Co-funded by the European Union

GUIDE 2

MÉTHODES DE DÉTECTION ET DE QUANTIFICATION DES CONTAMINANTS DANS LES CÉRÉALES ET LES PRODUITS DÉRIVÉS

Co-funded by the European Union

CHAPITRE 1.

Introduction

Co-funded by the European Union

- Les céréales et les aliments à base de céréales occupent une place centrale dans l'alimentation européenne et contribuent de manière significative à l'apport énergétique et nutritionnel quotidien de toutes les tranches d'âge.
- Leur importance pour la sécurité alimentaire et la santé publique rend indispensable la surveillance de la présence de contaminants chimiques susceptibles de s'accumuler tout au long de la chaîne agricole et de transformation, en particulier en cas d'activités indésirables d'origine naturelle ou anthropique (guerres, etc.).
- Parmi ces contaminants, les oligo-éléments, en particulier les métaux lourds toxiques tels que le cadmium, le plomb, l'arsenic et le mercure, ainsi que les résidus de pesticides, constituent deux sources majeures de préoccupation pour les régulateurs, les chercheurs et les consommateurs.



Co-funded by the European Union

- Les oligo-éléments peuvent pénétrer dans les cultures céréalières par des voies naturelles ou anthropiques. La composition du sol, les émissions industrielles, la qualité de l'eau d'irrigation, les engrais et la pollution historique comptent parmi les principales sources contribuant à leur présence dans les céréales.

- Certains éléments, tels que le fer, le zinc ou le cuivre, sont essentiels à faibles doses, mais peuvent devenir nocifs à des concentrations élevées, tandis que d'autres, notamment le cadmium, le plomb, le mercure et l'arsenic inorganique, présentent des risques toxicologiques évidents, même à l'état de traces.

- Une exposition chronique, en particulier par le biais d'aliments de base tels que les céréales, peut nuire à la fonction rénale, au développement neurologique, à la santé cardiovasculaire et au bien-être général à long terme. C'est pourquoi la législation européenne a fixé des teneurs maximales pour plusieurs métaux lourds dans les céréales et les produits dérivés, ce qui nécessite des méthodes d'analyse fiables pour garantir le respect de ces limites.





- Les résidus de pesticides constituent une deuxième catégorie importante de contaminants. La production céréalière moderne implique souvent l'utilisation d'herbicides, de fongicides et d'insecticides pour lutter contre les mauvaises herbes, les infections fongiques et les parasites.
- Bien que ces traitements contribuent à garantir les rendements et à limiter les pertes après récolte, ils peuvent laisser des résidus détectables sur les céréales brutes ou les produits transformés.
- La diversité des classes de pesticides, qui comprennent les organophosphates, les pyréthroïdes, les triazoles, les néonicotinoïdes et autres, combinée à leur large gamme de propriétés physicochimiques, rend leur détection précise complexe.
- En outre, les facteurs environnementaux, les pratiques agricoles et les processus technologiques (tels que la mouture ou les traitements thermiques) peuvent influencer les niveaux de résidus et leur répartition dans la matrice céréalière.
- Troisièmement, ce guide présente des méthodes permettant de détecter la contamination des céréales par des composés azotés. La détection des composés azotés dans les céréales consiste à distinguer l'azote d'origine nutritionnelle (protéines) de l'azote contaminant (additifs frauduleux ou résidus liés à des activités de guerre). Étant donné que l'azote est utilisé comme « indicateur indirect » (proxy) des protéines, le défi analytique réside dans l'identification de la forme chimique spécifique de l'azote.



Striking a Balance: Optimal Use of Pesticides for Crops – AgroToHome

Co-funded by the European Union

- Garantir une surveillance fiable de ces contaminants nécessite des approches analytiques capables de prendre en compte à la fois la complexité et la sensibilité. Les métaux lourds requièrent généralement des techniques présentant une forte spécificité élémentaire et de faibles limites de détection, telles que la spectrométrie d'absorption atomique à flamme (FAAS), la spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-OES) ou la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS). Chaque méthode offre des avantages distincts en termes de capacité de détection, de tolérance à la matrice et de débit analytique.
- Parallèlement, l'analyse des pesticides repose principalement sur des techniques chromatographiques telles que la chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie en phase liquide (LC), souvent couplées à la spectrométrie de masse afin d'atteindre la sensibilité et la sélectivité nécessaires pour quantifier les résidus à des niveaux conformes aux exigences réglementaires européennes.
- Cependant, la quantification précise ne dépend pas uniquement des performances instrumentales, car les céréales constituent des matrices biologiques complexes contenant de l'amidon, des protéines, des lipides et des minéraux pouvant interférer à la fois avec l'extraction et la détection.
- La représentativité de l'échantillonnage, les techniques de préparation des échantillons, le contrôle de la contamination, les effets de matrice, la stratégie d'étalonnage et la validation de la méthode sont tout aussi déterminants.
- Faire face à ces défis nécessite des méthodologies harmonisées et des efforts coordonnés entre les laboratoires afin de garantir la comparabilité et la fiabilité des données.



https://www.azolifesciences.com/article/What-is-Analytical-Chemistry.aspx

Co-funded by the European Union

- Dans ce contexte, ce projet européen vise à renforcer et harmoniser les méthodes analytiques utilisées pour détecter et quantifier les métaux lourds et les résidus de pesticides dans les céréales et les aliments dérivés.
- Il cherche à évaluer les pratiques actuelles, à identifier les lacunes méthodologiques et à développer ou améliorer des protocoles analytiques adaptés à la surveillance des contaminations à l'état de traces.
- Le projet intègre l'expertise de plusieurs institutions européennes et favorise l'échange de connaissances, le renforcement des capacités et l'alignement méthodologique afin de soutenir la conformité réglementaire, l'évaluation des risques et la protection des consommateurs.
- En mettant en avant des méthodes robustes, sensibles et harmonisées, ce projet contribue à améliorer la gestion de la sécurité alimentaire au sein de l'Union européenne et renforce la base scientifique pour le suivi de deux des groupes de contaminants les plus critiques dans les produits céréaliers : les éléments traces toxiques et les résidus de pesticides.



https://www.pipedrive.com/en/blog/project-report

Co-funded by the European Union

- Ce guide offre aux professionnels du contrôle qualité et aux opérateurs de l'industrie alimentaire une perspective pratique et structurée sur les méthodes essentielles pour identifier et quantifier avec précision les contaminants présents dans les grains.
- La contamination des céréales par des agents tels que les résidus de pesticides, les métaux lourds et les composés azotés peut avoir des effets graves sur les consommateurs, même à des niveaux très faibles (inférieurs aux Limites Maximales de Résidus – LMR).
- Par conséquent, une surveillance continue et efficace est obligatoire afin de garantir que les produits respectent les normes nationales et internationales.



Co-funded by the European Union

Classification des méthodes d'analyse des contaminants dans les céréales et les produits dérivés

Le succès de l'analyse dépend du choix de la bonne méthode:

- **Méthodes de criblage rapide : tests immunologiques tels que ELISA et les tests sur bandelette. Ce sont les solutions privilégiées pour la vérification rapide de grands lots au point de réception, car elles fournissent des résultats rapides et économiques.**
- **Méthodes de confirmation et de quantification :** utilisation de techniques instrumentales avancées, notamment LC-MS/MS et GC-MS/MS.

Ces méthodes sont nécessaires pour la quantification précise et la validation des résultats positifs obtenus lors du criblage.



Co-funded by the European Union

- Les méthodes instrumentales avancées, en particulier celles combinant une séparation chromatographique avec une détection par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS), constituent les méthodes de référence pour l'analyse des contaminants dans les céréales.
- Elles offrent la sensibilité, la sélectivité et la robustesse nécessaires pour répondre à des réglementations strictes.

- La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) est la méthode privilégiée pour les composés polaires, thermolabiles et de masse moléculaire élevée, qui sont difficiles à analyser par chromatographie en phase gazeuse (GC).
- Cela inclut la plupart des mycotoxines ainsi que de nombreux résidus de pesticides.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS) est la méthode idéale pour les composés volatils, semi-volatils, non polaires et thermostables :

- Pesticides organochlorés et organophosphorés
- Divers contaminants issus des procédés de transformation (acrylamide, furane)

Co-funded by the European Union

CHAPITRE 2.

Législation aux niveaux national et européen concernant les méthodes utilisées pour réduire la contamination des céréales et des produits dérivés

Co-funded by the European Union

2.1. Argument

- La législation joue un rôle crucial dans la réduction de la contamination des céréales, car elle fixe des normes claires et des limites maximales admissibles pour divers contaminants, des mycotoxines aux résidus de pesticides.
- En imposant des règles strictes sur les bonnes pratiques agricoles, l'hygiène et le contrôle, la législation garantit une chaîne alimentaire sûre du producteur au consommateur.
- Sans ces réglementations, le risque que des céréales contaminées arrivent sur le marché augmenterait de manière significative, mettant en danger la santé publique et affectant la confiance du consommateur dans les aliments.



Co-funded by the European Union

2.2. Législation nationale et européenne pour réduire la contamination des céréales

- La sécurité alimentaire est une priorité majeure, et les céréales ainsi que les produits dérivés constituent un élément fondamental de l'alimentation humaine.
- C'est pourquoi il existe un cadre législatif complexe, à la fois au niveau national et européen, visant à réduire et contrôler la contamination de ces produits.
- L'objectif principal est de protéger la santé des consommateurs.
- Cadre européen : une approche unifiée :
- Au niveau de l'Union européenne, la législation dans ce domaine est vaste et harmonisée, garantissant un haut niveau de sécurité dans tous les États membres.
- Elle comprend un certain nombre de règlements et directives traitant de différents types de contaminants, tels que les mycotoxines (toxines produites par les moisissures), les résidus de pesticides, les métaux lourds, les nitrates et les organismes génétiquement modifiés (OGM).



Co-funded by the European Union

- La législation européenne fixe des limites maximales admissibles pour ces contaminants, exigeant un suivi strict et des contrôles réguliers tout au long de la chaîne de production, de la ferme à l'assiette.
- Le règlement (CE) n° 178/2002 établit le principe de traçabilité, permettant l'identification rapide de la source de toute contamination.
- De plus, le règlement (CE) n° 1881/2006 constitue un exemple clé, car il définit des limites maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires, y compris les céréales.



Co-funded by the European Union

2.3. Législation nationale : adaptation et mise en œuvre

- Chaque État membre de l'UE, y compris la Roumanie, transpose et précise la législation européenne dans ses propres textes normatifs nationaux.
- Cela signifie que, en plus des règlements européens directement applicables, il existe également des lois et arrêtés spécifiques qui adaptent les exigences au contexte national.
- Les autorités nationales, telles que l'Autorité nationale sanitaire vétérinaire et de sécurité alimentaire (ANSVSA) en Roumanie, sont responsables de la mise en œuvre et du respect de ces règles.
- Elles effectuent des inspections, prélèvent des échantillons et réalisent des analyses afin de garantir que les céréales et produits dérivés respectent les normes de sécurité.



Co-funded by the European Union

2.4. Mesures clés pour réduire la contamination

La législation exige une série de mesures préventives et de contrôle :

- **<u>Bonnes pratiques agricoles (BPA)</u> : les producteurs sont tenus d'appliquer des pratiques qui minimisent le risque de contamination dès la phase de production (par exemple, rotation des cultures, gestion de l'humidité, utilisation responsable des pesticides).**
- **<u>Bonnes pratiques d'hygiène (BPH)</u> : pendant le stockage, le transport et la transformation, des conditions d'hygiène strictes sont imposées pour prévenir le développement de moisissures et d'autres contaminants.**



Co-funded by the European Union

- **Systèmes de gestion de la sécurité alimentaire : les opérateurs de l'industrie agroalimentaire doivent mettre en place des systèmes basés sur les principes HACCP (Analyse des dangers et points critiques pour leur maîtrise) afin d'identifier, d'évaluer et de contrôler les risques.**
- **Surveillance et analyses : des analyses régulières des céréales et des produits dérivés sont effectuées pour vérifier le respect des limites maximales admissibles de contaminants.**
- **Rappels de produits : si les limites sont dépassées ou qu'un risque est identifié, la législation exige le retrait immédiat des produits du marché afin de protéger les consommateurs.**



2.5. Initiatives et analyses dans le contexte du conflit en Ukraine

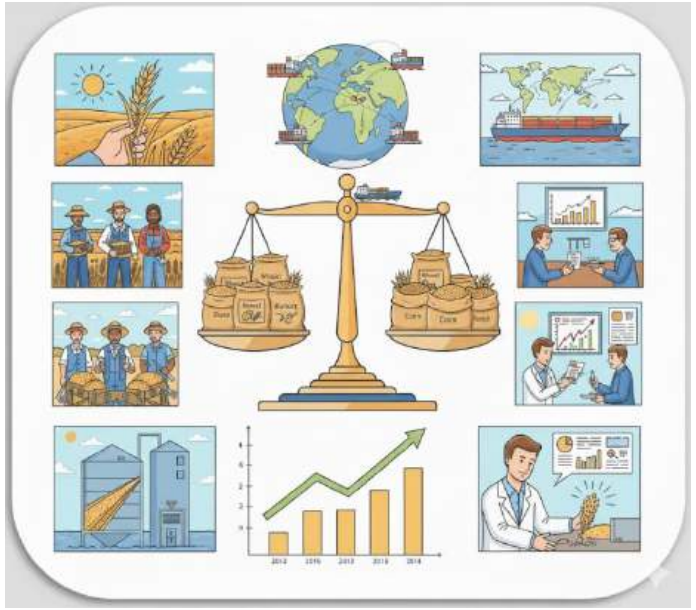
- **Le conflit actuel en Ukraine a engendré des dysfonctionnements dans le commerce mondial des produits agricoles et a créé des vulnérabilités importantes dans les chaînes d'approvisionnement alimentaire. Bien que le cadre réglementaire fondamental de l'Union européenne (UE) en matière de sécurité alimentaire, transposé dans la réglementation sur les importations, reste valable pour tous les produits mis sur le marché de l'UE, l'entité supranationale a été obligée de mettre en œuvre des protocoles spécifiques et de gérer des défis complexes liés aux flux de céréales d'origine ukrainienne, à savoir :**

- **« Corridors de solidarité » et mesures commerciales autonomes (CSF)En réponse à l'escalade de l'invasion russe, l'UE a mis en place des "corridors de solidarité", facilitant l'exportation des produits agricoles ukrainiens via des itinéraires alternatifs terrestres et fluviaux.**
- **Complémentaires à ces mesures logistiques, des Mesures Commerciales Autonomes (MCA) ont été mises en place. Elles consistent en la suspension unilatérale des droits de douane et des quotas pour les produits agricoles importés d'Ukraine.**
- **Les principaux objectifs de ces interventions sont de soutenir la résilience économique de l'Ukraine et de contribuer à la sécurité alimentaire mondiale, en garantissant la continuité des flux de produits essentiels sur les marchés internationaux (Source : Commission européenne ; analyse du CSIS – Center for Strategic and International Studies).**



Inquiétudes concernant les perturbations du marché et les interdictions unilatérales

- L'importante arrivée de céréales en provenance d'Ukraine, essentielle pour soutenir l'économie du pays, a provoqué des perturbations considérables sur les marchés agricoles des États membres voisins de l'UE, notamment la Pologne, la Hongrie, la Slovaquie, la Bulgarie et la Roumanie.
- Les agriculteurs de ces pays ont exprimé leur mécontentement, invoquant une concurrence déloyale et, dans certaines situations, des préoccupations concernant les normes de qualité, comme l'utilisation de pesticides interdits sur le territoire de l'UE. En réponse à ces tensions, certains États membres ont imposé des interdictions unilatérales d'importation.
- La Commission européenne a initialement critiqué ces mesures, les considérant comme une violation des compétences de l'UE en matière de politique commerciale commune (Sources : rapports du CSIS, Hungary Today).



- Mesures préventives exceptionnelles et temporaires
- Pour gérer les tensions engendrées et faciliter une solution de compromis, l'Union européenne a mis en place des « mesures préventives exceptionnelles et temporaires » en mai 2023.
- Celles-ci ont imposé une interdiction restrictive du commerce intérieur de certains produits agricoles ukrainiens – blé, maïs, colza et graines de tournesol – sur le territoire des « cinq États membres en première ligne ».

Co-funded by the European Union

Évaluation de la sécurité alimentaire de l'Ukraine en tant que pays candidat

Dans le cadre de son statut de pays candidat à l'Union européenne, la Commission européenne a réalisé une évaluation détaillée de la capacité de l'Ukraine à remplir l'acquis communautaire dans divers secteurs, y compris la sécurité alimentaire.

Les rapports indiquent que l'Ukraine présente un certain niveau de préparation en matière de protection des consommateurs et de la santé, disposant d'une loi sur la santé publique partiellement alignée sur celle de l'UE. Cependant, l'évaluation souligne également des domaines à renforcer, tels que :

- **les capacités administratives des institutions de sécurité alimentaire ;**
- **la coordination et l'alignement complet du système officiel de contrôle des aliments et des aliments pour animaux avec les normes de l'UE.**

Les laboratoires ukrainiens sont généralement bien équipés et accrédités, mais leur capacité pourrait être augmentée. L'Ukraine est active dans le réseau du Système d'alerte rapide pour les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (SARAF), mais n'en est pas membre (Sources : évaluations de la Commission européenne, rapportées par des institutions telles que UGA.ua).



Co-funded by the European Union

- Le cadre législatif de l'Union européenne concernant les contaminants dans les céréales est rigoureux et s'applique universellement à toutes les importations, y compris celles en provenance d'Ukraine.
- Le conflit armé a considérablement modifié la dynamique commerciale et a nécessité l'adoption de mesures temporaires pour gérer les flux de produits agricoles ukrainiens.
- Ces interventions ont été complémentaires aux efforts en cours pour soutenir l'Ukraine dans l'alignement de ses systèmes de sécurité alimentaire sur les normes européennes.

Indépendamment du contexte géopolitique, les principes fondamentaux de la sécurité alimentaire, y compris le respect des limites maximales admissibles pour les contaminants, restent d'une importance capitale.



EU LEGISLATIVE FRAMEWARK: CEREAL CONTAMIANTS

Co-funded by the European Union

2.6. Réglementations législatives sur l'importation de céréales dans l'Union européenne et en Roumanie

(A) Réglementations au niveau de l'Union européenne :

La législation européenne et nationale concernant l'importation de céréales dans l'Union européenne et, implicitement, en Roumanie, est complexe et englobe un large éventail de réglementations, portant à la fois sur la sécurité alimentaire et phytosanitaire, ainsi que sur les aspects douaniers et commerciaux.



Co-funded by the European Union

La législation de l'UE constitue la base des importations de céréales en provenance de pays tiers. Les principaux domaines réglementés sont :

Sécurité alimentaire et phytosanitaire



- **Règlement (UE) 2017/625 relatif aux contrôles officiels effectués par les autorités compétentes des États membres pour vérifier le respect de la législation de l'UE en matière d'aliments et d'aliments pour animaux. Les céréales importées doivent respecter les normes de sécurité alimentaire de l'UE, y compris les limites maximales de résidus de pesticides, de mycotoxines (par ex. aflatoxines, ochratoxine), de métaux lourds et d'autres contaminants.**

- **Règlement (UE) 2016/2031 relatif aux mesures de protection contre les organismes nuisibles des végétaux, qui régule les exigences phytosanitaires pour l'importation de plantes, de produits végétaux et d'autres objets, y compris les céréales, afin de prévenir l'introduction et la propagation d'organismes nuisibles au sein de l'UE. Les céréales importées peuvent nécessiter des certificats phytosanitaires émis par le pays d'origine.**

- **Règles spécifiques pour des produits ou origines particulières : il existe des réglementations spécifiques pour certaines céréales ou pour certains pays tiers, qui peuvent exiger des contrôles renforcés aux frontières (par exemple pour certaines mycotoxines).**

Co-funded by the European Union

2. Organisation commune des marchés des produits agricoles (OCM)

Le règlement (UE) n° 1308/2013 établit une organisation commune des marchés des produits agricoles, y compris les céréales. Il comprend des dispositions concernant :

<u>Droits d'importation</u> : l'UE applique des droits de douane à l'importation de céréales en provenance de pays tiers, qui peuvent varier en fonction du type de céréale et des accords commerciaux de l'UE avec ce pays (par exemple, quotas tarifaires, exonérations de droits pour certains pays). La base de données TARIC de l'UE fournit des informations détaillées sur les droits applicables.

<u>Quotas tarifaires</u> : l'UE peut ouvrir des quotas tarifaires (quantités limitées de produits pouvant être importées à des droits réduits ou nuls) pour certains types de céréales provenant de pays tiers.

<u>Licences d'importation/exportation</u> : pour certaines catégories de céréales ou dans certaines circonstances, des licences d'importation ou d'exportation, régies par le règlement d'exécution (UE) 2016/1239, peuvent être requises.



Co-funded by the European Union

(B) Processus général d'importation de céréales en provenance de pays tiers (hors UE) en Roumanie

1. **Conformité aux exigences de l'UE :** l'opérateur économique doit s'assurer que les céréales respectent toutes les normes de l'UE en matière de sécurité alimentaire, phytosanitaire et de qualité.



2. Documentation. Les documents suivants sont requis :

- **Facture commerciale**
- **Liste de colisage**
- **Certificat d'origine**
- **Certificat phytosanitaire (le cas échéant) délivré par l'autorité compétente du pays exportateur**
- **Certificat sanitaire/analyses, attestant du respect des normes de sécurité alimentaire (par exemple, teneur en mycotoxines)**
- **Licence d'importation (si requise selon le GEO 84/2023 ou d'autres réglementations spécifiques)**



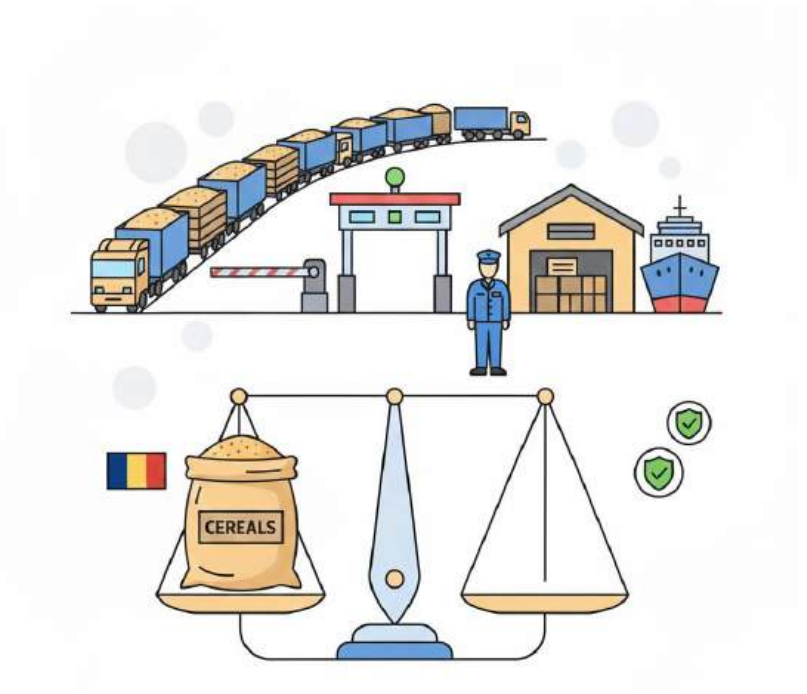
Co-funded by the European Union

3. Dédouanement et contrôles aux frontières

Les marchandises arrivent à un Poste d'Inspection Frontalier (PIF) agréé. Des contrôles documentaires, d'identité et physiques sont effectués par les autorités compétentes (ANSVSA, Douane roumaine). La déclaration en douane à l'importation est soumise. Les droits de douane (le cas échéant) et la TVA sont acquittés.

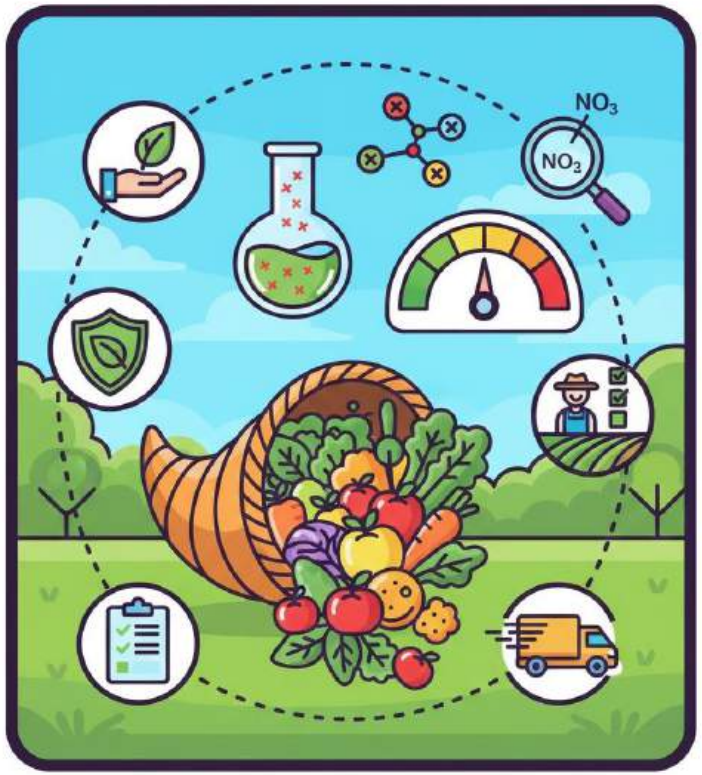
4. Mise en libre circulation

Une fois les contrôles effectués et les obligations fiscales acquittées, les céréales sont mises en libre circulation au sein de l'UE.Il est crucial pour les importateurs de consulter la législation spécifique à jour et de travailler avec des experts en douane et en vétérinaire afin de garantir une conformité totale.



Co-funded by the European Union

- En Roumanie, les limites maximales des teneurs en nitrates et nitrites dans les produits horticoles sont fixées par l'ORDONNANCE n° 293/640/2001-1/2002 relative aux conditions de sécurité et de qualité des légumes et fruits frais destinés à la consommation humaine, émise par l'Ordre du MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DE L'ALIMENTATION ET DES FORÊTS n° 293 du 2 août 2001, l'Ordre du MINISTÈRE DE LA SANTÉ ET DE LA FAMILLE n° 640 du 19 septembre 2001, approuvé par l'AUTORITÉ NATIONALE DE PROTECTION DU CONSOMMATEUR le 3 janvier 2002 et publié dans le JOURNAL OFFICIEL n° 173 du 13 mars 2002.
- Les substances chimiques utilisées dans le secteur agricole sont autorisées sur la base d'un certificat signé par la Commission Interministérielle pour la Certification des Produits Phytosanitaires. Un nouveau CODEX – une liste des produits de protection des plantes certifiés – classe les substances en quatre groupes de toxicité, conformément à la disposition légale publiée le 5 juin 2004.
- Le nouveau CODEX (similaire à un registre) des produits de protection des plantes utilisés en Roumanie a été publié par le MAAP. Ce catalogue est mis à jour tous les 2 à 3 ans.



Co-funded by the European Union

- Par les directives 86/469 et 86/363, la Commission de la Communauté européenne a établi le contrôle des résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale et végétale.
- Les deux directives couvrent toutes les catégories de résidus (pesticides, PCB, hormones, métaux lourds, etc.).
- La directive 83/363 concerne les résidus de pesticides et est également incluse dans l'Ordre 825/23.05.1994 pour l'approbation des normes d'hygiène relatives aux aliments et à leur protection sanitaire, complétée par l'Ordre 611/3.04.1995.
- Ces limites ont été révisées dans l'Ordre 356/2001 du Ministère de l'Agriculture.



Co-funded by the European Union

BIBLIOGRAPHIE

1. Regulamentul (CE) nr. 178/2002 al Parlamentului European și al Consiliului din 28 ianuarie 2002 de stabilire a principiilor și a cerințelor generale ale legislației în domeniul alimentar, de instituire a Autorității Europene pentru Siguranța Alimentară și de stabilire a procedurilor în probleme de siguranță alimentară.

1. Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 al Comisiei din 19 decembrie 2006 de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare.

2. https://commission.europa.eu/topics/eu-solidarity-ukraine/eu-assistance-ukraine/eu-ukraine-solidarity-lanes_en#:~:text=In%20May%202022%2C%20the%20Commission,and%20inland%20waterways%2C%20known%20as

3. https://policy.trade.ec.europa.eu/eu-trade-relationships-country-and-region/countries-and-regions/ukraine_en

4. https://www.csis.org/analysis/fracturing-solidarity-grain-trade-dispute-between-ukraine-and-european-union

5. https://www.foodsafetynews.com/2024/11/eu-commission-reports-on-food-safety-in-five-countries/

6. https://www.foodsafetynews.com/2023/12/eu-reports-on-food-safety-progress-in-ukraine-and-other-nations/

7. Alexa Ersilia Călina, Contaminanți în produse horticole și cerealiere, 2008, Editura Solness, Timişoara.

Co-funded by the European Union

CHAPTITRE 3.

Méthodologies pour détecter la contamination des céréales et des produits dérivés par les pesticides

Co-funded by the European Union

3.1. Introduction

- Les céréales et les produits à base de céréales représentent un élément fondamental de l'alimentation humaine dans le monde, constituant la base de la sécurité alimentaire pour des milliards de personnes.
- Leur consommation généralisée, combinée aux pratiques agricoles intensives nécessaires pour répondre à la demande mondiale, fait de la contamination par les pesticides une préoccupation majeure pour la santé publique, les autorités de sécurité alimentaire et l'industrie agroalimentaire.
- Les pesticides sont appliqués de manière routinière lors de la culture, du stockage et de la manutention post-récolte afin de protéger les cultures contre les parasites, les infestations fongiques et les pertes de rendement.
- Bien que ces substances jouent un rôle vital pour assurer la productivité des cultures, leurs résidus peuvent persister dans les produits alimentaires finis. Par conséquent, les céréales peuvent contenir des résidus à des niveaux présentant des risques potentiels pour les consommateurs, en particulier pour les populations vulnérables telles que les enfants, les femmes enceintes ou les individus ayant une consommation élevée de céréales.



Co-funded by the European Union

- Les cadres réglementaires aux niveaux national et international, tels que ceux de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA), du Codex Alimentarius et de diverses agences nationales, fixent des limites maximales de résidus (LMR) afin de minimiser les risques pour la santé.
- Le respect de ces seuils réglementaires nécessite des méthodologies analytiques robustes, sensibles et validées, capables de détecter un large spectre de résidus de pesticides dans diverses matrices de céréales.
- La complexité des céréales et des produits dérivés (farines, pains, céréales du petit-déjeuner, aliments pour nourrissons, etc.) engendre des défis analytiques liés aux effets de matrice, aux interférences co-extraites et à la présence de résidus de pesticides à la fois polaires et non polaires.
- Par conséquent, la chimie analytique moderne doit s'appuyer sur des stratégies méthodologiques combinant une préparation efficace des échantillons et des techniques de détection à haute résolution.

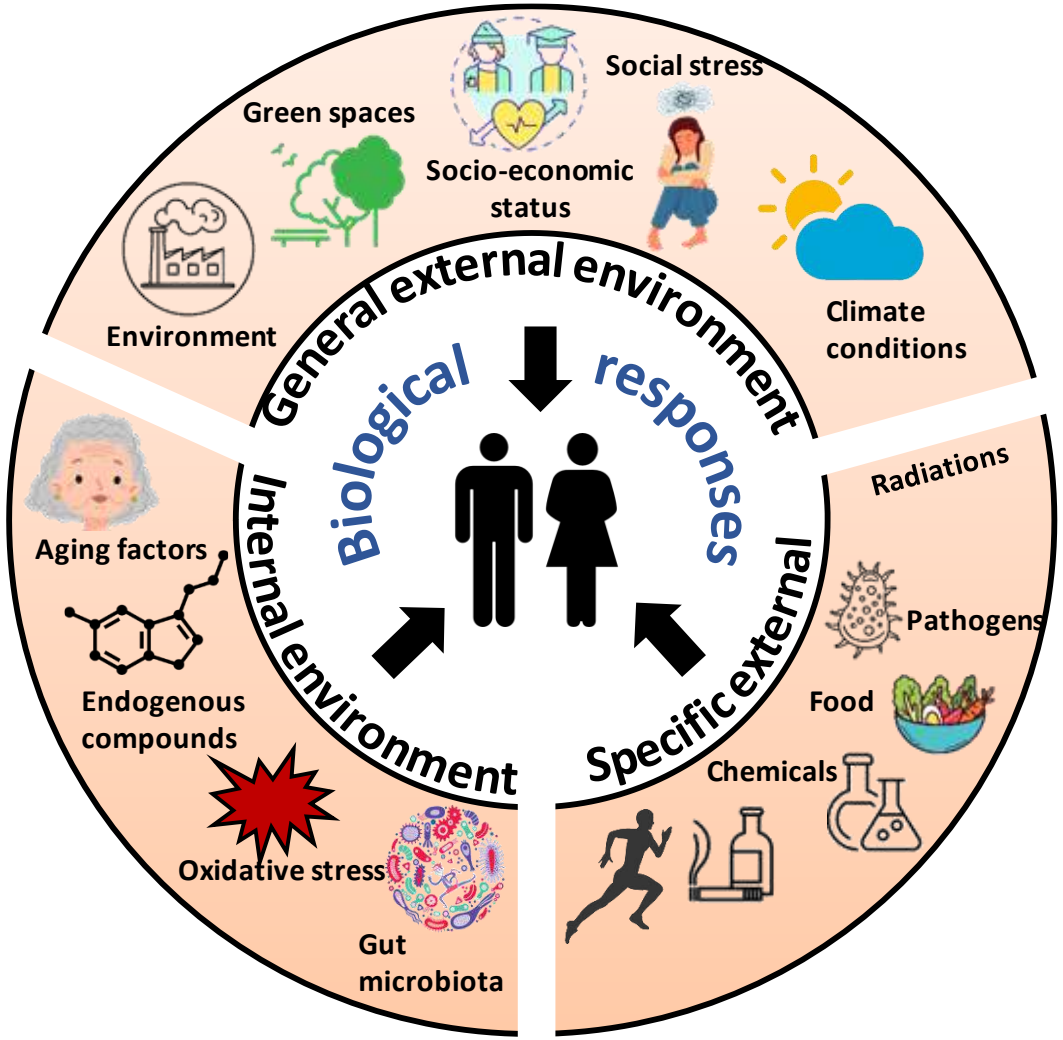


https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/home/fr/

Co-funded by the European Union

3. 2. Le concept d'exposome

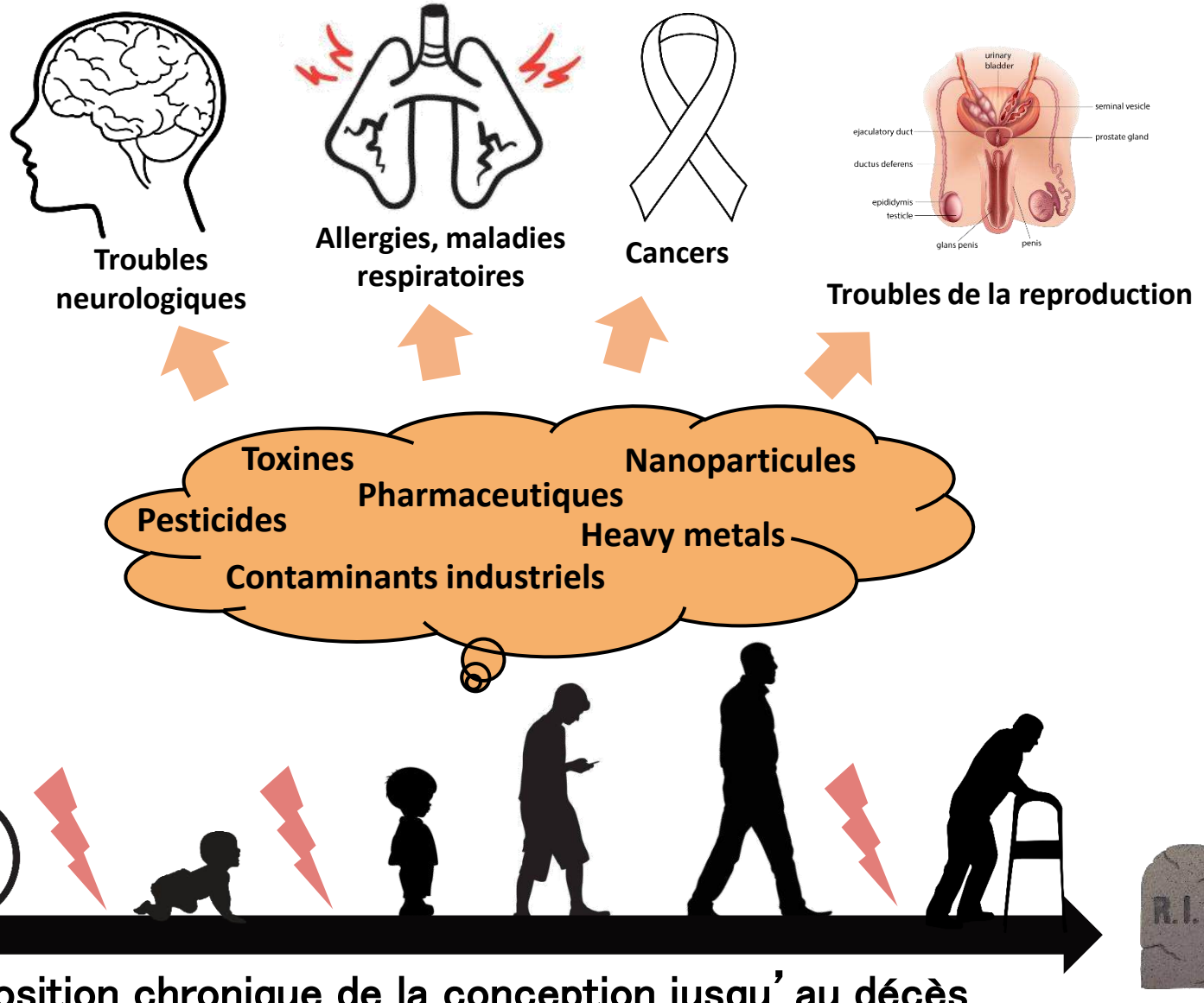
- L'exposome, un concept introduit par le Pr. Christopher Wild, désigne la totalité des expositions non-génétiques qu'un individu rencontre tout au long de sa vie, englobant non seulement les agents chimiques, mais aussi les facteurs biologiques, physiques, sociaux et comportementaux.
- Issu de la médecine et de l'épidémiologie, ce cadre vise à mieux comprendre l'impact cumulatif de ces diverses influences sur la santé.
- La coexistence de milliers de facteurs d'exposition, dont beaucoup sont encore mal caractérisés, rend difficile l'évaluation de leurs interactions et de leurs effets combinés.
- Néanmoins, cette complexité contribue à l'augmentation des risques pour la santé, notamment les maladies chroniques, la vulnérabilité accrue aux infections et les déséquilibres physiologiques liés à des expositions répétées et variées.



Co-funded by the European Union

L’exposome chimique

- L’exposome chimique englobe toutes les substances chimiques auxquelles une personne est exposée tout au long de sa vie, via l’air, l’eau, les aliments ou les produits du quotidien.
- La présence de milliers de composés différents, dont beaucoup sont encore mal caractérisés, rend difficile l’évaluation précise de leurs effets combinés.
- Néanmoins, cette diversité accroît les risques pour la santé, notamment en contribuant aux maladies chroniques, aux troubles endocriniens ou à des effets toxiques subtils liés à des expositions répétées à faibles doses.



Co-funded by the European Union

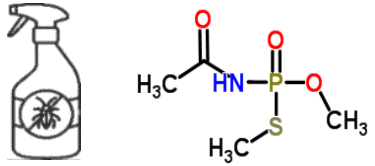
L'exposome chimique

Habitudes alimentaires variées et différentes selon les consommateurs



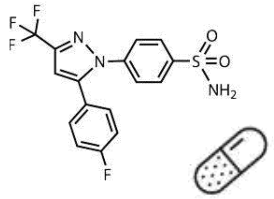
Résidus de pesticides

Cancers, troubles neurologiques et reproductifs, maladies cardiovasculaires, etc



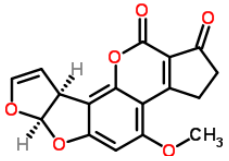
Médicaments vétérinaires

Allergies, antibiorésistance



Toxines naturelles

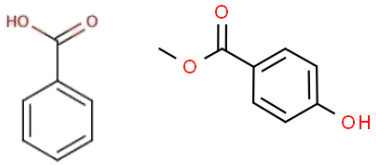
Cancers, troubles neurologiques, etc





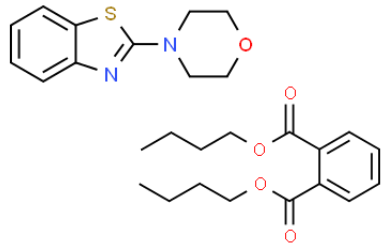
Effets cocktails et combinés

Additifs alimentaires, conservateurs

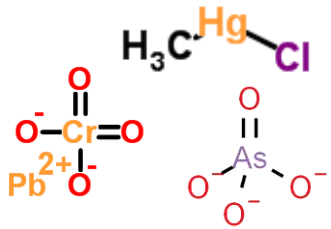


Cancer, allergies, troubles endocriniens et altérations du système reproducteur

Produits chimiques



Elements traces



Symptômes neuropsychologiques, cancers et divers autres symptômes



Exposition chronique aux diverses substances chimiques par l'alimentation

Tout au long de la vie

Co-funded by the European Union

Pesticides : concilier sécurité et nécessité

- **Les pesticides sont des substances chimiques ou biologiques utilisées pour protéger les cultures contre des organismes nuisibles tels que les insectes, les champignons, les mauvaises herbes ou les bactéries.**
- **Leur utilisation contribue à augmenter les rendements agricoles et à réduire les pertes après récolte, mais elle comporte également des risques pour la santé humaine et l'environnement, notamment la toxicité aiguë ou chronique, la perturbation endocrinienne et la contamination des sols et des eaux.**
- **Pour atténuer ces risques, leur usage est strictement réglementé tant au niveau européen que national, avec des limites maximales de résidus fixées pour les aliments, des évaluations rigoureuses de sécurité exigées et des contrôles sur l'autorisation de mise sur le marché.**

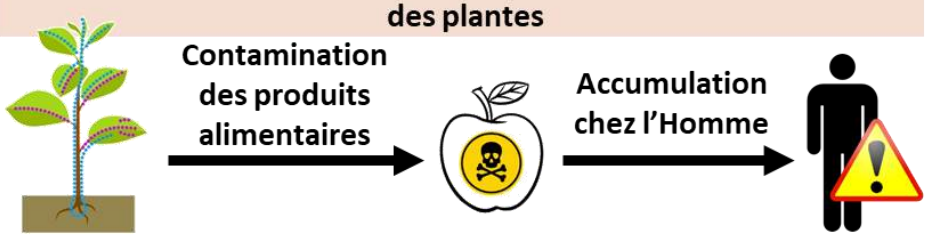
Largement et intensivement utilisés dans l'agriculture moderne





Agriculture moderne ● Protéger les cultures et augmenter les rendements ● Disponibilité alimentaire

Accumulation de résidus dans les sols et les parties comestibles des plantes





Commission Européenne

Régule la commercialisation et l'utilisation des résidus de pesticides dans les aliments et les aliments pour animaux (Règlement (EC) n° 1107/2009)

Aucune substance active contenue dans un produit phytopharmaceutique (PPP) ne peut être utilisée sans l'approbation de la Commission européenne

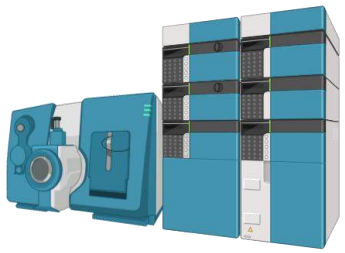
Évaluation des risques pour chaque substance individuelle

efsa
European Food Safety Authority

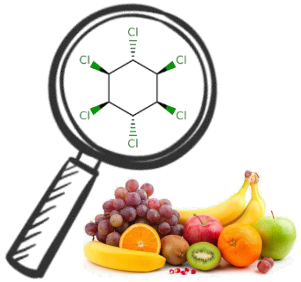
Limite maximale de résidus (LMR) pour chaque substance individuelle (Règlement (CE) n° 396/2005)

Co-funded by the European Union

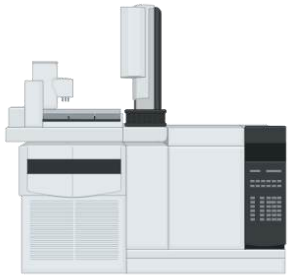
3.3. Analyse instrumentale



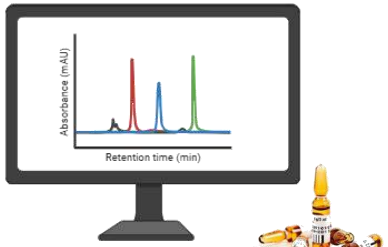
LC-MS/MS (MRM)



Outils officiels de contrôle dans les aliments



GC-MS/MS (MRM)



Identification & quantification d'analytes ciblés

Très sélectives

Très sensibles

Quantification absolue

Ne prend pas en compte les substances chimiques non incluses dans la méthode

Pas suffisamment exhaustive pour une caractérisation complète des dangers

Co-funded by the European Union

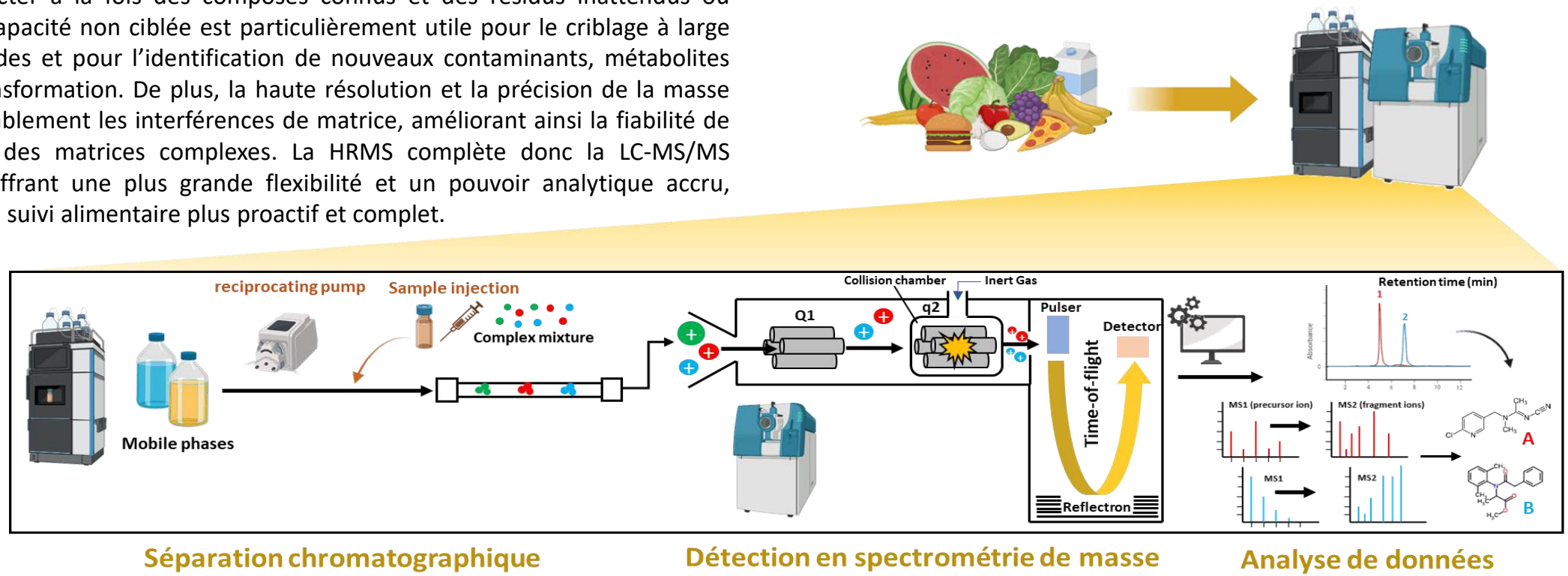
3.3.1. Contrôle officiel en Europe

- Dans le cadre du contrôle officiel de routine des aliments, les techniques chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse à triple quadrupôle, LC-MS/MS (chromatographie liquide) et GC-MS/MS (chromatographie gazeuse), sont largement utilisées pour l'analyse des résidus de pesticides.
- Ces méthodes permettent la détection et la quantification d'un large éventail de substances à très faibles concentrations, avec une grande sensibilité et sélectivité grâce au mode MRM (Multiple Reaction Monitoring).
- Cependant, ce mode présente certaines limites : il ne surveille que des transitions prédéfinies pour des composés connus, ce qui rend difficile la détection de pesticides inconnus ou non ciblés.
- De plus, le MRM peut être affecté par des interférences de matrice, nécessitant une optimisation soigneuse des conditions de séparation et de fragmentation, et il offre une flexibilité limitée pour l'ajout de nouveaux analytes aux programmes de surveillance établis.
- Malgré ces contraintes, la LC-MS/MS et la GC-MS/MS restent des piliers du contrôle officiel en raison de leur robustesse et de leur capacité à traiter de grands ensembles d'échantillons diversifiés.

Co-funded by the European Union

3.3.2. Une technique révolutionnaire : la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS)

L'introduction de la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) dans le système de sécurité alimentaire constitue un complément précieux aux méthodes LC-MS/MS conventionnelles. Contrairement au mode ciblé MRM de la LC-MS/MS, la HRMS permet un balayage complet exact de tous les ions présents dans un échantillon, offrant la possibilité de détecter à la fois des composés connus et des résidus inattendus ou émergents. Cette capacité non ciblée est particulièrement utile pour le criblage à large spectre des pesticides et pour l'identification de nouveaux contaminants, métabolites ou produits de transformation. De plus, la haute résolution et la précision de la masse réduisent considérablement les interférences de matrice, améliorant ainsi la fiabilité de la détection dans des matrices complexes. La HRMS complète donc la LC-MS/MS traditionnelle en offrant une plus grande flexibilité et un pouvoir analytique accru, ouvrant la voie à un suivi alimentaire plus proactif et complet.

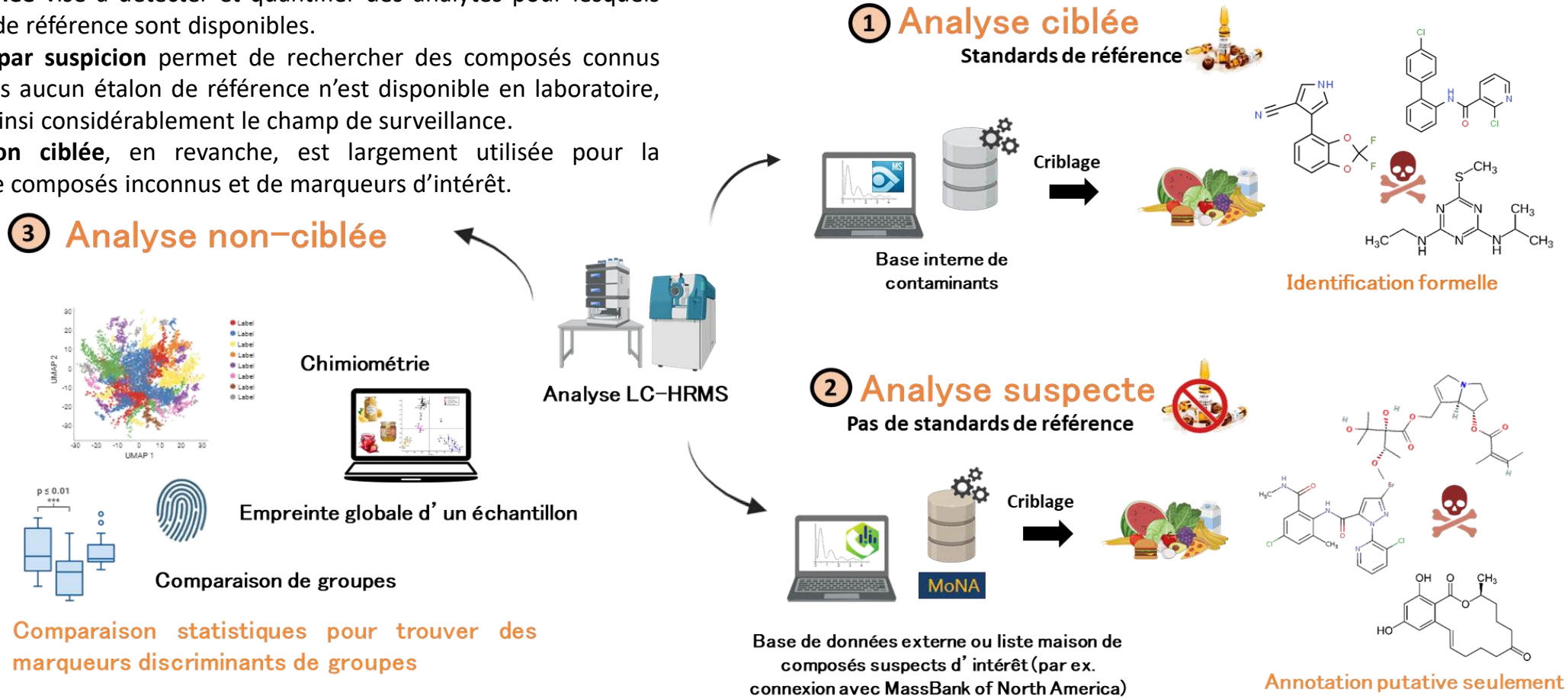


Co-funded by the European Union

La polyvalence de la LC-HRMS

En LC-HRMS, il existe différents types d'analyses.

- **L'analyse ciblée** vise à détecter et quantifier des analytes pour lesquels des étalons de référence sont disponibles.
- **Le criblage par suspicion** permet de rechercher des composés connus pour lesquels aucun étalon de référence n'est disponible en laboratoire, élargissant ainsi considérablement le champ de surveillance.
- **L'analyse non ciblée**, en revanche, est largement utilisée pour la recherche de composés inconnus et de marqueurs d'intérêt.



Co-funded by the European Union

Identification de pesticides en LC-HRMS

En LC-HRMS, les pesticides sont généralement identifiés en vérifiant trois éléments clés.

- **Premièrement**, l'instrument mesure la masse exacte de chaque molécule, et cette valeur est comparée à la masse connue d'un pesticide pour vérifier si elles correspondent dans une marge d'erreur très faible.
- **Deuxièmement**, chaque composé apparaît à un moment spécifique lors de la séparation chromatographique, appelé **temps de rétention** ; la correspondance de ce temps avec celui d'un étalon de référence permet de confirmer son identité.
- **Troisièmement**, l'instrument peut fragmenter la molécule, produisant une sorte de **spectre "empreinte digitale"**. Si les fragments de l'échantillon correspondent à ceux du pesticide de référence, l'identification est considérée comme fiable.



Préparation d'échantillons **Analyse LC-Q/ToF-MS**

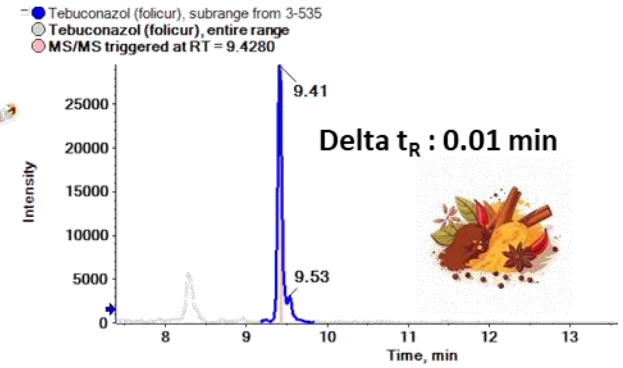
Exemples : identification du tébuconazole dans des échantillons d'épices

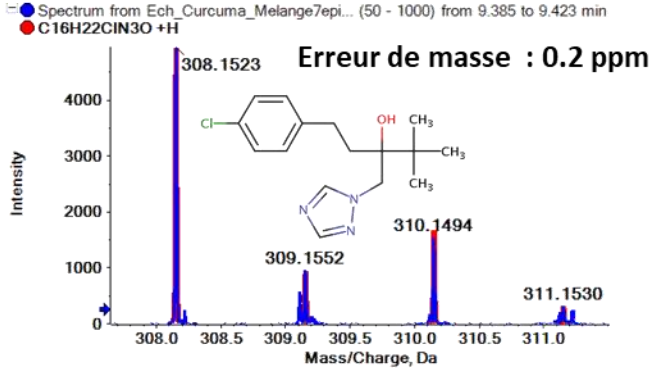
Lorsqu'une caractéristique remplit ces trois critères , erreur de masse, temps de rétention et fragmentation, elle peut être identifiée et confirmée de manière incontestable.

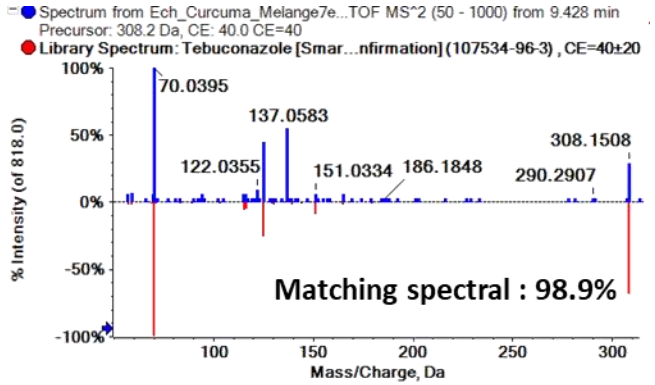
Critères & seuils



- Delta t_R ± 0.1 min
- Erreur de masse ± 5-ppm
- Matching spectral > 70%





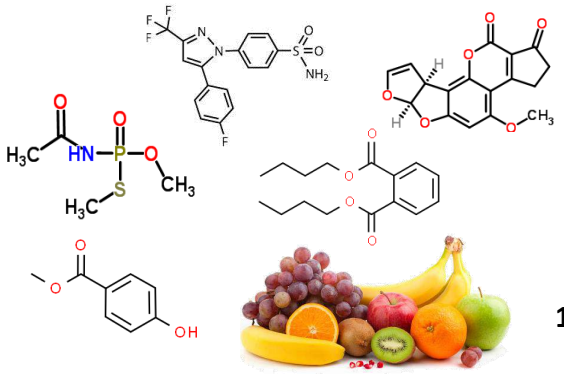


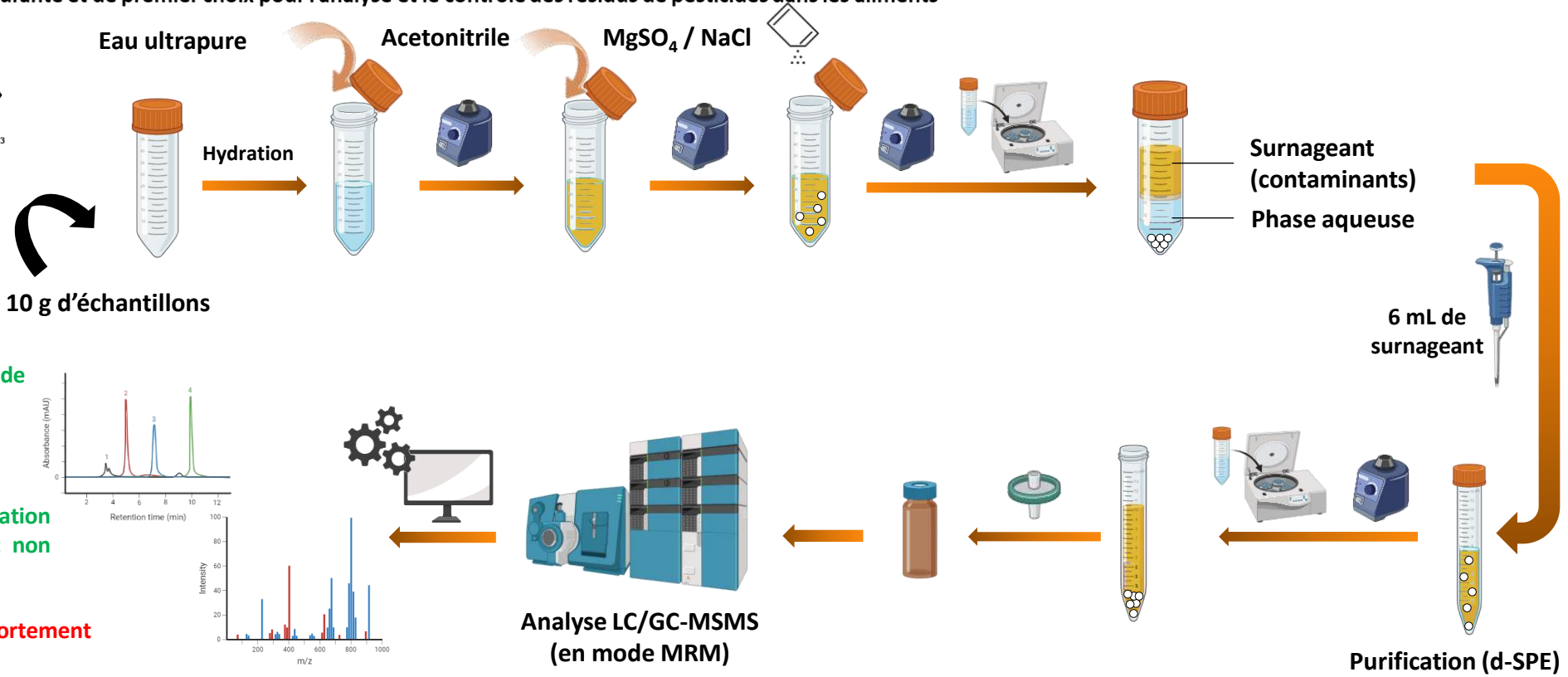
Co-funded by the European Union

3.3.3. Préparation des échantillons. Méthodes d'extraction et de purification dans les aliment

La méthode QuEChERS

- "Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe"
- Introduite par Anastassiades et al. 2003
- La préparation d'échantillons la plus courante et de premier choix pour l'analyse et le contrôle des résidus de pesticides dans les aliments





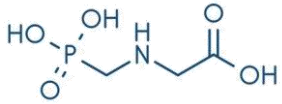
- Rapide, simple et respectueuse de l'environnement
- Efficace pour l'analyse "multi-résidus"
- Efficace pour l'analyse et la quantification des analytes de polarité moyenne et non polaire
- Moins efficace pour les pesticides fortement polaires

Co-funded by the European Union

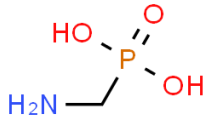
3.3.3. Préparation des échantillons. Méthodes d'extraction et de purification dans les aliment

La méthode QuPPE

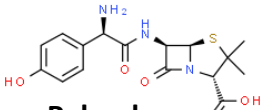
- "Quick Polar Pesticides"
- Introduite pour la première fois par le laboratoire de référence de l'Union Européenne (LRUE)
- Permet de couvrir les résidus de pesticides fortement polaires et ioniques, non compatibles avec la méthode QuEChERS



Glyphosate

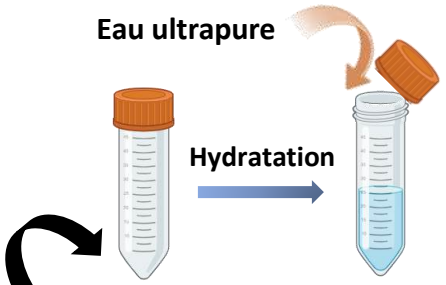


AMPA

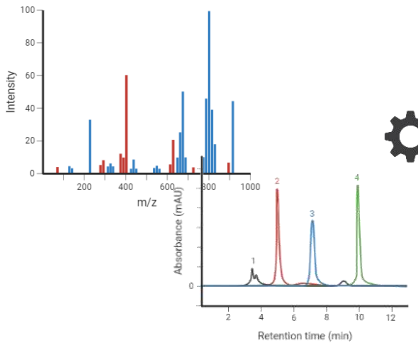


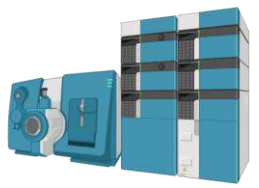
Polar drugs





Purification (d-SPE)
Dépend de la matrice





Analyse LC-MS/MS

→ Méthode rapide et simple

→ Très efficace pour l'extraction de composés hydrophiles et très polaires

→ Moins efficaces pour les composés apolaires

Co-funded by the European Union

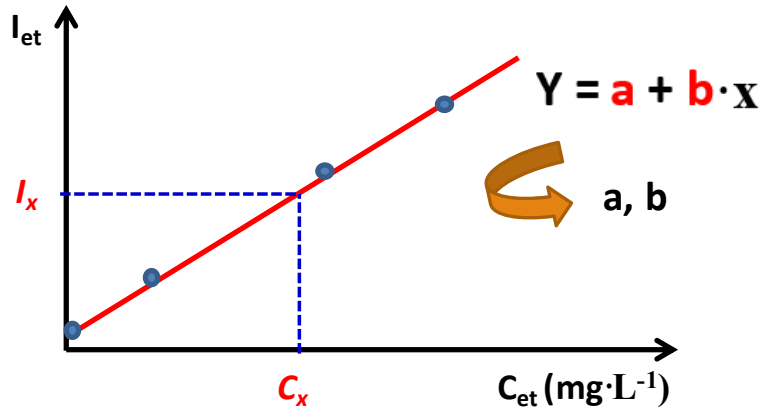
3.4. Quantification for the determination of chemical contaminants (pesticides)

$$I = I_0 + k \times m$$ or $$I = I_0 + k \times C$$ *Fonction de calibration*

K, coefficient de réponse ou SENSIBILITÉ (à déterminer par étalonnage)
I, intensité de l'analyte
I_o, intensité moyenne du signal blanc analytique
C, concentration de l'analyte

Méthode d'étalonnage externe

- **Il s'agit de la méthode de quantification la plus courante : elle consiste à mesurer l'intensité de plusieurs solutions (au moins cinq) contenant des quantités connues et croissantes de l'élément à quantifier (solutions étalons).**
- **La droite d'étalonnage $I_{et} = f(C_{et})$ is then plotted (I = intensité du signal analytique), où I_{et} est l'intensité du signal corrigée du blanc analytique**
- **L'intensité de la solution inconnue (I_x) est ensuite mesurée, et la concentration C_x est calculée en utilisant les coefficients de régression linéaire (a et b) (I_x doit également être corrigée du blanc analytique).**



Co-funded by the European Union

Etape 1: Étalonnage (analyse des solutions étalons) et détermination des paramètres de la fonction d'étalonnag

Standard	Blank	Standard 1	Standard 2	Standard 3	Standard 4	Standard 5
$C_{standard}$ ($mg \cdot L^{-1}$)	0	C_{et1}	C_{et2}	C_{et3}	C_{et4}	C_{et5}
Signal intensity (I)	I_0	I_{et1}	I_{et2}	I_{et3}	I_{et4}	I_{et5}

Etape 2: Analyse de la ou des solutions inconnues (X)

Sample	X_1	X_2	X_3	...	X_n
Intensity	I_{x1}	I_{x2}	I_{x3}	...	I_{xn}

$$I_{xi} = a + b \times C_{xi}$$

$$C_{xi} = \frac{I_{xi} - a}{b}$$

BIBLIOGRAPHIE

1. **Anastassiades**, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., Schenck, F.J., 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. J. AOAC Int. 86, 412–431.
2. **Anastassiades**, M., Scherbaum, E., Taşdelen, B., Štajnbaher, D., 2007. Recent Developments in QuEChERS Methodology for Pesticide Multiresidue Analysis, in: Pesticide Chemistry. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 439–458. https://doi.org/10.1002/9783527611249.ch46
3. **Wild, C.P**., 2005. Complementing the Genome with an “Exposome”: The Outstanding Challenge of Environmental Exposure Measurement in Molecular Epidemiology. Cancer Epidemiol. Prev. Biomark. 14, 1847–1850. https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0456
4. **European Commission, 2005**., European Commission (2005). No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin and amending Council Directive 91/414/EEC.
5. **Kaufmann, A**., 2012. The current role of high-resolution mass spectrometry in food analysis. Anal. Bioanal. Chem. 403, 1233–1249. https://doi.org/10.1007/s00216-011-5629-
6. **Makni, Y**., 2023. Evaluation itérative des potentialités multiples de la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution pour la recherche à large spectre de multirésidus dans les aliments : un outil au service de l’exposome et de la sécurité alimentaire de demain (These de doctorat). Maisons-Alfort, École nationale vétérinaire d’Alfort.
7. **Makni, Y**., Diallo, T., Guérin, T., Parinet, J., 2023. A proof-of-concept study on the versatility of liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry to screen for various contaminants and highlight markers of floral and geographical origin for different honeys. Food Chem. 137720. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137720
8. **Han**, **Y.,** Song, L., Zhao, P., Li, Y., Zou, N., Qin, Y., Li, X., Pan, C., 2016. Residue determination of glufosinate in plant origin foods using modified Quick Polar Pesticides (QuPPe) method and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Food Chem. 197, 730–736. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.021
9. **Wong, J.W**., Wang, J., Chow, W., Carlson, R., Williams, A.J., Lingenfelter, N., Nguyen, K., Tu, T., Saini, N., Zhang, K., Hayward, D.G., Chang, J.S., 2025. Multilaboratory Study of a Nontarget Data Acquisition for Target Analysis (nDATA) Workflow Using Ultrahigh-Performance Liquid Chromatography-High-Resolution Mass Spectrometry for the Screening of 1087 Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables. J. Agric. Food Chem. 73, 8632–8650. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5c00264
10. **J.J. Villaverde**, B. Sevilla-Morán, C. López-Goti, J.L. Alonso-Prados, P. Sandín-España. Trends in analysis of pesticide residues to fulfil the European Regulation (EC) No. 1107/2009. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 80 (2016), pp. 568-580, 10.1016/j.trac.2016.04.017

Co-funded by the European Union

CHAPITRE 4.

Méthodes de détection de la contamination des céréales et des produits dérivés par les métaux lourds

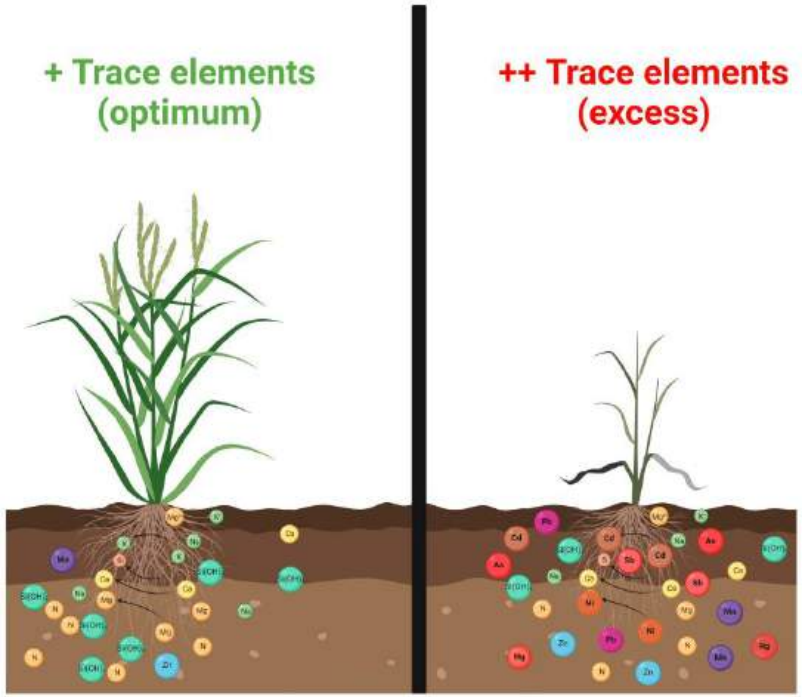
Co-funded by the European Union

4.1. Introduction

- Les oligo-éléments sont des éléments chimiques présents dans un matériau donné à des concentrations moyennes inférieures à 100 µg/g (ppm). Lorsque leur concentration est inférieure à 1 ppm, on les appelle souvent ultra-oligo-éléments.
- Les oligo-éléments peuvent être divisés en deux grandes catégories :

• Éléments essentiels (micronutriments) : nécessaires en petites quantités pour les processus biochimiques et physiologiques.
• Éléments potentiellement toxiques : nocifs même à faibles concentrations ou lorsqu'ils sont présents en excès.

- Historiquement, les éléments traces toxiques étaient regroupés sous le terme « métaux lourds », une désignation basée sur leur densité relativement élevée par rapport à l'eau. Cette terminologie était trompeuse, car la toxicité n'est pas directement liée au poids atomique ou à la densité.
- Par conséquent, ce terme a été remplacé par celui d'éléments traces potentiellement toxiques (PTTEs), qui reflète plus précisément leur importance pour l'environnement et la santé.



https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2024.1377964/full

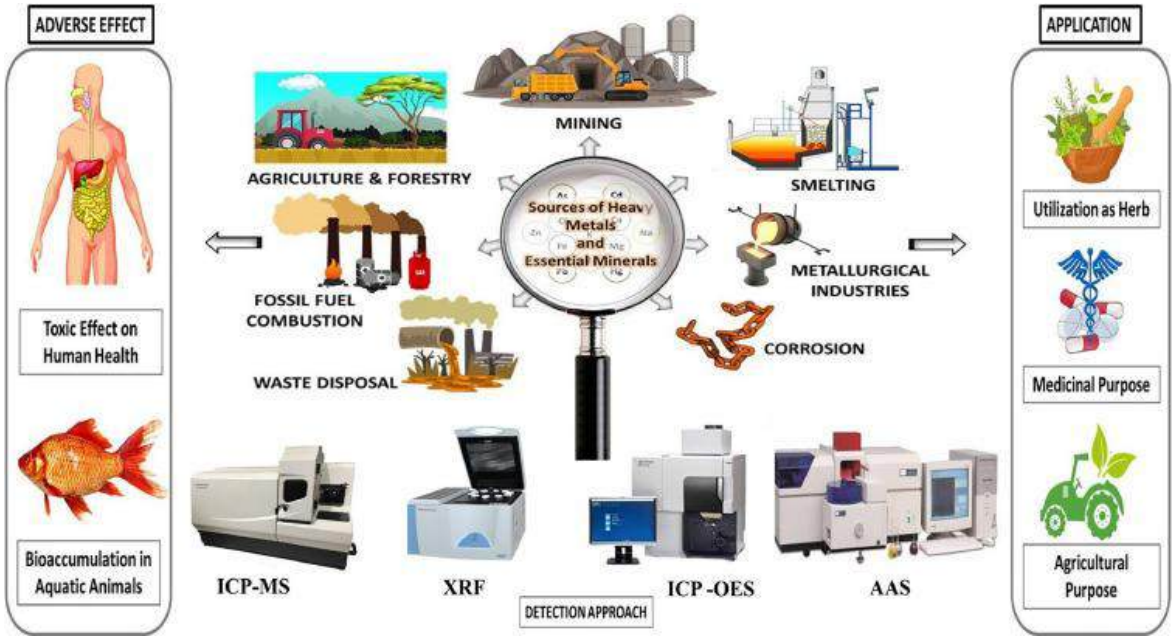
Co-funded by the European Union

- Parmi les PTTEs, l'arsenic (As), le mercure (Hg), le plomb (Pb) et le cadmium (Cd) sont particulièrement préoccupants en raison de leur toxicité élevée, de leur persistance et de leur capacité à s'accumuler dans les écosystèmes.
- À l'inverse, plusieurs métaux traces sont des oligo-éléments essentiels pour les organismes vivants, notamment l'iode (I), le zinc (Zn), le sélénium (Se), le fer (Fe), le cuivre (Cu), le chrome (Cr), le molybdène (Mo), le manganèse (Mn), le cobalt (Co), l'arsenic (As, en quantités infimes), le nickel (Ni) et le vanadium (V).
- Ces éléments jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des enzymes, la régulation hormonale, le transport de l'oxygène et la défense antioxydante. Cependant, la distinction entre essentiel et toxique dépend de la concentration :

- À des niveaux optimaux, les métaux traces essentiels soutiennent les fonctions physiologiques vitales.
- À des niveaux élevés, ils peuvent devenir toxiques, entraînant un stress oxydatif, des lésions organiques ou des perturbations métaboliques (par exemple, surcharge en fer, neurotoxicité du manganèse).

Co-funded by the European Union

- Les oligo-éléments sont présents en concentrations extrêmement faibles dans les systèmes naturels et biologiques, mais ils jouent un rôle crucial tant pour la santé que pour la qualité de l'environnement.
- Comme leurs concentrations se situent souvent dans la gamme des ppm (parties par million) ou même des ppb (parties par milliard), leur quantification nécessite des méthodes d'analyse très sensibles.
- Les méthodes chimiques traditionnelles, telles que celles basées sur les techniques titrimétriques, la gravimétrie ou la spectrophotométrie, ne sont pas suffisantes à ces échelles. La chimie analytique moderne s'appuie donc sur des techniques spectrométriques et nucléaires avancées.
- Ces méthodes permettent aux scientifiques de mesurer les éléments traces avec précision, de distinguer les espèces essentielles des espèces toxiques et d'assurer une surveillance fiable dans les aliments, l'eau, le sol et les échantillons biologiques.



https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666831924000559

Co-funded by the European Union

4.2. Principales techniques et leurs principales caractéristiques pour la détermination des éléments traces dans les céréales

- ❑ **Spectroscopie d'absorption atomique (SAA)**
- ❑ **Spectroscopie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-OES)**
- ❑ **Fluorescence X (XRF)**
- ❑ **Analyse par activation neutronique (AAN)**
- ❑ **Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)**

Par simplification, nous aborderons ici les techniques les plus couramment utilisées, telles que l'ICP-MS, l'ICP-OES et la SAA. Parmi ces techniques, l'ICP-MS est aujourd'hui la plus largement utilisée et fera donc l'objet principal des paragraphes suivants.

4.2.1. Spectrométrie d'absorption atomique (SAA)

Principe

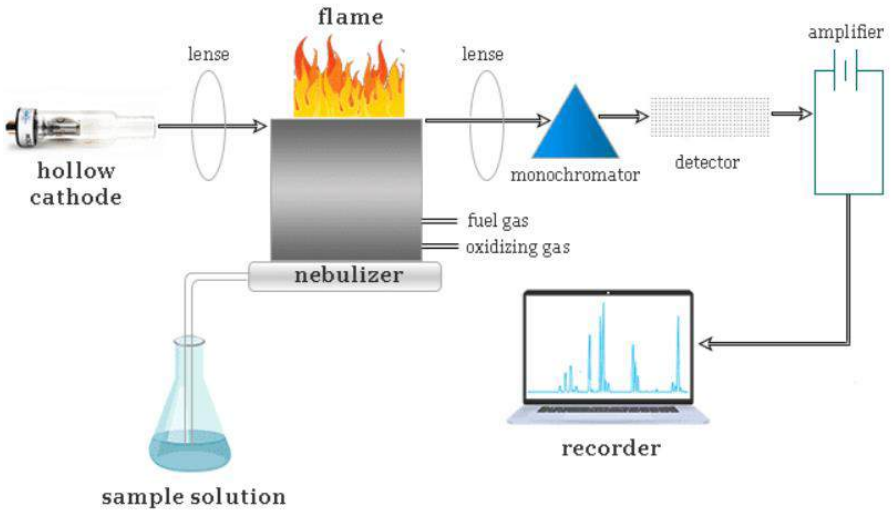
Il existe deux types de SAA, selon le principe de la source d'atomisation, à savoir (i) la SAA à flamme et (ii) la SAA à four graphite.

(A) La SAA est l'une des techniques les plus couramment utilisées pour déterminer les métaux traces dans une solution. Dans cette méthode, l'échantillon est aspiré dans une flamme (généralement air-acétylène ou protoxyde d'azote-acétylène), où le solvant s'évapore et les atomes de l'analyte sont atomisés thermiquement. Un faisceau lumineux provenant d'une lampe à cathode creuse, spécifique à l'élément d'intérêt, traverse la flamme.

Les atomes à l'état fondamental absorbent ce rayonnement à des longueurs d'onde caractéristiques, et la quantité de lumière absorbée est proportionnelle à la concentration de l'élément dans l'échantillon.

Avantages : Simple, relativement peu coûteuse, adaptée à l'analyse de routine d'un seul élément.

Limites : Moins sensible (généralement de l'ordre du ppm à quelques ppb) que la SAA par four à graphite ou l'ICP-MS. Principalement adaptée aux éléments présents à des concentrations modérées.



(https://www.priyamstudycentre.com/2021/11/atomic-absorption-spectroscopy.html)

(B) SAA à four graphite (SAA FG) - dans ce cas, un petit aliquot de l'échantillon est introduit dans un tube graphite (four). L'échantillon est soumis à une séquence programmée de séchage, de pyrolyse et d'atomisation à haute température. Les atomes libres formés dans le four absorbent la lumière d'une lampe à cathode creuse spécifique à l'élément, et l'absorbance est proportionnelle à la concentration de l'analyte.

Avantages

- Très haute sensibilité, avec des limites de détection de l'ordre du pg–ng/L.
- Nécessite de très petits volumes d'échantillon (5–20 µL).
- Pas de nébulisation → haute efficacité d'introduction des échantillons.
- Peut traiter des matrices complexes grâce à des programmes de température optimisés.
- Convient parfaitement à l'analyse des éléments traces dans les échantillons d'eau, alimentaires, environnementaux ou biologiques.

Limites

- Technique monoélémentaire (un élément mesuré à la fois).
- Analyse plus lente par rapport à l'ICP-OES ou à l'ICP-MS.
- Sensible aux interférences matricielles → nécessite souvent des modificateurs chimiques.
- La contamination et l'usure du tube en graphite nécessitent un entretien et un remplacement périodique.
- Plage dynamique plus petite que les techniques basées sur l'ICP.

Co-funded by the European Union

4.2.2 Spectroscopie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-OES)

Principe

L'ICP-OES repose sur l'excitation d'atomes et d'ions dans un plasma très chaud (≈ 6 000 à 10 000 K) (ICP). Le plasma est généré par un flux d'argon alimenté par un champ radiofréquence. Lorsque la solution échantillon est nébulisée et introduite dans le plasma, la température élevée provoque l'atomisation et l'excitation des éléments. Lorsque ces atomes et ions reviennent à des états énergétiques plus bas, ils émettent de la lumière à des longueurs d'onde caractéristiques. Un spectromètre sépare et mesure cette lumière émise, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration de chaque élément.

Avantages

- **Capacité multi-élémentaires : peut mesurer simultanément des dizaines d'éléments.**
- **Large plage dynamique : convient pour des concentrations allant du µg/L (ppb) au mg/L (ppm).**
- **Robustesse : traite des matrices complexes (digestats de sol, effluents industriels, échantillons biologiques).**
- **Rapidité : analyse rapide par rapport aux techniques mono-élémentaires telles que la SAA.**

Limites

- **L'ICP-OES est sensible, mais ses limites de détection ne sont pas aussi basses que celles de l'ICP-MS, en particulier pour les métaux à l'état de traces (plage ng/L–µg/L).**
- **L'ICP-OES n'est pas idéal pour l'analyse des ultra-traces**
- **Les matrices complexes (par exemple, les échantillons biologiques) peuvent produire de nombreuses raies d'émission qui chevauchent partiellement le signal de l'analyte.**

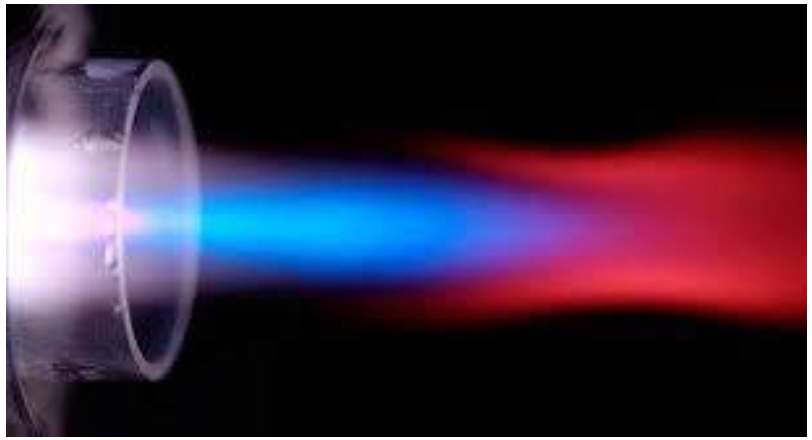
4.2.3. Spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS)

⇒ **L'analyse par ICP-MS commence par l'introduction/le transport de l'échantillon vers le nébuliseur à l'aide d'une pompe péristaltique. L'échantillon est nébulisé et transformé en un aérosol fin par le nébuliseur.**

⇒ **L'aérosol est ensuite transporté vers le centre de l'ICP à travers une torche à plasma, généralement composée de trois tubes concentriques en quartz. Cette torche est positionnée à l'intérieur d'une bobine inductive qui génère des champs magnétiques à radiofréquence (RF) qui créent et maintiennent le plasma.**

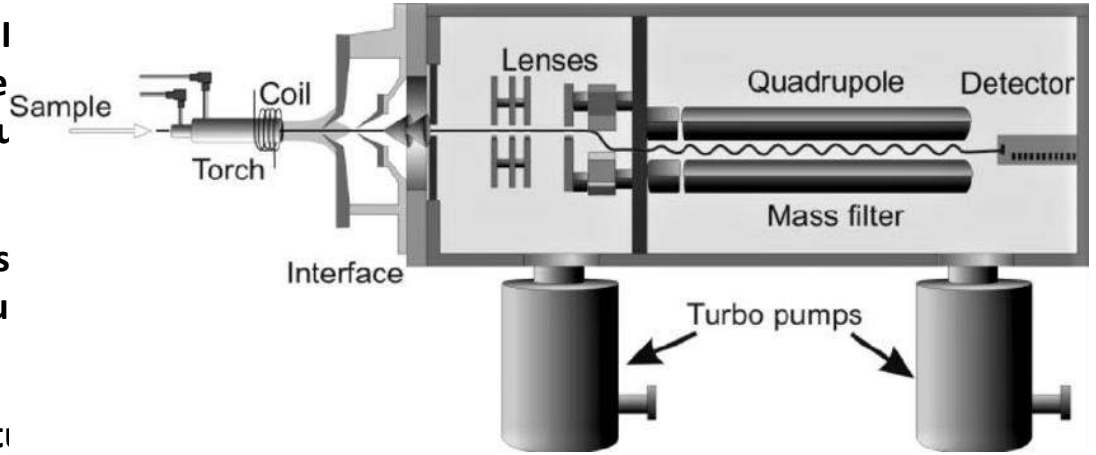
⇒ **À des températures élevées (6000 à 8000 K), le plasma atomise et ionise l'analyte, produisant (principalement) des cations à charge unique.**

⇒ **Les ions sont ensuite extraits via la zone d'interface et dirigés vers l'optique ionique, un ensemble de lentilles électrostatiques qui focalisent et guident les ions.**



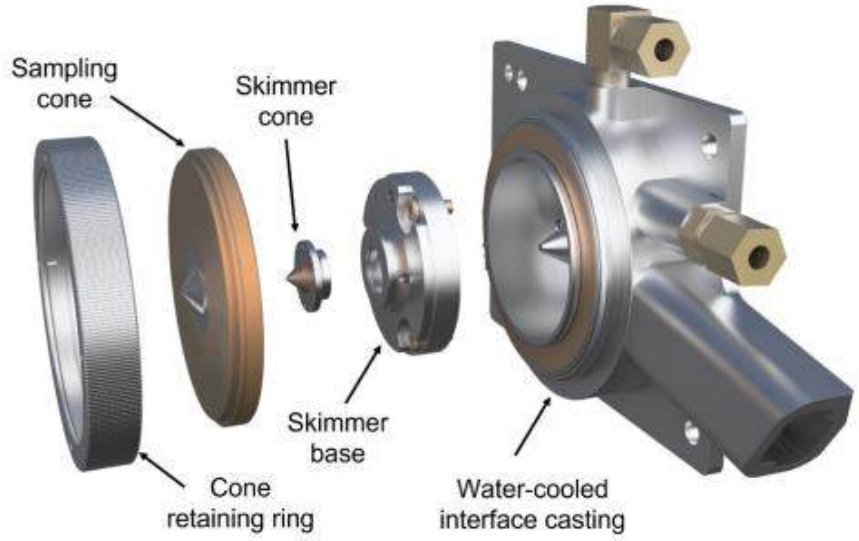
https://www.nature.com/articles/milemassspec10

- **L'ICP-MS comporte sept compartiments de base : le système d'introduction des échantillons (nébuliseur, chambre de nébulisation), une torche, l'ICP, l'interface conique (échantillonneur et écrêteur), l'optique ionique, l'analyseur de masse et le détecteur.**
- **La source d'ionisation standard que l'on trouve dans tous les instruments I MS commerciaux est un ICP à base d'argon. Ce plasma est créé à l'aide champs magnétiques à radiofréquence (RF) générés par une bobine enrou autour d'une torche en quartz.**
- **Les torches standard que l'on trouve dans les équipements commerciaux s généralement basées sur le modèle Fassel, caractérisée par trois tu concentriques en quartz.**
- **Dans cette conception, le tube extérieur contient le gaz plasma, le t intermédiaire transporte le gaz auxiliaire et le tube central (appelé tube injecteur) est destiné au gaz vecteur.**
- **L'Ar est souvent utilisé comme gaz de fonctionnement pour les trois flux de gaz.**



Le schéma illustrant la partie principale décrite ci-dessus est fourni dans la figure ci-dessus.

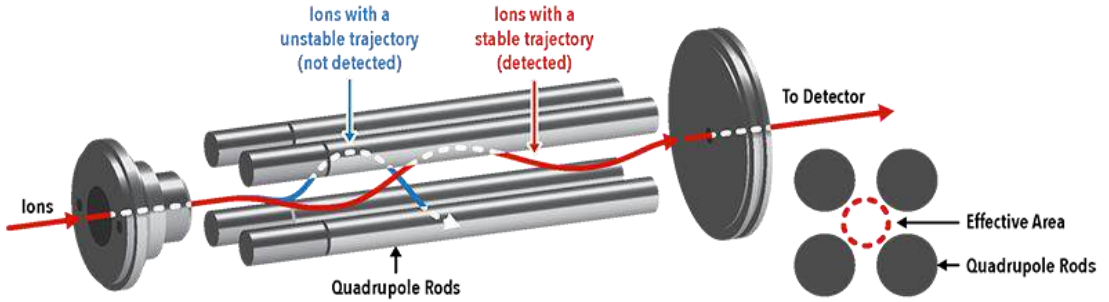
- La zone d'interface est constituée de deux cônes : l'échantillonneur et l'écrêteur.
- Ces cônes extraient les ions du plasma, une pompe primaire maintenant un vide d'environ 101 Pa entre eux.
- Derrière le cône échantillonneur, un jet supersonique se forme et traverse le cône écrêteur avant d'entrer dans le système optique ionique. Ce dernier focalise le faisceau d'ions et le dirige vers l'analyseur de masse quadripôlaire, qui traite ensuite le faisceau.
- Les analyseurs de masse les plus courants en ICP-MS sont les quadripôles.



Composants de l'interface d'un ICP-MS.

https://www.agilent.com/cs/library/flyers/public/flyer-interface-cones-icp-ms-5994-4695EN-agilent.pdf?srsltid=AfmBOooVwnfd4r67Or0-H7MOj11qAcjqQlfaixHVJ5cnoQmYrVszjBTD

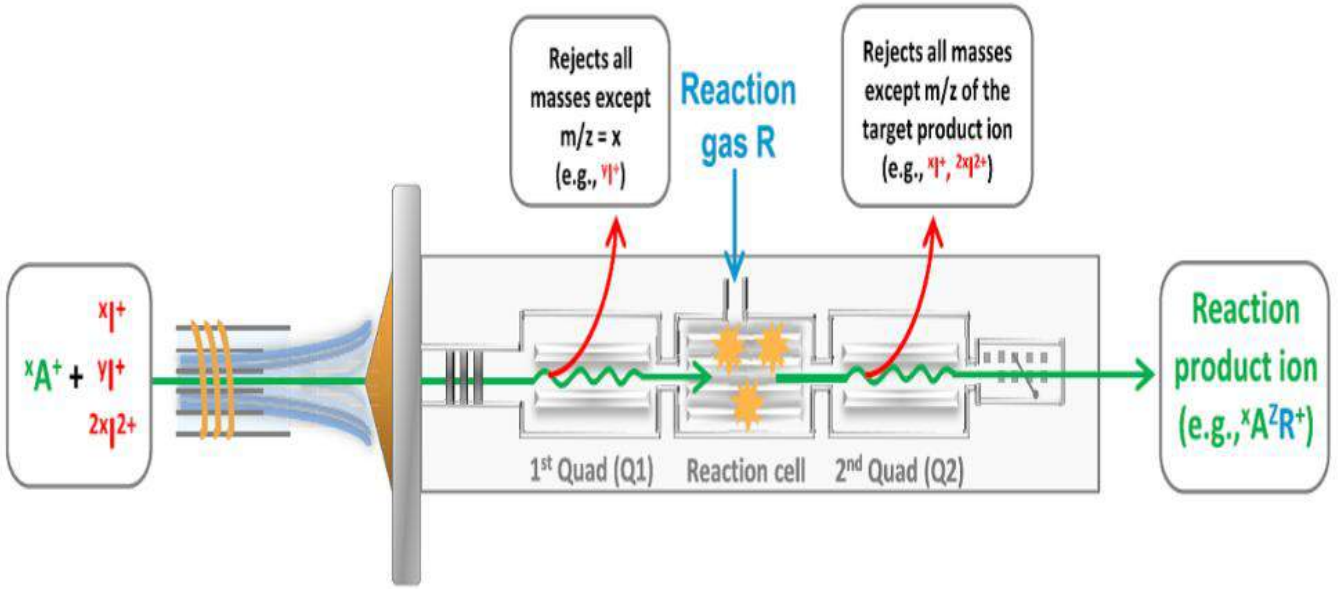
- L'analyseur de masse quadripôlaire, qui fonctionne comme un filtre de masse, est constitué de quatre tiges circulaires alimentées simultanément par un courant continu et une tension radiofréquence. Cette configuration sépare les ions en fonction de leur rapport de masse (m/z).
- Les ions sélectionnés sont ensuite dirigés vers le détecteur, un multiplicateur d'électrons, qui les quantifie. Un vide poussé, maintenu par des pompes turbomoléculaires, est indispensable au bon fonctionnement de l'analyseur et du détecteur.
- Les ions formés dans le plasma à couplage inductif (ICP) sont très réactifs et peuvent se combiner avec d'autres ions, formant ainsi des espèces polyatomiques susceptibles de générer des interférences.
- Par exemple, la présence de chlore (Cl) ou de carbone (C) peut interagir avec l'argon (Ar), le gaz vecteur, produisant des espèces polyatomiques telles que $^{40}Ar^{35}Cl$ et $^{40}Ar^{12}C$.
- Ces espèces interfèrent avec la mesure précise d'éléments comme l'arsenic (^{75}As) et le chrome (^{52}Cr) en se superposant à leurs signaux.



https://www.spectro.com/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms-principle

Co-funded by the European Union

- **Pour contrer les interférences polyatomiques, des approches plus avancées incluent l'utilisation de cellules de collision, désormais standard dans tous les systèmes ICP-MS modernes.**
- **Les cellules de collision/réaction fonctionnent selon le principe de la discrimination d'énergie cinétique (DEC). Dans cette technique, un gaz de collision (tel que He, H_2 ou Xe) ou un gaz de réaction (tel que O_2, NH_3, CH_4 ou H_2) est introduit dans une cellule pressurisée.**
- **Le gaz de collision interagit à la fois avec les espèces polyatomiques interférentes et avec l'analyte cible. Du fait de leur taille plus importante, les espèces interférentes perdent plus rapidement leur énergie cinétique que les analytes cibles, ce qui permet de séparer les ions de l'analyte des ions interférents avant leur détection par l'analyseur de masse.**

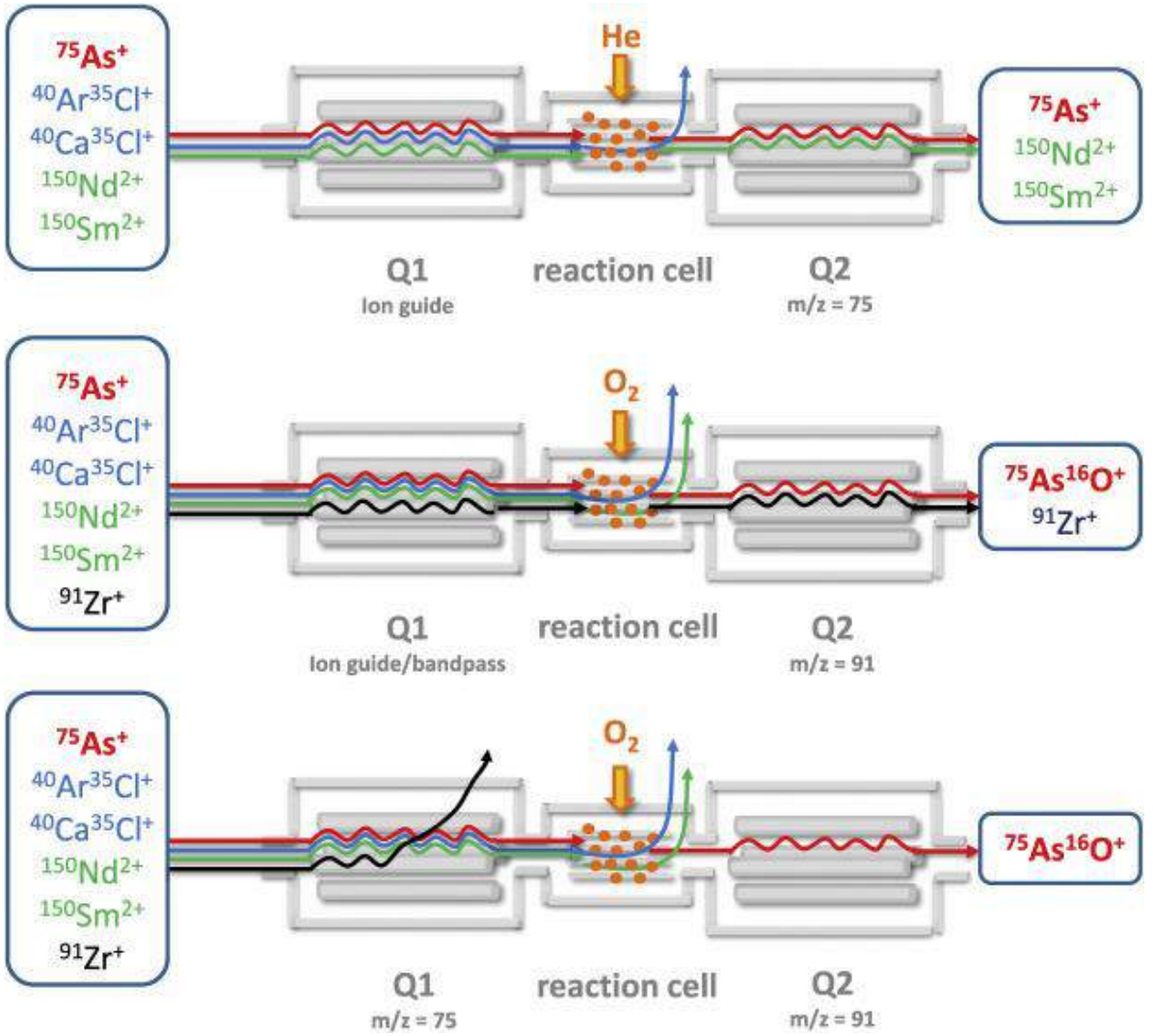


Représentation schématique du principe de fonctionnement du spectromètre de masse à plasma à couplage inductif en tandem (ICP-MS/MS)

https://www.ams.ugent.be/tandem-icp-mass-spectrometry-icp-msms

Co-funded by the European Union

- **Par ailleurs, lorsqu'un gaz de réaction est introduit, il peut réagir soit avec l'analyte cible, soit avec les espèces interférentes. Dans le premier cas, l'analyte cible forme une nouvelle espèce exempte d'interférences et détectable.**
- **Dans le second cas, les espèces interférentes sont converties en formes non chevauchantes, garantissant ainsi qu'elles n'interfèrent pas avec l'analyte d'intérêt. Ces deux processus améliorent considérablement la précision du dosage des éléments.**



Exemple de la valeur ajoutée de la sélection du mode double masse (MS/MS) pour la détermination de l'As dans des matrices complexes.

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000326701501065X

- La plupart des systèmes ICP-MS utilisent un détecteur à multiplicateur d'électrons (EM) pour quantifier les signaux ioniques. Un EM est constitué d'une séquence de plaques chargées appelées dynodes.

- Lorsqu'un ion frappe la première dynode, il génère plusieurs électrons qui sont accélérés vers la dynode suivante, où d'autres électrons sont libérés.

- Cette cascade se poursuit à travers toute la chaîne de dynodes, amplifiant progressivement le signal jusqu'à ce qu'il soit suffisamment fort pour que l'électronique de comptage l'enregistre comme un événement ionique.

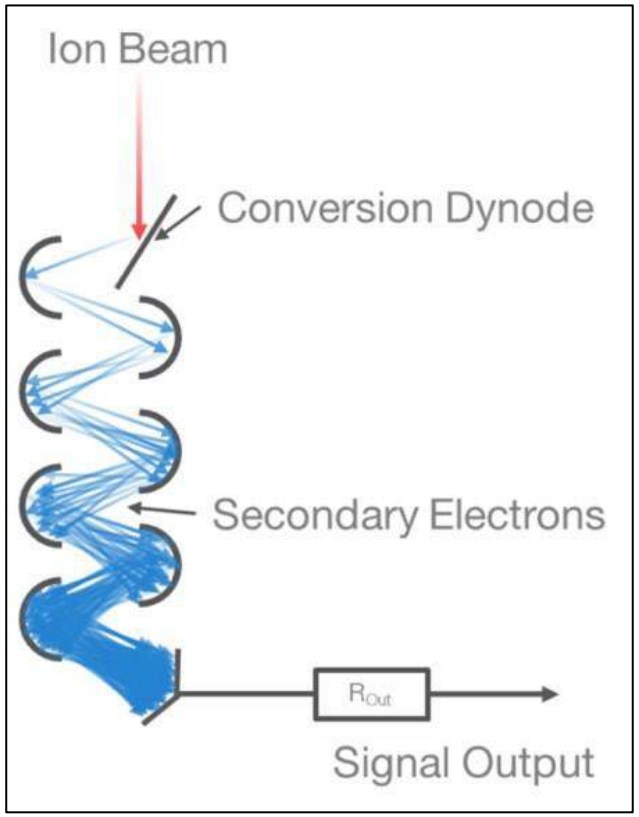


Schéma basique d'un multiplicateur d'électrons.

https://www.thermofisher.com/fr/fr/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/trace-elemental-analysis-tea-information/inductively-coupled-plasma-mass-spectrometry-icp-ms-information/icp-ms-systems-technologies.html

Co-funded by the European Union

4.3. Préparation des échantillons pour le dosage des éléments traces

- **Pour le dosage des éléments traces, les échantillons solides doivent être digérés afin d'être compatibles avec les techniques de spectrométrie atomique. Les principales techniques de dissolution des échantillons sont décrites ci-dessous.**
- **Il convient de noter que cette étape de la méthode d'analyse chimique est susceptible d'introduire la plus grande source d'incertitude (voir ci-dessous).**


Analytical Methods

RSC Publishing

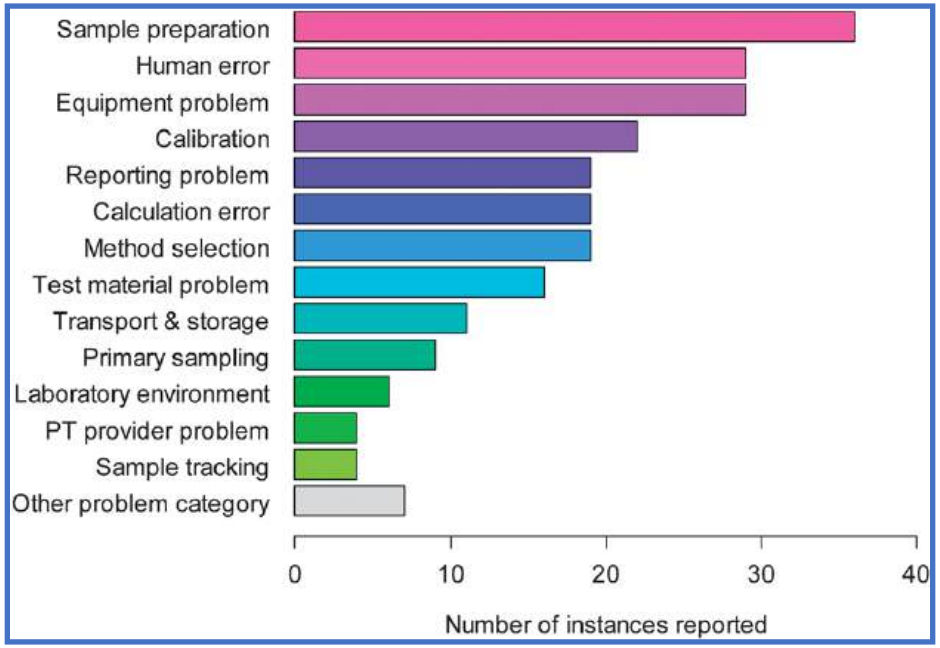
AMC TECHNICAL BRIEFS

View Article Online
View Journal | View Issue

What causes most errors in chemical analysis?

Cite this: *Anal. Methods*, 2013, **5**, 2914

Analytical Methods Committee, AMCTB No 56



4.3.1. Techniques classiques de dissolution



Plaque chauffante
(chauffage à système ouvert)

Acides forts (HNO_3, HCl, H_2SO_4, $HClO_4$)
ou
Acides forts + oxydants (H_2O_2)



Bombe de digestion
(chauffage en circuit fermé)

4.3.2. Techniques modernes de dissolution

(A) Digestion assistée par ultrason

- **Cette technique utilise une source d'énergie sous forme d'ondes acoustiques ultrasonores (> 20 kHz) pour accélérer l'agitation de l'échantillon.**
- **Deux types de systèmes à ultrasons sont actuellement disponibles pour une utilisation en laboratoire : les bains à ultrasons et les sondes à ultrasons (voir ci-dessous).**



Bain ultrasons

Acides forts (HNO_3, HCl, H_2SO_4, $HClO_4$)
ou
acides forts + oxydants (H_2O_2)



Sonde ultrasonique

(B) Digestion assistée par bloc chauffant

- Ces systèmes de digestion sont généralement conçus et fabriqués avec la technologie des blocs de graphite pour offrir des performances optimales dans les environnements de laboratoire difficiles.
- Ils sont tous dotés d'une construction non métallique avec un boîtier résistant à la corrosion et un bloc de graphite à revêtement protecteur. Ceci élimine la contamination des échantillons par l'instrument, résiste aux attaques corrosives agressives et assure la longévité du système.
- Les systèmes à bloc chauffant peuvent être commandés soit par un clavier simple d'utilisation, soit par un écran tactile couleur multimode.



Blocs chauffants type *DigiPrep*

Acides forts (HNO_3, HCl, H_2SO_4, $HClO_4$)

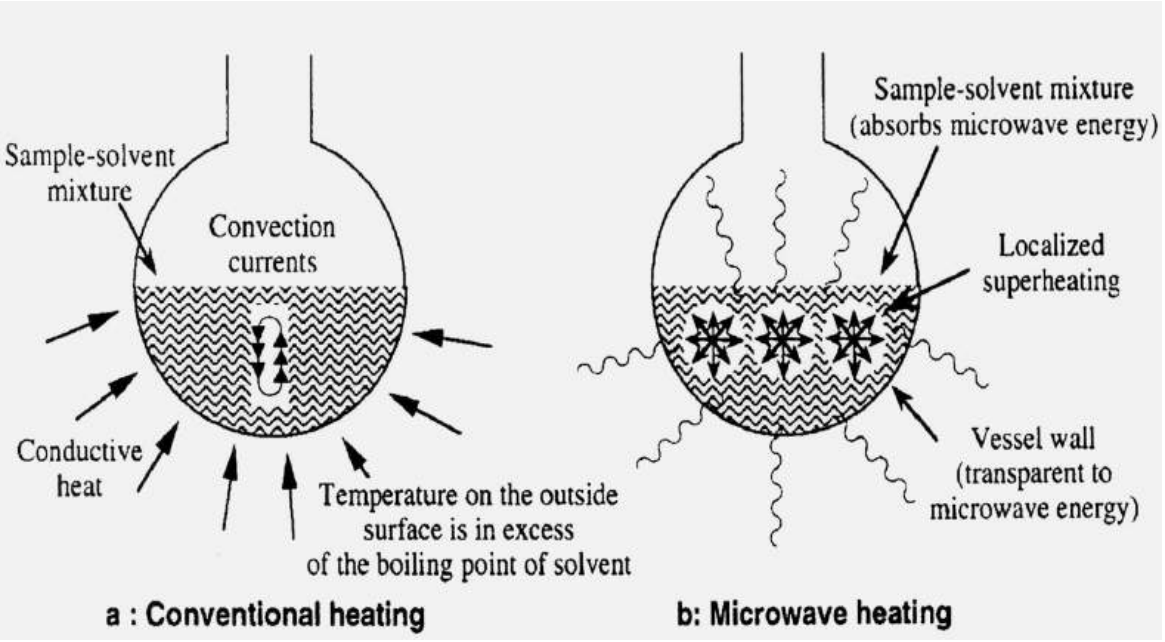
ou

Acides forts + oxydants (H_2O_2)

La figure de droite présente une image du bloc chauffant pour la digestion d'échantillons de la marque DigiPrep.

(C) Digestion assistée par micro-ondes

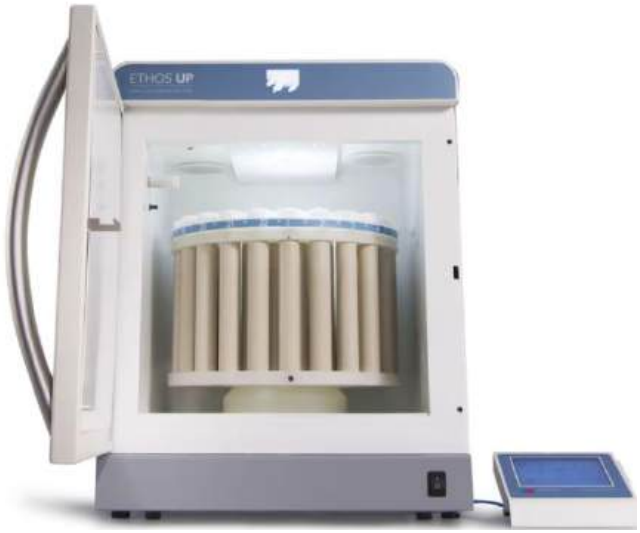
- L'énergie micro-ondes est une forme non ionisante de rayonnement électromagnétique (300 MHz à 300 GHz) qui induit un mouvement moléculaire par migration ionique et rotation dipolaire, sans toutefois modifier la structure moléculaire.
- La digestion acide assistée par micro-ondes (en système fermé) est une technique de préparation d'échantillons largement utilisée pour le dosage des éléments traces et ultra-traces par ICP-MS.
- Elle permet une minéralisation rapide des matrices alimentaires complexes sous haute pression et haute température, grâce à l'utilisation d'acide nitrique concentré (HNO_3) seul ou en combinaison avec des agents oxydants ou décomposant la matrice (par exemple, H_2O_2, HCl, HF/H_3BO_3).
- L'échantillon est mélangé directement aux réactifs de digestion dans le récipient de digestion, généralement en téflon ou en quartz.



Représentation schématique de la différence entre le chauffage conventionnel et le chauffage par micro-ondes.

Co-funded by the European Union

Différents types de systèmes de digestion par micro-ondes sont disponibles sur le marché aujourd'hui (voir ci-dessous une image d'un tel système).



Four à micro-ondes conventionnel (avec matras en téflon)

(https://www.chemeurope.com/en/products/1128777/microwave-digestion-system-ethos.html)

Acides forts (HNO_3, HCl, H_2SO_4, $HClO_4$)
ou
Acides forts+ oxydants (H_2O_2)



Système à micro-ondes de type « autoclave »

4.4. EXEMPLE: Préparation des échantillons et détermination des éléments traces par ICP-MS selon la méthode de référence multi-éléments de l'ANSES

- Le laboratoire Eléments Traces et Nanomatériaux (ETNA) de l'ANSES a récemment publié une méthode multi-éléments pour la détermination des éléments traces dans un large panel d'échantillons alimentaires (y compris les céréales) basée sur la mesure ICP-MS et la digestion acide micro-ondes en circuit fermé.
- Il convient de noter que cette méthode est également accréditée par le COFRAC (l'organisme français d'accréditation).
- Les principales caractéristiques de cette méthode, parfaitement compatible avec le projet actuel, sont présentées brièvement ci-dessous.

Préparation des échantillons pour l'analyse

À toutes les étapes, il est essentiel de veiller à ce que les niveaux de contamination soient maintenus aussi bas que possible (décontamination de la verrerie et des autres matériaux en contact avec les échantillons/étalons, bonnes pratiques de laboratoire).

Echantillonnage

L'échantillonnage doit être adapté en fonction du système de digestion (capacité du récipient et augmentation potentielle de la pression). Il est essentiel de suivre les instructions fournies par le fabricant du système utilisé pour la digestion des échantillons.

Co-funded by the European Union

Ajout d'acide (pour la digestion de l'échantillon)

- **Le volume de solution acide nécessaire à la dissolution (digestion) de l'échantillon dépend du système utilisé et de la nature de l'échantillon. On utilise généralement HNO_3 (environ 3,0 mL). L'ajout d'une petite quantité de mélange HNO_3/H_2O_2 (0,5 à 1,0 mL) est également possible pour augmenter le pouvoir oxydant de la digestion et limiter la formation d'oxydes d'azote.**
- **L'ajout d'une solution de HCl est aussi envisageable, car il favorise la dissolution de certains composés tels que les chlorures de plomb et minimise l'adsorption de certains éléments sur les parois des récipients de digestion ou lors du transfert de solutions minéralisées.**
- **Dans tous les cas, le programme de digestion doit être adapté conformément aux recommandations du fabricant du système de digestion utilisé.**
- **Après l'ajout de l'acide (ou du mélange de réactifs), agiter doucement le récipient de digestion pour éviter l'agglomération de l'échantillon avant de le refermer.**
- **Attendre environ 30 minutes à température ambiante pour permettre une prédigestion (recommandée pour les systèmes de minéralisation par micro-ondes) avant de lancer le programme de digestion.**
- **La prédigestion peut durer plusieurs heures, voire une nuit entière, selon le type d'échantillon et le système de digestion utilisé (elle n'est pas nécessaire si la digestion est effectuée avec un bloc chauffant ouvert).**



https://lab-training.com/how-to-safely-carry-out-laboratory-digestions/

Co-funded by the European Union

Digestion:

- Procéder à la digestion de l'échantillon, en ajoutant de l'eau ultrapure si nécessaire, selon le système de digestion choisi.
- L'état final de la digestion dépend de la température : plus la température est élevée, meilleure est la qualité de la solution minéralisée.
- La solution obtenue après digestion doit être limpide, exempte de particules en suspension et avoir un volume équivalent à celui d'avant digestion.
- La prise d'essai de l'échantillon, les volumes de solution de digestion et les durées de chauffage doivent être adaptés au type d'équipement utilisé, en suivant les recommandations du fabricant.
- Laisser le récipient de digestion refroidir à température ambiante et le rincer (y compris le bouchon) à l'eau ultrapure. Transférer ensuite la solution dans une fiole jaugée de 50 mL ou un tube en polypropylène de 50 mL. Ajouter 100 µL de solution d'étalon interne et compléter à volume avec de l'eau ultrapure.



Co-funded by the European Union

Notes:

(i) Les solutions peuvent être filtrées à l'aide de filtres seringues si nécessaire (notamment lors de l'utilisation d'un système de digestion avec bloc chauffant) ; dans ce cas, préciser le type de filtres utilisés (taille des pores et composition chimique). Des seringues de 20 mL avec des filtres PVDF de 0,45 µm (Millex ou équivalent) ou des filtres PTFE DigiFILTER de 0,45 µm (SCP SCIENCES ou équivalent) peuvent être utilisées.

(ii) Toutes les solutions à analyser (y compris les blancs et les solutions étalons) doivent contenir des étalons internes à la même concentration. La solution d'étalon interne peut également être ajoutée en ligne à l'aide d'une pompe péristaltique.

(iii) Pour garantir la validité (exactitude) des résultats analytiques, il est nécessaire d'analyser simultanément des matériaux de référence (MR) à teneur connue en analyte dans les mêmes conditions. En l'absence de MR, l'exactitude est vérifiée par l'analyse d'échantillons dopés à des concentrations connues. Des essais à blanc doivent également être réalisés pour vérifier l'absence de contamination. La position du MR/échantillon enrichi dans le système de digestion doit être alternée afin de tester l'efficacité de chaque position.



https://www.flaticon.com/free-icon/notebook_7063317

Co-funded by the European Union

Programmes de digestion pour deux systèmes de digestion par micro-ondes (Anton Paar Multiwave PRO et Multiwave 7000).

Multiwave Pro		
Step	**Power (W)**	**Time (min)**
1	800	1
2	800 - 1300	3
3	1300	35
4*	0	-
Multiwave 7000		
Step	**Temperature (°C)**	**Time (min)**
1	20 - 250	20
2	250	10
3	80	-
* cooling		





Contrôles qualité internes

- Plusieurs contrôles qualité internes (CQI) et critères associés sont utilisés pour garantir la fiabilité des résultats. Chaque série d'analyses comprend un étalonnage standard, plusieurs blancs, plusieurs matériaux de référence certifiés (MRC) et différentes solutions d'échantillons dopées.

- Les critères définis sont généralement les suivants :

Etalonnage (r^2 > 0,995), blancs (valeurs < limite de quantification [LQ]), standards internes (valeurs comprises entre 70 et 130 % de la valeur cible), standards intermédiaires (valeurs comprises entre 80 et 120 % de la valeur cible), solutions d'échantillons dopées (taux de récupération compris entre 70 et 130 % de la valeur théorique de l'échantillon dopé), MRC (score Z < ± 2) et doubles (acceptables si l'écart-type relatif [RSD] ≤ 20 % lorsque la valeur moyenne ≥ 5 fois la LQ ou RSD ≤ 40 % lorsque la valeur moyenne ≥ LQ et < 5 fois la LQ).

Lorsque les critères d'acceptation ne sont pas respectés, les résultats sont rejetés et les échantillons sont réanalysés.



https://www.educatinguk.com/what-is-internal-quality-assurance/

Détails de la méthode disponibles sur :
https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157525015273?via%3Dihub

Co-funded by the European Union

BIBLIOGRAPHIE

1. Abdelmonem, B. H., Kamal, L. T., Elbaz, R. M., Khalifa, M. R., & Abdelnaser, A. (2025). From contamination to detection: The growing threat of heavy metals. *Heliyon*, *11*(1), e41713.
2. Al-Hakkani, M. F. (2019). Guideline of inductively coupled plasma mass spectrometry “ICP–MS”: fundamentals, practices, determination of the limits, quality control, and method validation parameters. SN Applied Sciences, 1(7), 791.
3. Balcaen L. , Bolea-Fernandez E. , Resano M. , Vanhaecke F. Inductively coupled plasma – Tandem mass spectrometry (ICP-MS/MS): A powerful and universal tool for the interference-free determination of (ultra)trace elements – A tutorial review, Anal. Chim. Acta, 2015, 894, 7-19.
4. Camilleri, R., Stark, C., Vella, A. J., Harrison, R. M., & Aquilina, N. J. (2023). Validation of an optimised microwave-assisted acid digestion method for trace and ultra-trace elements in indoor PM2.5 by ICP-MS analysis. Heliyon, 9(1), e12844.
5. LeufroyA. , MazuraisC. , Zephyr N. , Chekri R. , Marchond N. and Jitaru P. Advanced ICP-MS method for multi-element determination in food: Validation by the accuracy profile approach and application to a wide range of matrices. J. Food Comp. Anal., J. Food Comp. Anal. 2026, 149, 108711.
6. Machado, R. C., Amaral, C. D. B., Schiavo, D., Nóbrega, J. A., & Nogueira, A. R. A. (2017). Complex samples and spectral interferences in ICP-MS: Evaluation of tandem mass spectrometry for interference-free determination of cadmium, tin and platinum group elements. Microchemical Journal, 130, 271-275.
7. McCurdy, E., Sugiyama, N., & Wilbur, S. M. (2010). Optimizing Performance for a Collision/Reaction Cell ICP-MS System Operating in Helium Collision Mode. Spectroscopy Supplements, 25(11), 20-29.
8. Mukarram M., Ahmad B. , Choudhary S. , Konôpková A. S. , Kurjak D. , M. M. A. Khan, A. Lux, *Silicon nanoparticles vs trace elements toxicity: Modus operandi and its omics bases*, Front. Plant Sci., 15, 2024.
9. Rawat et. al. Emerging techniques for the trace elemental analysis of plants and food-based extracts: A comprehensive review, Talanta, 10, 2024.
10. Patriarca, M., Barlow, N., Cross, A., Hill, S., Robson, A., & Tyson, J. (2023). Atomic spectrometry update: review of advances in the analysis of clinical and biological materials, foods and beverages. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 38(3), 496-577.
11. Wilschefski, S. C., & Baxter, M. R. (2019). Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. The Clinical Biochemist Reviews, 40(3), 115-133.
12. Xing, L. (2022). Determination of Toxic Elements in Food by ICP-MS Using AOAC Method 2015.01. 37, 7-12.

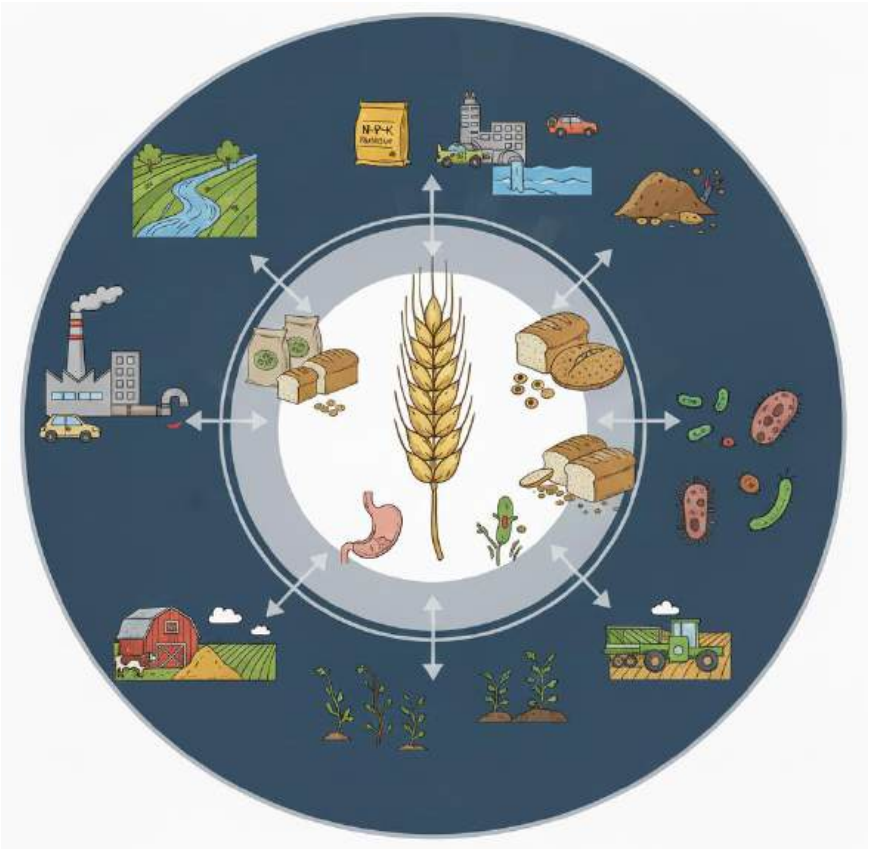
Co-funded by the European Union

CHAPITRE 5.

Mesures visant à détecter la contamination des céréales et de leurs produits dérivés par des composés azotés

Co-funded by the European Union

La détection de la contamination par des composés azotés des céréales et de leurs produits dérivés est essentielle pour la sécurité alimentaire et le contrôle de la qualité. Le conflit en Ukraine a engendré de nouvelles sources de contamination qui dépassent le cadre des méthodes de surveillance traditionnelles. Pour faire face à ces risques, il est impératif de mettre en œuvre des méthodes de détection actualisées, axées sur les résidus d'explosifs et les modifications chimiques liées au conflit.



Formes pertinentes d'azote dans les céréales et leurs produits dérivés :

• Azote total/Protéines brutes : Azote lié aux protéines (majoritaire) et son rôle.

• Azote non protéique (ANP) : - Adultérants : Urée, mélamine et acide cyanurique. Ces composés riches en azote sont parfois ajoutés aux céréales ou à la farine pour en augmenter artificiellement la teneur en protéines. - Métabolites naturels : Acides aminés libres, acides nucléiques (ADN/ARN), ammoniac et peptides.
-Engrais : Sels d'ammonium (comme le phosphate ou le sulfate d'ammonium) pouvant rester sur les cultures.

• Composés azotés inorganiques :

Nitrates (NO_3^-) : Souvent un indicateur de surfertilisation ou de contamination de l'eau.

Nitrites (NO_2^-) : Peuvent se former par réduction des nitrates.

Co-funded by the European Union

- Dans le contexte du conflit en Ukraine, la contamination des céréales par des composés azotés a pris une nouvelle dimension, passant des risques agricoles classiques à des menaces chimiques et toxicologiques complexes. Ces formes de contamination peuvent être classées en trois grandes catégories :
- I. Résidus de munitions et d'explosifs
- La plupart des explosifs modernes sont des composés organiques riches en azote. Il ne s'agit pas de simples polluants ; ce sont des substances à fort potentiel toxique.
- - RDX (cyclonite) et HMX : Ce sont des composés nitro-organiques très stables. Le RDX est soluble dans l'eau et mobile dans le sol, et facilement absorbé par les racines du blé et du maïs. Il s'accumule dans le grain et peut persister dans la farine.
- - TNT (trinitrotoluène) : Bien que moins mobile que le RDX, sa présence dans le sol des cratères d'explosion inhibe la croissance des plantes et peut contaminer la récolte par la poussière déposée sur les plantes (contamination de surface).
- - Produits de dégradation : Au fil du temps, ces explosifs se décomposent en amines aromatiques, souvent plus toxiques ou persistantes que les composés d'origine.



Co-funded by the European Union

- **II. Contamination atmosphérique et « pluies acides »**
- **L'explosion d'un seul missile ou obus d'artillerie libère d'énormes quantités d'oxydes d'azote.**
- **- Acide nitrique (HNO_3) : Les oxydes d'azote réagissent avec l'humidité atmosphérique pour former de l'acide nitrique, qui retombe sous forme de pluies acides. Ces précipitations entraînent une forte augmentation de la teneur en nitrates et nitrites de la couche arable et de la surface des feuilles, perturbant le métabolisme azoté des plantes et conduisant à une accumulation anormale de nitrates dans les grains récoltés.**
- **III. Dégradation nutritionnelle (le paradoxe de l'azote)**
- **La guerre n'apporte pas seulement des composés toxiques ; elle provoque également une « carence en azote » contrôlée qui modifie la composition des produits dérivés.**
- **Diminution des protéines : En raison de la destruction des infrastructures de production d'engrais (par exemple, l'usine Azovstal ou les usines situées dans les zones occupées), les cultures ne reçoivent plus la fertilisation nécessaire. Les céréales qui en résultent ont une teneur en protéines et en azote nettement inférieure. Cela affecte la qualité boulangère (farine à faible teneur en gluten) et la valeur nutritionnelle des produits dérivés.**

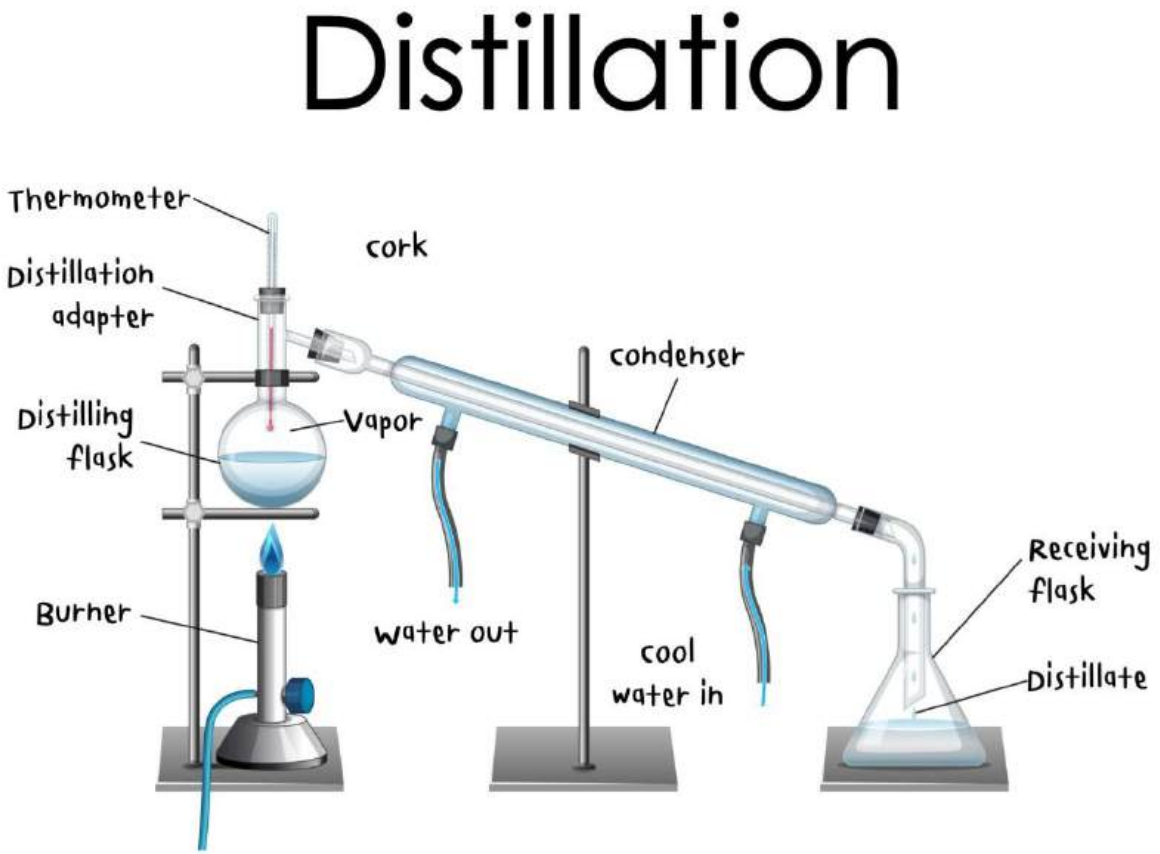


Co-funded by the European Union

Méthodes de détection des composés azotés

1. Méthode Kjeldahl (azote total)

La méthode Kjeldahl est la méthode classique pour déterminer la teneur en azote total d'un échantillon, qui sert ensuite à estimer sa teneur en protéines. Bien qu'elle mesure tout l'azote organique et inorganique (à l'exception de certains cycles et de l'azote des composés azoïques), une teneur en azote total anormalement élevée, ne correspondant pas aux niveaux de protéines attendus, peut être un signe de contamination (par exemple, en présence d'un composé azoté non protéique comme la mélamine).



Principe : L'échantillon est digéré avec de l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur afin de convertir tout l'azote en sulfate d'ammonium. L'ammonium est ensuite libéré sous forme d'ammoniac par distillation avec une base forte, recueilli dans une solution acide et quantifié par titrage.

Co-funded by the European Union

- ***Protocole de la méthode Kjeldahl***
- ***- 1. Préparation de l'échantillon*** **: Les céréales sont broyées finement (environ 0,5 à 1,0 mm) pour garantir leur homogénéité. Peser précisément 1 à 2 g de l'échantillon (selon la teneur estimée en protéines) et l'introduire dans le ballon de digestion.**
- ***- 2. Digestion (minéralisation)*** **: Cette étape transforme l'azote organique en sulfate d'ammonium $(NH_4)_2SO_4$: ajouter 20 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) et un catalyseur (généralement un comprimé de sulfate de cuivre ou de sélénium). Commencer à basse température pour éviter la formation de mousse (caramélisation de l'amidon), puis augmenter progressivement la température jusqu'à environ 370-400 °C. La digestion est terminée lorsque la solution devient limpide et de couleur bleu-vert clair. Laisser bouillir pendant 30 à 60 minutes supplémentaires pour assurer une digestion complète.**
- ***- 3. Distillation*** **: Après refroidissement, le digestat est dilué avec de l'eau distillée. Une solution concentrée de NaOH (40-45 %) est ajoutée pour libérer l'ammoniac sous forme gazeuse : $(NH_4)_2SO_4 + 2\ NaOH \rightarrow Na_2SO_4 + 2\ NH_3\uparrow + 2\ H_2O$. L'ammoniac est distillé à la vapeur et recueilli dans un récipient contenant un volume connu d'acide borique (H_3BO_3) ou d'acide fort (HCl ou H_2SO_4).**



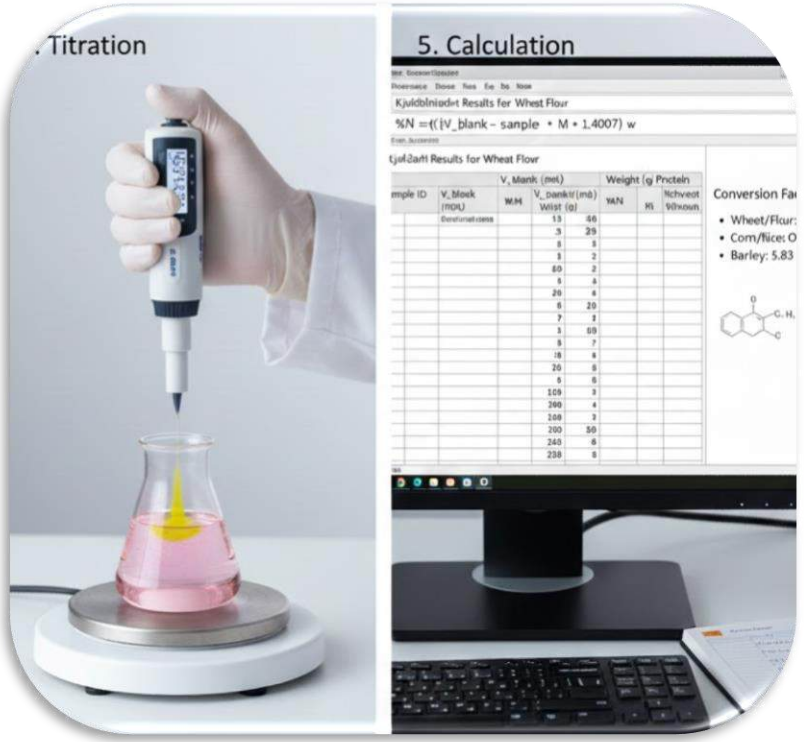
- *4. Titrage :* Si l'acide borique a été utilisé, titrer directement avec HCl ou H_2SO_4 jusqu'à ce que l'indicateur change de couleur (du vert au rose/violet). Si la méthode de titrage en retour a été utilisée, titrer l'excès d'acide avec NaOH.
- *5. Calculs :* Le résultat final est obtenu en calculant le pourcentage d'azote, qui est ensuite converti en protéines brutes à l'aide d'un facteur de conversion spécifique aux céréales.
- *Calcul du pourcentage d'azote (N%) :*

$$\%N = \frac{(V_{blanc} - Vech.) \times M \times 1.4007}{m}$$

- Où : V_{blanc} - Volume de NaOH utilisé pour l'échantillon témoin (ml).
- Vech. - Volume de NaOH utilisé pour l'échantillon de grain (ml).
- M – Molarité réelle de la solution de NaOH
- 1.4007 - Facteur dérivé de la masse atomique de l'azote (14,007) corrélé aux unités de mesure.
- m – Masse de l'échantillon de grain en grammes (g).
- Calcul des proteines brutes (%P) :

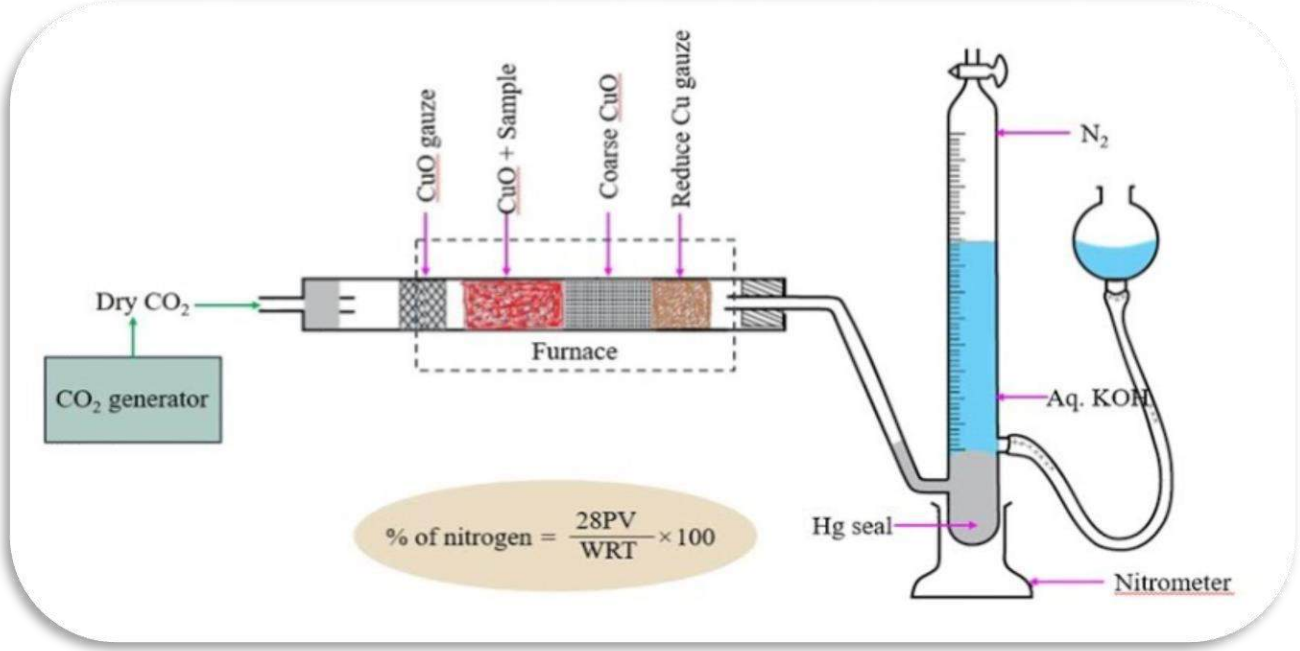
$$\%Proteine = \%N \times F$$

- Facteur de conversion courant (F) :
- 5,70 – pour le blé et la farine de blé (principalement utilisés dans l'industrie meunière)
- 6,25 – pour le maïs, le riz, l'avoine et la plupart des autres céréales ou aliments pour animaux
- 5,83 – pour l'orge



Co-funded by the European Union

- **2. <u>Méthode Dumas</u>**
- **La méthode Dumas représente une alternative moderne, automatisée et rapide à la méthode Kjeldahl traditionnelle pour la détermination de la teneur totale en azote dans les échantillons organiques (aliments, aliments pour animaux, sols).**
- **Le procédé repose sur la conversion de tout l'azote contenu dans un échantillon en gaz par oxydation complète.**
- **1. Combustion (oxydation) : L'échantillon est brûlé dans un four à très haute température (généralement entre 800 et 1 000 °C) sous atmosphère enrichie en oxygène. Tous les éléments sont convertis en gaz : le carbone devient CO_2, l'hydrogène devient H_2O et l'azote devient N_xO_y (oxydes d'azote) et N_2.**

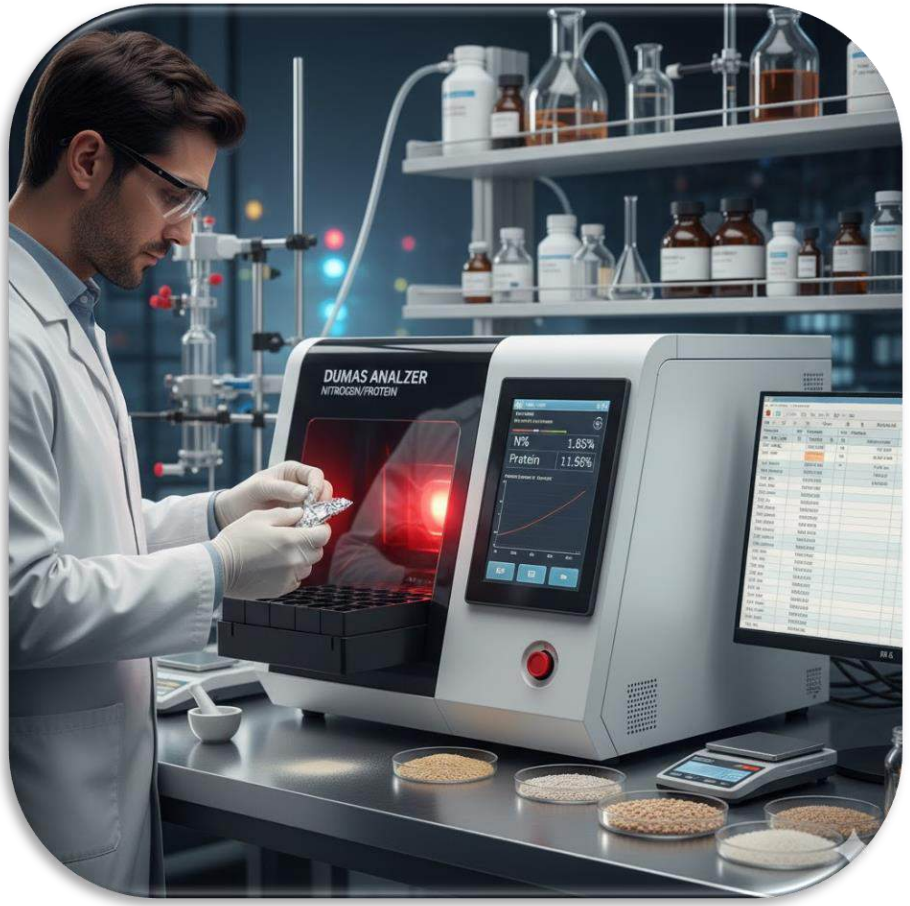


Co-funded by the European Union

- *2. Réduction :* Les gaz obtenus passent sur un lit de cuivre chauffé. Les oxydes d'azote y sont réduits en diazote.
- *3. Purification* (piégeage des sous-produits) *:* Le mélange gazeux traverse des colonnes d'absorption qui éliminent l'eau et le dioxyde de carbone, ne laissant que le diazote et le gaz vecteur (généralement de l'hélium ou de l'argon).
- *4. Détection (TCD) :* Le diazote pur est mesuré à l'aide d'un détecteur de conductivité thermique (TCD). Le signal électrique généré est directement converti en pourcentage de diazote.



- *Avantages et limites*
- *Avantages :* **Outre sa rapidité, la méthode Dumas élimine le recours aux acides corrosifs et aux bases fortes. Elle est extrêmement précise pour les échantillons homogènes et permet un débit d'analyse journalier élevé.**
- *Limites :* **Le coût de l'instrument est nettement supérieur à celui d'un système de distillation. Elle exige également une préparation rigoureuse de l'échantillon (broyage fin), car la quantité analysée est généralement faible (milligrammes).**
- *Calcul des protéines :*
- ***Quelle que soit la méthode, une fois le pourcentage d'azote (N%) déterminé, la teneur en protéines brutes est calculée à l'aide d'un facteur de conversion spécifique au produit (par exemple, 6,25 pour la plupart des aliments).***
    - **Proteine (%)= %N x F**



Co-funded by the European Union

- 3. <u>Méthodes spectrophotométriques (nitrates et nitrites)</u>
- Ces méthodes sont spécifiques et très sensibles pour la mesure des concentrations de nitrate (NO_3^-) et de nitrite (NO_2^-). Les nitrites sont particulièrement préoccupants en raison de leur toxicité élevée et de leur potentiel à former des nitrosamines cancérigènes.
- <u>Nitrite</u> : La réaction de Griess est la méthode la plus courante. Le nitrite réagit avec une amine aromatique primaire (par exemple, le sulfanilamide) en milieu acide pour former un sel de diazonium. Ce sel est ensuite couplé à un autre composé aromatique (par exemple, le dichlorhydrate de N-(1-naphtyl)éthylènediamine ou NEDD) pour produire un colorant azoïque fortement coloré, dont l'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde spécifique (généralement autour de 540 nm).
- <u>Nitrate</u> : Le nitrate est faiblement coloré. Il doit d'abord être réduit en nitrite (par exemple, par réduction sur colonne de cadmium) avant d'appliquer la réaction de Griess pour sa quantification.

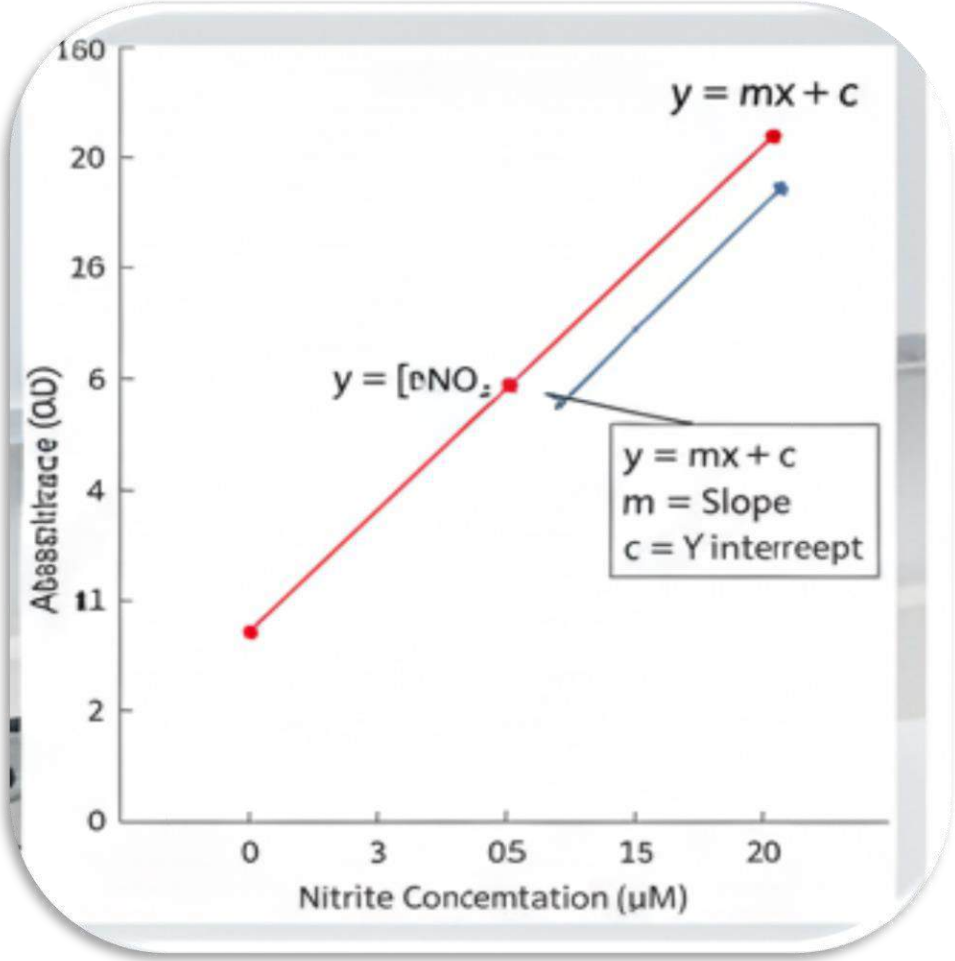


- ***Protocole de laboratoire***
- **Réactifs nécessaires :**
- **- Réactif de Griess A : Sulfanilamide à 1 % dans de l'acide phosphorique à 3 %**
- **- Réactif de Griess B : Dichlorhydrate de N-(1-naphtyl)éthylènediamine (NEDD) à 0,1 % dans de l'eau distillée**
- **- Solution étalon de nitrite : Solution de nitrite de sodium**
- **Procédure :**
- **- Préparation de l'échantillon : Si l'échantillon est trouble, le filtrer ou le centrifuger pour le clarifier.**
- **- Réaction : - Introduire 100 µl de l'échantillon (ou de la solution étalon) dans un tube à essai ou un puits de microplaque. - Ajouter 100 µl de réactif A et incuber 5 à 10 minutes à température ambiante (à l'abri de la lumière). Ceci permet la formation du sel de diazonium. - Ajouter 100 µl de réactif B. Une coloration rose apparaît presque immédiatement.**
- **Incubation : Attendre 10 minutes supplémentaires pour que la couleur se stabilise.**
- **Mesure : Mesurer l'absorbance à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.**



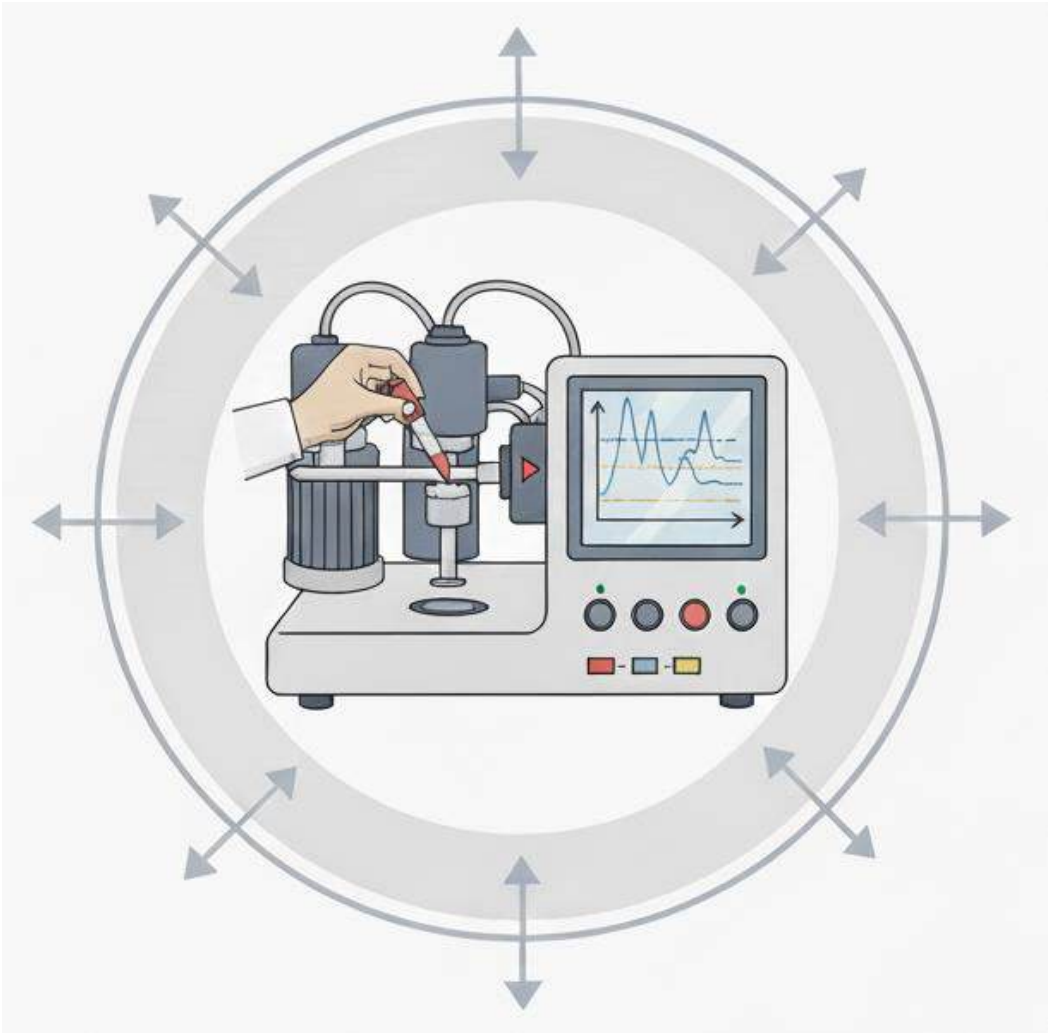
Co-funded by the European Union

- Création de la courbe d'étalonnage
- - Pour déterminer la concentration exacte de nitrite dans votre échantillon inconnu, vous devez la comparer à des valeurs connues.
- - Préparation des dilutions : Préparez une série de solutions étalons de $NaNO_2$ (par exemple, 0, 1, 2, 5, 10 et 20 µM).
- - Mesure de l'absorbance : Réalisez la réaction de Griess sur ces solutions étalons et notez la densité optique (DO).
- - Tracé du graphique : Tracez un graphique de la concentration (axe des abscisses) en fonction de l'absorbance (axe des ordonnées).
- - Régression linéaire : Utilisez la formule de la droite :
- y = mx + c
- y = Absorbance mesurée
- x = concentration de nitrite
- m = pente de la droite



Co-funded by the European Union

- 4. Méthodes chromatographiques (contaminants spécifiques)
- Pour la détection très spécifique et précise des contaminants azotés non protéiques tels que la mélamine, la méthode recommandée est la chromatographie liquide à haute performance (CLHP).
- • Principe : L'extrait d'échantillon est séparé en fonction des affinités différentielles des composants pour une phase stationnaire et une phase mobile.
- • Détection : Les composants séparés sont quantifiés à l'aide d'un détecteur très sensible, souvent un détecteur UV ou un spectromètre de masse (MS).
- o CLHP-UV : Utilisée pour la détection de la mélamine, généralement autour de 230 nm.
- o CLHP-MS/MS : Offre la plus grande sensibilité et une confirmation optimale, constituant la méthode de référence pour confirmer la présence et la concentration de contaminants spécifiques tels que la mélamine.

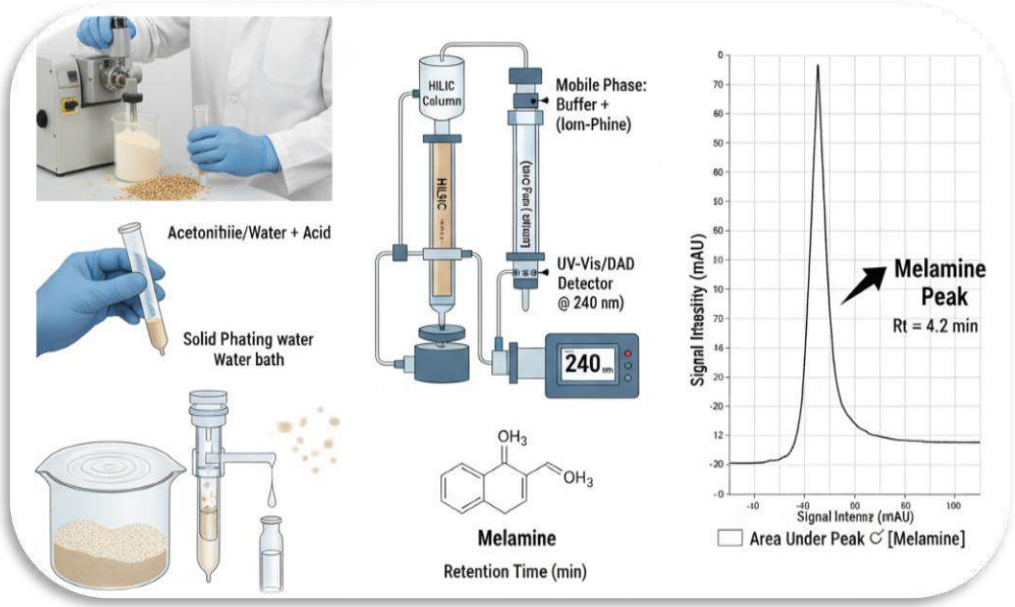


- ***Exemple : Détection de la mélamine dans les céréales par HPLC***

- ***Préparation de l'échantillon (extraction)*** **: Les céréales contenant des protéines, des lipides et des glucides susceptibles d'interférer avec la colonne HPLC, une étape d'extraction rigoureuse est nécessaire. L'échantillon de céréales est broyé en une poudre fine. Un mélange d'acétonitrile et d'eau (souvent additionné d'une petite quantité d'acide comme l'acide trichloroacétique ou la diéthylamine) est ajouté à l'échantillon. Le mélange est soniqué afin de dissoudre la mélamine dans le solvant. L'extrait est filtré et souvent passé sur une cartouche d'extraction en phase solide (SPE), généralement une résine échangeuse de cations, pour concentrer la mélamine et éliminer les impuretés.**

- **- *Conditions opératoires HPLC* : La mélamine étant un composé polaire, son analyse est généralement réalisée par HPLC en phase inverse ou par chromatographie liquide d'interaction hydrophile (HILIC). Colonne : Une colonne C18 est couramment utilisée, mais les colonnes de chromatographie par paires d'ions ou HILIC offrent une meilleure rétention pour la molécule de mélamine, très polaire. Phase mobile : Il s'agit généralement d'un mélange d'un tampon (par exemple, un tampon acétate d'ammonium ou phosphate) et d'un solvant organique comme l'acétonitrile. Détection : La mélamine présente une forte absorbance UV. Elle est généralement détectée à l'aide d'un détecteur UV-visible ou d'un détecteur à barrette de diodes (DAD) à une longueur d'onde de 240 nm.**

- **– *Déroulement de la chromatographie* : <u>Injection</u> : Un petit volume (par exemple, 20 µl) d'extrait purifié est injecté dans le système. <u>Séparation</u> : Lorsque la phase mobile entraîne l'échantillon à travers la colonne, la mélamine interagit avec la phase stationnaire. Grâce à ses propriétés chimiques spécifiques, elle sort de la colonne à un temps précis, appelé temps de rétention (Rt). <u>Détection</u> : Lorsque la mélamine traverse le détecteur UV, elle produit un pic sur le chromatogramme.**



- Analyse qualitative et quantitative
- Identification (qualitative) : La présence de mélamine est confirmée par l'apparition d'un pic au même temps de rétention qu'un étalon de mélamine connu.
- Quantification (quantitative) : L'aire sous le pic est proportionnelle à la concentration. Une courbe d'étalonnage est établie à partir d'une série d'analyses d'étalons.

- 5. Méthode rapide de screening
- Pour un screening rapide, sur site ou à haut débit, des méthodes plus simples sont souvent utilisées :
- •Bandelettes/kits de test : Ils utilisent des réactions colorimétriques similaires à la réaction de Griess, permettant un résultat semi-quantitatif ou qualitatif (présence/absence) pour les nitrates/nitrites.
- • Spectroscopie proche infrarouge (SPIR) : Elle constitue la première ligne de défense dans les silos à grains. Elle mesure l'énergie vibrationnelle des liaisons N-H.
- - Technique extrêmement rapide et non destructive qui mesure l'azote/les protéines totales en analysant l'absorption de la lumière proche infrarouge. Bien qu'elle ne mesure pas directement les contaminants, des écarts soudains par rapport aux corrélations protéines-SPIR attendues peuvent indiquer une falsification. Si la SPIR est calibrée pour les protéines, les logiciels modernes utilisent la « reconnaissance de formes » ou le « dépistage des adultérants ». Si le spectre SPIR d'un lot de blé ne correspond pas à la « signature » standard des protéines de blé, l'échantillon est signalé pour des analyses complémentaires en laboratoire (HPLC).



Co-funded by the European Union

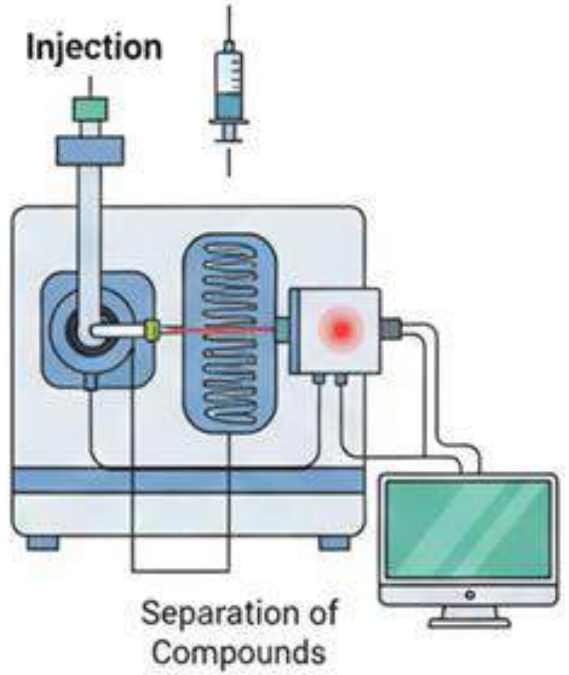
- 6. Chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons (GC-ECD)
- - Cette méthode très sensible permet de détecter les explosifs nitro-aromatiques (TNT) et nitro-aminés (RDX) dans les céréales. La détection par capture d'électrons (ECD) est particulièrement efficace dans ce cas, car elle est extrêmement sensible aux groupements fonctionnels électronégatifs, tels que les groupements nitro présents dans ces contaminants.
- - Préparation de l'échantillon (extraction) : Les céréales étant des matrices complexes (matières grasses, fibres, protéines), l'extraction doit être précise afin d'éviter le colmatage de la colonne GC. Les grains sont broyés en une poudre fine. L'acétonitrile ou le méthanol est généralement utilisé pour extraire le RDX et le TNT de la farine de céréales. L'extrait brut est passé sur une cartouche d'extraction en phase solide (SPE) (souvent Florisil ou C18) pour éliminer les lipides et les pigments. Le solvant purifié est évaporé sous un flux d'azote afin de concentrer les analytes avant injection.



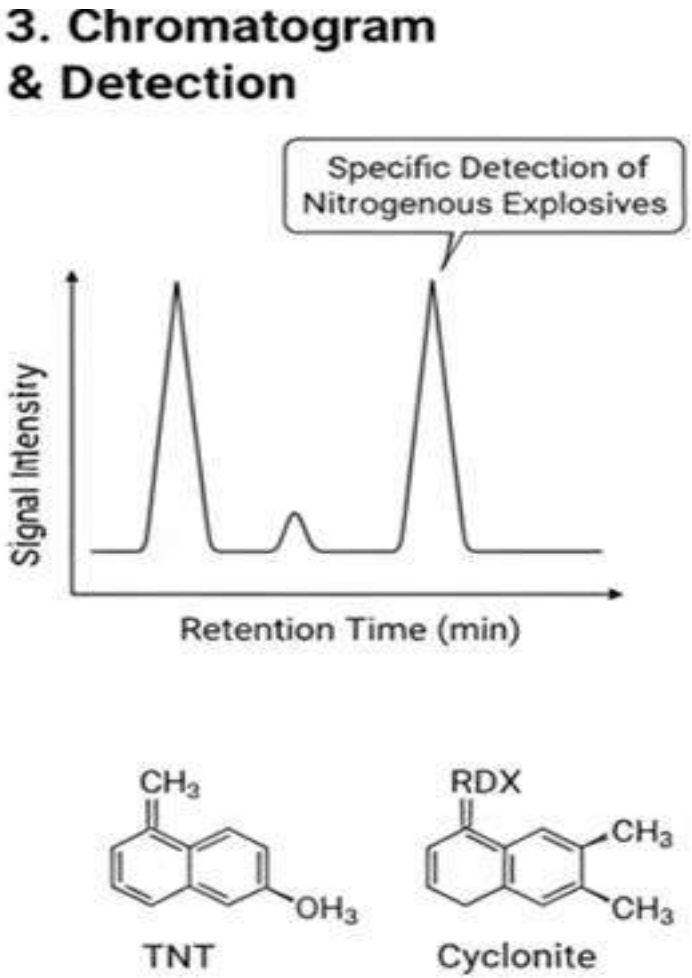
Co-funded by the European Union

2. GC-ECD Analysis

- -Configuration de l'instrument GC-ECD : Les explosifs étant thermiquement instables, les paramètres du GC doivent être rigoureusement contrôlés afin d'éviter la décomposition des molécules dans l'injecteur ou la colonne.
- Gaz vecteur : Azote ou hélium de haute pureté.
- Colonne : Colonne capillaire à phase stationnaire non polaire ou semi-polaire (par exemple, DB-5 ou DB-17).
- Injecteur : Généralement un injecteur à froid sur colonne ou un vaporisateur à température programmée (PTV) pour protéger le TNT/RDX de la dégradation thermique.
- Détecteur (ECD) : Contient une source radioactive (généralement du ^{63}Ni) qui émet des électrons. Lorsque les composés nitro-électronégatifs le traversent, ils capturent ces électrons, ce qui réduit le courant et génère un signal mesurable (pic).



- *-Procédure analytique GC-ECD*
- Étalonnage : Un mélange standard contenant des concentrations connues de RDX et de TNT est injecté afin de déterminer les temps de rétention (Rt) et le facteur de réponse.
- Injection : L'extrait de céréales (1-2 g) est injecté.
- Séparation : À mesure que la température du four augmente, les composés migrent à travers la colonne. Le TNT est généralement élué avant le RDX en raison de son point d'ébullition plus bas et de sa polarité différente.
- Quantification : L'aire des pics obtenus est comparée à une courbe d'étalonnage.
- Méthodes plus modernes de détection du TNT et du RDX : LC-MS/MS (chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem), GC-IMS (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de mobilité ionique) ou spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS).



Co-funded by the European Union

BIBLIOGRAPHIE

- - Albero, B., Tadeo, J. L., & Pérez, R. A. (2020). Determination of emerging contaminants in cereals by gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Frontiers in chemistry*, *8*, 571668.
- - Caporaso, N., Whitworth, M. B., & Fisk, I. D. (2018). Near-Infrared spectroscopy and hyperspectral imaging for non-destructive quality assessment of cereal grains. *Applied spectroscopy reviews*, *53*(8), 667-687.
- -Delwiche, S. R. (2016). Advances in the identification of adulterated cereals and cereal products. In *Advances in food authenticity testing* (pp. 491-518). Woodhead Publishing.
- -Gao, K., & Chen, B. (2025). The application of advanced analytical techniques in ensuring quality, nutrition, and safety of cereal-based food. *Advances in Food and Nutrition Research*, *117*, 265-302.
- Ma, C., Nie, H., Liu, L. X., Wang, F. R., Chen, Y., Zhang, W., & Liu, Y. G. (2024). Gas chromatography-ion mobility spectrometry (GC-IMS) technique and its recent applications in grain research. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *104*(15), 9093-9101.

Co-funded by the European Union

• BIBLIOGRAPHIE

- - Miller, E. L., Bimbo, A. P., Barlow, S. M., SHeridan, B., Burks, L. B. W., & Collaborators: Barrins T Bassompierre M Brodin A Brunsgaard G Henry M Burks LB Butler BH Ellefson W Gulden J Henriksen J Jin LN Louviere E Opdebeeck J Pirozzola P Schulze CW Soffia EO Sorensen HO Zaldivar J. (2007). Repeatability and reproducibility of determination of the nitrogen content of fishmeal by the combustion (Dumas) method and comparison with the Kjeldahl method: interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, *90*(1), 6-20.
- - Pisanello, D. (2014). EU regulations on chemicals in foods. In *Chemistry of foods: EU legal and regulatory approaches* (pp. 15-77). Cham: Springer International Publishing.
- - Solokha, M., Demyanyuk, O., Symochko, L., Mazur, S., Vynokurova, N., Sementsova, K., & Mariychuk, R. (2024). Soil degradation and contamination due to armed conflict in Ukraine. *Land*, *13*(10), 1614.
- - Walsh, M. E. (2001). Determination of nitroaromatic, nitramine, and nitrate ester explosives in soil by gas chromatography and an electron capture detector. *Talanta*, *54*(3), 427-438.
- -

Co-funded by the European Union

CHAPITRE 6.

Conclusions

Co-funded by the European Union

La détection et la quantification des contaminants dans les céréales et les produits dérivés constituent un élément fondamental des stratégies modernes de sécurité alimentaire. Face à l'interconnexion croissante des systèmes alimentaires mondiaux, le besoin de méthodes analytiques robustes, fiables et harmonisées est plus important que jamais. Ce chapitre a présenté les principaux principes, méthodologies et outils analytiques utilisés pour identifier les contaminants chimiques et physiques, en particulier les éléments traces (métaux lourds) et les résidus de pesticides – deux groupes majeurs de risques pouvant avoir un impact direct sur la santé des consommateurs.

Une conclusion essentielle de cette analyse réside dans le rôle central de procédures d'échantillonnage rigoureuses et d'une préparation appropriée des échantillons. Les céréales et leurs dérivés étant des matrices hétérogènes, l'échantillonnage demeure un facteur déterminant de la fiabilité des résultats analytiques. Une homogénéisation adéquate, la maîtrise de la contamination et des techniques de préparation validées, telles que la digestion assistée par micro-ondes pour les métaux ou l'extraction par solvant et la purification pour les pesticides, garantissent un processus analytique solide dès le départ.

Un deuxième élément essentiel est la sélection et l'optimisation de la méthode analytique. Les techniques modernes telles que la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS), la spectrométrie d'émission atomique à plasma à couplage inductif (ICP-OES), la spectrométrie d'absorption atomique (SAA), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS), la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) et les outils de criblage haute performance offrent une sensibilité, une spécificité et une exactitude élevées. Leur application réussie repose sur des stratégies d'étalonnage adéquates, des contrôles de qualité rigoureux et la maîtrise des effets de matrice. Ce chapitre a mis en lumière différentes approches d'étalonnage, notamment l'étalonnage externe, l'utilisation d'étalons internes et la méthode des ajouts dosés, chacune étant adaptée aux contraintes analytiques et aux caractéristiques de la matrice.

Co-funded by the European Union

Il est tout aussi important de respecter la législation européenne et internationale. Le choix des méthodes, les critères de performance et l'interprétation des résultats doivent se conformer aux cadres réglementaires qui fixent les limites maximales de résidus (LMR), les limites maximales (LM) et les normes de performance validées. Ces réglementations garantissent la comparabilité des données et soutiennent l'évaluation des risques, les programmes de surveillance et les initiatives de protection des consommateurs.

En conclusion, la détection et la quantification des contaminants dans les céréales exigent une combinaison d'expertise scientifique, d'instrumentation fiable, d'assurance qualité et de connaissance de la réglementation. La maîtrise de ces méthodologies permet aux professionnels et aux étudiants en sciences et sécurité alimentaires d'être mieux armés pour garantir l'intégrité des aliments à base de céréales et contribuer à un système alimentaire plus sûr et plus durable.