml de HNO_3 (6-1) ; compléter avec de l'eau déionisée, agiter.

7-5 Solution mixte de plomb à 4 mg.l^{-1} et de cadmium à 1 mg.l^{-1} dans HNO_3 à 10% : dans une fiole jaugée de 50 ml (5-2), introduire à l'aide d'une pipette automatique (5-3) 1 ml de solution de plomb à 200 mg.l^{-1} (7-3), puis 0,5 ml de la solution de cadmium à 100 mg.l^{-1} (7-4), ajouter 5 ml de HNO_3 (6-1) ; compléter avec de l'eau déionisée, agiter.



8 Décontamination du matériel

La décontamination de la vaisselle s'effectue selon la procédure spécifique ET2M LSA-PS-0040 « Nettoyage de la vaisselle ».

9 Echantillons

9.1 Echantillonnage

Le laboratoire n'est pas responsable de l'échantillonnage. L'échantillon doit être stocké selon sa nature de façon à éviter toute détérioration ou modification de sa composition (Cf. procédure gestion des produits soumis à essais en ET2M).

9.2 Conservation des échantillons avant analyse

La température des réfrigérateurs et des congélateurs n'a pas d'incidence sur les produits soumis à essais. 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

10 Mode opératoire

10.1 Préparation des échantillons pour analyse

Porter l'échantillon à température ambiante, homogénéiser l'échantillon et procéder à la prise d'essai

Concernant le miel, chauffez-le au bain d'eau, jusqu'à liquéfaction, avant de peser l'échantillon.

10.2 Digestion

10.2.1 Prise d'essai

Peser dans le DigiTUBES exactement au mg près :

a) Produits frais : environ 2g ; si les teneurs présumées sont élevées, on peut diminuer la prise d'essai jusqu'à 1 g. Peser environ 5 g pour les muscles et 1,5 g pour le miel.

b) Produits secs ou lyophilisés : 0,250 à 1 g selon les teneurs présumées en plomb et en cadmium. Le lait sec dont les teneurs sont supérieures ou égales à 0,550 mg.kg⁻¹ en plomb et 0,150 mg.kg⁻¹ en cadmium peut être minéralisé pour la détermination du plomb et du cadmium par SAA-ET.

Ajouter 5 ml d'acide nitrique (7-1), fermer et agiter le DigiTUBE ; laisser agir au minimum 4h afin de faciliter la digestion.

10.2.1.1 Essai à blanc

Pour vérifier qu'il n'y a pas de contamination, inclure dans chaque série d'analyses un essai à blanc : essai réalisé en l'absence de matrice avec les mêmes quantités de réactifs et soumis à la digestion en même temps que les échantillons.



10.2.1.2 Matériaux de référence et/ou ajouts

Pour contrôler la méthode d'analyse, inclure dans chaque série d'analyses un matériau de référence contenant une teneur connue des éléments à doser. Ce matériau de référence doit être soumis à la digestion dans les mêmes conditions que l'échantillon étudié.

Pour le miel, en l'absence de matériau de référence à teneurs certifiées en plomb et en cadmium, procéder à un ajout des éléments à doser, dans le domaine de linéarité de la gamme.

10.2.2 Digestion par voie humide

La programmation du DigiPREP (rampe et palier de température) s'effectue suivant les recommandations du fabricant.

10.2.2.1 Programme de digestion

Se conformer aux recommandations du constructeur et à la notice d'utilisation NU.ET2M LSA INS 0103 pour l'utilisation du DigiPREP MS (5-5).

Placer les DigiTUBES dans le DigiPREP MS (5.5) à température ambiante et déclencher le programme « PB CD CIME12 » sur l'écran tactile du contrôleur.

Programme de digestion « PB CD CIME12 » :

	<i>Durée en mn</i>	<i>Température de travail</i>
<i>Rampe</i>	45	65 °C
<i>Palier</i>	15	
<i>Rampe</i>	20	95°C
<i>Palier</i>	120	

10.2.2.2 Refroidissement

Refroidir les DigiTUBES pour réduire les vapeurs d'acide nitrique en les plaçant au réfrigérateur.

10.3 Préparation de la gamme d'étalonnage et solutions pour essai.

10.3.1 Gamme d'étalonnage

Dans des fioles jaugées de 50 ml (5-2), introduire respectivement à l'aide d'une pipette (5-3) :



0, 125, 250, 375 et 500 µl de la solution mixte de plomb à 4 mg.l⁻¹ et de cadmium à 1 mg.l⁻¹ dans HNO₃ à 10% (7-5)

5 ml d'acide nitrique (6-1)
Compléter avec de l'eau déionisée et agiter.

Les concentrations en acide nitrique doivent être semblables dans les échantillons et les solutions de calibrage.

Les solutions de travail contiennent : 0 – 0,010 – 0,020 – 0,030 – 0,040 mg.l⁻¹ de plomb et 0 - 0,0025 – 0,0050 – 0,0075 – 0,0100 mg.l⁻¹ de cadmium.

10.3.2 Echantillons

Après digestion, ouvrir les Digitubes, puis rincer les couvercles et les parois à l'eau déionisée, reprendre dans les fioles jaugées de 25 ml (5-2) et ajuster à température ambiante avec de l'eau déionisée, agiter puis procéder à la mesure.

Procéder de même avec le blanc de minéralisation et le matériau de référence.

Les solutions ajustées en fioles de 25 ml (5-2) peuvent être filtrées si besoin (présence de particules grasses), à l'aide de DigiFILTER (5-6) (filtre papier rincé à l'acide et sans cendres, inséré dans un dispositif en polypropylène ; la filtration à travers le papier est assistée par le vide à l'aide d'une seringue de 50 ml).

10.3.3 Détermination

Se référer à la notice d'utilisation du spectromètre d'absorption atomique (5-7) pour l'utilisation de l'appareil.

Les programmes d'atomisation à appliquer dépendent de l'analyte, de la matrice et du spectromètre d'absorption atomique. Les programmes convenant pour un spectromètre VARIAN 220Z (5-7) sont cités en annexe 1 pour le plomb et en annexe 2 pour le cadmium. Les longueurs d'ondes de mesure sont de 283,3 nm pour le plomb et 228,8 nm pour le cadmium.

Analyser successivement les solutions d'étalonnage (10-3-1), l'essai à blanc (10-2-1-1), les matériaux de référence et/ou ajouts (10-2-1-2) et les solutions pour essai (10-3-2).

Le modifiant de matrice (7-2) est ajouté automatiquement dans le tube de l'atomiseur pour toutes les solutions étalons, essai à blanc et solutions d'essai. Un étalon correspondant au second point de la gamme étalon est analysé tous les 6 à 8 échantillons environ afin de suivre la dérive de l'appareil.

Si l'absorbance produite par une solution d'essai est supérieure au point de gamme le plus élevé, diluer la solution d'essai (facteur de dilution f) et l'essai à blanc (milieu 10% HNO₃).

11 Résultats

11.1 Contrôle qualité

Les différents contrôles qualité internes mis en place sont des outils qui 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

11.2 Calculs et expression des résultats

Le calcul des courbes d'étalonnage se fait en mode linéaire.

Les teneurs (T) en divers éléments dans l'échantillon, exprimées en mg.kg^{-1} sont égales à :

$$T = (C_e - C_b) \times \frac{25xf}{m}$$

C_e = concentration de la solution pour essai, en mg.l^{-1} .

C_b = concentration de la solution de l'essai à blanc, en mg.l^{-1} .

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

f = facteur de dilution éventuel.



Annexes

Annexe 1 : Programme d'atomisation pour le plomb

Etape	Température (°C)	Durée (s)	Débit de Gaz (l/min)	Lecture	Type de gaz
1	105	30,0	3,0	Non	Argon
2	500	15,00	3,0	Non	Argon
3	500	1,2	3,0	Non	Argon
4	900	5,0	3,0	Non	Argon
5	900	1,8	0	Non	Argon
6	1600	1,0	0	Oui	Argon
7	1600	3,8	0	Oui	Argon
8	2400	1,0	3,0	Oui	Argon
9	40	21,3	3,0	Non	Argon
10	40	10,0	3,0	Non	Argon

Température d'injection : 20 °C, volume de solution déposé : 20 µl, volume de modifiant (7-2) : 10 µl

Annexe 2 : Programme d'atomisation pour le cadmium

Etape	Température (°C)	Durée	Débit de Gaz (l/min)	Lecture	Type de gaz
1	75	2,0	3,0	Non	Argon
2	105	8,0	3,0	Non	Argon
3	105	10,0	3,0	Non	Argon
4	150	5,0	3,0	Non	Argon
5	150	1,0	3,0	Non	Argon
6	500	10,0	3,0	Non	Argon
7	500	3,0	3,0	Non	Argon
8	800	3,0	0,2	Non	Argon
9	1900	0,7	0,2	Oui	Argon
10	1900	2,0	0,2	Oui	Argon
11	2300	1,0	3,0	Non	Argon
12	40	20,9	3,0	Non	Argon
13	40	10,0	3,0	Non	Argon

Température d'injection : 20 °C, volume de solution déposé : 16 µl, volume de modifiant (7-2) : 8 µl