



**Analyse des Photo-initiateurs dans le  
liquide de contact ayant été mis en  
contact avec des emballages  
multicouches**

SOP 23/0563/F

V 2

Niveau : 3

Annexe: 0

P. : 1/11

Table des matières

<b>1</b>	<b>Objet et domaine d'application .....</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Définitions et abréviations.....</b>	<b>3</b>
<b>3</b>	<b>Principe de la méthode .....</b>	<b>3</b>
<b>4</b>	<b>Sécurité.....</b>	<b>3</b>
<b>5</b>	<b>Prélèvement, réception, circulation, stockage et évacuation des échantillons .....</b>	<b>4</b>
<b>6</b>	<b>Partie expérimentale .....</b>	<b>4</b>
<b>6.1</b>	<b>Produits consommables .....</b>	<b>4</b>
<b>6.2</b>	<b>Equipement et matériel de laboratoire.....</b>	<b>4</b>
<b>6.3</b>	<b>Préparations des solutions.....</b>	<b>5</b>
6.3.1	Préparations des solutions des standards de référence .....	5
<b>6.4</b>	<b>Préparation des échantillons .....</b>	<b>6</b>
6.4.1	Echantillons inconnus .....	6
6.4.2	Blanc réactif .....	6
6.4.3	Blanc matrice .....	6
6.4.4	Echantillon de contrôle.....	6
<b>6.5</b>	<b>Extraction des échantillons .....</b>	<b>7</b>
<b>6.6</b>	<b>Courbe d'Etalonnage.....</b>	<b>7</b>
<b>6.7</b>	<b>Analyse LC-UV/FLUO.....</b>	<b>7</b>
6.7.1	Conditions LC .....	7
6.7.2	Conditions FLUO .....	7
6.7.3	Conditions UV.....	8
<b>6.8</b>	<b>Programme de mesure .....</b>	<b>8</b>
<b>6.9</b>	<b>Evaluation des mesures.....</b>	<b>9</b>
6.9.1	Interprétation qualitative.....	9
6.9.2	Interprétation quantitative.....	9
<b>7</b>	<b>Evaluation des résultats d'analyse.....</b>	<b>9</b>
<b>7.1</b>	<b>Solvant .....</b>	<b>9</b>
<b>7.2</b>	<b>Standard de référence .....</b>	<b>10</b>
<b>7.3</b>	<b>Blanc réactif.....</b>	<b>10</b>
<b>7.4</b>	<b>Blanc matrice.....</b>	<b>10</b>
<b>7.5</b>	<b>Echantillon de contrôle .....</b>	<b>10</b>
<b>7.6</b>	<b>Courbe d'Etalonnage.....</b>	<b>10</b>
<b>7.7</b>	<b>Echantillon inconnus.....</b>	<b>10</b>
<b>8</b>	<b>Validation de la méthode .....</b>	<b>10</b>
<b>9</b>	<b>Rapports d'essai.....</b>	<b>10</b>
<b>10</b>	<b>Contrôle de qualité .....</b>	<b>10</b>

	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 2/11	

11 Normes et Référence.....11

	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 3/11	

## 1 Objet et domaine d'application

Les photoinitiateurs (PI) sont utilisés dans les processus de fixation par UV des encres et des laques appliquées sur la surface des emballages, principalement les boîtes en carton et de multicouches. En raison de leur volatilité, ces substances peuvent migrer à l'intérieur de l'emballage et contaminer les aliments.

Les encres d'impression ne sont pas reprises dans la législation Européenne sur les matériaux en contact. Toutefois, l'utilisation de ces encres doit se faire en accord avec les règles générales de la Régulation (CE) No 1935/2004 et avec les « bonnes pratiques de production » établies dans la Régulation de la Commission (CE) No 2023/2006. Concernant les composants d'emballage comme les encres, la Régulation (CE) No 1935/2004 stipule que, dans des conditions normales d'utilisation, leurs constituants ne peuvent pas migrer dans les aliments dans des quantités susceptibles de créer un danger pour la santé humaine.

La méthode décrit l'identification et dosage des photoinitiateurs dans le simulant ayant été mis en contact avec des emballages cartonnés, par chromatographie liquide haute performance (HPLC) muni d'un détecteur U.V. et d'un fluorimètre (FLUO) si'il faut doser l'ITX sous le seuil de 20 ppb.

Les différents composés concernés par cette validation et leurs abréviations sont :

- 2-isopropylthioxanthone ITX
- 4-benzoylbiphenyl 4-BBP
- 2-Ethylhexyl-4-diméthylaminobenzoate EHA
- Benzophenone BP
- 4-méthylbenzophenone 4-MBP
- 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophenone DMPAP
- 2-hydroxy-4-méthoxybenzophenone HMBP
- 4-Hydroxybenzophenone 4HBP

Une limite spécifique de migration de 0,6 mg/kg est mentionnée pour le benzophenone dans le règlement 10/2011.

## 2 Définitions et abréviations

BP	Benzophenone
4-BBP	4-benzoylbiphenyl
DMPAP	2,2-diméthoxy-2-phénylacétophenone
EHA	2-Ethylhexyl-4-diméthylaminobenzoat
4-MBP	4-méthylbenzophenone
ITX	2-isopropylthioxanthone
4HBP	4-hydroxybenzophenone
HMBP	2-hydroxy-4-méthoxybenzophenone
PI	Photo-initiateurs
FLUO	Détection avec le Fluorimètre
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
U.V.	Détection avec Ultra Violet
SML	Specific Migration Limit

## 3 Principe de la méthode

Après migration d'une surface de 1 dm<sup>2</sup> de surface imprimée de l'emballage avec le liquide de contact, celui-ci est analysé par LC-UV/FLUO.

	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 4/11	

## 4 Sécurité

Toutes les précautions seront prises lors de la manipulation des échantillons et des solutions étalons pour éviter toutes contaminations. Le port de gants est recommandé lors des différentes étapes de l'analyse. L'utilisation de solvants organiques se fera de préférence sous une hotte bien ventilée. L'élimination des solvants et des solutions se fait dans les bidons « solvants » appropriés.

## 5 Prélèvement, réception, circulation, stockage et évacuation des échantillons

Les échantillons sont prélevés par le client.

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

La distribution ainsi que l'enregistrement des échantillons dans la section se fait selon la SOP 22/F/17.

La gestion des échantillons (réception, analyses et destruction) est retracée dans le LIMS.

## 6 Partie expérimentale

### 6.1 Produits consommables

Les réactifs doivent être de qualité analytique et prévus pour la LC. Ci-dessous les différents standards utilisés dans cette méthode. Leurs numéros de CAS, leurs fournisseurs et leur place de stockage sont également renseignés.

2-isopropylthioxanthone	ITX	5495-84-1	Rahn	Armoire chimique
4-benzoylbiphenyl	4-BBP	2128-93-0	Sigma-Aldrich	Armoire chimique
2-Ethylhexyl-4-diméthylaminobenzoate	EHA	21245-02-3	Sigma-Aldrich	Armoire chimique
Benzophenone	BP	119-61-9	Sigma-Aldrich	Médicaments
4-méthylbenzophenone	4-MBP	134-84-9	Sigma-Aldrich	Médicaments
2,2-diméthoxy-2-phenylacetophenone	DMPAP	24650-42-8	Sigma-Aldrich	Médicaments
2-hydroxy-4-méthoxybenzophenone	HMBP	131-57-7	Sigma-Aldrich	Armoire chimique
4-Hydroxybenzophenone	4HBP	1137-42-4	Sigma-Aldrich	Armoire chimique

Eau préparée par le système Milli-Q (Millipore)  
 Acétonitrile (HPLC grade, Biosolve)

Rem : Des solvants et standards équivalents peuvent être utilisés.

### 6.2 Equipement et matériel de laboratoire

Pipettes en verre  
 Micropipettes et tips  
 Ballons jaugés  
 Flacons en verre avec bouchons  
 Pipettes Pasteur  
 Fioles à injection pour HPLC  
 Balance analytique 0,1 mg (Satorius CP 2245)  
 Etuve à 70°C

Appareil HPLC (Agilent, Varian ou équivalent) muni d'un injecteur automatique, d'un loop de 100µl, d'un détecteur UV(DAD)/Fluo. La SOP 22/F/0561 décrit l'utilisation de l'HPLC Agilent.

Rem : Du matériel équivalent peut être utilisé.

	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 5/11	

### 6.3 Préparations des solutions

#### 6.3.1 Préparations des solutions des standards de référence

Rem.: l'étiquetage de toutes les solutions s'effectue selon le SOP 22/F/23. Si pas applicable, créez une étiquette contenant les données suivantes :

Code de la solution

Solvant

Nom de la personne préparant la solution

Date de préparation

Date de péremption

Mode de conservation

Rem : Travailler à l'abri de la lumière en entourant les ballons d'une feuille ou en utilisant des ballons ombrés.

#### **Solution stock des photo-initiateurs à 1000 mg/L**

Chaque standard séparément en solution.

Préparer des solutions stock de 1000 mg/L des différents standards de référence des photo-initiateurs.

Peser avec précision 100 mg de substance pure dans un ballon jaugé ombré de 100 mL et mettre au trait avec de l'acétonitrile.

La pureté et le poids de la substance définissent la concentration exacte de la solution.

Etiqueter et conserver 6 mois au frigo ( $\leq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

#### **Solution intermédiaires ITX-A**

Effectuer une dilution du stock afin d'obtenir une solution standard intermédiaire avec une concentration de 1 mg/L pour ITX.

Transférer environ 100  $\mu\text{L}$  de la solution ITX 1000 mg/L

dans un ballon ombré de 100 ml et porter au trait avec de l'acétonitrile

Déterminer avec précision la teneur en mg/L de cette solution.

Etiqueter et conserver 3 mois au frigo ( $\leq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

#### **Solution intermédiaires ITX-B**

Effectuer une dilution du stock afin d'obtenir une solution standard intermédiaire avec une concentration de 0.1 mg/L pour chaque photo-initiateur.

Transférer environ 1 mL de la solution intermédiaires ITX-A dans un ballon jaugé ombré de 10 ml et porter au trait avec de l'acétonitrile

Etiqueter et conserver 3 mois au frigo ( $\leq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

#### **Solution intermédiaires PI**

Effectuer une dilution du stock afin d'obtenir une solution standard intermédiaire avec une concentration de 10 mg/L pour chaque photo-initiateur.

Transférer environ 1 mL de la solution 4-BBP 1000 mg/L

1 mL de la solution EHA 1000 mg/L

1 mL de la solution BP 1000 mg/L

1 mL de la solution 4-MBP 1000 mg/L

1 mL de la solution 2,2-DMPAP 1000 mg/L

1 mL de la solution HMBP 1000 mg/L

1 mL de la solution 4HBP 1000 mg/L

dans un ballon ombré de 100 ml et porter au trait avec de l'acétonitrile

Déterminer avec précision la teneur en mg/L de cette solution.

Etiqueter et conserver 3 mois au frigo ( $\leq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

#### **Solution pour la courbe d'étalonnage**

Ajouter des volumes différentes des solutions intermédiaire A et B dans des ballons jaugés ombrés de 10 mL, comme indiquées dans le tableau ci-dessous afin d'obtenir une courbe d'étalonnage.

	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 6/11	

#### Analyse d'ITX

Niveau	V (Solution intermédiaire ITXB)	[ITX] (ppm)
« CAL ITX-0 »		0
« CAL ITX-1 »	50 µL	0.0005
« CAL ITX-2 »	100 µL	0.001
« CAL ITX-3 »	200 µL	0.002
« CAL ITX-4 »	500 µL	0.005
« CAL ITX-5 »	1 mL	0.01
« CAL ITX-6 »	2 mL	0.02

Calculer avec précision la teneur de ces solutions.

Etiqueter et conserver 3 mois au frigo ( $\leq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

#### Analyse de BP, 4-BBP, DMPAP, EHA, 4-MBP, HMBP, 4-HBP

Niveau	V (Solution intermédiaire PI)	[Photo-initiateurs] (ppm)
« CAL PI-0 »		0
« CAL PI-1 »	50 µL	0.05
« CAL PI-2 »	100 µL	0.1
« CAL PI-3 »	200 µL	0.2
« CAL PI-4 »	300 µL	0.3
« CAL PI-5 »	600 µL	0.6
« CAL PI-6 »	900 µL	0.9
« CAL PI-7 »	1200 µL	1.2

Calculer avec précision la teneur de ces solutions.

Etiqueter et conserver 3 mois au frigo ( $\leq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

### 6.4 Préparation des échantillons

#### 6.4.1 Echantillons inconnus

Découper une surface imprimée de  $1\text{ dm}^2$  du film multicouche.

Découper cette surface en morceaux et les introduire dans un tube en verre.

Suivez la procédure 6.5.

#### 6.4.2 Blanc réactif

Utilise un tube en verre vide.

Suivez la procédure 6.5.

#### 6.4.3 Blanc matrice

Découper une surface imprimée de  $1\text{ dm}^2$  du film multicouche du matériel de référence.

Découper cette surface en morceaux et les introduire dans un tube en verre.

Suivez la procédure 6.5.

#### 6.4.4 Echantillon de contrôle

Découper une surface imprimée de  $1\text{ dm}^2$  du film multicouche du matériel de référence.

Découper cette surface en morceaux et les introduire dans un tube en verre.

#### Analyse d'ITX

Ajouter 800 µL de la solution intermédiaire ITX-B

Analyse de BP, 4-BBP, DMPAP, EHA, 4-MBP, HMBP, 4-HBP

Ajouter 800 µL de la solution intermédiaire PI

	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 7/11	

Suivez la procédure 6.5.

### 6.5 Extraction des échantillons

Pour tous les échantillons, blanc réactif, blanc matrice, l'échantillon de contrôle et la courbe d'étalonnage, suivre les étapes suivantes :

Ensuite additionner 40 ml d'acétonitrile

Laisser en contact pendant 24 heures à 70°C.

La solution est récupérée et placée en fioles d'injection pour HPLC.

### 6.6 Courbe d'Etalonnage

#### Analyse d'ITX

Injecter les différentes solutions « CAL ITX-0 » - « CAL ITX-6 » afin de construire la courbe d'étalonnage.

#### Analyse de BP, 4-BBP, DMPAP, EHA, 4-MBP, HMBP, 4-HBP

Injecter les différentes solutions « CAL PI-0 » - « CAL PI-7 » afin de construire la courbe d'étalonnage.

### 6.7 Analyse LC-UV/FLUO

#### 6.7.1 Conditions LC

##### Analyse d'ITX

Colonne LC Symmetry C18, 150mm x 2.1 mm I.D. x, 5.0 µm d<sub>p</sub> (Waters ou équivalent)

Volume d'injection 10 µL

Gradient isocratique:

Temps	Phase mobile B : Eau Milli Q (%)	Phase mobile C : Méthanol (%)	Flux (mL/min)
10	10	90	0.35

##### Analyse de BP, 4-BBP, DMPAP, EHA, 4-MBP, HMBP, 4-HBP

Colonne LC Colonne C18, 250mm x 4.6 mm I.D. x, 5.0 µm d<sub>p</sub> (Atlantis ou équivalent)

Volume d'injection 50 µL

Gradient linéaire:

Temps	Phase mobile B : Eau Milli Q (%)	Phase mobile C : Méthanol (%)	Flux (mL/min)
0	50	50	0.9
10	0	100	0.9
20	0	100	0.9

#### 6.7.2 Conditions FLUO

Longueur d'onde d'excitation: 260 nm

Longueur d'onde d'émission: 440 nm

	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 8/11	

### 6.7.3 Conditions UV

Les longueurs d'ondes suivantes sont utilisées

PI	Longueur d'onde UV (nm)
BP	254
4-BBP	295
DMPAP	254
EHA	310
4-MBP	254
HMBP	295
4-HBP	295

### 6.8 Programme de mesure

Le programme suivant reprend les différentes injections qui doivent se trouver dans la séquence (contrôle, blancs, etc) et l'ordre dans lequel ces injections doivent être faites. En fonction des analyses à effectuer, des injections de solvant peuvent être ajoutées si c'est nécessaire.

#### Analyse d'ITX

aaaammjj_Solvant01	
aaaammjj_Stdref01	Standard de référence = Courbe d'étalonnage « CAL ITX-3 »
aaaammjj_BR	Blanc réactif
aaaammjj_BM01	Blanc matrice
aaaammjj_Spike01	Echantillon de contrôle
aaaammjj_Solvant02	
aaaammjj_Cal00	Courbe d'étalonnage « CAL ITX-0 »
aaaammjj_Cal01	Courbe d'étalonnage « CAL ITX-1 »
aaaammjj_Cal02	Courbe d'étalonnage « CAL ITX-2 »
aaaammjj_Cal03	Courbe d'étalonnage « CAL ITX-3 »
aaaammjj_Cal04	Courbe d'étalonnage « CAL ITX-4 »
aaaammjj_Cal05	Courbe d'étalonnage « CAL ITX-5 »
aaaammjj_Cal06	Courbe d'étalonnage « CAL ITX-6 »
aaaammjj_Solvant03	
aaaammjj_Routine01	Référence de l'échantillon
aaaammjj_Routine02	Référence de l'échantillon
.....	
aaaammjj_Solvant04	
aaaammjj_Stdref02	Standard de référence = Courbe d'étalonnage « CAL ITX-3 »

#### Analyse de BP, 4-BBP, DMPAP, EHA, 4-MBP, HMBP, 4-HBP

aaaammjj_Solvant01	
aaaammjj_Stdref01	Standard de référence = Courbe d'étalonnage « CAL PI-3 »
aaaammjj_BR	Blanc réactif
aaaammjj_BM01	Blanc matrice
aaaammjj_Spike01	Echantillon de contrôle
aaaammjj_Solvant02	
aaaammjj_Cal00	Courbe d'étalonnage « CAL PI-0 »
aaaammjj_Cal01	Courbe d'étalonnage « CAL PI-1 »
aaaammjj_Cal02	Courbe d'étalonnage « CAL PI-2 »
aaaammjj_Cal03	Courbe d'étalonnage « CAL PI-3 »
aaaammjj_Cal04	Courbe d'étalonnage « CAL PI-4 »
aaaammjj_Cal05	Courbe d'étalonnage « CAL PI-5 »
aaaammjj_Cal06	Courbe d'étalonnage « CAL PI-6 »





	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 10/11	

## 7.2 Standard de référence

Le standard de référence en début de programmation sert de référence pour contrôler le bon fonctionnement du système avant la nouvelle série d'analyses.

Tous les composés recherchés doivent être présents avec une intensité pour lequel S/N > 6.

Le standard de référence à la fin de la programmation sert de référence pour contrôler le bon fonctionnement du système à la fin de la série d'analyses.

Tous les composés recherchés doivent être présents avec une intensité pour lequel S/N > 6.

## 7.3 Blanc réactif

Le blanc réactif permet de vérifier qu'il n'y a pas de contamination dans la procédure (solutions, vaisselle, micropipettes, ...). Ainsi, le chromatogramme ne peut présenter aucun pic au temps de rétention des analytes. (S/N doit être <3). Si tel était le cas, la source de contamination est recherchée.

## 7.4 Blanc matrice

Le blanc matrice permet de vérifier qu'il n'y a pas d'analyte dans le matériel de référence considéré.

Ainsi, le chromatogramme du blanc matrice ne devrait pas présenter au temps de rétention des analytes avec un pic pour lequel S/N>3.

## 7.5 Echantillon de contrôle

L'échantillon de contrôle correspond à un échantillon blanc fortifié à une certaine concentration pour chaque analyte.

Les résultats quantitatifs sont encodés dans la carte de contrôle et doivent se situer dans les limites acceptables. Le rendement d'échantillon de contrôle doit être compris entre 90 et 110%

Le standard interne doit être présent avec une intensité pour lequel S/N > 6.

## 7.6 Courbe d'Etalonnage

La droite d'étalonnage sert à quantifier les résultats. Le coefficient de corrélation de la droite doit être égal ou supérieur à 0,995. Le standard interne doit être présent dans toutes les analyses pour la droite d'étalonnage avec une intensité pour lequel S/N > 6.

## 7.7 Echantillon inconnus

La présence d'un pic au temps de rétention relatif à un des analytes et présentant le même spectre en UV ou même longueur d'excitation/émission en FLUO comparé avec l'échantillon de contrôle ou le standard de référence implique la présence de la molécule. Donc, la quantification est aussi exécutée pour déterminer la concentration en analyte(s) dans l'échantillon.

## 8 Validation de la méthode

Voir le dossier de validation DOC 22/F/0563.

## 9 Rapports d'essai

Utiliser les instructions de la procédure 22/F/25

## 10 Contrôle de qualité

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

**Contrôle de 1ère ligne :**

	<b>Analyse des Photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches</b>	SOP 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 11/11	

Le résultat de l'échantillon de contrôle est encodé dans une carte de contrôle afin de valider la série d'analyse.

**Contrôle de 2ème ligne :**

Analyse d'un échantillon dopé à une valeur inconnue, préparé par le responsable du programme. L'échantillon est analysé par l'analyste. Cette analyse doit être réalisée au minimum une fois par an si une troisième ligne de contrôle n'est pas effectuée.

**Contrôle de 3ème ligne :**

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

Voir aussi la SOP 03/NF/24 pour une description plus détaillée du contrôle qualité.

**11 Normes et Référence**

- Directive 2002/72/ECC Annexe V part A.
- SOP 22/F/1166
- SOP 03/NF/12
- SOP 22/F/17
- SOP 22/F/25
- SOP 22/F/0561
- Study of the migration of benzophenone from printed paperboard packages to cakes through different plastic films; S. Pastorelli, A. Sanches-Silva, J.M. Cruz, C. Simoneau and P. Paseiro-Losada; Joint Research Centre (JRC); Eur Food Res Technol (2008); 227:1585-1590
- Development of a Multimethod for the Determination of Photoinitiators in Beverage Packaging, A. Sanches-Silva, S. Pastorelli, J.M. Cruz, C. Simoneau, and P. Paseiro-Losada; Journal of Food Science (2008); 73-2:92-98