

# ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation  
de l'accréditation, de la sécurité et qualité  
des produits et services

## ILNAS-EN 15662:2008

### **Aliments d'origine végétale - Méthode polyvalente de détermination des résidus des pesticides par CG-SM et CL/ SM/SM avec extraction/partition avec**

Foods of plant origin - Determination of  
pesticide residues using GC-MS and/or  
LC-MS/MS following acetonitrile  
extraction/partitioning and clean-up by

Pflanzliche Lebensmittel - Bestimmung  
von Pestizidrückständen mit GC-MS und/  
oder LC-MS/MS nach Acetonitril-  
Extraktion/Verteilung und Reinigung mit

11/2008



## Avant-propos national

Cette Norme Européenne EN 15662:2008 a été adoptée comme Norme Luxembourgeoise ILNAS-EN 15662:2008.

Toute personne intéressée, membre d'une organisation basée au Luxembourg, peut participer gratuitement à l'élaboration de normes luxembourgeoises (ILNAS), européennes (CEN, CENELEC) et internationales (ISO, IEC) :

- Influencer et participer à la conception de normes
- Anticiper les développements futurs
- Participer aux réunions des comités techniques

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

### **CETTE PUBLICATION EST PROTÉGÉE PAR LE DROIT D'AUTEUR**

Aucun contenu de la présente publication ne peut être reproduit ou utilisé sous quelque forme ou par quelque procédé que ce soit - électronique, mécanique, photocopie ou par d'autres moyens sans autorisation préalable !

ICS 67.050

Version Française

**Aliments d'origine végétale - Méthode polyvalente de  
détermination des résidus des pesticides par CG-SM et  
CL/SM/SM avec extraction/partition avec de l'acétonitrile et  
nettoyage par SPE dispersés - Méthode QuEChERS**

Pflanzliche Lebensmittel - Bestimmung von  
Pestizidrückständen mit GC-MS und/oder LC-MS/MS nach  
Acetonitril-Extraktion/Verteilung und Reinigung mit  
dispersiver SPE - QuEChERS-Verfahren

Foods of plant origin - Determination of pesticide residues  
using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile  
extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE -  
QuEChERS-method

La présente Norme européenne a été adoptée par le CEN le 13 septembre 2008.

Les membres du CEN sont tenus de se soumettre au Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, qui définit les conditions dans lesquelles doit être attribué, sans modification, le statut de norme nationale à la Norme européenne. Les listes mises à jour et les références bibliographiques relatives à ces normes nationales peuvent être obtenues auprès du Centre de Gestion du CEN ou auprès des membres du CEN.

La présente Norme européenne existe en trois versions officielles (allemand, anglais, français). Une version dans une autre langue faite par traduction sous la responsabilité d'un membre du CEN dans sa langue nationale et notifiée au Centre de Gestion du CEN, a le même statut que les versions officielles.

Les membres du CEN sont les organismes nationaux de normalisation des pays suivants: Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République Tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Slovaquie, Slovénie, Suède et Suisse.



COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION  
EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG  
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION

**Management Centre: Avenue Marnix 17, B-1000 Bruxelles**

## Sommaire

Page

1	Domaine d'application .....	3
2	Principe.....	4
3	Réactifs .....	4
4	Appareil.....	8
5	Mode opératoire .....	10
6	Évaluation des résultats .....	17
7	Essais de confirmation .....	23
8	Précision.....	23
9	Compte rendu d'essai .....	24
	<b>Annexe A (informative) Exemples de conditions expérimentales .....</b>	<b>25</b>
	<b>Annexe B (informative) Données de précision.....</b>	<b>29</b>
	<b>Annexe C (informative) Mode opératoire schématique (pour échantillon de 10 g).....</b>	<b>82</b>
	<b>Annexe D (informative) Information complémentaire.....</b>	<b>83</b>
	<b>Bibliographie .....</b>	<b>88</b>

## Avant-propos

Le présent document (EN 15662:2008) a été élaboré par le Comité Technique CEN/TC 275 « Analyse des produits alimentaires - Méthodes horizontales », dont le secrétariat est tenu par le DIN.

Cette Norme européenne devra recevoir le statut de norme nationale, soit par publication d'un texte identique, soit par entérinement, au plus tard en mai 2009, et toutes les normes nationales en contradiction devront être retirées au plus tard en mai 2009.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. Le CEN et/ou le CENELEC ne saurait [sauraient] être tenu[s] pour responsable[s] de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

**AVERTISSEMENT — L'application de la présente norme peut impliquer la manipulation de matériaux et d'équipements dangereux et la réalisation d'opérations comportant des risques. La présente norme n'a pas pour vocation d'aborder tous les problèmes de sécurité liés à son utilisation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de cette norme d'établir les procédures de sécurité et de santé appropriées, ainsi que de déterminer l'applicabilité des limitations liées aux réglementations locales préalablement à son utilisation.**

Selon le Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, les instituts de normalisation nationaux des pays suivants sont tenus de mettre cette Norme européenne en application : Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Slovaquie, Slovénie, Suède et Suisse.

## 1 Domaine d'application

La présente Norme européenne décrit une méthode d'analyse des résidus de pesticides dans les aliments d'origine végétale, tels que les fruits (y compris les fruits secs) et légumes, les céréales, ainsi que leurs produits dérivés. Cette méthode a fait l'objet d'une étude collaborative sur un grand nombre de combinaisons de denrées/pesticides.

## 2 Principe

L'échantillon homogène est prélevé congelé à l'aide d'acétonitrile. Les échantillons présentant une teneur en eau faible (< 80 %) nécessitent une addition d'eau avant de procéder à l'extraction initiale, de manière à obtenir une quantité d'eau totale d'environ 10 g. Après addition du sulfate de magnésium, du chlorure de sodium et des sels de citrate tampons, le mélange est secoué vigoureusement et centrifugé afin de séparer les phases. Un aliquot de la phase organique est nettoyé par SPE dispersive, à l'aide d'adsorbants en vrac et de sulfate de magnésium pour retirer l'eau résiduelle. Après nettoyage à l'aide des amino-adsorbants (par exemple adsorbant à amines primaires et secondaires (APS)), les extraits sont acidifiés par addition d'une petite quantité d'acide formique, afin d'améliorer la stabilité au stockage de certains pesticides sensibles aux bases. L'extrait final peut être utilisé directement les analyses de détermination par GC et LC. La détermination est réalisée à l'aide d'un étalon interne, ajouté à l'extrait après l'addition initiale d'acétonitrile. Une rapide présentation générale est donnée dans le logigramme de l'Annexe C.

## 3 Réactifs

### 3.1 Généralités et sécurité

Sauf spécification contraire, utiliser des réactifs de qualité analytique reconnue. Prendre toutes les précautions nécessaires pour éviter une éventuelle contamination de l'eau, des solvants, des adsorbants, des sels inorganiques, etc.

**AVERTISSEMENT** — La présente norme fait référence à plusieurs produits et instruments déposés distribués dans le commerce et adaptés au mode opératoire décrit. Cette information est fournie aux utilisateurs de la présente Norme européenne pour la commodité, mais n'implique nullement que le CEN cautionne les produits ainsi nommés. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il peut être montré qu'ils produisent des résultats équivalents.

### 3.2 Eau, qualité CLHP

### 3.3 Acétonitrile, qualité CLHP

### 3.4 Méthanol, qualité CLHP

### 3.5 Formate d'ammonium

### 3.6 Sulfate de magnésium, anhydre, particules, par exemple Fluka N° 63135

Les phtalates peuvent être extraits par passage dans un four à moufle porté à une température de 550 °C (par exemple pendant une nuit).

**3.7 Sulfate de magnésium, anhydre, poudre fine** Les phtalates peuvent être extraits par passage dans un four à moufle porté à une température de 550 °C (par exemple pendant une nuit).

### 3.8 Chlorure de sodium

### 3.9 Citrate d'hydrogène disodique sesquihydraté

### 3.10 Citrate trisodique dihydraté

### 3.11 Solution d'hydroxyde de sodium, concentration en substance $c = 5 \text{ mol/l}$

Dissoudre 2 g d'hydroxyde de sodium dans environ 5 ml d'eau et diluer jusqu'à 10 ml.

### 3.12 Mélange de sels tampons pour la deuxième extraction/partition :

Peser  $4 \text{ g} \pm 0,2 \text{ g}$  de sulfate de magnésium anhydre (3.6),  $1 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$  de chlorure de sodium,  $1 \text{ g} \pm 0,05 \text{ g}$  de citrate trisodique dihydraté et  $0,5 \text{ g} \pm 0,03 \text{ g}$  de citrate d'hydrogène disodique sesquihydraté dans une tasse (4.11). Cela correspond à une quantité d'environ 10 ml d'eau dans l'échantillon.

Pour les échantillons hautement acides ( $\text{pH} < 3$ ), la valeur du pH atteinte après avoir ajouté les sels tampons est, en règle générale, inférieure à 5. Afin de protéger les composés labiles acides, la valeur du pH peut être élevée en ajoutant de la solution d'hydroxyde de sodium concentrée à  $5 \text{ mol/l}$  (3.11). Pour les citrons, les citrons verts et les groseilles, ajouter  $600 \mu\text{l}$  et pour les framboises  $200 \mu\text{l}$  de solution d'hydroxyde de sodium directement dans le mélange de sels.

NOTE Il est préférable de préparer à l'avance un nombre suffisant de mélanges de sels tampons, de manière à pouvoir réaliser les séries d'extraction le plus rapidement possible et sans s'interrompre. La préparation des mélanges de sels peut être facilitée par l'utilisation d'un diviseur (4.12). Les quantités de sels spécifiées ci-dessus sont à utiliser pour les prises d'essai contenant une quantité d'environ 10 g d'eau.

### 3.13 Solution d'acide formique dans l'acétonitrile, fraction volumique $\varphi = 5 \text{ ml}$ d'acide formique/100 ml

Diluer 0,5 ml d'acide formique (fraction massique  $w = > 95 \%$ ) jusqu'à 10 ml avec de l'acétonitrile (3.3).

### 3.14 Adsorbant à amines primaires et secondaires APS

Par exemple Bondesil-PSA<sup>®</sup> 40  $\mu\text{m}$  Varian n° 12213023 <sup>1)</sup>.

D'autres adsorbants à amines peuvent également être utilisés mais des études peuvent se révéler nécessaires pour démontrer qu'ils conduisent à des résultats équivalents, en particulier en ce qui concerne les pertes d'analyte et la valeur du pH des extraits finaux.

### 3.15 Noir de carbone graphité (NCG), par exemple Supelco Supelclean Envi-Carb<sup>®</sup> <sup>1)</sup> SPE Bulk Packing, N° 57210U

D'autres noirs de carbone graphités peuvent servir d'adsorbants mais des études peuvent se révéler nécessaires pour démontrer qu'ils conduisent à des résultats équivalents, en particulier en ce qui concerne les pertes d'analyte.

### 3.16 Mélange d'adsorption 1 : mélange noir de carbone graphité (3.15)/ sulfate de magnésium anhydre pulvérulent (3.7), 1 + 59 parties massiques.

Bien mélanger les deux composants de manière à ce qu'ils forment un mélange d'aspect visuel homogène.

### 3.17 Mélange d'adsorption 2 : mélange noir de carbone graphité (3.15)/ sulfate de magnésium anhydre pulvérulent (3.7), 1 + 19 parties massiques.

Bien mélanger les deux composants de manière à ce qu'ils forment un mélange d'aspect visuel homogène.

---

<sup>1)</sup> Bondesil-PSA<sup>®</sup> est un produit distribué par Varian, Inc. (Palo Alto, CA, USA). Envi-Carb est un produit distribué par Supelco. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme européenne et ne signifie nullement que le CEN approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Un produit équivalent peut être utilisé s'il est démontré qu'il peut conduire aux mêmes résultats.

NOTE Il est vivement recommandé de préparer les mélanges d'adsorption 1 (3.16) et 2 (3.17) à l'avance et de les conserver dans des récipients hermétiques. Pour la purification de l'extrait selon 5.4.3, les mélanges d'adsorption pré-mélangés 1 et 2 sont pesés dans des tubes à centrifuger.

### 3.18 Adsorbent C-18-(Gel de silice octadécylsilane modifié), matériau massif 50 µm

### 3.19 Solutions étalons internes et solutions étalons de contrôle qualité dans l'acétonitrile, $\rho = 10 \mu\text{g/ml}$ à $50 \mu\text{g/ml}$ .

Le Tableau 1 contient une liste des étalons internes (EI) possibles et des étalons de contrôle qualité (CQ) qui peuvent être utilisés dans la méthode de la présente norme. Les valeurs de concentration suggérées ( $C_{EI}$ ) dans la liste font référence aux solutions étalons internes qu'il convient d'ajouter à la première étape d'extraction (5.2). Il convient de préparer une dilution appropriée de cette solution ( $C_{EI}^{cal\ mel}$ ) et de l'utiliser pour préparer les solutions étalons. Pour plus d'information voir en 3.22.

Tableau 1 — Étalons internes (EI) potentiels ou étalons de contrôle qualité (CQ)

Nom du composé	Log P (coefficient de partage octanol-eau)	Atomes de chlore	Concentration suggérée $C_{EI}$ [µg/ml] <sup>a</sup>	GC				LC	
				ECD	NPD	MSD EI (+)	MSD CI (-)	MS/MS ESI (+)	MS/MS ESI (-)
Étalons internes potentiels									
PCB 18	5,55	3	50	+++	-	++	+++	-	-
PCB 28	5,62	3	50	+++	-	++	+++	-	-
PCB 52	6,09	4	50	+++	-	++	+++	-	-
Phosphate de triphényle	4,59	-	20	-	+++	+++	-	+++	-
Phosphate de Tri (1,3 dichloro-isopropyl)	3,65	6	50	+++	+++	+++	+++	+++	+
Triphenylméthane	5,37	-	10	-	-	+++	-	-	-
Bis-nitrophenyl urée (nicarbazin)	3,76	-	10	-	-	-	-	-	+++
Suggestions d'étalons de contrôle qualité (peuvent être contenus dans le même mélange que les autres étalons internes utilisés ou ajoutés lors d'une étape différente de l'analyse de détection et de localisation des sources d'erreurs)									
PCB 138 <sup>b</sup>	6,83	6	50	+++	-	++	+++	-	-
PCB 153 <sup>b</sup>	7,75	6	50	+++	-	++	+++	-	-
Anthracène (ou son d10 analogue) <sup>c</sup>	4,45	-	100	-	-	++	-	-	-
<p><sup>a</sup> Concentrations types des solutions étalons internes. À ajouter aux échantillons d'essai en 5. 2, utiliser l'acétonitrile comme adsorbant.</p> <p><sup>b</sup> Les récupérations de PCB 138 et PCB 153 sous forme de contenu en lipides dans l'échantillon augmentent, le fait que les récupérations de ces deux composés dépassent 70 % indique qu'aucune perte de partage inacceptable ne s'est produite même pour les pesticides hautement lipophiliques.</p> <p><sup>c</sup> Le fait que les récupérations d'anthracène dépassent 70 % indique qu'aucune perte de partage inacceptable des pesticides ayant une forte affinité avec le carbone ne s'est produite lors de la SPE dispersive avec le noir de carbone graphité.</p>									

### 3.20 Solutions mères de pesticide

Préparer une par une les solutions mères d'étalons analytiques suffisamment concentrées pour pouvoir préparer les solutions de travail de matières actives complexes (3.21) utilisées pour la préparation des solutions étalons.

En règle générale, stocker les solutions mères à une température  $\leq -18$  °C. Vérifier régulièrement la stabilité des solutions mères pendant la durée du stockage [2]. L'addition d'acides ou de bases peut parfois contribuer à améliorer la stabilité et permettre d'augmenter la durée de conservation admise. Avant d'enlever une partie aliquote de cette solution, re-dissoudre toute précipitation qui aurait pu se produire.

### 3.21 Solutions de travail de matières actives

En raison du caractère peu spécifique de cette méthode et du manque de stabilité des pesticides en fonction du pH, des solutions de travail contenant un ou plusieurs pesticides peuvent se révéler nécessaires afin de couvrir la totalité des pesticides du champ d'étude. Ces dernières sont préparées en mélangeant ensemble des volumes définis de solutions mères de matières actives (3.20) et en les diluant avec de l'acétonitrile. Il convient que la concentration en pesticides de ces mélanges soit suffisamment élevée pour permettre de préparer les dilutions matricielles nécessaires (voir 3.22.2) par dilution modérée de l'extrait d'échantillon à blanc (par exemple un rapport de dilution inférieur à 20 %).

En règle générale, stocker les solutions de travail de matières actives à une température  $\leq -18$  °C. Durant le stockage, vérifier la stabilité des pesticides contenus dans ces mélanges régulièrement [2]. L'addition d'acides ou de bases peut parfois contribuer à améliorer la stabilité et à augmenter les durées de conservation admises.

### 3.22 Solutions étalons (mélanges d'étalonnage)

#### 3.22.1 Étalons à base de solvant

Les étalons à base de solvants sont préparés en mélangeant des volumes connus de solutions de travail de matières actives ( $V_{pest}^{cal\ mél}$ , voir 3.21) et de solution d'étalon interne ( $V_{EI}^{cal\ mél}$ , voir 3.19) tout en complétant avec de l'acétonitrile.

Le volume de solution d'étalon interne à employer ( $V_{EI}^{cal\ mél}$ ) dépend du volume de solution d'étalon interne à préparer ( $V^{cal\ mél}$ ) et doit être tel que la concentration en étalon interne soit similaire à celle des solutions d'essai de l'échantillon (5.3, 5.4).

EXEMPLE Pour la préparation de 1 ml d'étalon à base de solvant, il convient que le volume d'étalon interne à ajouter contienne une masse d'étalon interne ( $m_{EI}^{cal\ mél} = C_{EI}^{cal\ mél} \times V_{EI}^{cal\ mél}$ ) 10 fois inférieure à la masse d'étalon interne ajouté au volume de 10 ml d'acétonitrile utilisé pour l'extraction des échantillons d'essai décrite en 5.2.3. Il est recommandé de diluer de manière adaptée la concentration de la solution étalon interne (ici  $C_{EI}^{cal\ mél} = 0,1 \times C_{EI}$ ). Le même volume de pipette peut être utilisé pour ajouter l'étalon interne aux échantillons d'essai dopés et pour préparer les solutions étalons. Le Tableau 2 indique les rapports types des masses d'étalon interne qu'il convient d'ajouter aux échantillons d'essai (5.2.3) et aux solutions étalons (3.22).

La préparation de plusieurs solutions étalons couvrant une plage de concentrations étendue permet également de construire une courbe d'étalonnage (voir 6.2).

NOTE Une concentration en pesticide de 1 µg/ml est corrélée à un niveau de résidus de 1 mg/kg lorsque l'échantillon employé a une masse de 10 g (par exemple des échantillons dont la teneur en eau est > 30 %) ou de 2 mg/kg lorsque l'échantillon employé a une masse de 5 g (par exemple les céréales).