
	Détermination du formaldéhyde dans le simulant B ayant été mis en contact avec les ustensiles de cuisine mélaminés	SOP 23/0562/F	
		V 3	Niveau : 3
		Annexe: -	
		P. : 1/8	

Table des matières

1	Objet et domaine d'application	2
2	Définitions et abréviations.....	2
3	Principe de la méthode	2
4	Sécurité.....	2
5	Prélèvement des échantillons.....	2
6	Réception, circulation, stockage et évacuation des échantillons.....	2
7	Partie expérimentale	2
7.1	Produits consommables	2
7.2	Équipement et matériel de laboratoire.....	3
7.3	Conditions chromatographiques	3
7.4	Préparation des solutions étalons	4
7.5	Mode opératoire	4
7.5.1	Préparation des échantillons.....	4
7.5.2	Mode opératoire.....	5
7.5.3	Étalonnage.....	5
7.5.4	Programme de mesure	5
7.5.5	Identification du formaldéhyde dans un échantillon et évaluation du programme de mesure	5
8	Validation des résultats	6
8.1	Spécificité	6
8.2	Linéarité	6
8.3	Effet de matrice	6
8.4	Répétabilité (Sr) et reproductibilité (SRW)	6
8.5	Mesure d'incertitude	6
8.6	Limite de détection (LOD) et de quantification (LOQ).....	6
8.7	Justesse.....	6
8.8	Rendement.....	6
9	Calculs.....	7
10	Validation des méthodes	7
11	Rapports d'essai.....	7
12	Contrôle de qualité	7
12.1	Critères de qualité.....	7
12.2	Lignes de contrôle	7
13	Normes et Référence.....	8

	Détermination du formaldéhyde dans le simulant B ayant été mis en contact avec les ustensiles de cuisine mélaminés	SOP 23/0562/F	
		V 3	Niveau : 3
		Annexe: -	
		P. : 2/8	

1 Objet et domaine d'application

La mélamine est utilisée en tant que monomère de certaines matières en plastiques, en conjonction avec du formaldéhyde.

Le but de cette procédure est de vérifier la conformité des ustensiles de cuisine en mélamine émis sur le marché belge, destinés aux consommateurs. En effet, une limite spécifique de migration de 15 mg/kg soit de 2,5 mg/dm² (en se référant au rapport conventionnel de 6 dm² par kg d'aliment), est mentionné dans la Directive 2002/72/ECC Annexe II Section A.

La méthode analytique à appliquer pour la détermination du formaldéhyde dans des ustensiles de cuisine en mélamine s'effectue par HPLC-UV.

2 Définitions et abréviations

HPLC : High Pressure Liquid Chromatography

UV : Ultra Violet

SML: Specific Maximal Limit

3 Principe de la méthode

Après trois migrations successives de l'ustensile (à usage répété) ayant été mis en contact avec le simulant B (= eau milli-Q et 3 % d'acide acétique) et en respectant les conditions de temps et température de contact, le liquide de migration est injecté par HPLC-UV.

4 Sécurité

Il est conseillé de manipuler avec précaution le réactif pur et d'utiliser des gants car il est irritant pour la peau et les voies respiratoires.

5 Prélèvement des échantillons

Les échantillons sont prélevés par le client.

6 Réception, circulation, stockage et évacuation des échantillons


La réception des échantillons à l'I.S.P. est décrite dans la SOP I/03/12/NF.

La distribution ainsi que l'enregistrement des échantillons dans la section se fait selon le DOC 40/NF/DIS/003.

7 Partie expérimentale

7.1 Produits consommables

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique et prévus pour HPLC.

	Détermination du formaldéhyde dans le simulant B ayant été mis en contact avec les ustensiles de cuisine mélaminés	SOP 23/0562/F	
		V 3	Niveau : 3
		Annexe: -	
		P. : 3/8	

- Formaldéhyde 37 % (Sigma-Aldrich), armoire chimique
- Eau préparée par le système Milli-Q (Millipore)
- Acide acétique (HPLC grade, Merck) sous hotte
- Acétate d'ammonium (Fluka), armoire chimique
- Acétyl Acétone (Fluka), armoire chimique
- Hydrogénophosphate de sodium anhydre (Fluka ou équivalent), armoire chimique
- Acide orthophosphorique (Merck), armoire chimique

7.2 Equipement et matériel de laboratoire

Pipettes en verre

Ballons jaugés de 100, 20 ml

Pipettes Pasteur

Filtres millipore 0,45 µm

Fioles pour HPLC

Appareil HPLC (Agilent ou équivalent) muni d'un injecteur automatique, d'un loop de 100µl, d'un détecteur UV.

Système postcolonne avec four incorporé (Waters ou équivalent)

Balance analytique 0,1 mg (Sartorius CP 2245)

pHmètre Beckman ou équivalent

La SOP 23/0561/F décrit l'utilisation de l'HPLC.

7.3 Conditions chromatographiques

Partie HPLC :


- Colonne : ODS Hypersil RP 18 (5µ-L : 250mm-i.d. : 4,6mm (Thermo scientific n° 0233500A ou équivalent)
- Phase mobile : peser 0.852g d'hydrogène phosphate de sodium pour un litre d'eau milli-Q et ajuster le pH avec de l'acide orthophosphorique à 2,1. Dégazer la solution au bain ultrasons avant utilisation et filtrer sur papier millipore 0,45 µm.
- Débit : 1ml/min
- Volume d'injection : 20µl
- Détecteur UV : 420nm

Partie postcolonne :

- Réactif postcolonne : peser 62.5g d'acétate d'ammonium, pipetter 7.5 ml d'acide acétique et 5 ml d'acétyl acétone dans un ballon d'1 litre et porter au trait avec de l'eau milli-Q. Dégazer la solution au bain ultrasons avant utilisation.
- Débit : 0.5 ml/min
- Température du four : 100°C

Remarque : le système HPLC et postcolonne nécessitent un rinçage avec de l'eau pendant ½ heure après utilisation car:

- le tampon acétate d'ammonium utilisé pour la postcolonne est susceptible de cristalliser dans les tuyaux de la pompe postcolonne et provoquer des colmatages,
- l'hydrogénophosphate de sodium utilisé dans la phase mobile peut également former des flocons et cela peut endommager la colonne.

	Détermination du formaldéhyde dans le simulant B ayant été mis en contact avec les ustensiles de cuisine mélaminés	SOP 23/0562/F	
		V 3	Niveau : 3
		Annexe: -	
		P. : 4/8	

7.4 Préparation des solutions étalons

Solutions stock et intermédiaire

Peser ± 0.81 g avec précision dans un ballon jaugé de 100 ml et porter au trait avec de l'eau Milli-Q, cette solution correspond à la solution stock (± 3000 ppm). Tenir compte de la pureté du standard.

La solution intermédiaire (± 150 ppm) est préparée en prélevant 1 ml de la solution stock dans un ballon jaugé de 20 ml et porter au trait avec de l'eau Milli-Q. Déterminer avec précision la teneur en mg/l cette solution.

Préparations des standards

Effectuer les dilutions dans l'eau pour obtenir des solutions standard de travail de 30 ; 22.5 ; 15 ; 7.5 ; 3.75 ppm. Calculer avec précision la teneur de ces solutions.

Niveau	Vol. à prélever (ml)	Vol. final (ml)	Conc. Formaldéhyde (ppm)
1	4 ml sol.inter. à 150 ppm	20	30
2	2 ml sol.inter. à 150 ppm	20	15
3	1 ml sol.inter. à 150 ppm	20	7.5
4	0.5 ml sol.inter. à 150 ppm	20	3.5
5	2 ml sol à 30 ppm + 4 ml H ₂ O, puis diluer 10 fois		1


Les solutions doivent stabiliser environ 1 heure à température ambiante avant utilisation et peuvent être conservées au frigo.

7.5 Mode opératoire

7.5.1 Préparation des échantillons

Suivre les instructions indiquées sur l'étiquette si indiquées. Si rien n'est mentionné, remplir complètement l'échantillon (ou mettre en contact) avec le simulant en suivant le tableau ci-dessous.

Nature du matériau	Type d'ustensile	Utilisation	Simulant	Temps/T°
Mélaminés	Spatules	"Cooking"	B	2h 100°C
	Assiettes	"Serving"	B	2h 70°C
	Bols (mixing bowls, measuring cups)	"Food preparation"	B	"warm use" → 2h 70°C Remarque: si uniquement "ambient T°" → 10j 40°C
	Tasses/Gobelets	"Serving"	B	2h 70°C Remarque: - si indiqué sur étiquette : uniquement "cold use" → 24h 40°C - si jetables → une seule migration

	Détermination du formaldéhyde dans le simulant B ayant été mis en contact avec les ustensiles de cuisine mélaminés	SOP 23/0562/F	
		V 3	Niveau : 3
		Annexe: -	
		P. : 5/8	

Il faut répéter 3 fois l'opération de migration si l'échantillon est « ré-utilisable ». Dans ce cas, l'analyse s'effectue sur la troisième migration, le liquide de migration est placé en fiole d'injection pour être analysé par HPLC.

7.5.2 Mode opératoire

Le liquide issu de la troisième migration est injecté directement sur l'HPLC sans étapes de purification. La solution étant aqueuse ne contient pas d'impuretés et ne nécessite donc pas d'étapes supplémentaires de préparation préalable avant injection.

7.5.3 Etalonnage

Injecter chaque solution standard et tracer la courbe d'étalonnage. Le critère d'application est défini dans le point 12.1.

7.5.4 Programme de mesure


Le standard 3 est injecté en fin de série afin de vérifier la stabilité du temps de rétention au cours de la série d'analyse.

Blanc (= simulant B)
Standard 1
Standard 2
Standard 3
Standard 4
Standard 5
Blanc (= simulant B)
Blanc matrice (7.5.5)
Echantillon de contrôle (voir 7.5.5)
Blanc (= simulant B)
Echantillons
Standard 3

7.5.5 Identification du formaldéhyde dans un échantillon et évaluation du programme de mesure

- L'échantillon de contrôle (ou de référence) = un échantillon ayant subi les trois migrations successives avec le simulant B ayant une concentration égale à la SML, c'est-à-dire 15 mg/l. Cet échantillon (issu de la 3^{ème} migration) sert à déterminer répétabilité et reproductibilité et sera également repris dans la carte de contrôle.
- Le blanc matrice = un échantillon identique à celui de contrôle, ayant subi le même traitement mais sans ajout dosé. Ces deux échantillons sont conservés au frigo et sont injectés à chaque analyse du formaldéhyde.
- Le blanc = simulant B (= eau milli-Q et 3 % d'acide acétique)

L'identification du formaldéhyde dans les échantillons s'effectue en se basant sur la moyenne du temps de rétention des standards de formaldéhyde avec un intervalle de 5 % (vérification de la stabilité du temps de rétention des standards durant la séquence d'analyse), ainsi que sur la confirmation du spectre spécifique du formaldéhyde (optimum à 420 nm).

	Détermination du formaldéhyde dans le simulant B ayant été mis en contact avec les ustensiles de cuisine mélaminés	SOP 23/0562/F	
		V 3	Niveau : 3
		Annexe: -	
		P. : 6/8	

8 Validation des résultats

8.1 Spécificité

L'injection du blanc de matrice (= simulant B issu d'un échantillon négatif) permet de voir s'il n'y a aucun pic éventuel au/autour du temps de rétention du formaldéhyde qui pourrait venir perturber l'identification ou la quantification de l'analyte ciblé. L'absence de pic au même temps de rétention que la molécule recherchée permet de vérifier que la méthode est bien spécifique à l'identification/ quantification du formaldéhyde.

8.2 Linéarité

La linéarité est déterminée pour le formaldéhyde à partir des standards (préparés comme indiqué au point 7.4).

Les courbes d'étalonnage sont linéaires dans la gamme des concentrations indiquées (voir les données dans le tableau de Mendel (SOP22/N/16). Le coefficient de corrélation (r^2) des courbes doit être égal au moins à 0.995.

8.3 Effet de matrice

Comparaison entre les standards préparés dans le blanc (= simulant B) et les standards préparés avec le blanc matrice (voir 7.4 et 7.5).

Les deux droites étant parallèles démontrent qu'il n'y a pas d'effet de matrice.

8.4 Répétabilité (Sr) et reproductibilité (SRW)

La répétabilité et reproductibilité de la méthode sont déterminées en analysant 6 fois un échantillon négatif spiké à la norme, il s'agit de l'échantillon de référence.

Le tableau statistique ISO5725-2 permet de trouver les coefficients de variation Sr et SRW, exprimés en pourcentage.

8.5 Mesure d'incertitude

L'incertitude de la mesure est égale à 2 x SRW.

8.6 Limite de détection (LOD) et de quantification (LOQ)

La limite de détection (LOD) est égale à trois fois le signal du bruit. Il s'agit de la plus petite concentration identifiable de formaldéhyde.

La limite de quantification (LOQ) est égale à deux fois la limite de détection. Il s'agit de la plus petite concentration quantifiable de formaldéhyde.


Voir SOP22/N/16.

8.7 Justesse

Comme il n'existe pas d'échantillon de référence certifié, la justesse pourra être déterminée à partir de l'échantillon de contrôle.

8.8 Rendement

Le rendement est établi à partir de l'injection de l'échantillon de référence au cours de la validation. Le rapport entre les concentrations obtenues en mg/l à partir de l'équation de régression linéaire et la concentration théorique de l'échantillon de référence permet d'établir le rendement, exprimé en pourcentage.

	Détermination du formaldéhyde dans le simulant B ayant été mis en contact avec les ustensiles de cuisine mélaminés	SOP 23/0562/F	
		V 3	Niveau : 3
		Annexe: -	
		P. : 7/8	

9 Calculs

La mesure se fait par calcul des aires des pics chromatographiques obtenus à 420 nm et les concentrations sont obtenues en rapportant les valeurs d'aire dans la droite de calibration.

Les résultats sont directement lus (en mg/l) sur la droite d'étalonnage. Les résultats sont exprimés en :

- mg/kg dans le cas où les ustensiles de cuisine ont une capacité comprise entre 500ml et 10 litres,
- mg/dm² dans le cas où les ustensiles de cuisine ont une capacité inférieure à 500ml (en tenant compte du volume du liquide de migration et de la surface de contact de l'ustensile avec le liquide de migration).

$$Y = aX + b$$

Y = aire obtenue, X = concentration du formaldéhyde (mg/l)

$$\text{Résultat du formaldéhyde en mg/dm}^2 = (X \cdot V) / S$$

V = volume du simulant (l), S = surface de l'ustensile en contact avec le simulant (dm²)

10 Validation des méthodes

Utiliser les instructions de la procédure I/03/09/F.

11 Rapports d'essai

Utiliser les instructions de la procédure 22/F/25.

12 Contrôle de qualité

12.1 Critères de qualité

Lors de l'analyse des échantillons de concentration inconnue, il faut vérifier les critères de qualité suivants :

- Absence d'un pic du formaldéhyde dans le blanc et blanc matrice.
- Le temps de rétention du composé recherché dans les échantillons doit être compris dans la fourchette de la moyenne des temps de rétention des standards $\pm 5\%$.
- Le résultat de l'échantillon de référence doit être encodé dans la carte de contrôle et se situer dans les limites acceptables.
- Le coefficient de corrélation de la droite doit être égal ou supérieur à 0,995 et le rendement de l'échantillon de référence doit être compris entre 95 et 105 %.

Les échantillons dont le temps de rétention est compris dans l'intervalle de confiance et après confirmation du spectre de la molécule à 420 nm sont considérés comme positifs.

12.2 Lignes de contrôle

Une évaluation régulière de la qualité de chaque essai doit être réalisée à plusieurs niveaux, au moins deux des trois lignes de contrôle doivent, si possible, être appliquées.


- Contrôle de 1^{ère} ligne :

A chaque analyse du formaldéhyde, le résultat de l'échantillon de référence est encodé dans une carte de contrôle afin de valider la série d'analyse.

- Contrôle de 2^{ème} ligne :

Analyse d'un échantillon dopé à une valeur inconnue, préparé par une personne extérieure au programme. Cette analyse doit être réalisée au minimum une fois par an.

- Contrôle de 3^{ème} ligne :

	Détermination du formaldéhyde dans le simulant B ayant été mis en contact avec les ustensiles de cuisine mélaminés	SOP 23/0562/F	
		V 3	Niveau : 3
		Annexe: -	
		P. : 8/8	

Participation au minimum une fois par an, à des essais d'aptitude ou des tests interlaboratoires lorsque ceux-ci sont organisés.

13 Normes et Référence

Directive 2002/72/ECC

SOP 22/N/0585

SOP I/03/12/NF

SOP I/03/03/NF

DOC 40/NF/DIS/003

SOP 22/F/25

«Guidelines on testing conditions for articles in contact with foodstuffs», CRL-NRL-FCM Publication.