



Méthodes

Détermination des teneurs en métaux dans les denrées alimentaires d'origine animale : minéralisation par digestion par micro-ondes en système fermé et mesure par spectrométrie de masse couplée à un plasma induit (ICP-MS)

T. Guérin, L. Noël, Afssa, Maisons-Alfort (France)

La méthode de détermination de la teneur en arsenic, cadmium, plomb et mercure dans les denrées alimentaires d'origine animale par minéralisation par digestion par micro-ondes en système fermé et par mesure par spectrométrie de masse couplée à un plasma induit est décrite ici. Cette méthode est appliquée par le Laboratoire national de référence (LNR) Métaux lourds (groupe B3c selon l'annexe I de la directive 96/23/CE du conseil du 29 avril 1996 relative aux mesures de contrôle à mettre en œuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits) du Laboratoire d'études et de recherches sur la qualité des aliments et sur les procédés agro-alimentaires de l'Afssa (Maisons-Alfort).

Principe de la méthode

La méthode de spectrométrie de masse couplée à un plasma induit (ICP-MS) pour la détermination des teneurs en arsenic, cadmium, plomb et mercure dans les produits alimentaires d'origine animale après minéralisation par micro-ondes en système fermé repose sur :

1. une digestion de l'échantillon en présence d'acide nitrique dans un récipient hermétiquement clos placé dans un conteneur sous pression, soumis à une température et à une pression élevées à l'aide d'un four à micro-ondes en système fermé ;
2. la préparation de la solution d'essai par reprise du minéralisat avec de l'eau déionisée ;
3. la mesure des teneurs en arsenic, en cadmium, en plomb et en mercure par spectrométrie de masse couplée à un plasma induit : la solution d'essai, obtenue par minéralisation par micro-ondes en système fermé, est nébulisée et l'aérosol transféré dans un plasma d'argon induit par haute fréquence (ICP). La température élevée est utilisée pour désolvater l'aérosol, atomiser et ioniser les éléments. Les ions sont extraits du plasma par un jeu de deux cônes et transférés vers un spectromètre de masse où ils sont séparés selon leur rapport masse sur charge puis détectés.

Cette méthode ne s'applique pas aux huiles, graisses, ni aux matrices trop riches en lipides.

Appareillage et réactifs

L'appareillage spécifique consiste en des récipients de digestion (Matras) en quartz ou PTFE (PolyTetraFluoroEthylène) de préférence avec bouchons de sécurité (Anton Paar ou équivalent) ; un four à micro-ondes en système fermé (Microwave Anton Paar ou équivalent) ; un spectromètre de masse couplé à un plasma induit (VG PQ ExCell ou équivalent). Les réactifs (en particulier, acide nitrique - HNO_3 - d'une concentration supérieure ou égale à 65 %) sont de qualité Suprapur ou équivalent. L'eau utilisée au cours des différentes manipulations est déionisée (type Milli Q+). La vaisselle est lavée grâce à un détergent de type RBS et rincée à l'eau courante puis trois fois à l'eau déionisée, conformément aux recommandations décrites dans l'EN 13804 : 2002. Elle est décontaminée sous sorbonne dans un bac d'acide nitrique (pour analyse ou équivalent) à environ 10 %, rincée à l'eau déionisée et séchée à une température inférieure à 40 °C.

Mode opératoire

1. Traitement préalable : préparation des échantillons pour essai

Homogénéiser l'échantillon conformément aux recommandations décrites dans l'EN 13804-2002.

2. Minéralisation par micro-ondes en système fermé

Prise d'essai

Transférer une quantité d'échantillon comprise entre 0,2 g et 0,5 g pour les produits secs et entre 0,5 g et 1 g pour les produits frais dans le récipient de digestion. Ajouter 3 mL d'eau déionisée puis 3 mL d'acide nitrique dans le récipient de digestion et fermer le récipient.

Pour vérifier qu'il n'y a pas eu 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.

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

Digestion

Installer les matras sur le rotor, puis appliquer le programme de digestion adéquat. La programmation du four (par exemple, puissance en fonction de la durée) s'effectue suivant les recommandations du fabricant. Pour les systèmes à micro-ondes, la durée type de digestion est comprise entre 15 et 30 minutes. Généralement, un programme de four inclut une phase à faible puissance pendant quelques minutes, suivie d'une ou plusieurs phases à forte puissance. Une augmentation graduelle entre les phases choisies est recommandée afin d'éviter des pics de pression à l'intérieur du récipient. Pour faire diminuer la température et la pression à l'intérieur du récipient de digestion, une phase de refroidissement est incluse à la fin du programme.

L'état final de digestion des échantillons dépend de la température de digestion. En général, plus celle-ci est élevée, moins il reste de carbone résiduel dans les solutions et meilleure sera la qualité du minéralisat. La solution de digestion doit être claire, sans particules en suspension et son volume pratiquement équivalent à celui précédant la digestion.



Méthodes

Cahier numéro 1

Après digestion, ouvrir les récipients, puis rincer les couvercles et les parois à l'eau déionisée, reprendre dans des flacons en polypropylène, ajouter 0,25 mL de la solution de standards internes d'indium, de bismuth, de rhénium et d'yttrium à 1 mg.L⁻¹ dans HNO₃ à 6 % et ajuster à 50 mL avec de l'eau déionisée. Procéder de même avec le blanc de minéralisation.

Le programme ci-dessous est donné à titre d'exemple :

Étapes	Puissance initiale (W)	Temps (min)	Puissance finale (W)	*Vitesse de refroidissement
1	500	20	800	1
2	800	10	1000	1
3	0	20	0	3

* La vitesse de ventilation peut varier de façon croissante de 0 à 3 (unité arbitraire).

3. Spectrométrie de masse couplée à un plasma induit (ICP-MS)

Conditions opératoires

Stabiliser l'ICP-MS pendant 20 à 30 minutes après démarrage. Les conditions opératoires ci-dessous sont données à titre d'exemple pour un VG PQ Excell.

Nébuliseur

Type concentrique, débit à 0,9 mL/min
Chambre de nébulisation à double enceinte refroidie

Générateur

Puissance incidente : 1 350 W
Puissance réfléchie : < 5 W

Débit de gaz

Plasma : 15 L.min⁻¹
Vide : Expansion : 2,0 mbar
Nébuliseur : 0,9 L.min⁻¹
Intermédiaire : 2,0 10⁻⁴ mbar
Auxiliaire : 0,9 L.min⁻¹
Analyseur : 7,6 10⁻⁷ mbar

Échantillonneur

Cône écumeur : nickel 1,0 mm orifice
Cône échantillonneur : nickel 0,75 mm orifice

Paramètres d'acquisition

Nombre de canaux : 500
Nombre de balayages : 500
Temps mort : 160 µs
Temps d'acquisition total : 60 s

Après avoir optimisé et calibré la machine (les solutions d'étalonnage contiennent 2 ; 5 ; 10 ou 20 µg.mL⁻¹ d'arsenic, plomb, de cadmium et de mercure et uniformément 5 µg.mL⁻¹ de standards internes d'indium, de bismuth, de rhénium et d'yttrium), les échantillons peuvent être analysés. Le rôle de l'optimisation est d'augmenter la sensibilité de l'appareil, tout en limitant les interférences. Afin d'assurer un contrôle qualité interne, des étalons de la gamme d'étalonnage sont analysés régulièrement (tous les 5 échantillons); analyse de blancs, de matériaux de référence, d'échantillons dopés et de doubles sont également effectuées.

Interférences

Les interférences isotopiques désignent le chevauchement de deux pics correspondant à deux isotopes de même masse atomique. Le tableau ci-dessous présente les interférences isotopiques sur les différents isotopes de l'arsenic, du cadmium, du plomb et du mercure :

Analyte	m/z	Abondance relative	Isotopes interférents
As	75	100	Pa
	106	1,22	Pd (27,33)
	108	0,88	Pd (26,71)
Cd	110	12,39	Pd (11,81)
	111	12,75	Pas d'interférence
	112	24,07	Sn (0,96)
	113	12,26	In (4,28)
	114	28,86	Sn (0,66)
	116	7,58	Sn (14,30)
	196	0,146	Pt (25,3)
Hg	198	10,02	Pt (7,21)
	199	16,84	Pas d'interférence
	200	23,13	Pas d'interférence
	201	13,22	Pas d'interférence
	202	29,80	Pas d'interférence
	204	6,85	Pb (1,48)
	204	1,48	Hg (6,85)
Pb	206	23,6	Pas d'interférence
	207	22,6	Pas d'interférence
	208	52,3	Pas d'interférence

Plusieurs moyens permettent de diminuer ces interférences. Ainsi, si l'isotope libre d'interférence est assez sensible, on l'utilisera comme analyte; par contre, si l'analyte répond mieux que son isotope interférent (en tenant compte des concentrations et des sensibilités), la quantité d'analyte pourra être déterminée sans correction préalable. Si l'analyte a la même réponse que l'interférent, une correction est nécessaire (elle est le plus souvent intégrée au logiciel) :

$$IA = I_{m/z} - [I_2 \times (a_1/a_2)]$$

Où IA est l'intensité du pic de l'analyte,
I_{m/z} est l'intensité mesurée,
I₂ l'intensité d'un second isotope libre de l'isotope interférent,
a₁ abondance de l'isotope interférent,
a₂ abondance du second isotope libre de l'interférent.

Exemple de correction: ¹¹⁴Cd

$$I(^{114}\text{Cd}) = I(^{114}\text{mass}) - 0,026826 \cdot I(^{118}\text{Sn})$$

$$\text{Avec : } 0,026826 = \text{Abondance } ^{114}\text{Sn} / \text{Abondance } ^{118}\text{Sn}$$



Méthodes

Cahier numéro 1

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. Le tableau ci-dessous présente les interférences dues aux ions moléculaires sur l'arsenic, le cadmium, le plomb et le mercure :

Analyte	m/z	Interférence
As	75	$^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$, $^{40}\text{Ca}^{35}\text{Cl}$
Cd	111	MoO^+ , MoOH^+
	114	MoO^+ , MoOH^+
Hg	202	WO^+ , RuRu^+ , HgH^+
Pb	207	PbH^+
	208	PbH^+

Pour minimiser ces interférences, il est recommandé d'utiliser de l'acide nitrique qui n'apporte pas d'espèces interférentes supplémentaires (contrairement à l'acide sulfurique). La formation de ces espèces dépend de la puissance du plasma, du débit de la nébulisation et de la matrice.

Exemple de correction: $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$

$$I(^{75}\text{As}) = I(^{75}\text{mass}) - 3,127 * [I(^{77}\text{mass}) - 0,826 * I(^{82}\text{Se})]$$

$$\text{Avec } 3,127 = \text{Abondance } ^{75}\text{ArCl} / \text{Abondance } ^{77}\text{ArCl}$$

$$\text{et } 0,826 = \text{Abondance } ^{77}\text{Se} / \text{Abondance } ^{82}\text{Se}$$

Les interférences non spectrales (ou effets de matrice) sont dues à la différence de comportement des analytes en milieu simple (étalon) et en présence d'une matrice plus complexe (échantillons). Afin de minimiser ces interférences, les échantillons sont dilués au maximum. De plus, l'ajout d'étalons internes permet de compenser les changements de sensibilité liés notamment à la présence en sels dissous.

Expression des résultats

Les teneurs (T) en arsenic, cadmium, plomb et en mercure dans l'échantillon, exprimées en mg.kg^{-1} , sont égales à :

$$T = (\text{Ce} - \text{Cb}) \times \frac{50 \times f}{m}$$

50 = volume final de reprise (en mL)

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

Cb = 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.

Références

- AFNOR-NF EN 13804, 2002. Produits alimentaires – Dosage des éléments traces. Critères de performance, généralités et préparation des échantillons.
- AFNOR-NF EN 13805, 2002. Produits alimentaires – Détermination des éléments traces – Digestion sous pression.
- AFNOR-FD EN V 03-115 1996 Analyse de produits agricoles et alimentaires – Guide pour l'utilisation des matériaux de référence.
- AFNOR-NF EN V 03-110 1998 Analyse de produits alimentaires – Procédure de validation intralaboratoire d'une méthode alternative par rapport à une méthode de référence.