

PROJET DE NORME INTERNATIONALE  
**ISO/DIS 22186**  
**FIL 245**

ISO/TC 34/SC 5

Secrétariat: NEN

Début de vote:  
2019-04-17

Vote clos le:  
2019-07-10

---

---

## Lait et produits laitiers — Détermination de la nitrofurazone

*Milk and milk products — Determination of nitrofurazone*

ICS: 67.100.01

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)  
Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6a6ce9749-1332-4716-a2fc-2bbe72cb9821/iso-22186-2020>

CE DOCUMENT EST UN PROJET DIFFUSÉ POUR OBSERVATIONS ET APPROBATION. IL EST DONC SUSCEPTIBLE DE MODIFICATION ET NE PEUT ÊTRE CITÉ COMME NORME INTERNATIONALE AVANT SA PUBLICATION EN TANT QUE TELLE.

OUTRE LE FAIT D'ÊTRE EXAMINÉS POUR ÉTABLIR S'ILS SONT ACCEPTABLES À DES FINS INDUSTRIELLES, TECHNOLOGIQUES ET COMMERCIALES, AINSI QUE DU POINT DE VUE DES UTILISATEURS, LES PROJETS DE NORMES INTERNATIONALES DOIVENT PARFOIS ÊTRE CONSIDÉRÉS DU POINT DE VUE DE LEUR POSSIBILITÉ DE DEVENIR DES NORMES POUVANT SERVIR DE RÉFÉRENCE DANS LA RÉGLEMENTATION NATIONALE.

LES DESTINATAIRES DU PRÉSENT PROJET SONT INVITÉS À PRÉSENTER, AVEC LEURS OBSERVATIONS, NOTIFICATION DES DROITS DE PROPRIÉTÉ DONT ILS AURAIENT ÉVENTUELLEMENT CONNAISSANCE ET À FOURNIR UNE DOCUMENTATION EXPLICATIVE.

Le présent document est distribué tel qu'il est parvenu du secrétariat du comité.



Numéro de référence  
ISO/DIS 22186:2019(F)  
FIL 245:2019(F)

© ISO et FIL 2019

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)  
Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6a6e9749-1332-4716-a2fc-2bbe72cb9821/iso-22186-2020>



## DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO et FIL 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](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

International Dairy Federation  
Silver Building • Bd Auguste Reyers 70/B  
B-1030 Brussels  
Tél.: + 32 2 325 67 40  
Fax: + 32 2 325 67 41  
E-mail: [info@fil-idf.org](mailto:info@fil-idf.org)  
Web: [www.fil-idf.org](http://www.fil-idf.org)

Publié en Suisse

<b>Sommaire</b>	<b>Page</b>
Avant-propos.....	v
Introduction.....	vii
<b>1</b> <b>Domaine d'application.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives.....</b>	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions.....</b>	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Principe.....</b>	<b>1</b>
<b>5</b> <b>Réactifs et substances de référence.....</b>	<b>2</b>
5.1 Réactifs et matériel.....	2
5.2 Substances de référence.....	3
<b>6</b> <b>Appareillage.....</b>	<b>6</b>
<b>7</b> <b>Échantillonnage.....</b>	<b>7</b>
<b>8</b> <b>Mode opératoire.....</b>	<b>7</b>
8.1 <b>Prise d'essai.....</b>	<b>7</b>
8.1.1 <b>Lait de consommation.....</b>	<b>7</b>
8.1.2 <b>Produits laitiers en poudre.....</b>	<b>7</b>
8.2 <b>Mode opératoire d'extraction.....</b>	<b>8</b>
8.3 <b>Blanc de réactifs.....</b>	<b>8</b>
8.4 <b>Contrôle de qualité positif.....</b>	<b>8</b>
8.4.1 <b>Lait de consommation.....</b>	<b>8</b>
8.4.2 <b>Produits laitiers en poudre.....</b>	<b>9</b>
8.4.3 <b>Calculs.....</b>	<b>9</b>
8.5 <b>Droites d'étalonnage dans la matrice.....</b>	<b>9</b>
8.5.1 <b>Échantillons d'étalonnage dans la matrice pour le lait de consommation.....</b>	<b>10</b>
8.5.2 <b>Échantillons d'étalonnage dans la matrice pour les produits laitiers en poudre.....</b>	<b>10</b>
8.6 <b>Conditions de CL-SM/SM.....</b>	<b>10</b>
8.6.1 <b>Généralités.....</b>	<b>10</b>
8.6.2 <b>Conditions chromatographiques.....</b>	<b>11</b>
8.6.3 <b>Conditions SM/SM.....</b>	<b>11</b>
8.7 <b>Montage de la séquence.....</b>	<b>12</b>
<b>9</b> <b>Calcul et expression des résultats.....</b>	<b>13</b>
9.1 <b>Intégration des pics.....</b>	<b>13</b>
9.2 <b>Droites d'étalonnage.....</b>	<b>13</b>
9.2.1 <b>Droite d'étalonnage externe obtenue à partir de solutions d'étalonnage externe.....</b>	<b>13</b>
9.2.2 <b>Droite d'étalonnage dans la matrice obtenue à partir de solutions d'étalonnage dans la matrice.....</b>	<b>13</b>
9.3 <b>Identification et confirmation.....</b>	<b>14</b>
9.4 <b>Calcul à l'aide de la droite d'étalonnage externe.....</b>	<b>14</b>
9.5 <b>Calcul utilisant la droite d'étalonnage dans la matrice.....</b>	<b>15</b>
9.6 <b>Expression des résultats.....</b>	<b>15</b>
<b>10</b> <b>Fidélité.....</b>	<b>15</b>
10.1 <b>Généralités.....</b>	<b>15</b>

10.2	Répétabilité.....	15
10.3	Reproductibilité .....	16
11	Rapport d'essai .....	16
Annexe A (informative)	Exemples de chromatogrammes.....	17
Annexe B (informative)	Données relatives à la fidélité.....	18
Bibliographie .....		22

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
(standards.iteh.ai)

Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6a6e9749-1332-4716-a2fc-2bbe72cb9821/iso-22186-2020>

## 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](http://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](http://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 le lien suivant : [www.iso.org/iso/fr/avant-propos](http://www.iso.org/iso/fr/avant-propos).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers* et la Fédération internationale du lait (FIL). Il est publié conjointement par l'ISO et la FIL.

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](http://www.iso.org/fr/members.html).

La **FIL (Fédération internationale de laiterie)** est une organisation privée à but non lucratif qui représente les intérêts des divers acteurs de la filière laitière au niveau international. Les membres de la FIL sont organisés en comités nationaux, qui sont des associations nationales composées de représentants de groupes d'intérêt nationaux dans le secteur des produits laitiers, incluant des producteurs laitiers, des acteurs de l'industrie de transformation des produits laitiers, des fournisseurs de produits laitiers, des universitaires et des représentants des gouvernements/autorités chargées du contrôle des aliments.

L'ISO et la FIL collaborent étroitement sur toutes les activités de normalisation concernant les méthodes d'analyse et d'échantillonnage du lait et des produits laitiers. Depuis 2001, l'ISO et la FIL publient conjointement leurs Normes internationales en utilisant les logos et les numéros de référence des deux organisations.

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. La FIL 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 reçus par l'ISO (voir [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

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.

Le présent document a été élaboré par le comité permanent de la FIL chargé des *Méthodes d'analyse de la composition* et par le comité technique de l'ISO, l'ISO/TC 34, *Produits alimentaires*, sous-comité SC 5, *Lait et produits laitiers*. Il est publié conjointement par l'ISO et la FIL.

Les travaux ont été confiés à l'équipe d'action mixte ISO-FIL A13 du comité permanent chargé des Méthodes d'analyse des additifs et contaminants, sous la conduite de ses chefs de projet, Dr J. G. Bendall (Nouvelle-Zélande) et Dr J. M. Evers (Nouvelle-Zélande).

## Introduction

La nitrofurazone (Figure 1) est une substance inhibitrice dont l'utilisation sur les animaux d'élevage a été interdite par de nombreuses autorités en raison de ses propriétés cancérogènes. Elle fait partie de la famille de substances inhibitrices du nitrofurane, de même que la furazolidone, la furaltadone et la nitrofurantoïne, dont l'utilisation est également prohibée sur les animaux d'élevage. Il est permis d'analyser la furazolidone, la furaltadone et la nitrofurantoïne à l'aide de métabolites constituant des marqueurs très spécifiques ; toutefois, dans le cas de la nitrofurazone, le semicarbazide, son marqueur métabolique correspondant, n'est pas spécifique et peut se former par des voies oxydatives dans les produits laitiers issus de vaches n'ayant pas été traitées par la nitrofurazone. Alors que la nitrofurazone intacte est instable dans les produits carnés, elle reste stable dans le lait de consommation et les produits laitiers. Le présent document décrit une méthode permettant d'analyser la nitrofurazone dans le lait de consommation et les produits laitiers.

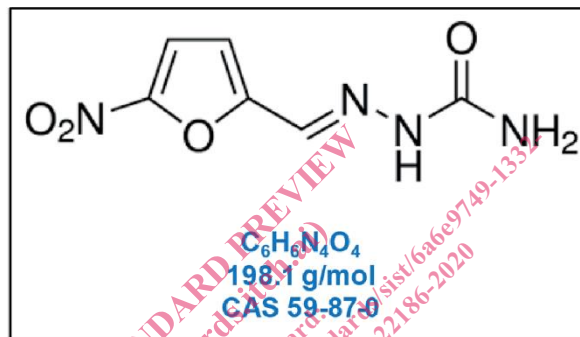


Figure 1 — Structure chimique de la nitrofurazone

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

Full standard:  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6a6e9749-1332-4716-a2fc-2bbe72cb9821/iso-22186-2020>



# Lait et produits laitiers – Détermination de la nitrofurazone

## 1 Domaine d'application

Le présent document décrit une méthode de chromatographie en phase liquide avec détection par spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM) permettant de quantifier la substance inhibitrice, la nitrofurazone, dans le lait et les produits laitiers.

La méthode a été validée pour la mesure des traces de nitrofurazone intacte à des niveaux allant jusqu'à 1 ng/g dans le lait de consommation et les produits laitiers en poudre, sur la base du produit entier (c'est-à-dire de la poudre). Bien que la méthode soit censée s'appliquer à d'autres matrices de produits laitiers, une validation supplémentaire est exigée pour le démontrer.

## 2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

## 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 :

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

### 3.1

#### teneur en nitrofurazone

fraction massique de la substance, déterminée par le mode opératoire spécifié dans le présent document. La teneur en nitrofurazone est exprimée en nanogrammes par gramme d'échantillon (ng/g)

## 4 Principe

La nitrofurazone est extraite à l'aide du protocole QuEChERS conformément à l'EN 15662:2018<sup>[1]</sup> après application de certaines modifications.

De la <sup>13</sup>C<sup>15</sup>N<sub>2</sub>-nitrofurazone (étalon interne marqué) est ajoutée à l'échantillon de lait de consommation ou à l'échantillon de lait en poudre (d'abord reconstitué avec de l'eau) puis une extraction est réalisée à l'acétonitrile. Une séparation liquide-liquide est ensuite effectuée à l'aide d'un mélange de sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>) et de chlorure de sodium (NaCl). Après centrifugation, le surnageant ainsi obtenu est purifié par extraction en phase solide dispersive (d-SPE) à l'aide d'un mélange de sorbants C18/PSA/MgSO<sub>4</sub>. Une aliquote de l'extrait est évaporée à sec puis reconstituée dans du méthanol avant analyse CL-SM/SM en mode surveillance de réactions multiples (MRM) par ionisation électrospray négative (ESI).

L'identification positive de la nitrofurazone dans l'échantillon est réalisée conformément aux critères de confirmation définis dans la décision 2002/657/CE de la Commission européenne.<sup>[2]</sup> La quantification est effectuée par dilution isotopique à l'aide de <sup>13</sup>C<sup>15</sup>N<sub>2</sub>-nitrofurazone en tant qu'étalon interne marqué. Il existe deux manières, tout aussi acceptables l'une que l'autre, de réaliser l'étalonnage : 1. à l'aide d'une droite d'étalonnage externe ; et 2. à l'aide d'une droite d'étalonnage dans la matrice.

## 5 Réactifs et substances de référence

### 5.1 Réactifs et matériel

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue, sauf indication contraire, et l'eau doit être purifiée jusqu'à une résistivité d'au moins 18 MΩ•cm.

- 5.1.1 **Acétonitrile**, de qualité isocratique pour CL.
- 5.1.2 **Méthanol**, de qualité isocratique pour CL.
- 5.1.3 **N,N-Diméthylformamide (DMF)**, anhydre, d'une pureté ≥ 99 %.
- 5.1.4 **Acétate d'ammonium**, pour spectrométrie de masse.
- 5.1.5 **Nitrofurazone à teneur isotopique naturelle**, d'une pureté ≥ 99 %<sup>1)</sup>.
- 5.1.6 **<sup>13</sup>C<sup>15</sup>N<sub>2</sub>-Nitrofurazone**, d'une pureté > 99 %, et d'une pureté isotopique ≥ 97 %<sup>2)</sup>.
- 5.1.7 **Sulfate de magnésium (MgSO<sub>4</sub>)**, anhydre, d'une pureté ≥ 98 %<sup>3)</sup>.
- 5.1.8 **Chlorure de sodium (NaCl)**, d'une pureté ≥ 99 %<sup>4)</sup>.
- 5.1.9 **Sorbant en C18 (gel de silice octadécylsilylé)**, en vrac<sup>5)</sup>.

---

1) La nitrofurazone de Sigma Aldrich (PHR1196) est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

2) La <sup>13</sup>C<sup>15</sup>N<sub>2</sub>-Nitrofurazone de Witega (NF019-25) est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

3) Le sulfate de magnésium anhydre de Sigma Aldrich (63136) est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

4) Le chlorure de sodium de Merck (106404) est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

5) Discovery® DSC 18 SPE Bulk Packing de Sigma Aldrich (52600 U) est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

**5.1.10 Sorbant à amines primaires et secondaires (PSA), en vrac<sup>6)</sup>.**

**5.1.11 Sels de séparation QuEChERS<sup>7)</sup>.**

Introduire dans chaque tube de polypropylène de 15 ml 4,0 g  $\pm$  0,2 g de MgSO<sub>4</sub> (5.1.7) et 1,00 g  $\pm$  0,05 g de NaCl (5.1.8).

**5.1.12 Sels de SPE dispersive (d-SPE)<sup>8)</sup>.**

Introduire dans chaque tube de polypropylène de 15 ml 1 200 mg  $\pm$  20 mg de MgSO<sub>4</sub> (5.1.7), 400 mg  $\pm$  10 mg de sorbant en C18 (5.1.9) et 400 mg  $\pm$  10 mg de sorbant PSA (5.1.10).

**5.2 Substances de référence**

Si nécessaire, il est permis d'employer de la verrerie de volumes différents de ceux spécifiquement indiqués lors de la préparation des solutions étalons, à condition que les concentrations finales restent identiques.

**5.2.1 Solution mère de nitrofurazone à teneur isotopique naturelle**, d'une concentration massique  $\rho = 1$  mg/ml dans du *N,N*-diméthylformamide (DMF)

Introduire dans une fiole jaugée de 10 ml en verre 10,0 mg  $\pm$  0,1 mg de nitrofurazone à teneur isotopique naturelle (5.1.5). Consigner la masse à 0,1 mg près.

Dissoudre et compléter au volume avec du DMF (5.1.3). Dissoudre complètement la solution en la mélangeant avec un agitateur de type vortex puis en la passant aux ultrasons pendant au moins 5 min.

Prélever des aliquotes et les introduire dans des tubes de microcentrifugeuse en polypropylène de 2 ml. Ceci permet d'éviter les cycles répétés de congélation-décongélation susceptibles de provoquer une dégradation accélérée des analytes en solution.

Conserver à -20 °C pendant 1 an maximum et à l'abri de la lumière.

Laisser réchauffer à température ambiante, mélanger avec un agitateur de type vortex et passer aux ultrasons pendant au moins 5 minutes avant utilisation.

---

6) Supelclean™ PSA SPE Bulk Packing de Sigma Aldrich (52738 U) est un exemple de produit approprié disponible dans le commerce. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

7) Les mélanges de sels MgSO<sub>4</sub>-NaCl (4+1) prêts à l'emploi de Agilent (Agilent 5982-7550) sont des exemples de produits appropriés disponibles sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

8) Les mélanges de sels MgSO<sub>4</sub>-C18-PSA (3+1+1) prêts à l'emploi d'Agilent (Agilent 5982-5158) sont des exemples de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs du présent document et ne signifie nullement que l'ISO ou la FIL approuve ou recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.