
	Dossier de validation : Analyse des photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches	DOC 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 1/7	

Table des matières

1	Introduction.....	2
2	Processus de la validation	2
3	Plan de la validation	3
4	Résultats de la validation	3
4.1	Spécificité	3
4.1.1	Critère d'acceptation	3
4.1.2	Résultats	4
4.2	Linéarité	4
4.2.1	Critère d'acceptation	4
4.2.2	Résultats	4
4.3	Effet de matrice	4
4.3.1	Critère d'acceptation	4
4.3.2	Résultats	5
4.4	Répétabilité, Reproductibilité, Mesure d'incertitude et Justesse	5
4.4.1	Critère d'acceptation	5
2.1.1	Résultats	6
4.5	Limite de détection (LOD) et de quantification (LOQ).....	6
4.5.1	Critère d'acceptation	6
4.5.2	Résultats	7
4.6	Rendement.....	7
4.6.1	Critère d'acceptation	7
4.6.2	Résultats	7
5	Conclusion	7
6	Références	7

	Dossier de validation : Analyse des photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches	DOC 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 2/7	

1 Introduction

Ce rapport décrit les différents paramètres de validation et leurs applications techniques nécessaires pour prouver la fiabilité et l'exactitude de la méthode d'analyse.

La procédure appliquée est décrite dans la SOP 22/F/0563.

Le but de cette procédure est de vérifier la conformité des emballages multicouches servant de conditionnement de denrées alimentaires. En effet, les photoinitiateurs (PI) sont utilisés dans les processus de fixation par UV des encres et des laques appliquées sur la surface des emballages. En raison de leur volatilité, ces substances peuvent migrer à l'intérieur de l'emballage et contaminer les aliments.

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

2 Processus de la validation

Type de méthode :

Les différents composés concernés par la validation principale 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

Les différents composés concernés par la validation secondaire et leurs abréviations sont :

- 2-hydroxy-4-méthoxybenzophenone HMBP
- 4-Hydroxybenzophenone 4-HBP

Principe de la méthode :

Après migration d'une surface de 1 dm² de surface imprimée de l'emballage avec le liquide de contact, celui-ci est analysé par LC-UV/FLUO.

Matrices

Emballages multicouches

Responsable du processus de validation :

Tina N'GOY

Exécuteurs de la validation :

Sophie Lamber, Caroline Evrard

Paramètres suivants à déterminer :

La spécificité, linéarité, l'effet de matrice, répétabilité et reproductibilité, mesure d'incertitude, justesse, limite de détection et de quantification et rendement.

Equipements utilisés :

LC-UV (Pour BP, 4-BBP, DMPAP, EHA, 4-MBP, HMBP, 4-HBP)

LC-FLUO (Pour ITX)

	Dossier de validation : Analyse des photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches	DOC 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 3/7	

3 Plan de la validation

Le plan des analyses est réalisé de la façon suivante :

Validation principale : Analyse d'ITX par LC-FLUO

	Blanc matrice	0.5 ppb	1 ppb	2 ppb	5 ppb	10 ppb	20 ppb
Jour 1 : 23/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 2 : 24/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 3 : 29/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 4 : 30/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 5 : 06/10/2010	1	3	3	6	6	6	3
Jour 6 : 07/10/2010	1	3	3	6	6	6	3
Total :	6	18	18	36	36	36	18

Validation principale : Analyse de BP, 4-MBP, 4-BBP, DMPAP et EHA par LC-UV

	Blanc matrice	100 ppb	200 ppb	300 ppb	600 ppb	900 ppb	1200 ppb
Jour 1 : 09/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 2 : 10/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 3 : 14/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 4 : 15/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 5 : 22/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Jour 6 : 23/09/2009	1	3	3	6	6	6	3
Total :	6	18	18	36	36	36	18

Validation secondaire : Analyse de HMBP, 4-HBP par LC-UV

	Blanc matrice	300 ppb	600 ppb
Jour 1 : 30/05/2011	3	3	3
Total :	3	3	3

4 Résultats de la validation

4.1 Spécificité

4.1.1 Critère d'acceptation

L'utilisation de blanc et du blanc matrice prouve qu'il n'y a aucune présence de pic éventuel pouvant perturber l'identification et la quantification des photo-initiateurs.

La méthode est sélective et spécifique car basée sur la détermination du temps de rétention et spectre spécifique pour chaque molécule recherchée.

On considère qu'il y a présence du photo-initiateur lorsqu'on détecte un pic ayant un temps de rétention proche de ceux des standards de la même série en tenant compte de l'intervalle de confiance de 5 % et qu'il y a confirmation du spectre spécifique du photo-initiateur.

	Dossier de validation : Analyse des photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches	DOC 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 4/7	

4.1.2 Résultats

Analyse LC-FLUO

Paramètres	ITX
Longueur d'excitation (nm)	260
Longueur d'émission (nm)	440

Analyse LC-UV(DAD)

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

4.2 Linéarité

4.2.1 Critère d'acceptation

La linéarité ou la non-linéarité du modèle de régression utilisé pour la quantification est évaluée à l'aide du test de Mandel. Ce test détermine le modèle préférentiellement utilisé :

- si TV (Test value) < $F_{critique}$, alors régression linéaire
- si TV > $F_{critique}$, alors régression quadratique

Le coefficient de corrélation (r^2) des courbes obtenu doit être égal ou supérieur à 0,98.

4.2.2 Résultats

Les droites d'étalonnages ont été réalisées sur une gamme de concentration autour de 0.0005 à 0.01 mg/L pour ITX et de 0.2 à 1.2 mg/L pour les autres photo-initiateurs :

Photo-initiateurs	TV	F critique	Linéaire ou quadratique	R ²	Linéarité
ITX	0.043	10.561	Linéaire	0.998	ok
BP	1.496	10.561	Linéaire	0.998	ok
4-MBP	10.396	10.561	Linéaire	0.988	ok
4-BBP	8.839	10.561	Linéaire	0.998	ok
DMPAP	7.472	10.561	Linéaire	0.982	ok
EHA	0.205	10.561	Linéaire	0.999	ok
HMBP	2.61	21.198	Linéaire	0.999	ok
4-HBP	2.607	21.198	Linéaire	0.999	ok

Conclusion : Il s'avère que la linéarité est constatée pour chaque photo-initiateur dans la gamme des concentrations étudiées.

4.3 Effet de matrice

4.3.1 Critère d'acceptation

Comparaison entre les pentes des standards préparés dans le blanc et les standards préparés dans le blanc matrice. Les valeurs obtenues pour les 2 droites sont introduites et comparées en utilisant le t-test dans le tableau ci-dessous. Si t est inférieur au $t_{critique}$, il n'y a pas d'effet de matrice.

	Dossier de validation : Analyse des photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches	DOC 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 5/7	

4.3.2 Résultats

	<i>t</i>	<i>t critique</i>	<i>Effet matrice</i>
ITX	0.135	2.086	Non
BP	1.812	2.086	Non
4-MBP	0.86	2.086	Non
4-BBP	1.368	2.086	Non
DMPAP	1.391	2.086	Non
EHA	0.693	2.086	Non
HMBP	0.013	2.036	Non
4-HBP	0.015	2.036	Non

Conclusion : il n'y a pas d'effet de matrice pour les molécules étudiés, car *t* est inférieur au *t critique*.

4.4 Répétabilité, Reproductibilité, Mesure d'incertitude et Justesse

4.4.1 Critère d'acceptation

Les critères d'acceptation de répétabilité et reproductibilité sont respectés lorsque les coefficients de variation de répétabilité (CV_r) et de reproductibilité (CV_{RW}) ne dépassent pas le niveau de tolérance calculé avec l'équation d'Horwitz.

La Répétabilité et reproductibilité de la méthode ont été déterminées par les résultats obtenus à partir de l'échantillon de contrôle :


- Pour la *répétabilité*, 6 répliques de l'échantillon de contrôle ont été analysés par la même personne, le même jour.
- Pour la *reproductibilité*, l'échantillon de contrôle a été analysé par la même personne, dans les mêmes conditions mais durant 6 jours différents, repartis sur 3 semaines.

L'incertitude de la mesure est égale à deux fois la reproductibilité (S_{RW}) exprimée en pourcentage, c'est-à-dire 15%.

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

- Un échantillon spiké avec BP, 4-MBP, 4-BBP, DMPAP et EHA dans la matrice, dont la teneur est égale à 0.6 mg/L, a été analysé 6 jours différents.
- Un échantillon spiké avec ITX dans la matrice, dont la teneur est égale à 0.001, 0.002 et 0.005 mg/L, a été analysé 6 jours différents.
- Un échantillon spiké avec HMBP et 4-HBP dans la matrice, dont la teneur est égale à 0.6 mg/L, a été analysé 3 jours différents.

Les résultats sont encodés dans une carte de contrôle.

	Dossier de validation : Analyse des photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches	DOC 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 6/7	

2.1.1 Résultats

Par l'utilisation du tableau statistique (STATISTICAL ANALYSIS OF DATA ACCORDING TO ISO5725-2(1994)), on détermine les coefficients de variation de répétabilité (CV_r) et de reproductibilité (CV_{RW}). Ces coefficients sont comparés au niveau de tolérance donné à 2/3 d'Horwitz par l'équation d'Horwitz.

PI	Sr (mg/l)	CVr (%)	2/3 Horwitz (%)	S RW (mg/l)	CV _{RW} (%)	2/3 Horwitz (%)	Apparent Recovery (%)	Uncertainty (%)
1 ppb								
ITX	2*10 ⁻⁵	1.8	14.7	4.3*10 ⁻⁵	3.7	22	115	7.5
2 ppb								
ITX	2.6*10 ⁻⁵	2.2	14.7	6.3*10 ⁻⁵	3.1	22	102	6.1
5 ppb								
ITX	3.7*10 ⁻⁵	0.7	14.7	0.00014	2.7	22	101	5.3
600 ppb								
BP	0.0142	2.4	11.6	0.0195	3.4	17.4	97	6.7
4-MBP	0.0207	3.5	11.5	0.0286	4.8	17.3	99	9.7
4-BBP	0.0032	0.6	11.6	0.0084	0.6	17.4	94	3.0
DMPAP	0.0275	4.7	11.6	0.0374	6.4	17.4	98	12.8
EHA	0.0014	0.3	11.6	0.0024	0.4	17.4	95	0.8
HMBP	0.041	6.4	11.4	0.046	7.2	17.1	108	14.36
4-HBP	0.03	4.88	11.5	0.03	4.88	17.3	100	9.76

S_r: déviation standard sur la répétabilité
CV_r: coefficient de répétabilité

S_{RW}: déviation standard sur la reproductibilité
CV_{RW}: coefficient de reproductibilité


Conclusion : La méthode d'analyse présente une bonne reproductibilité et répétabilité, les coefficients de variation de répétabilité (CV_r) et de reproductibilité (CV_{RW}) ne dépassent pas le niveau de tolérance calculé avec l'équation d'Horwitz.

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

4.5.1 Critère d'acceptation

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

La limite de quantification (LOQ) est égale à dix fois le signal du bruit. Il s'agit de la plus petite concentration quantifiable.

	Dossier de validation : Analyse des photo-initiateurs dans le liquide de contact ayant été mis en contact avec des emballages multicouches	DOC 23/0563/F	
		V 2	Niveau : 3
		Annexe: 0	
		P. : 7/7	

4.5.2 Résultats

Analyte	LOD (mg/kg)	LOD (mg/dm ²)*	LOQ (mg/kg)	LOQ (mg/dm ²)*
ITX	0.0002	0.00003	0.0005	0.0001
BP	0.05	0.0083	0.1	0.0167
4-MBP	0.05	0.0083	0.1	0.0167
4-BBP	0.02	0.0033	0.05	0.0083
DMPAP	0.2	0.0333	0.3	0.05
EHA	0.02	0.0033	0.05	0.0083
HMBP	0.03	0.005	0.05	0.0083
4-HBP	0.03	0.005	0.05	0.0083

* en tenant compte du rapport conventionnel de 6 dm² par kg d'aliment

4.6 Rendement

4.6.1 Critère d'acceptation

Le rendement est établi à partir de l'injection de l'échantillon de contrôle 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.

4.6.2 Résultats

Les rendements obtenus sont compris entre 91 et 108 %, donc les limites sont fixées entre 85 et 115%.

5 Conclusion

La validation de la méthode d'analyse des photo-initiateurs a satisfait les critères. Il est conclu que la méthode est apte à détecter ITX, BP, 4-MBP, 4-BBP, DMPAP, EHA, HMBP, 4-HBP dans les emballages multicouches.

6 Références

- Directive 2002/72/ECC
- SOP 22/N/16
- SOP I/03/03/F
- SOP I/03/09/F