

Méthode d'analyse en sécurité sanitaire des aliments

RÉFÉRENCE : ANSES/LSAliments/LSA-INS-0082 - Version 11

Janvier 2016

Détermination de la teneur en mercure dans les denrées alimentaires d'origine animale

Minéralisation par voie humide et mesure par spectrophotométrie d'absorption atomique-
Méthodes des vapeurs froides.

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	-	-	Création
V 09	mineure	07/04/2011	Mise à jour de la référence de la méthode en accord avec le nouveau nom de l'agence « Anses »
V 10	mineure	22/12/2015	Harmonisation au nouveau format de méthode ANSES et référencement selon ENNOV (outil électronique de gestion documentaire)
V 11	mineure	22/01/2016	Page de garde, référence de la méthode : application du modèle de l'Anses à la méthode « Anses Maisons-Alfort CIME 01 – révision 10 »



Avant-propos

La présente méthode a été développée par :

Anses - Laboratoire de Sécurité des Aliments de Maisons-Alfort

Laboratoire National de Référence éléments 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 définition	6
4 Principe de la méthode	6
5 Appareillage et matériels	6
6 Réactifs	7
7 Préparation des solutions.....	8
8 Échantillons.....	8
8-1 Echantillonnage	8
8-2 Conservation des échantillons avant analyse.....	8
9 Mode opératoire.....	8
9-1 Préparation des échantillons pour essai	8
9-2 Prise d'essai	8
9-3 Minéralisation.....	9
9-4 Préparation des solutions pour essai	9
9-5 Préparation de la gamme d'étalonnage.....	9
9-6 Détermination.....	9
10 Résultats.....	10
10-1 Contrôle qualité	10
10-2 Calculs et expression des résultats	10
11 Annexes	11
Annexe 1 : Programme de minéralisation du Digiprep.....	11
Annexe 2 : Conditions de dosage du mercure SAA 220FS VGA-77.....	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	 
Acide sulfurique	
Acide chlorhydrique	 
Chlorure d'étain	 
Permanganate de potassium	  
Mercure	



1 Objet et domaine d'application

Le texte décrit une méthode par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) pour la détermination de la teneur en mercure dans les denrées alimentaires d'origine animale.

2 Références bibliographiques

[1] Schnitzer G., Soubelet A., Testu C., Chafey C.; Comparison of open and closed focused microwave digestions in view of total mercury determination by cold vapor atomic absorption spectrometry. *Mikrochimica Acta*, 1995, 119 (3-4), 199-209

3 Sigles et définition

Teneurs en mercure (Hg) dans les denrées alimentaires d'origine animale : teneurs de cet analyte déterminées par le mode opératoire décrit dans le présent texte, exprimées en mg.kg^{-1} .

4 Principe de la méthode

- Digestion de l'échantillon à l'aide d'un mélange d'acide nitrique et sulfurique. La digestion est réalisée en utilisant un système de minéralisation par voie humide.
- Dilution du minéralisat dans de l'eau déionisée.
- Mesure par spectrométrie d'absorption atomique - méthode des vapeurs froides (SAA-VF).

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 de classification 1.

5-2 Fioles jaugées, classe A.

5-3 Pipettes automatiques (Biohit ou équivalent).



5-4 Système de minéralisation : DigiPrep (SCP Sciences) + tubes adaptés (Digitube ou équivalent).

5-5 Spectromètre d'absorption atomique (Varian Spectra AA 220FS, ou équivalent) équipé d'un système d'injection en flux continu (VGA-77, ou équivalent) et d'une lampe de mercure.

6 Réactifs

Avertissement : Des appellations commerciales ou fournisseurs peuvent être mentionnés dans le descriptif des produits 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 produits. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré *qu'ils conduisent aux mêmes résultats*

6-1 Acide nitrique - HNO_3 52,5 %, (Prolabo Normapur ou équivalent).

6-2 Acide nitrique - HNO_3 65 %, (Merck pour analyse ou équivalent).

6-3 Acide sulfurique - H_2SO_4 95-97 %, (Merck pour analyse ou équivalent)

6-4 Acide chlorhydrique - HCl 37 %, (Merck pour analyse ou équivalent).

6-5 Chlorure d'étain – SnCl_2 , (Prolabo Rectapur ou équivalent).

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

6-7 Permanganate de potassium - KMnO_4 , (Merck pour analyse ou équivalent).

L'eau utilisée doit être déionisée (de type Milli Q+).



7 Préparation des solutions

7-1 Acide nitrique dilué à 10 % (v/v) à partir du réactif (6-1).

7-2 Acide nitrique dilué à 5 % (v/v) à partir du réactif (6-2).

7-3 Acide chlorhydrique dilué à 40 % (v/v) à partir du réactif (6-4).

7-4 Solution de chlorure d'étain à 25 % (m/v), à partir du réactif (6-5), en milieu chlorhydrique 20 % (m/v), à l'aide du réactif (6-4). Dissolution de 25 grammes de chlorure d'étain dans 20 ml d'acide chlorhydrique, ajuster à 100ml avec de l'eau déionisée.

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

7-6 Solution de permanganate de potassium à 5 % (m/v), à partir du réactif (6-7).

8 Échantillons

8-1 Echantillonnage

Le laboratoire n'est pas responsable de l'échantillonnage. L'échantillon doit être stocké de façon à éviter toute détérioration ou modification de sa composition.

8-2 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 des températures pour indication. Le stockage des échantillons se fait dans ce type d'enceinte afin de permettre une bonne conservation.

9 Mode opératoire

9-1 Préparation des échantillons pour essai

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

9-2 Prise d'essai

9.2.1. Echantillon

Dans un Digitube (5-4), peser exactement au mg près :

0,5 à 1,0 g de produit frais.

0,25 à 0,5 g de produit sec ou lyophilisé.



Hydrater avec 1 ml d'eau déionisée les produits secs ou lyophilisés.

9.2.2. Essai à blanc

Pour chaque série d'analyse, faire un essai à blanc : remplacer la prise d'essai par 1 ml d'eau déionisée

9-3 Minéralisation

Introduire successivement sur chaque prise d'essai 2 ml d'acide nitrique 65 % (6-2) et 1,5 ml d'acide sulfurique 95-97 % (6-3).

Placer les digitubes dans le Digiprep (5.4) à température ambiante et déclencher le programme à 80 ± 5 °C pendant 2 heures (cf. programme en annexe 1).

Se conformer aux recommandations du constructeur pour l'utilisation du Digiprep.

9-4 Préparation des solutions pour essai

Refroidir les Digitubes pour réduire les vapeurs d'acide nitrique en les plaçant au réfrigérateur ou au congélateur. Avant la mesure, transvaser quantitativement avec de l'eau déionisée le contenu des Digitubes dans des fioles jaugées de 25 ml (5-2). Cette opération doit être effectuée avec précaution de manière à ne pas échauffer le contenu du Digitube par réaction exothermique. Ajuster avec de l'eau déionisée, agiter puis procéder rapidement à la mesure.

9-5 Préparation de la gamme d'étalonnage

Introduire à l'aide d'une pipette automatique (5-3) dans des fioles jaugées de 100 ml (5-2), 0 - 0,050 - 0,100 - 0,200 - 0,300 - 0,400 ml de solution étalon (7-5), ajouter environ 100 µl de la solution de KMnO_4 (7-6) puis compléter avec la solution d'acide nitrique 5 % (7-2).

Les solutions de travail contiennent 0 - 0,005 - 0,010 - 0,020 - 0,030 - 0,040 mg.l^{-1} de mercure.

Faire la mesure le jour même.

9-6 Détermination

Se conformer aux recommandations du constructeur pour l'optimisation du spectromètre d'absorption atomique.

Les conditions applicables au dosage du mercure réalisé avec le spectromètre d'absorption atomique Varian Spectra AA 220FS équipé d'un système d'injection en flux continu VGA-77 sont présentées en Annexe 2.

Mesurer successivement les solutions d'étalonnage (9-5), l'essai à blanc et les solutions pour essai (9-4).

Les mesures d'absorbance sont réalisées en triple.

Un rinçage à l'eau déionisée est nécessaire entre chaque échantillon.

Si la lecture pour une solution d'essai est supérieure à celle de la solution d'étalonnage la plus concentrée, diluer (facteur de dilution f) dans des fioles jaugées adaptées (5-2) la solution d'essai et l'essai à blanc dans HNO_3 5 % (7-2).



10 Résultats

10-1 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

10-2 Calculs et expression des résultats

La teneur (T) en mercure dans l'échantillon, exprimée en mg.kg^{-1} est égale à :

$$T = (C_e - C_b) * \frac{25 * f}{m}$$

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.



11 Annexes

Annexe 1 : Programme de minéralisation du Digiprep

Température	80 °C
Montée en température (SPRR)	100 °C/h soit 48 min
Palier (SOAY)	120 min
Fin de programme (SPRN)	off

Annexe 2 : Conditions de dosage du mercure réalisé avec le spectromètre d'absorption atomique 220 FS Varian équipé d'un système d'injection en flux continu VGA-77

Système VGA-77:

Réducteur : SnCl_2 25 % dans HCl 20 % (m/v) (7-4)

Fluide vecteur : HCl 40 % (v/v) (7-3)

Spectromètre d'absorption atomique :

Longueur d'onde : 253,7 nm

Largeur de fente : 0,5 nm