

ILNAS

Institut luxembourgeois de la normalisation
de l'accréditation, de la sécurité et qualité
des produits et services

ILNAS-EN 16274:2021

Méthode d'analyse des allergènes - Quantification de la liste étendue des 57 allergènes suspectés dans les matières premières de parfumerie et

Analyseverfahren für Allergene -
Quantifizierung einer erweiterten Liste
von 57 zu vermutenden Allergenen in
einspritzfertigen Duftstoffen mittels

Method for analysis of allergens -
Quantification of an extended list of 57
suspected allergens in ready to inject
fragrance materials by gas

05/2021



Avant-propos national

Cette Norme Européenne EN 16274:2021 a été adoptée comme Norme Luxembourgeoise ILNAS-EN 16274:2021.

Toute personne intéressée, membre d'une organisation basée au Luxembourg, peut participer gratuitement à l'élaboration de normes luxembourgeoises (ILNAS), européennes (CEN, CENELEC) et internationales (ISO, IEC) :

- Influencer et participer à la conception de normes
- Anticiper les développements futurs
- Participer aux réunions des comités techniques

<https://portail-qualite.public.lu/fr/normes-normalisation/participer-normalisation.html>

CETTE PUBLICATION EST PROTÉGÉE PAR LE DROIT D'AUTEUR

Aucun contenu de la présente publication ne peut être reproduit ou utilisé sous quelque forme ou par quelque procédé que ce soit - électronique, mécanique, photocopie ou par d'autres moyens sans autorisation préalable !

Version Française

Méthode d'analyse des allergènes - Quantification de la liste étendue des 57 allergènes suspectés dans les matières premières de parfumerie et les compositions parfumantes prêtes à être injectées, par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

Analyseverfahren für Allergene - Quantifizierung einer erweiterten Liste von 57 zu vermutenden Allergenen in einspritzfertigen Duftstoffen mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie

Method for analysis of allergens - Quantification of an extended list of 57 suspected allergens in ready to inject fragrance materials by gas chromatography mass spectrometry

La présente Norme européenne a été adoptée par le CEN le 8 février 2021.

Les membres du CEN sont tenus de se soumettre au Règlement Intérieur du CEN/CENELEC, qui définit les conditions dans lesquelles doit être attribué, sans modification, le statut de norme nationale à la Norme européenne. Les listes mises à jour et les références bibliographiques relatives à ces normes nationales peuvent être obtenues auprès du Centre de Gestion du CEN-CENELEC ou auprès des membres du CEN.

La présente Norme européenne existe en trois versions officielles (allemand, anglais, français). Une version dans une autre langue faite par traduction sous la responsabilité d'un membre du CEN dans sa langue nationale et notifiée au Centre de Gestion du CEN-CENELEC, a le même statut que les versions officielles.

Les membres du CEN sont les organismes nationaux de normalisation des pays suivants: Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République de Macédoine du Nord, République de Serbie, République Tchèque, Roumanie, Royaume-Uni, Slovaquie, Slovénie, Suède, Suisse et Turquie.



COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION
EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION

CEN-CENELEC Management Centre: Rue de la Science 23, B-1040 Bruxelles

Sommaire

	Page
Avant-propos européen	4
Introduction	5
1 Domaine d'application	6
2 Références normatives	6
3 Termes et définitions	6
4 Principe	6
5 Réactifs	7
5.1 Solvants	7
5.1.1 Pivalate de méthyle	7
5.1.2 Méthyl tert-butyl éther (MTBE)	7
5.2 Échantillons de référence (allergènes suspectés)	7
5.2.1 Généralités	7
6 Appareillage	11
6.1 Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (CG-FID)	11
6.2 Chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (CG-SM)	11
6.2.1 Généralités	11
6.2.2 Système CG-SM	11
6.3 Colonnes capillaires pour la CG	12
6.4 Balance analytique	13
7 Solutions mères et solutions d'échantillon - préparation et conservation	13
7.1 Informations générales	13
7.1.1 Choix du solvant	13
7.1.2 Divers	14
7.2 Préparation des solutions mères à partir des échantillons de référence	14
7.3 Préparation des solutions d'étalons internes et des solutions d'étalonnage	14
7.3.1 Généralités	14
7.3.2 Solutions mères des étalons internes (1 g/kg équivalent)	14
7.3.3 Concentration des solutions d'étalonnage	15
7.3.4 Préparation des solutions d'étalonnage	16
8 Conditions d'acquisition du spectromètre de masse	18
8.1 Établissement des temps de rétention et des fenêtres SIM du chromatographe	18
8.2 Fenêtre SIM - Configuration et critères	18
8.3 Vérification en mode SCAN du CG-SM	18
9 Analyse de l'échantillon	19
9.1 Généralités	19
9.2 Préparation de l'échantillon pour analyse	19
9.3 Séquence	19
9.3.1 Blanc	19
9.3.2 Solutions d'étalonnage	19
9.3.3 Solution de contrôle	20

9.3.4	Échantillons	20
10	Validation et traitement des données	21
10.1	Généralités	21
10.2	Examen des valeurs Q	21
10.3	Intensité relative des ions caractéristiques en SIM.....	22
10.4	Intensité relative des ions à l'aide des données de SCAN.....	22
10.5	Stratégie de vérification des données et rapport de la concentration finale	22
10.6	Vérification en mode SCAN du CG-SM	22
10.7	Évaluation du spectre de masse en mode SCAN.....	22
11	Rapport d'essai	23
Annexe A (informative) Détermination de la pureté du matériau d'étalonnage et de l'échantillon de référence		24
Annexe B (informative) Paramètres de la colonne capillaire CG		31
Annexe C (informative) Ions SIM pour mode SIM ou SIM-SCAN.....		32
Annexe D (informative) Exemples de fenêtres SIM.....		39
Annexe E (informative) Exemples de chromatogrammes.....		48
Annexe F (normative) Arbre décisionnel pour la quantification des allergènes suspectés .		50
Annexe G (informative) Préparation des solutions mères à partir des échantillons de référence.....		51
Annexe H (informative) Méthodes d'étalonnage et approche.....		57
Annexe I (informative) Quantification des allergènes		59
Annexe J (informative) Allergènes suspectés sélectionnés comme analytes cibles - Justifications		62
Annexe K (informative) Autres informations générales		72
Bibliographie		73

Avant-propos européen

Le présent document (EN 16274:2021) a été élaboré par le Comité Technique CEN/TC 347 « Méthodes d'analyse des allergènes », dont le secrétariat est tenu par SNV.

La présente Norme européenne devra recevoir le statut de norme nationale, soit par publication d'un texte identique, soit par entérinement, au plus tard en novembre 2021 et les normes nationales en contradiction devront être retirées au plus tard en novembre 2021.

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. Le CEN ne saurait être tenu pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

Le présent document remplace l'EN 16274:2012.

Les principales modifications techniques apportées par rapport à l'édition précédente sont les suivantes :

- le nombre d'allergènes est passé de 26 à 57 molécules chimiquement définies ;
- les solvants pivalate de méthyle ou orthofluorotoluène et acétone sont remplacés par du pivalate de méthyle et du MTBE et d'autres solvants sont fournis à condition qu'ils soient soumis à essai avant utilisation ;
- la préparation de l'échantillon permet d'utiliser l'approche poids/volume plutôt que l'approche poids/poids uniquement ;
- le traitement des données fournit des explications sur une courbe d'étalonnage par l'approche du passage forcé par zéro.

Le présent document a été élaboré dans le cadre d'un mandat donné au CEN par la Commission européenne et l'Association européenne de libre-échange et vient à l'appui des exigences essentielles de la (de) Directive(s) UE.

Selon le règlement intérieur du CEN/CENELEC, les organismes de normalisation nationaux des pays suivants sont tenus de mettre cette Norme européenne en application : Allemagne, Autriche, Belgique, Bulgarie, Chypre, Croatie, Danemark, Espagne, Estonie, Finlande, France, Grèce, Hongrie, Irlande, Islande, Italie, Lettonie, Lituanie, Luxembourg, Malte, Norvège, Pays-Bas, Pologne, Portugal, République Tchèque, République de Macédoine du Nord, Roumanie, Royaume-Uni, Serbie, Slovaquie, Slovénie, Suède, Suisse et Turquie.

Introduction

La Directive 2003/15/CE modifiant la Directive 76/768/CEE du Conseil relative aux produits cosmétiques réglemente l'obligation d'informer les consommateurs de la présence de 24 substances parfumantes chimiquement définies et identifiées comme étant des allergènes potentiels dans les produits cosmétiques. Suivant la publication du document par le Comité Scientifique Européen pour la Sécurité des Consommateurs (CSSC/1459/11), il a été proposé d'étendre cette liste à 57 substances parfumantes, dont certaines existent sous plusieurs formes isomériques ou en mélanges. Cela a nécessité la mise au point d'une nouvelle méthode de quantification en réponse à l'évolution des exigences réglementaires.

La nouvelle méthode analytique a recours à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) pour détecter et quantifier les 57 substances parfumantes et leurs isomères pertinents dans les matières premières de parfumerie et les compositions parfumantes prêtes à être injectées.

La méthode décrite dans le présent document n'inclut pas d'exigences pour la préparation d'échantillons de matrice ne pouvant pas être injectés directement en CG.

Le présent document décrit une méthode analytique de travail fondée sur les travaux du Groupe de travail analytique de l'IFRA. La méthode analytique a été validée sur la base d'un essai interlaboratoires réalisé par le groupe de travail du CEN selon l'approche du profil d'exactitude.

1 Domaine d'application

La présente méthode permet l'identification et la quantification des composés volatils suspectés allergènes, qui sont présents dans les matières premières de parfumerie et les compositions parfumantes utilisées dans les produits cosmétiques. L'analyse est réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) sur des échantillons de matrice qui sont « prêts à être injectés » et qui sont compatibles avec la chromatographie en phase gazeuse.

Les analytes couverts par ce mode opératoire sont basés sur le contenu des Tableaux 13.1 et 13.2 du document d'opinion CSSC 1459/11 (1) et sont mentionnés dans la législation proposée par la Commission européenne. Les raisons qui justifient le choix final des analytes pour ce mode opératoire sont données dans le tableau figurant à l'Annexe J.

La méthode a été validée au niveau de l'IFRA et du CEN.

2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

3 Termes et définitions

Aucun terme n'est défini dans le présent document.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes :

- IEC Electropedia : disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org>
- ISO Online browsing platform : disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

4 Principe

Ce mode opératoire correspond à une gamme d'étalonnage comprise entre 2 ppm et 240 ppm ; cela permet la quantification des allergènes suspectés dans des matrices diluées dans la gamme de 20 ppm à 2 400 ppm par analyte. Au-delà du niveau de concentration supérieur, il est recommandé d'effectuer une dilution supplémentaire de l'échantillon ou d'utiliser la CG-FID (chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme), de préférence combinée à un étalon interne et des facteurs de réponse.

Les échantillons de matrice sont analysés pour détecter les allergènes suspectés par CG-SM au cours de 4 analyses au total, avec 2 séries d'analytes, toutes deux injectées dans deux colonnes de polarité différente. Lorsque cela est nécessaire, il convient de d'abord diluer les échantillons de matrice dans un solvant approprié.

L'identification et la quantification sont réalisées en mode de détection sélective d'ions (SIM ; SIM-SCAN) via l'abondance relative de 3 ions fragments caractéristiques. Le calcul et l'utilisation de la valeur Q correspondante ou un facteur similaire d'évaluation des données peuvent être appliqués. Un « arbre décisionnel » (voir l'Annexe F, Figure F.1) est établi pour l'examen du résultat final et la validation des données par un analyste formé et expérimenté. Une analyse supplémentaire en mode balayage (full SCAN) est recommandée pour confirmer la présence de l'allergène dans les échantillons de matrice si seule la méthodologie SIM a été utilisée.

La quantification est réalisée pour tous les modes par étalonnage à l'aide de solutions étalons et avec les étalons internes 1,4-dibromobenzène et 4,4'-dibromobiphényle. L'arbre décisionnel sert à déterminer la concentration finale en tenant compte des différentes valeurs de concentration obtenues par analyse sur les deux colonnes.

5 Réactifs

5.1 Solvants

5.1.1 Pivalate de méthyle

N° CAS [598-98-1]

Pureté \geq 99 %

Une distillation est recommandée pour obtenir une pureté $>$ 99,9 % afin d'éliminer les impuretés qui sont susceptibles d'interférer avec le signal des analytes tels que les terpènes. Si une qualité commerciale est utilisée, alors elle doit être analysée et confirmée comme ne donnant pas lieu à des interférences.

5.1.2 Méthyl tert-butyl éther (MTBE)

N° CAS [1634-04-4]

Pureté \geq 99 %

Une distillation est recommandée pour obtenir une pureté $>$ 99,9 % afin d'éliminer les impuretés qui sont susceptibles d'interférer avec le signal des analytes tels que les terpènes. Si une qualité commerciale est utilisée, alors elle doit être analysée et confirmée comme ne donnant pas lieu à des interférences.

Il est possible de travailler avec d'autres solvants. S'ils sont utilisés pour cette méthode, alors l'opérateur doit réaliser une évaluation suffisante pour vérifier que le solvant ne contient pas de constituants qui pourraient interférer avec les analytes dans cette méthode.

5.2 Échantillons de référence (allergènes suspectés)

5.2.1 Généralités

Initialement, il convient que la pureté de tous les étalons soit mesurée par CG-FID (Annexe A) si elle n'a pas été certifiée par le fournisseur. Le numéro CAS précis de l'analyte cible et sa justification sont indiqués à l'Annexe J.

5.2.1.1 Acétyl cédrène alpha (principal isomère dans le Vertofix® indiqué par son numéro CAS), n° CAS [32388-55-9]

Composition très variable avec au moins douze constituants de poids moléculaire égal à 246 unités de masse atomique (ci-après u).

5.2.1.2 Acétyl iso Eugénol / acétate d'isoeugényle, n° CAS [93-29-8]

5.2.1.3 Salicylate d'amyle, salicylate de pentyle, n° CAS [2050-08-0]

Peut contenir du salicylate d'isoamyle (n° CAS [87-20-7]), qu'il convient de ne pas inclure dans cette analyse.