

# NORME INTERNATIONALE

ISO  
**22186**

**FIL 245**

Première édition  
2020-09

---

---

## Lait et produits laitiers — Détermination de la nitrofurazone

*Milk and milk products — Determination of nitrofurazone*

iTeh Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview

[ISO 22186:2020](#)

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



Numéros de référence  
ISO 22186:2020(F)  
FIL 245:2020(F)

© ISO et FIL 2020

# iTeh Standards

## (<https://standards.iteh.ai>)

### Document Preview

[ISO 22186:2020](#)

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



#### **DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO et FIL 2020

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

E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

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)

# Sommaire

Page

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

<b>Annexe A (informative) Exemples de chromatogrammes</b> .....	<b>15</b>
<b>Annexe B (informative) Données relatives à la fidélité</b> .....	<b>16</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>20</b>

**iTeh Standards**  
**(<https://standards.iteh.ai>)**  
**Document Preview**

[ISO 22186:2020](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/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 [www.iso.org/avant-propos](http://www.iso.org/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 du lait)** 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 appelée 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 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.

Le présent document a été élaboré par le Comité permanent chargé des *Méthodes d'analyse des additifs et contaminants* de la Fédération internationale du lait (FIL) et le comité technique 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).

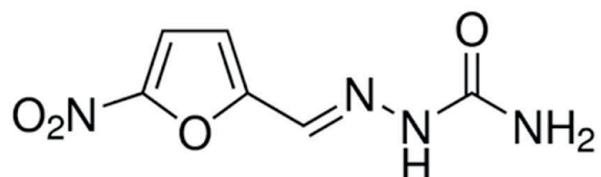
## Document Preview

[ISO 22186:2020](#)

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

## Introduction

La nitrofurazone (voir [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. L'analyse de la furazolidone, la furaltadone et la nitrofurantoïne peut être réalisée 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 liquide et les produits laitiers. Le présent document décrit une méthode pour l'analyse de la nitrofurazone dans le lait liquide et les produits laitiers.



**Figure 1 — Structure chimique de la nitrofurazone**

iTeh Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview

[ISO 22186:2020](#)

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



# Lait et produits laitiers — Détermination de la nitrofurazone

## 1 Domaine d'application

Le présent document spécifie 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 bas allant jusqu'à 1 ng/g dans le lait liquide 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:

- 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

#### concentration en nitrofurazone

fraction massique de la substance, déterminée par le mode opératoire spécifié dans le présent document

Note 1 à l'article: La concentration en nitrofurazone est exprimée en nanogrammes par gramme d'échantillon (ng/g).

## 4 Principe

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

De la  $^{13}\text{C}^{15}\text{N}_2$ -nitrofurazone (étalon interne marqué) est ajoutée à l'échantillon de lait liquide ou à l'échantillon de lait en poudre (préalablement reconstitué avec de l'eau) puis une extraction est réalisée avec de l'acétonitrile. Une séparation liquide-liquide est ensuite effectuée à l'aide d'un mélange de sulfate de magnésium ( $\text{MgSO}_4$ ) et de chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ ). 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/ $\text{MgSO}_4$ . Un aliquote de l'extrait est évaporé à sec, puis reconstitué dans du méthanol avant analyse CL-SM/SM par ionisation électrospray négative (ESI) en mode surveillance de réactions multiples (MRM).

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 en utilisant de la  $^{13}\text{C}^{15}\text{N}_2$ -nitrofurazone comme étalon interne marqué. Il existe deux manières, tout aussi acceptables l'une que l'autre, de réaliser l'étalonnage:

- a) à l'aide d'une droite d'étalonnage externe;
- b) à l'aide d'une droite d'étalonnage adaptée à la matrice.

## 5 Réactifs et substances de référence

### 5.1 Réactifs et matériel

Sauf indication contraire, tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau doit être purifiée jusqu'à une résistivité d'au moins  $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ .

**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  $\geq 99\%$ .

**5.1.4 Acétate d'ammonium**, pour spectrométrie de masse.

**5.1.5 Nitrofurazone à teneur isotopique naturelle**, d'une pureté  $\geq 99\%$ <sup>1)</sup>.

**5.1.6  $^{13}\text{C}^{15}\text{N}_2$ -Nitrofurazone**, d'une pureté  $> 99\%$  et d'une pureté isotopique  $\geq 97\%$ <sup>2)</sup>.

**5.1.7 Sulfate de magnésium ( $\text{MgSO}_4$ )**, anhydre, d'une pureté  $\geq 98\%$ <sup>3)</sup>.

**5.1.8 Chlorure de sodium (NaCl)**, d'une pureté  $\geq 99\%$ <sup>4)</sup>.

**5.1.9 Sorbant en C18 (gel de silice octadécylsilylé)**, en vrac<sup>5)</sup>.

**5.1.10 Sorbant à amines primaires et secondaires (PSA)**, en vrac<sup>6)</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  $^{13}\text{C}^{15}\text{N}_2$ -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.

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.

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

Introduire dans chaque tube de polypropylène de 15 ml 4,0 g ± 0,2 g de MgSO<sub>4</sub> ([5.1.7](#)) et 1,00 g ± 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 ± 20 mg de MgSO<sub>4</sub> ([5.1.7](#)), 400 mg ± 10 mg de sorbant en C18 ([5.1.9](#)) et 400 mg ± 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 $\rho = 1 \text{ mg/ml}$ dans du *N,N*-diméthylformamide (DMF).

Introduire dans une fiole jaugée de 10 ml en verre 10,0 mg ± 0,1 mg de nitrofurazone à teneur isotopique naturelle ([5.1.5](#)). Enregistrer 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. Cela 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.

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

### 5.2.2 Solution de travail de nitrofurazone à teneur isotopique naturelle, d'une concentration massique $\rho = 5 \mu\text{g/ml}$ dans du méthanol.

Dans une fiole jaugée de 10 ml, introduire à l'aide d'une pipette 50 µl de la solution mère de nitrofurazone à teneur isotopique naturelle ([5.2.1](#)). Compléter au volume avec du méthanol ([5.1.2](#)). Mélanger soigneusement.

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.

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.