
**Qualité de l'eau — Méthodes d'analyse
de composés multi-classes —**

Partie 2:

**Critères pour la détermination
quantitative de composés organiques
avec une méthode d'analyse de
composés multi-classes**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Water quality — Multi-compound class methods —

*Part 2: Criteria for the quantitative determination of organic
substances using a multi-compound class analytical method*

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6a11f3-e883-4a11-8edd-1d3a878bde4a/iso-21253-2-2019>



iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

ISO 21253-2:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acdf3-e883-4a1b-8edd-1d3a878bde4a/iso-21253-2-2019>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2019

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
Fax: +41 22 749 09 47
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	3
5 Choix de la matrice	4
6 Conservation de l'échantillon avant analyse	4
7 Étalons internes et étalons d'injection	4
7.1 Généralités.....	4
7.2 Choix des étalons.....	5
8 Étalonnage	5
9 Détermination du taux de récupération	6
9.1 Généralités.....	6
9.2 Quantification par étalonnage externe.....	7
9.3 Quantification par étalonnage interne.....	7
10 Limite de quantification (LQ)	7
11 Résultats	8
11.1 Identification des composés.....	8
11.2 Quantification.....	8
11.3 Incertitude de mesure.....	8
12 Contrôles de la qualité	8
12.1 Généralités.....	8
12.2 Contrôles de la qualité sur le blanc.....	8
12.3 Contrôles de la qualité sur les étalons internes.....	8
12.4 Contrôles de la qualité sur la limite de quantification.....	8
Annexe A (informative) Effet matrice	10
Bibliographie	11

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 2, *Méthodes physiques, chimiques et biochimiques*.

Une liste de toutes les parties de la série ISO 21253 se trouve sur le site web de l'ISO.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Qualité de l'eau — Méthodes d'analyse de composés multi-classes —

Partie 2:

Critères pour la détermination quantitative de composés organiques avec une méthode d'analyse de composés multi-classes

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie les critères pour le développement en interne d'une méthode fondée sur la spectrométrie de masse pour l'analyse quantitative de multiples sous-groupes de composés organiques dans le cadre d'une analyse physicochimique de l'eau.

Le présent document complète l'ISO/TS 13530 qui fournit des recommandations sur la caractérisation initiale des performances de mesure, en détaillant la sélection de la matrice d'essai et des étalons internes, ainsi que les critères pour la récupération de l'analyte et des étalons internes.

Le présent document n'a pas vocation à se substituer aux normes analytiques dédiées aux composés organiques actuellement en vigueur, mais est destiné à apporter des éléments de caractérisation supplémentaires.

2 Références normatives

ISO 21253-2:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acdf3-e883-4a1b-8edd-1d3a878bde4a/iso-21253-2-2019>

Les documents suivants cités dans le texte constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 8466-1, *Qualité de l'eau — Étalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance — Partie 1: Évaluation statistique de la fonction linéaire d'étalonnage*

ISO 8466-2, *Qualité de l'eau — Étalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance — Partie 2: Stratégie d'étalonnage pour fonctions d'étalonnage non linéaires du second degré*

ISO 11352, *Qualité de l'eau — Estimation de l'incertitude de mesure basée sur des données de validation et de contrôle qualité*

ISO 21253-1, *Qualité de l'eau — Méthodes de composés multi-classes — Partie 1: Critères pour l'identification de composés cibles par chromatographie en phase gazeuse ou liquide et spectrométrie de masse*

3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes :

- ISO Online browsing platform : disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia : disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>

**3.1
analyte**

composé à déterminer

[SOURCE: : ISO/TS 28581:2012, 3.1 modifié]

**3.2
blanc**

aliquote d'eau de laboratoire (blanc réactif) ou d'une matrice qui ne contient pas l'*analyte* (3.1) (blanc de matrice), traitée exactement comme un échantillon selon la totalité du mode opératoire comprenant l'extraction, la purification, l'identification et la quantification, et impliquant tous les réactifs et matériels de laboratoire nécessaires

Note 1 à l'article: à l'article : Il est essentiel que le laboratoire spécifie le blanc à prendre en compte.

**3.3
courbe d'étalonnage**

expression de la relation entre une indication et la valeur mesurée correspondante

[SOURCE: : Guide ISO/IEC 99:2007, 4.31]

**3.4
limite de quantification**

LQ
valeur la plus basse d'une caractéristique pouvant être déterminée avec un niveau de précision acceptable, qui peut être estimée par différents moyens et qui doit être vérifiée dans la matrice prévue

[SOURCE: : ISO/TS 21231:2019, 3.2.5, modifié — La note à l'entrée a été exclu.]

**3.5
méthode d'analyse**

mode opératoire clairement rédigé décrivant tous les détails nécessaires pour effectuer l'analyse du paramètre ou de la caractéristique à déterminer, à savoir : domaine et champ d'application, principe et/ou réactions, définitions, réactifs, appareillage, procédures d'analyse, calculs et présentation des résultats, données de performance et rapport d'essai

[SOURCE: : ISO/TS 16489:2006, 3.3]

**3.6
récupération
rendement relatif**

opération au moyen de laquelle un système analytique peut mesurer une quantité ajoutée, connue, d'un élément à doser dans un échantillon

Note 1 à l'article: à l'article : La récupération est calculée à partir de la différence entre les résultats obtenus à partir d'un échantillon dopé et une aliquote non dopée de l'échantillon, généralement exprimée en pourcentage.

[SOURCE: : ISO 5667-14:2014, 3.8]

**3.7
temps de rétention relatif**

rapport entre le temps de rétention du composé cible et le temps de rétention de l'étalon de référence

[SOURCE: : ISO 15680:2003, 3.5, modifié — "temps de rétention référence" a été remplacée par "l'étalon de référence".]

**3.8
étalon d'injection**

mélange étalon, ajouté à un échantillon avant son injection dans l'appareil de CG-SM, afin de surveiller la variabilité de la réponse de l'instrument et de calculer le taux de récupération des étalons internes

Note 1 à l'article: à l'article : La même définition s'applique à la CG-SM/SM, la CL-SM et CL-SM/SM.

[SOURCE: : ISO 28540:2011, 3.4, modifié — La note à l'entrée a été remplacée.]

3.9

sous-groupe de composés

analytes (3.1) classifiés en groupes ayant des comportements analytiques similaires en réponse à un mode d'extraction et à une analyse

3.10

étalon interne

composé ajouté dans une quantité connue à l'échantillon dès le début du protocole, qui permet de couvrir l'analyse tout au long du mode opératoire et qui est utilisé pour corriger les pertes observées pendant la préparation et l'analyse de l'échantillon en tenant compte de tous les effets de matrice du système (taux de récupération, effet d'ionisation, variabilité de la réponse du détecteur de l'instrument par exemple)

Note 1 à l'article: à l'article : La détermination du rapport d'intensité du signal caractéristique entre une molécule et l'étalon interne permet de calculer le rapport quantitatif entre la molécule et l'étalon interne, et par conséquent de déduire la concentration de la molécule dans l'échantillon. Une quantité identique est également ajoutée aux solutions d'étalonnage.

3.11

rendement

rendement absolu

quantité d'*analyte* (3.1) ajouté dans l'échantillon pour essai, corrigée par le rendement relatif de l'étalon interne (rapport analyte/étalon interne).

Note 1 à l'article: à l'article : Le rendement est une valeur qui tient compte à la fois de l'effet de matrice de l'échantillon et de la récupération du composé.

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

4 Principe

ISO 21253-2:2019

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acdfb3-e883-4a1b-8edd-12a576bdc47a/iso-21253-2-2019>

Le présent document spécifie les points critiques à prendre en compte lors de l'élaboration d'une méthode fondée sur la spectrométrie de masse pour l'analyse de multiples sous-groupes de composés organiques dans des échantillons d'eau. Les points critiques décrits dans le présent document impliquent :

- le choix de la matrice ;
- les étalons internes et le taux de récupération des étalons internes ;
- le taux de récupération de l'analyte.

Le présent document suggère une méthode de cotation du protocole d'analyse destiné à de très nombreux composés, afin de donner à la méthode un score de fiabilité pour chaque composé. Lorsqu'une vérification de ces points critiques aboutit à la conclusion que la méthode peut quantifier les analytes cibles de manière fiable, la caractérisation initiale des performances de mesurage de la méthode peut alors être entreprise.

Le présent document conclut en proposant des critères d'assurance qualité qu'il convient d'intégrer dans les programmes de routine pour éviter une dégradation des niveaux de performances au fil du temps.

Si la liste initiale des analytes quantifiables par la méthode a besoin d'être allongée, vérifier les transitions de l'analogie, les temps de rétention, les performances de la méthode en termes de limites de quantification et la fidélité. La modification des performances de la méthode pour les analytes précédemment caractérisés, afin d'inclure les nouveaux niveaux de performances, nécessite une mise à jour de la caractérisation de la méthode telle que décrite ci-dessus.

Pour chaque composé, la méthode ne peut être revendiquée comme fiable que pour les matrices qui ont été réellement soumises à essai pendant le processus de caractérisation.

Si une ou plusieurs étapes de purification sont nécessaires, en présence de composés susceptibles de créer des interférences dans le chromatogramme ou de contaminer le système d'analyse, le rendement mesuré pour chaque composé doit tenir compte de la ou des étape(s) de purification.

5 Choix de la matrice

La méthode doit être caractérisée sur une matrice représentative du domaine d'application revendiqué. La matrice eau est caractérisée par ses propriétés physicochimiques (MES, COT, conductivité, pH, ions majeurs, etc.). Des informations supplémentaires sur la source de l'échantillon (eau de mer, eau résiduaire, eau souterraine, eau potable, etc.) peuvent renseigner l'utilisateur final sur la probabilité de présence de certains paramètres physicochimiques. Ces paramètres doivent être identifiés au début du développement de la méthode et être consignés.

La matrice représentative peut être naturelle ou synthétique. L'eau de qualité de laboratoire (eau distillée, eau déminéralisée) n'est représentative d'aucune eau naturelle.

En l'absence de blanc de matrice naturelle sans analyte adapté (en particulier pour la caractérisation de la limite de quantification), la matrice naturelle peut être diluée (avec de l'eau potable ou de l'eau de qualité de laboratoire, par exemple) afin de diminuer la concentration des composés organiques, en veillant à ajuster comme il convient les propriétés modifiées (MES, COS, conductivité, pH, etc.), comme spécifié dans l'ISO/TS 21231:2019, 7.1.

6 Conservation de l'échantillon avant analyse

En l'absence d'exigences normatives couvrant expressément les analytes, la durée et le mode de conservation de l'échantillon doivent être définis et vérifiés depuis le prélèvement de l'échantillon jusqu'à l'exécution de toutes les opérations en lien avec l'analyse. La durée de conservation définie commence à la date du prélèvement de l'échantillon.

Des essais de conservation de l'échantillon doivent être effectués avec la matrice représentative (voir Article 5) et, le cas échéant, en présence du conservateur. Ces essais doivent être réalisés, au moins à un niveau, à une valeur égale à ou proche de $10 \times LQ$, ou à la valeur réglementaire, avec des duplicatas de terrain/laboratoire ; l'ISO 5667-3:2018, Annexe C fournit un protocole plus complet, par exemple, et ces essais doivent également, le cas échéant, s'étendre au temps de conservation des extraits d'échantillons.

Les éventuels produits de dégradation des molécules d'analyte (molécules parentes et métabolites) doivent faire l'objet d'une attention particulière s'ils entrent dans le domaine d'application de la méthode.

7 Étalons internes et étalons d'injection

7.1 Généralités

Un ou plusieurs étalons internes doivent être utilisés et introduits dans l'échantillon dès le début du protocole. Cela constitue le moyen le plus efficace de contrôler et corriger les éventuelles interférences liées à l'effet de matrice au moment de l'extraction et de l'analyse de chaque échantillon.

L'utilisation d'étalons internes marqués stables est recommandée pour tenir compte des pertes spécifiques d'analytes individuels et tenir compte des effets de matrice.

Les étalons d'injection sont ajoutés avant l'étape d'analyse. Ils fournissent des informations supplémentaires sur l'analyse instrumentale (la réponse du détecteur, par exemple) et sont utilisés pour calculer le taux de récupération des étalons internes.

Ces deux types d'étalons peuvent être utilisés pour l'étape de quantification, bien que l'utilisation d'étalons internes soit privilégiée.

7.2 Choix des étalons

L'étalon interne et l'étalon d'injection doivent présenter des propriétés qui les rendent représentatifs des analytes. Des critères appropriés sont fournis dans l'ISO/TS 13530:2009, 4.4.3.1. Le temps de rétention quasi identique peut également être un critère utile.

Pour les méthodes impliquant un grand nombre de composés et dans les cas où il est impossible d'obtenir un étalon interne pour chaque analyte, il est recommandé d'affecter un étalon interne ou un étalon d'injection par sous-groupe de composés, en justifiant ce choix.

Pour les matrices complètes susceptibles de créer d'importantes interférences, par exemple une exaltation du signal, une suppression du signal ou une altération du temps de rétention, il est recommandé d'avoir un analogue marqué pour chaque composé soumis à de telles interférences.

Tous les efforts nécessaires doivent être entrepris pour garantir une bonne répartition des étalons internes ou des étalons d'injection sur toute la durée du chromatogramme, et si nécessaire, dans chaque mode d'ionisation.

Le cumul d'une série d'étalons internes et d'étalons d'injection peut être utile pour surmonter les difficultés d'analyse rencontrées lors de la mise en œuvre de méthodes de composés multi-classes et pour garantir une quantification fiable (voir [11.2](#)).

Pour la détection par spectrométrie de masse, il est recommandé d'utiliser un analogue marqué stable comme étalon interne ; les composés marqués au ^{13}C ou au ^{15}N sont préférables aux composés deutérés. Un décalage de temps de rétention est généralement observé par rapport au composé naturel lorsque des étalons marqués sont utilisés (effet isotopique).

Seule une portion stable de la molécule doit être marquée, et le degré de marquage ne doit pas changer pendant l'analyse. Des échanges peuvent intervenir, par exemple par des procédés de tautomérisation, c'est pourquoi ce type de mécanisme doit être vérifié par des moyens expérimentaux si l'abondance de l'étalon interne est amenée à varier. <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c6acdf3-e883-4a1b-8edd-7c7070707070>

Le chevauchement spectral entre des composés analogues et natifs marqués doit être évité. Par conséquent, pour la majorité des applications à petites molécules, il convient que l'analogue marqué ait de préférence une masse mono-isotopique supérieure à au moins 3 Da.

La pureté isotopique des étalons internes doit être vérifiée. Il ne s'agit pas d'un facteur critique tant que ses impuretés (y compris l'analogue non marqué) n'ont aucune contribution sur les composés cibles de la méthode d'analyse. Si cela est impossible, il convient que la contribution de l'analogue marqué sur l'analogue non marqué soit négligeable au niveau de la LQ.

Pour confirmer l'exactitude de la méthode, il est nécessaire de confirmer le juste équilibre entre les analogues marqués et les composés natifs. Il peut être nécessaire d'effectuer des études préalables afin de vérifier que :

- l'étalon interne a été entièrement extrait sans dégradation ; ou
- l'étalon interne est à l'équilibre avec l'échantillon et lié aux matières en suspension (MES) de la même manière que le composé natif.

Si une filtration est prévue au laboratoire, les étalons internes peuvent être ajoutés avant la filtration avec un délai suffisant pour atteindre l'équilibre, et l'applicabilité des étalons internes pour cette étape doit être vérifiée (voir [9.2](#)).

8 Étalonnage

Pour analyser et quantifier un composé cible, l'analyste doit obtenir une solution d'étalonnage de la plus haute pureté possible. Cet étalon d'analyse peut être un composé pur ou en solution. Il assurera tout d'abord que l'analyse instrumentale est à la fois réalisable et maîtrisée. Il permettra également