

RAPPORT

**D'EVALUATION DU PROJET D'ARRETE RELATIF A LA COLORATION DES
MATERIAUX ET OBJETS EN MATIERE PLASTIQUE, DES VERNIS ET
REVETEMENTS DESTINES A ENTRER EN CONTACT AVEC LES DENREES,
PRODUITS ET BOISSONS ALIMENTAIRES POUR L'ALIMENTATION DE
L'HOMME ET DES ANIMAUX**

SAISINE 2001-SA-0069

SOMMAIRE

| | |
|--|----|
| I Introduction | 3 |
| II Questions posées et propositions de modifications du projet d'arrêté | 4 |
| II.1 Critères d'évaluation des substances classées en section A et B | 4 |
| II.1.a La liste A | 4 |
| II.1.b La liste B | 5 |
| II.2 Critères d'évaluation toxicologique pour les nouvelles substances | 5 |
| II.2.a Comparaison des critères d'évaluation toxicologique des réglementations et recommandations existantes | 5 |
| i / Réglementation actuelle des constituants de matériaux et objets mis ou destinés à être mis en contact des denrées, produits et boissons alimentaires | 5 |
| ii / Comparaison des textes du CSHPF et du CSAH | 5 |
| iii / Autres textes sur les substances chimiques | 6 |
| II.2.b Propositions de critères à retenir pour l'évaluation des pigments ou colorants | 7 |
| II.2.c Conclusions | 8 |
| II.3 Modification des listes de substances autorisées | 8 |
| II.4 Critères de pureté des colorants et pigments | 9 |
| II.4.a Métaux lourds | 10 |
| II.4.b Amines aromatiques | 10 |
| II.4.c Biphényles polychlorés (PCB) | 10 |
| II.4.d Noir de carbone | 10 |
| II.5 Migration et conditions d'essai | 11 |
| II.6 Stabilité thermique des colorants et pigments | 12 |
| III Proposition de règles en vue d'une évaluation ultérieure des substances | 12 |
| III.1 Lignes directrices pour l'évaluation des pigments et colorants | 12 |
| III.1.a Critères de pureté | 12 |
| III.1.b Essais de migration | 13 |
| III.1.c Stabilité thermique | 13 |
| III.1.d Dossiers toxicologiques | 13 |
| III.2 Principe du programme d'évaluation – gestion des listes A et B | 14 |
| IV Annexe : Dosage de la fraction du noir de carbone extractible par le toluène | 15 |
| IV.1.a Principe utilisé | 15 |
| IV.1.b Appareillage | 15 |
| IV.1.c Solvant | 15 |
| IV.1.d Mode opératoire | 15 |
| IV.1.e Mode de calcul | 15 |
| V Annexe : Dosage des métaux lourds | 16 |
| VI Annexe : Recherche d'amines aromatiques primaires non sulfonées | 16 |
| VII Annexe : Tableau récapitulatif des principales conditions d'évaluation des substances en Europe et en France | 16 |
| VIII Annexe : Liste des amines aromatiques classées cancérogènes | 19 |
| IX Annexes : Méthodes d'analyse des PCB | 20 |

I INTRODUCTION

La coloration des matières plastiques fait appel, lors de la mise en œuvre de ces dernières, à un grand nombre de pigments et colorants. La part des matières plastiques dans l'emballage des denrées alimentaires ayant été en augmentation constante, un groupe de travail ad hoc du Conseil supérieur d'hygiène publique de France (CSHPF) a été mis en place dans les années 1950 afin d'examiner l'innocuité de ces substances.

Les matières colorantes jugées acceptables suite à ces évaluations ont été admises par voie de circulaires, publiées au *Journal officiel*, depuis la 1^{ère} circulaire n° 176 du 2 décembre 1959. Néanmoins, ces textes, même s'ils sont utilisés par l'industrie, n'ont pas de caractère réglementaire.

Au plan communautaire, la réglementation relative aux matières plastiques pour contact alimentaire prévoit une liste de monomères et substances de départ et une liste d'additifs autorisés (directive 90/128/CE modifiée). Si la liste de monomères est une liste positive harmonisée, la liste d'additifs n'est pas exhaustive et doit être complétée par les autorisations nationales. En particulier, elle n'a pas encore intégré de pigments ou de colorants.

Un projet d'arrêté relatif à la coloration des matières plastiques et des vernis pour contact alimentaire a donc été préparé par la DGCCRF afin de combler ce vide juridique.

Par ailleurs, du point de vue toxicologique, les critères d'évaluation des pigments et colorants ont sensiblement évolué depuis 1959. En effet, les premières séries d'évaluations du CSHPF se fondaient principalement sur des critères de pureté et de toxicité aiguë ainsi que sur l'absence de migration visible, alors que de nouvelles données telles que la génotoxicité ont été peu à peu introduites à partir des années 1980.

Dans des lignes directrices publiées le 9 décembre 1997, le CSHPF a précisé des critères pour l'évaluation des nouveaux constituants de matériaux au contact des denrées alimentaires. La nature des données toxicologiques demandées dépend, depuis lors, du niveau d'exposition théorique (NET) à la substance étudiée.

En particulier, des critères spécifiques sont prévus dans ce cadre pour les pigments et colorants, à savoir : deux essais de génotoxicité, ainsi que la vérification de l'absence de migration visible. Ces critères ont été établis en tenant compte du fait que les colorants conduisent généralement à une migration très faible dans les denrées alimentaires, par rapport à d'autres catégories d'additifs, compte tenu de leur faible solubilité.

Au niveau européen, l'évaluation des constituants de matières plastiques par le Comité scientifique de l'alimentation humaine (CSAH) se fonde également sur le niveau de migration de la substance, même si ces critères n'ont pas encore été appliqués aux colorants.

Ainsi, le projet d'arrêté comprend-il deux listes de pigments et colorants :

- Les substances ayant été admises par le passé selon les recommandations du CSHPF du 9 décembre 1997 (section A).
- Les substances admises en France sur la base de critères plus anciens (section B).

Cette structure est semblable à celle de la directive relative aux matières plastiques précitée, qui sépare les constituants autorisés définitivement sur la base d'une évaluation complète du CSAH, et les substances autorisées provisoirement en l'attente de la finalisation de leur évaluation.

L'AFSSA a été saisie par la DGCCRF sur ce projet d'arrêté.

L'objet du présent rapport est de présenter les résultats de l'examen du texte par les comités d'experts spécialisés « Matériaux au contact des denrées alimentaires » et « Eaux », les questions posées par le projet d'arrêté, et les modifications souhaitables.

D'autre part, des lignes directrices sont proposées en vue de l'évaluation ultérieure des pigments et colorants, que ce soit pour les nouvelles substances ou celles dont l'évaluation doit être complétée.

II QUESTIONS POSEES ET PROPOSITIONS DE MODIFICATIONS DU PROJET D'ARRETE

II.1 Critères d'évaluation des substances classées en section A et B

Cet arrêté propose d'autoriser certains pigments et colorants pour la coloration des matériaux et objets en matière plastique, des vernis et des revêtements mis ou destinés à être mis au contact des denrées, produits et boissons alimentaires selon deux listes. La liste A contient des pigments et colorants autorisés définitivement, la B des pigments et colorants autorisés jusqu'au 1^{er} juin 2006.

La répartition entre les deux listes a été effectuée selon les critères suivants :

- Les substances de la liste A ont été évaluées récemment par le CSHPF en utilisant les critères émis par ce même conseil (Avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France relatifs aux matériaux au contact des denrées alimentaires, séance de 9 décembre 1997. BO de la DGCCRF. 28 février 1998, pp.107-110)
- Les substances classées dans la liste B l'ont été sur la base de critères plus anciens qui demandent à être actualisés. De ce fait, l'autorisation est temporaire avant l'évaluation de nouveaux dossiers qui devront être fournis par les fabricants. Le contenu des données toxicologiques à transmettre n'est pas défini explicitement dans le projet d'arrêté.

Dès lors, il est apparu nécessaire de répondre à deux questions de fond : les listes A et B peuvent-elles être acceptées telles quelles et quels critères toxicologiques retenir pour l'évaluation des pigments de la section B ainsi que des nouvelles substances ?

II.1.a La liste A.

Accepte-t-on que les colorants et pigments de la section A soient autorisés définitivement dans l'état actuel des connaissances?

Cette liste comporte deux sections : - une liste de substances organiques
- une liste de substances minérales

Les pigments organiques ont été évalués en 1999 par le CSHPF selon les critères définis dans l'avis du CSHPF du 9 décembre 1997. Pour chacun des onze produits, le NET est inférieur à 50 µg/personne/jour. Il est donc demandé uniquement un dossier toxicologique comprenant au minimum les études démontrant l'absence de potentiel génotoxique. C'est à dire un test de mutation génique sur bactéries et un test d'aberration chromosomique sur cellules de mammifères, et au cas où l'un de ces tests ne serait pas clairement négatif, le dossier doit inclure un troisième test ayant vocation à infirmer ou à confirmer le précédent.

A ce niveau de migration, même si les seuils sont calculés de manière différente, le CSAH applique des critères très proches. La seule différence est le nombre de tests de génotoxicité : le CSAH en demande trois d'emblée, un test de mutation génique sur cellules de mammifères en culture étant demandé en sus.

En fait sur les 11 substances seules deux n'ont fait l'objet que de deux tests de génotoxicité (Pigment red 272 et pigment red 264). Pour les neuf autres un test de mutation génique sur bactéries a été réalisé dans tous les cas, complété par deux tests parmi les trois suivants :

- Mutation génique sur cellules de mammifères
- Micro-noyau
- Aberration chromosomique

Dans la liste A, le pigment orange 72 est un composé azoïque qui en cas d'hydrolyse donne la 3,3'-dichlorobenzidine. Ce produit est classé dans le groupe 2B de l'IARC (produit possiblement cancérigène pour l'homme). Une récente synthèse de l'IPCS (International Programme on Chemical Safety, concise international chemical assessment document ,n°2, 1998) confirme ces données. La classification de ce pigment doit donc être revue.

Pour le pigment yellow 62, composé azoïque non susceptible de former une amine cancérigène en cas d'hydrolyse, un test d'Ames type Prival et Mitchell a été effectué.

Les pigments minéraux sont au nombre de 21, majoritairement des pigments autorisés en 1959 avec certaines révisions en 1994, 95 ou 96. Dans la plupart des cas, le CES MCDA ne connaît pas la nature des données toxicologiques ayant permis l'autorisation de ces substances. Néanmoins, il s'agit de substances autorisées, soit comme additifs alimentaires (directives 95/2/CE et 94/36/CE), soit comme additifs dans les matériaux plastiques destinés au contact des aliments.

Des évaluations des risques sont actuellement en cours pour le cuivre, l'aluminium et l'étain qui sont référencés en liste A. Les résultats de ces évaluations seront à prendre en compte à l'issue de l'expertise.

Cette évaluation de la liste A est faite en l'état actuel des connaissances et est susceptible d'être modifiée au vu de nouvelles données toxicologiques.

II.1.b La liste B

Un grand nombre de données toxicologiques (tests de génotoxicité...) et physico-chimiques (tests de migration, critères de pureté...) permettant l'évaluation au contact alimentaire des colorants et pigments sont manquantes dans la section B. Accepte-t-on d'autoriser ces substances pour une période de 5 ans?

De même que la précédente, cette liste comporte deux sections :

- des substances organiques
- des substances minérales

Dans la majorité des cas, les dossiers toxicologiques sont quasiment inexistantes. Il est donc nécessaire d'effectuer des évaluations du risque systématiques pour chacun de ces produits selon un calendrier à définir et des critères qui devraient être a priori les mêmes que pour les nouvelles substances.

II.2 Critères d'évaluation toxicologique pour les nouvelles substances

Les critères toxicologiques prescrits dans les lignes directrices du CSHPF doivent être révisés pour l'évaluation des colorants et pigments ?

II.2.a Comparaison des critères d'évaluation toxicologique des réglementations et recommandations existantes

Afin de pouvoir répondre à cette question, il a semblé utile de comparer ces différents critères ainsi que ceux qui sont retenus pour d'autres substances dans le cadre d'autres organisations.

i / Réglementation actuelle des constituants de matériaux et objets mis ou destinés à être mis en contact des denrées, produits et boissons alimentaires

L'arrêté du 13 novembre 1986 relatif aux dossiers de demande d'autorisation d'emploi des constituants de matériaux et objets mis ou destinés à être mis en contact des denrées, produits et boissons alimentaires (JO du 4 décembre 1986) prévoit, pour chaque demande d'autorisation d'emploi d'un nouveau constituant, la présentation des données toxicologiques suivantes :

- toxicité aiguë avec calcul de la DL50
- toxicité par administration répétée à moyen terme
- tests de mutagénicité
- éventuellement toute documentation concernant les effets connus chez l'homme.
- s'il s'agit uniquement d'une demande d'extension d'emploi : pas de nouveaux tests toxicologiques, sauf si le pourcentage d'emploi restrictif était fixé du fait d'une limite toxicologique. Dans ce cas, la demande doit être accompagnée de nouveaux renseignements physiologiques et toxicologiques
- s'il est démontré qu'il y a absence de migration, le dossier peut ne comporter que la DL50 sur une seule espèce. Mais compte tenu de l'ensemble des données figurant au dossier, il pourra être demandé d'effectuer d'autres expérimentations toxicologiques et d'apporter toutes justifications utiles. Si la structure chimique laisse suspecter une nocivité de la substance à long terme, des tests de mutagénèse devront être effectués.

ii / Comparaison des textes du CSHPF et du CSAH

➤ Avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France relatif aux matériaux au contact des denrées alimentaires du 9 décembre 1997

Le CSHPF a proposé des modifications à l'arrêté du 13 novembre 1986 précédemment cité. Les caractéristiques des études toxicologiques seront les suivantes :

- Elles devront être réalisées selon les bonnes pratiques de laboratoires (BPL) et dans le respect de l'assurance qualité.
- Les méthodes de la Communauté européenne ou les lignes directrices de l'OCDE en vigueur devront être utilisées pour la réalisation des dites études.
- Il est introduit la notion de NET : « En l'absence d'une évaluation pertinente du niveau réel d'exposition du consommateur à la substance ou matière faisant l'objet de la demande d'autorisation d'emploi, un niveau d'exposition théorique (NET) est calculé sur la base d'études de migration spécifique en considérant que la partie de la ration alimentaire journalière conditionnée dans un matériau donné est de 1 kg, et qu'elle comprend 200 g d'aliments gras et 800 g d'aliments aqueux.
- La nature des données toxicologiques à inclure dans le dossier est en relation avec le niveau d'exposition à la substance faisant l'objet de la demande d'autorisation d'emploi, selon les critères reproduits en annexe VII.

➤ **Lignes directrices du Comité scientifique de l'alimentation humaine sur les critères de sécurité d'une substance destinée à être utilisée dans des matériaux rentrant en contact avec des aliments (22 novembre 2000)**

Un certain nombre de principes sont introduits dans ce guide :

- Pour tous les calculs d'évaluation du risque, on considère que la consommation journalière de nourriture en contact avec le matériau est d'un kilo.
Il est recommandé de ne pas appliquer trop rigidelement ces directives ; à l'inverse le comité scientifique peut être amené à demander des données supplémentaires.
- Ces études doivent être faites sous BPL et selon les méthodes européennes ou les guides de l'OCDE. Les substances testées doivent avoir les mêmes spécificités que celles décrites dans l'identification de la substance.
- En fonction des degrés de migration spécifique des dossiers toxicologiques différents sont demandés. Ils sont reproduits en annexe VII.

iii / Autres textes sur les substances chimiques

Il existe également d'autres textes concernant des dossiers toxicologiques demandés pour d'autres types de substances, il a semblé utile d'en présenter un. Cette présentation n'a pas vocation à être exhaustive, mais peut permettre d'essayer d'homogénéiser les pratiques.

➤ **Dossiers de notification des substances nouvelles**

En France, le ministère de l'environnement et l'INRS, désignés « autorités compétentes » sont chargés de recevoir et d'étudier les dossiers de notification des substances chimiques nouvelles.

Au sens de la réglementation, une substance nouvelle est une substance qui ne figure pas dans l'EINECS. L'inventaire EINECS (European inventory of existing commercial chemical substances) regroupe plus de 100 000 substances mises sur le marché communautaire avant le 18 septembre 1981.

Toute substance nouvelle est soumise à déclaration avant sa mise sur le marché communautaire. Une dizaine de colorants présents dans la liste du texte en cours de discussion a ainsi été expertisée dans le cadre de ces déclarations de substances nouvelles.

N'entrent pas dans le champ de cette réglementation :

- Les matières actives destinées exclusivement à être incorporées au sein de médicaments à usage humain ou vétérinaire
- Les matières actives destinées exclusivement à être incorporées dans les produits antiparasitaires à usage agricole et produits assimilés
- Les substances utilisées exclusivement comme additifs ou arômes dans les aliments
- Les substances utilisées exclusivement dans l'alimentation animale
- Les substances radioactives
- Les substances en transit sous contrôle douanier, si elles ne font pas l'objet d'un traitement ou d'une transformation
- Les substances contenues dans des produits cosmétiques au stade fini destinés à l'utilisateur final et les substances cosmétiques destinées telles quelles à l'utilisateur final.
- Les substances chimiques qui ne sont présentes que dans des déchets
- Les substances incorporées dans un matériel

Les pigments et colorants dès lors qu'ils sont nouveaux rentrent donc dans cette réglementation. Le dossier toxicologique sera différent en fonction du tonnage mis sur le marché selon les critères reproduits en annexe VII.

Les tests de génotoxicité à utiliser sont décrits dans l'annexe V de la directive 67/548/CEE.

Ils seront choisis en fonction de multiples facteurs, tels que les caractéristiques physiques et chimiques de la substance, les résultats des tests initiaux bactériologiques et cytogénétiques, le profil métabolique de la substance, les résultats des autres études toxicologiques, et les usages connus de la substance.

Une sélection trop rigide des tests est inappropriée. Il est donc recommandé de se référer aux stratégies détaillées dans les guides d'évaluation des risques. Ce texte est en refonte actuellement.

II.2.b Propositions de critères à retenir pour l'évaluation des pigments ou colorants

Au niveau européen, les constituants des matériaux et objets en matière plastique, des vernis et des revêtements destinés à entrer en contact avec les denrées, produits et boissons alimentaires pour l'alimentation de l'homme sont évalués selon les lignes directrices du Comité scientifique de l'alimentation humaine (Lignes directrices du 22 novembre 2000).

Trois solutions sont possibles pour la France, soit utiliser pour le cas particulier des colorants les mêmes critères, soit utiliser les critères du CSHPF, soit créer de nouveaux critères.

Concernant les critères de toxicité, de l'étude précédente, il ressort que les deux textes (CSHPF et CSAH) présentent deux différences notables :

- D'une part, une différence d'approche du risque de génotoxicité qui peut se résumer pour le CSHPF à deux tests, et un troisième si les deux premiers ne sont pas clairement négatifs, pour le CSAH, trois tests d'emblée.
- D'autre part dans le cas des dossiers complets, des études moyen terme et long terme sur deux espèces pour CSAH versus une espèce pour le CSHPF.

Pour les substances nouvelles, les dossiers sont moins détaillés, surtout pour les substances vendues à moins d'1 tonne/an. Cela permet de ne pas bloquer d'emblée le développement industriel et commercial d'un certain nombre de produits et d'ajuster le dossier toxicologique en fonction de la quantité vendue et donc implicitement de sa diffusion. Cette notion peut être critiquée, puisqu'une substance introduite en très petite quantité dans un produit, peut être par ce biais largement diffusée alors qu'elle sera modestement produite en tonnage. Ce propos doit être nuancé, puisqu'il s'agit d'un dossier minimal, et qu'il est toujours possible que les autorités compétentes demandent des données complémentaires, ce qui est le cas pour la génotoxicité. Il est demandé d'ajuster les tests en fonction des substances et au moindre doute sur le résultat d'un test, un troisième est réclamé.

Dans le cas des colorants et pigments dans les matériaux au contact des denrées alimentaires, il est techniquement très peu probable qu'une veille efficace puisse faire remonter des effets nouveaux qui seraient entraînés par ces substances.

Par conséquent, les dossiers fournis par les pétitionnaires doivent permettre d'étudier au minimum trois types d'effets : mutations géniques, effets clastogènes, et l'aneuploïdie. Pour cela deux tests doivent au minimum être effectués : un test permettant de mettre en évidence le caractère de mutation génique (par exemple test d'Ames ou test de mutation génique sur cellules de mammifères en culture) et un test permettant de mettre en évidence les aberrations chromosomiques et l'aneuploïdie (par exemple par un test du micro noyau in vitro ou in vivo). Un troisième test sera demandé si un des deux tests précédents est positif. Dans l'avenir l'utilisation d'autres tests pourra s'avérer envisageable si le pétitionnaire l'argumente.

Par ailleurs, le pétitionnaire pourra se référer aux méthodes de l'OCDE pour argumenter les tests effectués en prenant en compte notamment le métabolisme du produit. En sus, il serait bon que les pétitionnaires consultent le guide d'évaluation des risques se rapportant à la directive 67/548/EEC qui permet de choisir les tests de manière scientifique en fonction de la substance.

Pour les colorants, il est demandé d'effectuer un test d'Ames avec un premier essai avec incorporation directe et un deuxième avec préincubation. En ce qui concerne les colorants azoïques, quelques spécificités doivent être rappelées. En effet, il est important de demander pour ce type de colorants, deux types d'Ames : un classique et un test Prival et Mitchell. Ce dernier qui utilise de l'extrait S9 non activé de hamster à la place de S9 activé de rat, permet de mieux rompre les ponts azoïques et ainsi de mieux mettre en évidence des amines aromatiques éventuellement mutagènes. La vérification qu'en cas d'hydrolyse, des amines aromatiques cancérigènes ne sont pas produites doit être systématique.

Dans aucun des textes concernant les matériaux au contact des aliments n'est abordée l'immunotoxicité, notamment l'allergie. Ceci est probablement dû au fait qu'il n'existe pas de test permettant de dépister la sensibilisation par ingestion. Cependant, il serait intéressant de prendre en compte le fort potentiel allergisant ou sensibilisant cutané d'un produit lorsqu'on ne peut pas prouver son effet sensibilisant par ingestion.

II.2.c Conclusions

Hormis quelques pigments, les substances de la liste A présentent un risque acceptable compte-tenu des évaluations antérieures et dans l'état actuel des connaissances. Elles peuvent donc être utilisées pour la coloration des matériaux plastiques, des vernis et revêtements. En ce qui concerne le cuivre, l'aluminium et l'étain qui sont référencés en liste A, ils sont laissés en liste A compte tenu des faibles quantités utilisées comme pigments, et sous réserve des conclusions des travaux effectués par différentes instances sur ces substances.

Pour les substances classées en liste B modifiée (voir p8), les dossiers apparaissent incomplets, voire inexistant. L'ensemble de ces substances doit donc être réévalué selon les lignes directrices présentées dans le paragraphe III.1 dans un délai de 4 ans à compter de la date de parution de l'arrêté.

Enfin, en ce qui concerne les restrictions d'emploi : les saisines soumises au C.E.S. MCDA indiquent généralement le type de polymère, le taux d'incorporation du colorant ou pigment, et la nature des aliments en contact. L'autorisation est donc délivrée au « cas par cas », et si une extension d'utilisation s'avère nécessaire, un nouveau dossier doit être déposé.

II.3 Modification des listes de substances autorisées

A supprimer de la section A

| N° C.I. | REFERENCES CI | N° CAS | DENOMINATION CHIMIQUE | MOTIF |
|---------|-------------------|------------|--|---------|
| 77 492 | Pigment Yellow 42 | 51274-00-1 | Terre de Sienne (oxyde ferrique hydraté, oxyde de fer III hydraté) | Doublon |
| 77 491 | Pigment Brown 7 | 1345-27-3 | Oxydes de fer III, magnétite naturelle et artificielle | Doublon |

A transférer de la section A à la section B

| N° C.I. | REFERENCES CI | N° CAS | DENOMINATION CHIMIQUE | MOTIF |
|---------|---------------------------|------------|--|--|
| 74 160 | Pigment Blue 15 | 147-14-8 | Complexe cuivrique de la phtalocyanine | Un seul test de génotoxicité |
| 74160:1 | Pigment Blue 15:1,2,3,4,6 | | Complexes cuivriques de la phtalocyanine forme β (pigment blue 15:3 & 15:4) forme α chlorée (pigment bleu 15:1 & 15:2); forme ϵ (15:6) | Id. |
| | Pigment Orange 72 | 78245-94-0 | 2-[(3,3'-dichloro[1,1'-biphényl]-4,4'-diyl)bis(azo)]bis[N-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-5-yl)-3-oxobutanamide | 2 tests de génotoxicité mais pas de test d'Ames modifié (amines aromatiques primaires) |

A transférer de la section B (organiques) à la section B(minéraux)

| N° C.I. | REFERENCES CI | N° CAS | DENOMINATION CHIMIQUE | MOTIF |
|---------|-----------------|------------|--|-----------------|
| 77 007 | Pigment Blue 29 | 57455-37-5 | Bleu d'outre-mer (silicates complexes d'aluminium et de sodium sulfurés) | Pigment minéral |

A supprimer de la section B

| N° C.I. | REFERENCES CI | N° CAS | DENOMINATION CHIMIQUE | MOTIF |
|---------|-------------------------|------------|---|--|
| 12 474 | Pigment Red 266 (170:1) | 36968-27-1 | 4-[[4-(aminocarbonyl) phényl] azo]-3-hydroxy-N-(2-méthoxyphényl) naphthalène-2-carboxamide | Admis uniquement dans les encres d'impression ou les pellicules de cellulose régénérée |
| 29 100 | Direct Red 31 | - | Aniline (2 mol.) ⇒ Acide 6,6' imino-bis-1-naphthol-3-sulfonique | Admis uniquement dans les encres d'impression ou les pellicules de cellulose régénérée |
| 13 940 | Pigment Yellow 62 | 12286-66-7 | sel de calcium de l'acide 4-{1-[(2-méthylphényl-amino)butane-1,3-dion-2-yl]azo}-3-nitrobenzène sulfonique | Doublet, figure en section A |

A ajouter en section B

| N° C.I. | REFERENCES CI | N° CAS | DENOMINATION CHIMIQUE | MOTIF |
|---------|------------------------------------|--------|--|--|
| | Colorant polymérique PC Yellow X15 | | Ethyl-3-[4-(N,N-bis (polyoxyéthylène / oxypropylène)) amino] phényl-2-cyanopropénoate | Colorant ayant été provisoirement admis par le passé (un test de mutagenèse négatif) |
| | Colorant polymérique PC Yellow 115 | | Ethyl-3-[4-(N,N-bis (polyoxyéthylène) amino] phényl-2-cyanopropénoate | Id. |
| | Colorant polymérique PC Gold 169 | | 1-[(1-méthyl-2-phénylindole-3-yl)azo]-4-[2-[méthoxypoly (oxyéthylène / oxypropylène)] propane-2-ylaminosulfonyl]benzène | Id. |
| | Colorant polymérique PC Pink 187 | | 1-[(4-méthylbenzothiazole-2-yle)azo]-4-[N,N-bis (polyoxyéthylène) amino]benzène | Id. |
| - | Colorant polymérique PC Cyan 188 | - | Phtalocyanine de cuivre, acide tétrasulfonique, sel tétra avec méthoxypoly (éthylèneoxy / propylèneoxy) propan-2-ylamine | Id. |
| | Colorant polymérique PC violet 180 | | 1-[3,5-dicyano-4-méthylthiophényl-2-ylazo]-2-méthyl-4[N,N-bis (polyoxyéthylène)-amino]benzène | Id. |
| | Colorant polymérique PC Orange 138 | | 1-[4-méthylsulfonyl-2-chlorophényl azo]-2-méthyl-4[N,N-bis (polyoxy éthylène)-amino]benzène. | Id. |

II.4 Critères de pureté des colorants et pigments

Les critères de pureté présentés dans le projet d'arrêté sont repris en partie de la résolution AP 89(1) relative à l'utilisation des colorants dans les matériaux plastiques entrant en contact avec les denrées alimentaires. Est-ce que ces critères sont acceptables?

II.4.a Métaux lourds

Du point de vue sanitaire, il est recommandé de limiter autant que possible la présence de métaux lourds dans les emballages alimentaires. Parmi les critères de pureté présentés dans l'annexe I du projet d'arrêté des remarques ont été soulevées sur les points suivants :

- **Nickel** : Les lignes directrices relatives aux métaux du Conseil de l'Europe recommandent une limite de migration spécifique (LMS) de 0,1 mg/kg d'aliment pour le nickel fondée sur la dose journalière tolérable (DJT) de 5µg/kg poids corporel/jour établie par l'OMS en 1997. Le pétitionnaire doit donc apporter la preuve que la LMS de 0,1 mg/l n'est pas dépassée.
- **Plomb** : Etant données les faibles concentrations de ceux-ci dans les plastiques et vernis, la limite de concentration en plomb est considérée acceptable dans les colorants. Toutefois, compte tenu de la toxicité reconnue du plomb vis à vis des enfants de moins de 6 ans, il serait bon d'inciter les industriels à abaisser cette limite autant qu'il est possible techniquement. Cet abaissement va dans le sens de la réduction en métaux lourds dans les emballages (directive 94/62 CEE). Pour les pigments à base d'antimoine et d'étain qui sont susceptibles de contenir du plomb, le pétitionnaire doit démontrer que la limite de migration spécifique de 0,07mg/kg (lignes directrices relatives aux métaux du Conseil de l'Europe) n'est pas dépassée.
- **Baryum** : Dans le projet d'arrêté, le baryum est limité à une concentration maximale de 0,01% dans les colorants ; or on trouve en section A des pigments à base de baryum. Dans le cas des pigments à base de baryum la LMS de 1 mg/kg (CSAH, synoptic) doit être respectée. En ce qui concerne les autres pigments, le critère de pureté de 0,01% doit être respecté.

Dans le projet d'arrêté aucun critère de pureté n'est indiqué pour le cuivre et le zinc. Etant donnée la faible concentration des colorants dans les matériaux plastiques et la Dose Journalière Tolérable (DJT) relativement élevée du zinc et du cuivre, le risque sanitaire de ces métaux, présents à l'état d'impureté dans les colorants et pigments, est considéré acceptable.

Une méthode analytique de dosage des métaux lourds est proposée en annexe V.

II.4.b Amines aromatiques

Amines aromatiques sulfonées

Le projet d'arrêté ne précise pas la teneur maximale acceptable en amine sulfonée (critère précisé dans la résolution AP(89)1). Est-ce qu'il faut l'ajouter à la liste des critères de pureté?

Sur la base des données actuelles, un critère de pureté pour les amines sulfonées n'apparaît pas nécessaire.

Amines aromatiques non sulfonées

Une limite de migration de 20 µg/kg dans les denrées alimentaires pour les amines aromatiques primaires provenant des matériaux plastiques a été établie dans le 6^{ème} amendement de la directive 90/128 ; par contre cette limite ne s'applique pas aux vernis, qui ne sont pas couverts par cette directive. Faut-il préciser cette limite dans l'arrêté en plus du critère de pureté relatif aux amines aromatiques indiquées dans l'annexe I du projet d'arrêté?

Quelle que soit l'utilisation finale du pigment, le pétitionnaire doit démontrer par le calcul ou par des essais de migration que la LMS de 20 µg/L n'est pas dépassée.

Une méthode de dosage des amines aromatiques non sulfonées est proposée en annexe VI

II.4.c Biphényles polychlorés (PCB)

Il est suggéré que soit indiquée une méthode de dosage des PCB en annexe de l'arrêté. Le pétitionnaire pourra se référer à la méthode de dosage des PCB dans les papiers cartons (méthode en annexe IX).

II.4.d Noir de carbone

Les critères de pureté indiqués dans le projet d'arrêté sont basés, d'une part sur la fraction extractible par le toluène, et d'autre part sur la teneur en benzo-3,4-pyrène. Sur la base des données actuelles, le 3,4 benzopyrène est considéré comme un bon traceur pour les HAP et la fraction extractible de 0,15% est acceptable.

Le noir de carbone est classé en liste 3 du SCF et des études concernant les HAP sont en cours.

Une méthode de dosage de la fraction du noir de carbone extractible par le toluène est proposée en annexe IV

II.5 Migration et conditions d'essai

Est-ce que la méthode de détermination de l'absence de migration présentée en annexe III du projet d'arrêté (méthode ETAD) est acceptable ? Le test de migration dit "migration non visible" est-il un critère suffisant pour accepter ces substances sans restriction d'emploi ?

La méthode d'examen de la migration, présentée dans le projet d'arrêté, est un test de « migration non visible », analogue à celui retenu par le Conseil de l'Europe dans la résolution AP (89) 1. Elle s'apparente à la méthode ETAD No 221 de décembre 1980

« Quantification of the limits of no visible migration of synthetic organic pigments under conditions of testing using the contact paper method ».

Dans les deux méthodes, les tests sont réalisés avec des bandes de papier de porosité moyenne imprégnées de solutions convenablement choisies, et les évaluations s'effectuent par comparaison visuelle. Mais là s'arrêtent les similitudes :

En effet l'objectif de la méthode ETAD est de déterminer les quantités minimales d'un pigment qui peuvent être détectées par inspection visuelle. Pour cela, une série de solutions de colorants de concentrations variées est utilisée. Après trempage dans ces solutions, les bandes de papier sont séchées et pesées. L'examen à la lumière du jour des différents échantillons permet de déterminer la limite quantitative de détection visuelle pour un colorant donné, par comparaison avec du papier blanc. Cette méthode semi-quantitative pourrait être appliquée à l'étude de la migration à partir de matrices colorées.

Dans le projet d'arrêté, des bandes de papier sont imprégnées des solutions simulatrices habituellement utilisées - eau distillée, acide acétique à 3%, éthanol à 15%, huile incolore ou triglycéride synthétique - , et mises au contact du matériau coloré pendant 5 heures à 50°C. Après séchage des bandes imprégnées de solutions aqueuses, ou simple refroidissement des bandes imprégnées de produit gras, celles ci sont comparées à des blancs traités dans les mêmes conditions, mais sans contact avec le matériau. Si une différence est constatée, le matériau ou article est rejeté. Aucune référence à la méthode ETAD n'apparaît dans le projet d'arrêté.

La méthode du projet d'arrêté est une méthode simple qui s'applique au matériau comme au produit fini, mais qui appelle plusieurs commentaires :

- Elle n'est pas réalisée dans les conditions réelles de l'emploi prévisible puisqu'une seule température et une seule durée sont prévues.
- Elle ne prend pas en compte l'épaisseur du matériau (en particulier de la couche de vernis), ce qui est un critère important au niveau de la quantité de substances migrantes.
- C'est une méthode du « tout ou rien » dont la limite de détection est très subjective et doit certainement varier avec la couleur du pigment ou colorant considéré.

Ce test de « migration non visible » apparaît trop imprécis, aussi bien dans les limites de détection que dans les conditions d'essais pour qu'il soit un critère suffisant pour accepter un colorant ou un pigment sans restriction d'emploi.

Il apparaît donc préférable de considérer les colorants et pigments comme des additifs pour matériaux au contact des denrées alimentaires et ainsi d'appliquer les conditions de test de migration présentées dans la directive 85/572/CEE et dans la directive 82/711/CEE modifiée par les directives 93/8/CEE et 97/48/CE. C'est cette démarche qui a d'ailleurs été retenue par le C.E.S. MCDA lors des évaluations les plus récentes de colorants pour matières plastiques.

L'analyse quantitative des colorants migrants peut être réalisée par une méthode adaptée : chromatographie ou spectrométrie visible. Cette dernière méthode semble la plus simple ; il convient toutefois de s'assurer de la parfaite transparence des simulants utilisés, en particulier du simulant gras.

II.6 Stabilité thermique des colorants et pigments

Comment prendre en compte la dégradation thermique des colorants au cours de la transformation ?

La transformation des polymères s'effectue dans une large gamme de températures, certaines pouvant être particulièrement élevées.

La stabilité thermique d'un colorant ou d'un pigment à la température de transformation du matériau auquel il doit être incorporé, est donc particulièrement importante. Les éventuels produits de dégradation, même s'ils sont identifiés, ont rarement fait l'objet d'évaluations toxicologiques.

L'observation du « non changement de couleur » ne peut être suffisante pour s'assurer de cette stabilité : en effet, la dégradation d'une fraction du colorant dans le matériau peut ne pas affecter suffisamment la couleur pour que la modification soit détectable.

Il nous apparaît donc important que la température de début de dégradation (en degré celsius) du pigment ou colorant soit au moins de 10% supérieure à la température de mise en œuvre du matériau

Des premiers essais de stabilité thermique doivent être réalisés sur le colorant ou pigment pur, par analyse thermogravimétrique (ATG) qui permet de détecter la température de début de décomposition du produit, ou par analyse calorimétrique différentielle (DSC) qui mesure les températures de changement d'état ou de réaction chimique qui s'accompagnent d'un effet thermique.

Dans le cas où la température de dégradation du colorant ou pigment est trop proche de la température de mise en œuvre ($T_{\text{décomposition}} < T_{\text{mise en œuvre}} + 10\%$), des analyses complémentaires sur le produit fini seront demandées.

III PROPOSITION DE REGLES EN VUE D'UNE EVALUATION ULTERIEURE DES SUBSTANCES

L'arrêté comprenant une liste de substances autorisées provisoirement, il convient de prévoir des règles permettant l'évaluation ultérieure de celles-ci. Par ailleurs, ces règles devront aussi permettre d'évaluer les nouveaux pigments et colorants dont l'industrie demanderait l'autorisation.

III.1 Lignes directrices pour l'évaluation des pigments et colorants

Après étude du projet d'arrêté, il est considéré que les autorisations d'emploi sont délivrées pour un matériau donné destiné à une utilisation précise, et il est proposé pour l'évaluation de nouvelles substances les lignes directrices présentées ci-après.

III.1.a Critères de pureté

Les colorants et pigments faisant l'objet d'une demande d'autorisation devront répondre aux critères de pureté présentés dans l'annexe I du projet d'arrêté pour les biphényles polychlorés et le noir de carbone. En ce qui concerne les métaux lourds et les amines aromatiques, les colorants et pigments doivent répondre aux critères de pureté suivants :

Métaux lourds :

La teneur en éléments solubles dans l'acide chlorhydrique 0,1M présentée dans le tableau ci-après, déterminée en pourcentage du colorant, ne doit pas dépasser les valeurs suivantes :

| Métaux | Concentration |
|-----------|---------------|
| Antimoine | 0,05% |
| Arsenic | 0,01% |
| Baryum | 0,01% |
| Cadmium | 0,01% |
| Chrome | 0,1% |
| Plomb | 0,01% |
| Mercure | 0,005% |
| Sélénium | 0,01% |

Pour les pigments à base d'étain ou d'antimoine des recherches de la migration du plomb doivent être réalisées (LMS = 0,07 mg/kg). Par ailleurs pour les pigments à base de baryum, une limite de migration spécifique de 1mg/L de baryum sera prise en compte à la place du critère de pureté indiqué dans le tableau. Enfin le pétitionnaire devra démontrer que la migration en nickel ne dépasse pas la LMS de 0,1mg/L.

Amines aromatiques primaires

Quelle que soit l'utilisation finale du pigment, la LMS de 20 µg/L doit être démontrée.

III.1.b Essais de migration

Des tests de migration doivent être effectués sur le produit fini dans les conditions d'emploi prévues conformément à la directive 85/572/CEE et à la directive 82/711/CEE modifiée par les directives 93/8/CE et 97/48/CE. L'analyse quantitative des migrants sera réalisée avec des méthodes analytiques adaptées.

III.1.c Stabilité thermique

La température de début de décomposition du colorant ou pigment doit être déterminée. Si cette température s'avère proche de la température de transformation du matériau ($T_{\text{décomposition}} \text{ °C} < T_{\text{mise en œuvre}} \text{ °C} + 10\%$) dans lequel le colorant ou le pigment est incorporé, alors une extraction du colorant ou pigment contenu dans le produit fini devra être réalisée. En fonction de la quantité et de l'identité des néoformés, des tests de toxicité pourront être demandés.

III.1.d Dossiers toxicologiques

La nature du dossier toxicologique à fournir pour l'évaluation de la substance est définie en fonction du niveau d'exposition théorique (NET) :

NET supérieur à 5000 µg, un dossier toxicologique complet devra être fourni :

- 3 tests de génotoxicité in vitro :
 - un test de mutation génique sur bactéries
 - un test d'aberration chromosomique sur cellules de mammifères en culture
 - un test de mutation génique sur cellules de mammifères en culture
- Ces tests devraient permettre d'étudier quatre types d'effets : mutations géniques, effets clastogènes et aneugènes, et l'aneuploïdie.
- une étude de toxicité orale de 90 jours, normalement dans deux espèces
 - une étude sur l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion
 - des études sur la reproduction sur une espèce et sur la toxicité sur le développement normalement sur deux espèces
 - une étude à long terme de toxicité/cancérogénicité, normalement sur deux espèces.
 - les informations concernant l'état de santé des personnes professionnellement exposées doivent être prises en compte

NET compris entre 50 et 5000 µg, un dossier toxicologique doit contenir au minimum :

- 3 tests de mutagénicité in vitro :
 - un test de mutation génique sur bactéries
 - un test d'aberration chromosomique sur cellules de mammifères en culture
 - un test de mutation génique sur cellules de mammifères en culture
- une étude de toxicité orale de 90 jours
- données montrant l'absence de potentiel d'accumulation chez l'homme

NET inférieur à 50 µg,

- 2 tests de génotoxicité et un troisième test si l'un des deux tests est positif :
 - un test permettant de mettre en évidence la mutation génique (par exemple test d'Ames ou test de mutation génique sur cellules de mammifère en culture)
 - un test permettant de mettre en évidence les aberrations chromosomiques et l'aneuploïdie (par exemple un test sur micro noyau in vitro ou in vivo)

Dans tous les cas d'autres études peuvent être demandées si des données indiquent des effets sur la neurotoxicité, l'immunotoxicité, des effets endocriniens, une prolifération peroxysomale.

Les données concernant des réactions allergiques possibles doivent être prises en compte, notamment les données du milieu professionnel.

Par ailleurs, dans le cas des composés azoïques, deux tests d'Ames (un test d'Ames et un d'Ames modifié) devront être réalisés ainsi qu'une vérification de l'absence de formation d'amines aromatiques primaires cancérigènes par hydrolyse.

Les essais devront être réalisés selon les bonnes pratiques de laboratoires ou à défaut par un système d'assurance qualité. Les méthodes de la Communauté européenne ou les lignes directrices de l'OCDE en vigueur devront être utilisées pour la réalisation des dites études.

III.2 Principe du programme d'évaluation – gestion des listes A et B

Le projet d'arrêté comporte deux listes de substances : une liste A dans laquelle sont référencées les substances dont le dossier contient au minimum deux tests de génotoxicité et une liste B dans laquelle sont référencées les substances dont le dossier d'évaluation est incomplet.

Les colorants classés en liste A sont autorisés dans l'état actuel des connaissances. Les colorants de la liste B sont autorisés pendant 4 ans à compter de la date de parution du présent décret. Dans ce délai les industriels concernés doivent fournir les données nécessaires à l'évaluation des substances. Après ces délais, les substances ne seront plus autorisées si ces données n'ont pas été fournies.

IV ANNEXE : DOSAGE DE LA FRACTION DU NOIR DE CARBONE EXTRACTIBLE PAR LE TOLUENE

IV.1.a Principe utilisé

Le noir de carbone est extrait dans un appareil Soxhlet contenant du toluène. On fait ensuite évaporer le solvant et on pèse le résidu.

IV.1.b Appareillage

- Appareil d'extraction Soxhlet ;
- Cartouches d'extraction en cellulose pouvant contenir 10 g de noir de carbone ;
- Verrerie de laboratoire ;
- Four réglable jusqu'à $140^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$.

IV.1.c Solvant

Toluène.

IV.1.d Mode opératoire

Sécher un échantillon suffisant de noir de carbone à $105^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 1 heure. Placer 10 g de noir de carbone séché (pesé à 0,1 g près) dans une cartouche à extraction préalablement lavée au toluène. Fermer le récipient à l'aide de coton lavé au toluène et placer la cartouche dans un appareil Soxhlet.

Extraire le noir de carbone pendant 8 heures à l'aide de 150 ml de toluène. Régler l'élément chauffant de l'appareil de telle sorte que le solvant placé dans la cartouche à extraction soit renouvelé environ 10 fois par heure.

Laisser refroidir, sortir la cartouche à extraction de l'appareil et concentrer l'extrait par évaporation jusqu'à obtenir un faible volume. Rincer la cartouche avec un peu de toluène en faisant passer le résidu dans un creuset de verre posé (poids : a g), puis faire évaporer le toluène au-dessus d'un bain-marie. Placer le creuset dans un four pendant 2 heures à 140°C ; laisser refroidir dans un dessiccateur et peser de nouveau le creuset (poids : b g).

IV.1.e Mode de calcul

Calculer la fraction extractible E du noir de carbone à l'aide de la formule ci-après :

$$E = 10 (b - a) \%$$

E ne doit pas dépasser 0,15 %.

V ANNEXE : DOSAGE DES METAUX LOURDS

A l'aide d'un agitateur mécanique, mettre en suspension pendant 15 min, à $23\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$, 10 g de colorant dans 150 ml d'acide chlorhydrique 0,1M. Filtrer la solution acide à travers la membrane filtrante après avoir laissé sédimenter le colorant pendant 10 minutes. Analyser ensuite le filtrant pour rechercher les métaux lourds par des méthodes spectrométriques dont la limite de détection est au moins le dixième des valeurs admissible. Les dosages à blanc sur les réactifs sont indispensables.

VI ANNEXE : RECHERCHE D'AMINES AROMATIQUES PRIMAIRES NON SULFONEES

Préparer un extrait contenant des amines aromatiques en traitant le colorant organique par l'acide chlorhydrique 1M suivant la méthode ETAD n° 212. Le dosage des amines aromatiques primaires non sulfonées dans cet extrait peut s'effectuer par cette méthode.

VII ANNEXE : TABLEAU RECAPITULATIF DES PRINCIPALES CONDITIONS D'EVALUATION DES SUBSTANCES EN EUROPE ET EN FRANCE

| | |
|--|---|
| Avis du conseil supérieur d'hygiène publique de France relatifs aux matériaux au contact des denrées alimentaires | <p><i>Le dossier toxicologique de base est demandé si le NET est supérieur à 5000μg : il comporte :</i></p> <ul style="list-style-type: none">- une étude de toxicité subaiguë par voie orale sur une période de 90 jours, avec réversibilité- deux études de génotoxicité :<ul style="list-style-type: none">• un test de mutation génique sur bactéries• un test d'aberration chromosomique sur culture de cellules de mammifères• au cas où l'un de ces tests ne serait pas clairement négatif, le dossier doit inclure un troisième test ayant vocation à infirmer ou à confirmer le précédent- une étude sur l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion- une étude sur la reproduction- une étude sur la tératogénèse- une étude de toxicité à long terme visant à caractériser, entre autres, le pouvoir cancérogène de la molécule.- Si des données existent concernant la sensibilisation, l'irritation oculaire et cutanée, la toxicité par voie respiratoire, leurs résultats doivent être communiqués ainsi que toute observation relevée sur l'état de santé des personnes exposées à la molécule.- La substance testée doit avoir des spécifications identiques à celles mentionnées dans la partie concernant les renseignements physico-chimiques.- Si les études mentionnées ci-dessus ou si la littérature scientifique disponible indiquent qu'un autre type de toxicité est possible, des études complémentaires peuvent être demandées. <p><i>Si le NET est compris entre 50 et 5000μg, le dossier toxicologique doit comprendre au minimum :</i></p> <ul style="list-style-type: none">- une étude de toxicité subaiguë par voie orale sur 90 jours avec réversibilité- des données telles que le coefficient de partage octanol/eau permettant d'évaluer le potentiel de bioaccumulation- les études démontrant l'absence de potentiel génotoxique <p><i>Si le NET est compris entre 0,5 et 50μg, le dossier toxicologique doit comprendre au minimum les études démontrant l'absence de potentiel génotoxique</i></p> <p><i>Si le niveau d'exposition théorique est inférieur à 0,5 μg, les pétitionnaires qui peuvent fournir les éléments caractérisant l'absence de potentiel cancérogène selon un modèle de relation structure-activité reconnu sont dispensés des études démontrant l'absence de potentiel génotoxique.</i></p> |
|--|---|

| | |
|--|--|
| | <p>Pour les matières colorantes (pigments et colorants)</p> <ul style="list-style-type: none"> - S'il y a migration, le dossier précédent est nécessaire - en absence de migration visible, le dossier toxicologique doit comprendre au minimum, les études démontrant l'absence de potentiel génotoxique : <ul style="list-style-type: none"> • un test de mutation génique sur bactéries • un test d'aberration chromosomique sur culture de cellules de mammifères. • Au cas où l'un de ces tests ne serait pas clairement négatif, le dossier doit inclure un troisième test ayant vocation à infirmer ou à confirmer le précédent. - Le pétitionnaire qui pourrait fournir les éléments caractérisant l'absence de potentiel cancérigène selon un modèle de relation structure-activité reconnu sera exempté des essais de génotoxicité |
| <p>Lignes directrices du Comité européen Scientifique de l'Alimentation humaine sur les critères de sécurité d'une substance destinée à être utilisée dans des matériaux rentrant en contact avec des aliments (22 novembre 2000)</p> | <p><i>Si la migration est de 5 à 60 mg/kg/aliment, il est demandé un dossier complet :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 3 tests de mutagénicité in vitro : <ul style="list-style-type: none"> • un test de mutation génique sur bactéries • un test d'aberration chromosomique sur cellules de mammifères en culture • un test de mutation génique sur cellules de mammifères en culture - une étude de toxicité orale de 90 jours, normalement dans deux espèces - une étude sur l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion - des études sur la reproduction sur une espèce et sur la toxicité sur le développement normalement sur deux espèces - une étude à long terme de toxicité/cancérogénicité, normalement sur deux espèces. - les informations concernant l'état de santé des personnes professionnellement exposées doivent être prises en compte. <p><i>Si migration est de 0,05 à 5 mg/kg/aliment, les tests suivants sont nécessaires :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 3 tests de mutagénicité in vitro : <ul style="list-style-type: none"> • un test de mutation génique sur bactéries • un test d'aberration chromosomique sur cellules de mammifères en culture • un test de mutation génique sur cellules de mammifères en culture - une étude de toxicité orale de 90 jours - données montrant l'absence de potentiel d'accumulation chez l'homme <p><i>Si migration inférieure à 0,05 mg/kg/aliment :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - 3 tests de mutagénicité in vitro : <ul style="list-style-type: none"> • un test de mutation génique sur bactéries • un test d'aberration chromosomique sur cellules de mammifères en culture • un test de mutation génique sur cellules de mammifères en culture <p>Dans tous les cas d'autres études peuvent être demandées si des données indiquent des effets sur la neurotoxicité, l'immunotoxicité, des effets endocriniens, une prolifération peroxysomale. Les données concernant des réactions allergiques possibles doivent être prises en compte, notamment les données du milieu professionnel.</p> |
| <p>dossiers de déclaration des substances nouvelles</p> | <p><i>Dossier de base : quantités égales ou supérieures à 1 tonne par an et par fabricant</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - toxicité aiguë: 2 tests par deux voies d'exposition différentes, dont obligatoirement la voie orale (sauf pour les gaz) |

- irritation de la peau
- irritation des yeux
- sensibilisation de la peau
- toxicité par doses répétées de 28 jours par la voie d'administration la plus appropriée compte tenu du type d'exposition auquel l'homme risque d'être soumis, de la toxicité aiguë et de la nature de la substance. En l'absence de contre-indications, la voie orale est celle qui est habituellement préférée.
- mutagenèse : deux essais :
 - un essai bactériologique (essai de mutation reverse) avec et sans activation métabolique
 - un essai non bactériologique pour mettre en évidence les aberrations ou dommages chromosomiques. En l'absence de contre-indication, il devra être effectué in vitro, avec et sans activation métabolique.
 - En cas de résultat positif au cours de l'un de ces essais, des essais supplémentaires devraient être effectués.
- dépistage de la toxicité liée à la reproduction
- évaluation du comportement toxicocinétique de la substance dans la mesure où il ressort des indications du dossier de base et des autres renseignements pertinents.

Quantités inférieures à 1 tonne et égales ou supérieures à 100 Kg/an/fabricant :

- un test de toxicité aiguë par voie orale (autre que pour les gaz)
- irritation de la peau
- irritation des yeux
- sensibilisation de la peau
- mutagenèse : un essai bactériologique (essai de mutation reverse) avec et sans activation métabolique.

Quantités inférieures à 100 kg et égales ou supérieures à 10 Kg/an/fabricant :

- une toxicité par voie orale

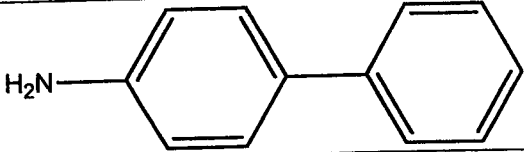
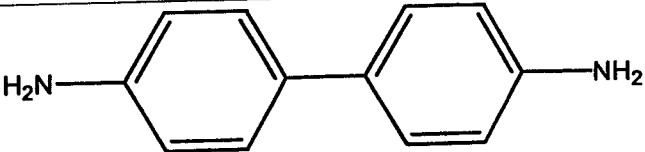
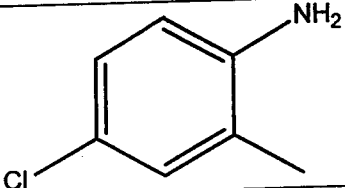
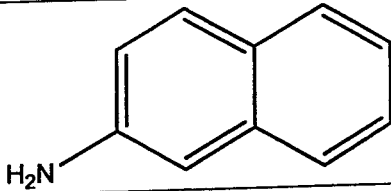
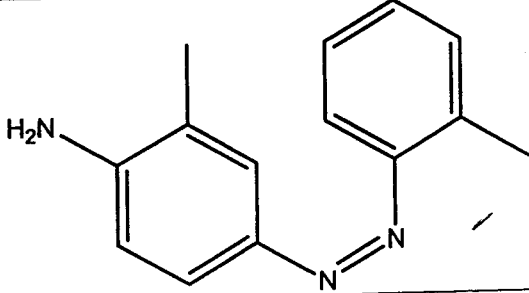
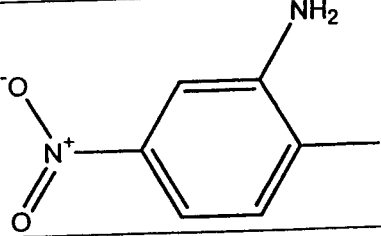
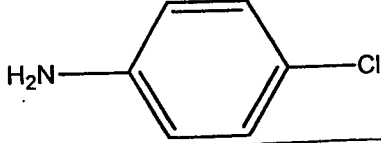
Concernant les tests de mutagénicité, les remarques suivantes sont apportées.

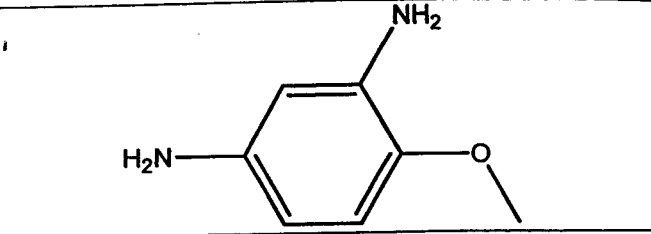
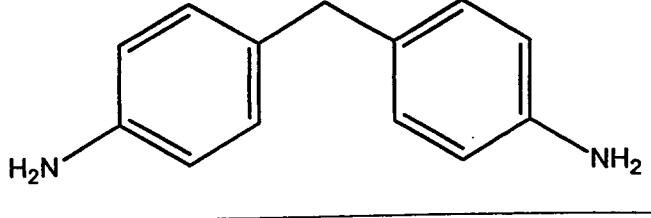
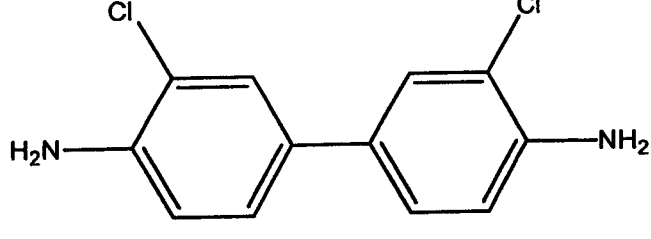
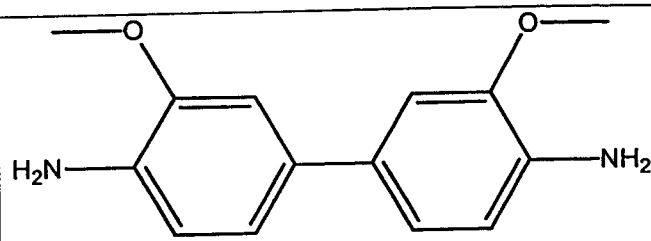
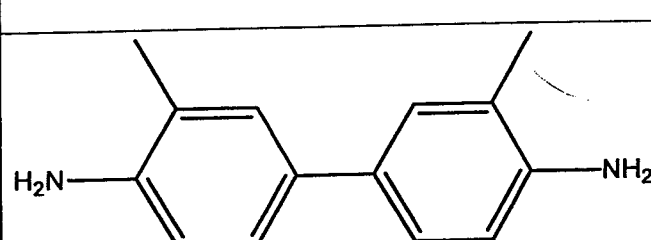
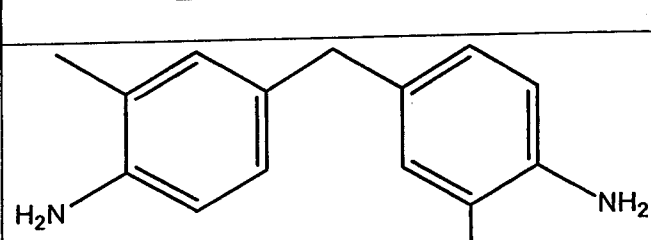
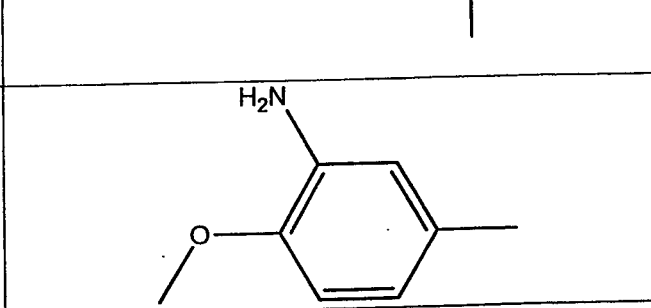
Une mutation est une modification permanente du nombre ou de la structure du matériel génétique dans un organisme, qui aboutit à une modification des caractéristiques phénotypiques de l'organisme. Les altérations peuvent impliquer un gène unique, un ensemble de gènes ou un chromosome entier. Les effets concernant des gènes uniques peuvent résulter d'effets sur une seule des bases d'ADN (mutation ponctuelle) ou de profondes modifications, y compris des délétions, au sein du gène. Les effets sur des chromosomes entiers peuvent entraîner des modifications structurelles ou numériques. Une mutation des cellules germinales dans les organismes à reproduction sexuée peut être transmise à la descendance. Un mutagène est un agent qui augmente l'apparition de mutations.

VIII ANNEXE : LISTE DES AMINES AROMATIQUES CLASSEES CANCEROGENES

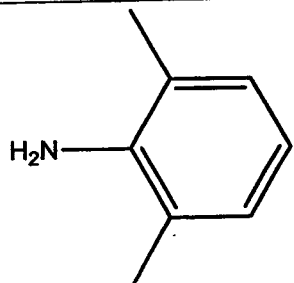
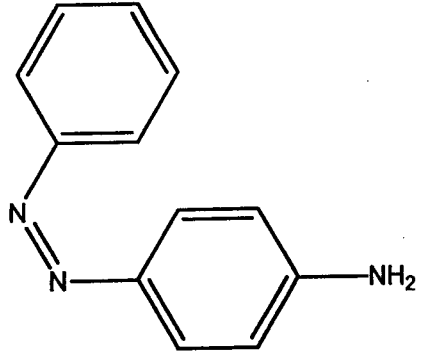
COLORANTS AZOIQUES

LISTE DES AMINES AROMATIQUES

| No CAS | No index | No CE | Nom chimique | Formule développée |
|----------|--------------|-----------|--|---|
| 92-67-1 | 612-072-00-6 | 202-177-1 | biphényl-4-ylamine 4-aminobiphényle xénylamine |  |
| 92-87-5 | 612-042-00-2 | 202-199-1 | benzidine |  |
| 95-69-2 | | 202-441-6 | 4-chloro-o-toluidine |  |
| 91-59-8 | 612-022-00-3 | 202-080-4 | 2-naphtylamine |  |
| 97-56-3 | 611-006-00-3 | 202-591-2 | o-aminoazotoluène 4-amino-2',3- diméthylazobenzène 4-o-tolylazo-o-toluidine |  |
| 99-55-8 | 612-025-00-X | 202-765-8 | 5-nitro-o-toluidine |  |
| 106-47-8 | 612-137-00-9 | 203-401-0 | 4-chloroaniline |  |

| | | | | |
|----------|--------------|-----------|---|--|
| 615-05-4 | | 210-406-1 | 4-méthoxy-m-phénylènediamine |  |
| 101-77-9 | 612-051-00-1 | 202-974-4 | 4,4'-méthylènedianiline 4,4'-diaminodiphénylméthane |  |
| 91-94-1 | 612-068-00-4 | 202-109-0 | 3,3'-dichlorobenzidine 3,3'-dichlorobiphényl-4,4'-ylènediamine |  |
| 119-90-4 | 612-036-00-X | 204-355-4 | 3,3'-diméthoxybenzidine o-dianisidine |  |
| 119-93-7 | 612-041-00-7 | 204-358-0 | 3,3'-diméthylbenzidine 4,4'-bi-o-toluidine |  |
| 838-88-0 | 612-085-00-7 | 212-658-8 | 4,4'-méthylènedi-o-toluidine |  |
| 120-71-8 | | 204-419-1 | 6-méthoxy-m-toluidine p-crésidine |  |

| | | | | |
|---------|--------------|-----------|---|--|
| 01-14-4 | 612-078-00-9 | 202-918-9 | 4,4'-méthylènebis(2-chloroaniline) 2,2'-dichloro-4,4'-méthylènedianiline | |
| 01-80-4 | | 202-977-0 | 4,4'-oxydianiline | |
| 39-65-1 | | 205-370-9 | 4,4'-thiodianiline | |
| 35-53-4 | 612-091-00-X | 202-429-0 | o-toluidine 2-aminotoluène | |
| 35-80-7 | 612-099-00-3 | 202-453-1 | 4-méthyl-m-phénylènediamine | |
| 37-17-7 | | 205-282-0 | 2,4,5-triméthylaniline | |
| 00-04-0 | 612-035-00-4 | 201-963-1 | o-anisidine 2-méthoxyaniline | |
| 35-68-1 | 612-027-00-0 | 202-440-0 | 2,4-xylidine | |

| | | | | |
|---------|--------------|-----------|-------------------|---|
| 37-62-7 | 612-027-00-0 | 201-758-7 | 2,6-xylidine |  |
| 30-09-3 | 611-008-00-4 | 200-453-6 | p-aminoazobenzène |  |

IX ANNEXES : METHODES D'ANALYSE DES PCB

PROJET DÉFINITIF
prEN ISO 15318

NORME EUROPÉENNE
EUROPÄISCHE NORM
EUROPEAN STANDARD

Février 1999

ICS 67.250; 85.040; 85.060

Destiné à remplacer ENV 1798:1995

Descripteurs:

Version Française

Pâtes, papiers et cartons - Détermination de 7
polychlorobiphényles (PCB) spécifiés (ISO/FDIS 15318:1999)

Zellstoff, Papier und Pappe - Bestimmung von 7
ausgewählten Biphenylen (PCB) (ISO/FDIS 15318:1999)

Pulp, paper and board - Determination of 7 specified
polychlorinated biphenyls (PCB) (ISO/FDIS 15318:1999)

Le présent projet de Norme européenne est soumis aux membres du CEN pour vote formel. Il a été établi par le Comité Technique CEN/TC 172.

Si ce projet devient une Norme européenne, 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.

Le présent projet de Norme européenne a été établi par le CEN 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 Secrétariat Central, a le même statut que les versions officielles.

Les membres du CEN sont les organismes nationaux de normalisation des pays suivants: Allemagne, Autriche, Belgique, Danemark, Espagne, Finlande, France, Grèce, Irlande, Islande, Italie, Luxembourg, Norvège, Pays-Bas, Portugal, République Tchèque, Royaume-Uni, Suède et Suisse.



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

Secrétariat Central: rue de Stassart, 36 B-1050 Bruxelles

Sommaire

| | Page |
|--|------|
| Avant-propos | 3 |
| Introduction | 4 |
| 1 Domaine d'application | 4 |
| 2 Références normatives | 4 |
| 3 Principe | 4 |
| 4 Appareillage et matériels auxiliaires | 4 |
| 5 Réactifs | 5 |
| 6 Echantillonnage | 6 |
| 7 Mode opératoire | 7 |
| 8 Analyse | 7 |
| 9 Confirmation | 8 |
| 10 Expression des résultats | 9 |
| 11 Précision | 9 |
| 12 Rapport d'essai | 9 |
| Annexe A (informative): Méthode d'estimation de la teneur totale en PCB | 10 |
| Annexe B (informative): Description du réservoir d'extraction | 11 |
| Annexe C (informative): Détermination graphique de la teneur en congénère dans le papier | 12 |

Avant-propos

Le texte du prEN ISO 15318:1999 a été élaboré par le Comité Technique CEN/TC 172 "Pâtes, papier et carton" dont le secrétariat est tenu par le DIN, en collaboration avec le Comité Technique ISO/TC 6 "Papiers, cartons et pâtes".

Ce document est actuellement soumis au Vote Formel parallèle.

La présente norme européenne remplace l'ENV 1798:1995.

Par rapport à ENV 1798 : 1995-07, on a apporté les changements suivants:

- a) extension du domaine d'application à la "pâte";
- b) adjonction d'une information détaillée sur la "précision";
- c) transformation d'une prénorme européenne (ENV) en norme européenne (EN);
- d) mises à jour rédactionnelles.

Introduction

Le GEN/TC 172 a décidé de publier cette méthode d'essai comme norme européenne (EN) parce que la validation de la méthode d'essai sur la base de la limite actuelle pour PCB (2 ppm) était impossible jusqu'à présent en raison du fait qu'il n'y avait pas de matériau de référence avec ce niveau de PCB et que tous les échantillons testés ont une teneur en PCB se situant au niveau de la limite de détection (environ 5µg/kg des congénères).

Avant l'arrêt de son utilisation en 1971, un PCB du commerce était un des constituants du papier autocopiant. La présence de ces papiers autocopiants dans les papiers de récupération peut entraîner une contamination par le PCB des produits réalisés à partir de pâtes, de papiers ou de cartons recyclés.

Le PCB contaminant présente la même distribution de congénères que le PCB utilisé antérieurement dans les papiers autocopiants, ce qui permet d'identifier la source de contamination.

Dans la présente méthode, sept congénères de PCB spécifiés (numéro 18, 28, 52, 101, 138, 153 et 180) sont déterminés séparément. Comme la source de la contamination par le PCB peut être identifiée à l'aide de la distribution de congénères, la teneur totale en PCB du papier peut être estimée à partir de ces 7 congénères.

Pour les analyses normales, la méthode par ajout indiquée aux 5.10.5 et 7.4.4 peut être omise à condition que la valeur du résultat soit inférieure à 50 % de toute limite actuelle. Cela nécessitera une modification du chapitre 8 pour prendre en compte ces changements. L'utilisation de cette modification doit être précisée dans le rapport d'essai. En cas de litige, la méthode complète doit être appliquée.

Avertissement:

L'usage de la présente norme européenne peut nécessiter des matériaux opérations et équipements dangereux. La présente norme européenne n'expose pas tous les problèmes de sécurité associés à son usage. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de cette norme européenne d'établir les pratiques appropriées de sécurité et de prévention et de déterminer l'applicabilité des mesures de sécurité avant l'utilisation de la norme.

1 Domaine d'application

Cette norme européenne donne les indications permettant la détermination de 7 PCB spécifiés dans la pâte, le papier et le carton. L'annexe A donne un mode opératoire permettant d'estimer la teneur totale en PCB à partir de celle du congénère.

2 Références normatives

Cette norme Européenne comporte par référence datée ou non datée des dispositions d'autres publications. Ces références normatives sont citées aux endroits appropriés dans le texte et les publications sont énumérées ci-après. Pour les références datées les amendements ou révisions ultérieurs de l'une quelconque de ces publications ne s'appliquent à cette norme européenne que s'ils y ont été incorporés par amendement ou révision. Pour les références non datées, la dernière édition de la publication à laquelle il est fait référence s'applique.

EN ISO 186

Papier et carton - Echantillonnage pour déterminer la qualité moyenne (ISO 186 : 1994)

EN 27213

Pâtes - Echantillonnage pour essais (ISO 7213 : 1981)

3 Principe

Le matériau soumis à l'essai est extrait à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol ou le méthanol à l'ébullition. Une partie aliquote de l'extrait est mélangée à de l'eau et soumise à une séparation liquide-solide sur une cartouche d'extraction jetable en phase solide C_{18} , suivie d'une élution à l'hexane ou à l'isooctane.

Les PCB contenus dans la solution d'hexane sont évalués quantitativement par chromatographie capillaire en phase gazeuse avec utilisation d'un détecteur à capture d'électrons ou d'un détecteur à sélection de masse. Le chromatogramme des sept congénères est comparé à celui d'un PCB technique.

En cas de concordance, la teneur totale de PCB peut être estimée à partir de celle du congénère après application d'un facteur approprié.

4 Appareillage et matériels auxiliaires

4.1 Appareillage de laboratoire ordinaire

4.2 Réservoir d'extraction

L'Annexe B donne un exemple de réservoir comprenant un tube en verre d'environ 200 mm de long et de 30 mm de diamètre interne.

L'extrémité inférieure du tube comporte deux rétrécissements afin de garantir l'étanchéité aux gaz du raccordement à la cartouche (4.3) et permettre la formation de gouttes.

4.3 Cartouche jetable d'extraction en phase solide, avec une phase liée C_{18} (3,0 ml et 200 mg).

4.4 Chromatographe en phase gazeuse équipé d'un détecteur à capture d'électrons (DCE) ou d'un détecteur à sélection de masse.

4.5 Colonne capillaire permettant de déterminer la teneur en PCB comme spécifié en 8.4.

5 Réactifs

Sauf spécification contraire, les réactifs doivent être appropriés à l'analyse des traces. Il est recommandé d'utiliser de l'eau bidistillée ou de qualité équivalente. Le méthanol peut, si nécessaire, remplacer l'éthanol dans toutes les solutions et l'isooctane être utilisé à la place de l'hexane.

5.1 Ethanol

($C_2H_5OH > 99,5 \%$)

5.2 Méthanol

($CH_3OH > 99,8 \%$)

5.3 n-Hexane

($C_6H_{14} > 98,0 \%$)

5.4 Acide sulfurique, concentré

($d = 1,84$)

5.5 Produits de référence

Nomenclature Ballschmit

| | |
|--|-----|
| 5.5.1 Trichloro-2, 2', 5 biphenyle | 18 |
| 5.5.2 Trichloro-2, 4, 4' biphenyle | 28 |
| 5.5.3 Tétrachloro-2, 2', 5, 5' biphenyle | 52 |
| 5.5.4 Pentachloro-2, 2', 4, 5, 5' biphenyle | 101 |
| 5.5.5 Hexachloro-2, 2', 3, 4, 4', 5' biphenyle | 138 |
| 5.5.6 Hexachloro-2, 2', 4, 4', 5, 5' biphenyle | 153 |
| 5.5.7 Heptachloro-2, 2', 3, 4, 4', 5, 5' biphenyle | 180 |

5.6 Echantillon de comparaison

Mélange technique de, par exemple, Chlophen¹⁾ A 30 à A 60® ou d'Arochlors²⁾ 1242 à 1260.

5.7 Echantillon de résolution pour chromatographie en phase gazeuse

5.7.1 Trichloro-2, 4', 5 biphenyle (TCBP, PCB 31)

¹⁾ Chlophen est l'appellation commerciale d'un produit distribué par Bayer. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme et ne signifie nullement que CEN recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné. Des produits équivalents peuvent être utilisés s'il est démontré qu'ils conduisent aux mêmes résultats.

²⁾ Arochlors est un exemple de produit approprié disponible sur le marché. Cette information est donnée à l'intention des utilisateurs de la présente Norme et ne signifie nullement que CEN recommande l'emploi exclusif du produit ainsi désigné.

5.8 Etalons internes

5.8.1 Trichloro-2, 4, 6 biphényle (TCBP, PCB 30)

5.8.2 Tribromo-2, 4, 6 biphényle (TBBP).

5.9 Solution d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol (2 % m/v)

Dissoudre 30,0 g d'hydroxyde de potassium dans une solution 19 : 1 (v/v) d'éthanol/eau (1500 ml). Laisser reposer pendant 24 h, décantier et conserver la partie limpide.

5.10 Solutions étalons combinées

Préparer les solutions étalons suivantes en utilisant toujours une fiole de verre jaugée:

NOTE: Les mélanges correspondant aux 5.10.1 à 5.10.4 sont disponibles dans le commerce.

5.10.1 Solutions étalons intermédiaires A (200 µg/ml)

Prélever environ 10,0 mg (à 0,1 mg près) du congénère de référence 18 (5.5.1) et les transférer dans une fiole jaugée de 50,0 ml. Compléter à 50,0 ml avec de l'hexane. Agiter pour dissoudre.

Recommencer la même opération avec les congénères 28, 52, 101, 138, 153 et 180, avec l'échantillon 31 de résolution pour chromatographie en phase gazeuse et avec le TCBP ou le TBBP (5.8).

5.10.2 Solutions étalons intermédiaires B (20 µg/ml)

Prélever 5,00 ml de solution A réalisée avec le congénère 18 (5.10.1) et la diluer à 50,0 ml avec de l'hexane. Recommencer la même opération avec les congénères 28, 52, 101, 138, 153 et 180, avec l'échantillon 31 de résolution pour chromatographie en phase gazeuse et avec le TCBP ou le TBBP (5.8).

5.10.3 Solutions étalons individuelles pour chromatographie en phase gazeuse (0,1 µg/ml)

Prélever 1,00 ml de solution B réalisée avec le congénère 18 (5.10.2) et la diluer à 200,0 ml avec de l'hexane.

Recommencer la même opération avec les congénères 28, 52, 101, 138, 153 et 180 avec l'échantillon 31 de résolution pour chromatographie en phase gazeuse et avec le TCBP ou le TBBP (5.8).

5.10.4 Solutions étalons combinées pour chromatographie en phase gazeuse (0,1 µg/ml)

Prélever 1,00 ml de solution B réalisée avec chaque congénère 18, 28, 52, 101, 138, 153 et 180, avec l'échantillon 31 de résolution pour chromatographie en phase gazeuse et avec le TCBP ou le TBBP (5.8). Diluer à 200,0 ml avec de l'hexane.

5.10.5 Solution d'ajout (0,1 µg/ml)

Prélever environ 10,0 mg (à 0,1 mg près) de congénères 18, 28, 52, 101, 138, 153 et 180 (5.5) et les transférer dans une fiole jaugée de 100,0 ml. Compléter à 100,0 ml avec de l'éthanol. Agiter pour dissoudre.

Prendre 5,00 ml de cette solution et la diluer à 100,0 ml avec de l'éthanol.

Prélever 5,00 ml de cette deuxième solution et diluer à 250,0 ml avec la solution d'hydroxyde de potassium et d'éthanol (5.9).

5.10.6 Solution étalon interne (0,1 µg/ml)

Prélever environ 10,0 mg (à 0,1 mg près) de substances étalons internes TCBP ou TBBP (5.8) et les transférer dans un flacon gradué de 100,0 ml. Compléter à 100,0 ml avec de l'éthanol. Agiter pour dissoudre.

Prendre 5,00 ml de cette solution et la diluer à 100,0 ml avec de l'éthanol.

Prélever 5,00 ml de cette deuxième solution et diluer à 250,0 ml avec la solution d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol (5.9).

6 Echantillonnage

L'échantillonnage doit être réalisé conformément aux prescriptions de la norme EN ISO 186 ou EN 27213. Entre le prélèvement et l'essai, l'échantillon doit être enveloppé dans une feuille d'aluminium, afin d'éviter toute modification avant l'essai.

7 Mode opératoire

7.1 Les mesures de sécurité appropriées doivent être prises lors de l'application de cette méthode d'essai.

7.2 Conformément aux directives du fabricant, positionner la cartouche jetable d'extraction en phase solide (4.3) dans le réservoir de la colonne d'extraction (4.2) en réalisant un joint étanche aux gaz et y placer deux charges de méthanol (5.2) (en principe 2 x 3,0 ml) puis verser de l'eau (en principe 2 x 3,0 ml).

7.3 Prélever un échantillon représentatif de pâte, de papier ou de carton (environ 100 g en l'état) et le couper en morceaux de 1 cm² environ. Placer les morceaux dans un grand béccher en verre et agiter pour obtenir une répartition au hasard.

7.4 Prendre neuf ballons à fond rond de 100 ml. Ajouter (2,00 ± 0,02) g de papier de pâte ou de carton (1,80 ± 0,02) g (7.3) dans huit d'entre eux et procéder de la manière suivante:

7.4.1 Echantillon MB (blanc)

Ajouter 2,00 ml de solution étalon interne (5.10.6) dans le flacon qui ne contient pas de pâte, de papier ou de carton.

7.4.2 Echantillon SB (échantillon témoin)

Aucun complément.

7.4.3 Echantillons S1 à S3 (essais et triple)

Ajouter 2,00 ml de solution étalon interne (5.10.6).

7.4.4 Echantillons C1 à C4 (échantillons d'étalonnage)

Ajouter 2,00 ml de solution étalon interne (5.10.6) avec 1,00 ml, 2,00 ml, 3,00 ml ou 4,00 ml de solution d'ajout (5.10.5).

7.5 Ajouter la quantité requise de solution d'hydroxyde de potassium dans l'éthanol (5.9) pour obtenir un volume total de liquide de 50,0 ml.

Chauffer à reflux pendant 60 min. Laisser refroidir à température ambiante et, à l'aide d'une pipette, verser 25,0 ml de l'extrait dans une fiole conique contenant 50,0 ml d'eau. Mélanger immédiatement pendant 5 s.

7.6 Verser aussitôt le mélange dans le réservoir de la colonne d'extraction équipée de la cartouche (7.2). Appliquer une pression ou une dépression afin d'obtenir un débit de 50 gouttes par min à 100 gouttes par min. Jeter l'éluent.

Retirer le réservoir et sécher la cartouche pendant environ 10 min tout en maintenant la pression ou la dépression. Placer une ampoule à décanter ou une éprouvette (10,0 ml) à la sortie de la cartouche. Verser à l'aide d'une pipette, 0,5 ml de n-hexane (5.3) dans la cartouche. Attendre que le n-hexane ait imbibé le remplissage de la cartouche. Laisser reposer la cartouche pendant 5 min à 10 min pour permettre au n-hexane d'imprégner le remplissage puis verser à nouveau 0,5 ml de n-hexane. Éluer soigneusement dans l'ampoule à décanter en appliquant une pression ou une dépression. Enfin, verser à nouveau 1,0 ml de n-hexane et éluer sous pression.

7.7 Laver l'extrait d'hexane avec des quantités successives de 2,0 ml d'acide sulfurique (5.4), jusqu'à ce que le produit obtenu ne soit plus coloré. Verser l'extrait d'hexane dans un flacon gradué de 2,0 ml et compléter à 2,0 ml avec de l'hexane.

La solution d'hexane est maintenant prête pour la chromatographie en phase gazeuse.

8 Analyse

8.1 Mode opératoire de la chromatographie en phase gazeuse

Il est recommandé d'appliquer les directives des fabricants en ce qui concerne l'optimisation de la sensibilité, de la linéarité de l'affichage et de la reproductibilité du chromatographe et du détecteur à capture d'électrons ou du détecteur à sélection de masse.

Les exemples suivants présentent des colonnes et des conditions qui se sont révélées adaptées à cette analyse.

Colonnes capillaires (4.5):

Phénylméthyl-silicone greffé à 5 % sur du verre de silice.
50 m à 60 m de longueur. 0,2 mm à 0,35 mm de diamètre interne,
0,1 µm à 0,3 µm d'épaisseur de film.

Injecteur:

mode split/splitless (par vaporisation) entre 250 °C et 270 °C.

Détecteur à capture d'électrons:

entre 300 °C et 350 °C.

Etuve: température programmée avec une élévation de température de 25 °C/min entre 100 °C (2 min) et 160 °C. Maintien à cette température pendant 10 min puis élévation de 5 °C/min jusqu'à 280 °C. Maintien à cette température pendant 10 min ou, température programmée pour une augmentation de 2,5 °C/min entre 130 °C (zéro min) et 290 °C et maintien à cette température pendant 5 min.

8.2 Détermination des temps de rétention de la chromatographie en phase gazeuse

Procéder à l'analyse individuelle de chaque solution étalon (5.10.3) afin de déterminer le temps de rétention des étalons internes, des congénères de PCB ainsi que celui de l'échantillon PCB 31.

8.3 Critères de reproductibilité du temps de rétention

Effectuer trois injections de solution étalon combinée (5.10.4) et déterminer la variabilité (écart-type) du temps de rétention de chaque composant. D'une manière générale, elle ne devrait pas être supérieure à la plus grande des deux valeurs suivantes: 3 s ou 0,5 % du temps de rétention.

8.4 Critères de résolution chromatographique

La résolution entre congénères 28 et 31 permet d'évaluer le chromatographe en phase gazeuse. La valeur obtenue pour la résolution devrait être $R > 0,5$.

8.5 Analyse chromatographique

Injecter, dans un ordre aléatoire, les neuf derniers extraits purifiés (7.7) dans le chromatographe.

8.6 Evaluation de l'échantillon MB (blanc de méthode)

Le chromatogramme de cet échantillon devrait présenter des pics pour l'étalon interne (5.8) mais aucun pic significatif pour les temps de rétention (8.3) des sept congénères de PCB considérés (5.5).

8.7 Critères d'aptitude des étalons internes

Le chromatogramme de l'échantillon témoin ne devrait pas, en ce qui concerne les temps de rétention des étalons internes, présenter de recouvrement supérieur à 5 % de l'amplitude des pics respectifs de solutions étalon contenant les échantillons de la pâte, de papier respectivement de carton S1 à S3.

Si des recouvrements apparaissent pour ces deux solutions internes, il faut alors en choisir une troisième et le signaler dans le rapport d'essai.

L'isodrine, le tétrachloro-1, 2, 3, 4 naphthalène ou l'hexabromobenzène ont été utilisés avec succès comme produits de remplacement.

8.8 Identification des congénères de PCB d'après le temps de rétention

A l'aide des temps de rétention obtenus au paragraphe 8.3, identifier sur les chromatogrammes C1 à C4 l'étalon interne (5.8) et les sept congénères de PCB. Calculer la reproductibilité (coefficient de variation en %) du temps de rétention de chaque congénère de PCB et d'étalon interne (5.8). De la même manière, identifier les pics des deux étalons internes et ceux éventuels des congénères de PCB, dans les échantillons S1 à S3. Les temps de rétention des pics pouvant apparaître pour S1 à S3 devraient correspondre, à ± 2 RSD près, à ceux des échantillons avec ajout.

8.9 Critères pour le rendement d'extraction

Le rendement d'extraction obtenu par la méthode des étalons internes avec chacun des sept congénères de PCB devrait être compris entre 75 % à 115 %. Cette condition doit être satisfaite pour chacun des congénères présents dans l'échantillon de pâte, de papier ou de carton. La valeur du taux d'extraction est estimée par comparaison des résultats de la chromatographie en phase gazeuse de l'échantillon d'étalonnage C2 et ceux de l'échantillon à blanc (8.5) avec ceux de la solution étalon combinée (8.3).

8.10 Calculs

Entrer dans un tableau le temps de rétention et la surface (ou la hauteur) du pic de chaque congénère identifié avec celui de (des) l'étalon(s) interne(s) utilisés. Calculer le rapport de la surface du pic (PAR) de chaque congénère sur celle du pic de l'étalon interne dont le temps de rétention est le plus proche de celui du congénère considéré.

8.11 Détermination graphique

Pour tous les échantillons C1 à C4 et S1 à S3, porter les données de chaque congénère sur un graphique, comme indiqué à l'Annexe C.

8.12 Résultats

Si tous les critères de temps de rétention et de recouvrement sont satisfaits, le niveau de chaque congénère détecté dans la pâte, le papier ou le carton est représenté par l'intersection de la ligne d'addition des étalons avec l'axe des

X (Annexe C).

L'Annexe A donne une méthode permettant d'estimer la teneur totale en PCB de la pâte, du papier ou du carton.

9 Confirmation

Lorsque la valeur d'un résultat est supérieure à celle d'un critère restrictif applicable, la détermination doit faire l'objet de la confirmation suivante.

9.1 Confirmation par analyse avec une phase de polarité différente

Recommencer la procédure d'analyse à partir du paragraphe 8.1 avec une colonne capillaire comportant une phase fixe différente de celle utilisée précédemment.

Il convient que les nouveaux résultats soient conformes aux premiers à $\pm 15\%$ près.

9.2 Confirmation par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC à MS)

Recommencer l'analyse par chromatographie en phase gazeuse des échantillons S1 à S3, dans les mêmes conditions que celles définies au 8.5, avec un balayage en spectrométrie de masse compris entre 120 et 450 unités de masse (m/z).

Le pourcentage des ions $[M]^+$, $[M-Cl]^+$ et $[M-2xCl]^+$ dans chacun des pics des congénères possibles, devrait être égal ($\pm 15\%$) à celui des étalons analysés dans des conditions identiques.

Il convient en outre qu'aucun ion additionnel présent dans le spectre de l'échantillon, mais absent de l'étalon, ne soit supérieur à 10 % de l'intensité de base.

9.3 Confirmation par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse en mode sélectif

Analyser l'ensemble des échantillons à l'aide d'un spectromètre de masse au lieu du détecteur à capture d'électrons ou du détecteur à sélection de masse et appliquer le mode opératoire à partir du paragraphe 8.2. Détecter, pour chacun des congénères et étalons internes, les ions suivants:

Tableau 1:

| Classe | Code | m/z |
|----------------------|------------|------------|
| Trichlorobiphényles | 18, 28, 30 | 256 ou 186 |
| Tétrachlorobiphényle | 52 | 292 ou 220 |
| Pentachlorobiphényle | 101 | 326 ou 254 |
| Hexachlorobiphényles | 138, 153 | 360 ou 290 |
| Heptachlorobiphényle | 180 | 394 ou 324 |
| Tribromobiphényle | TBBP | 390 ou 230 |

Il est conseillé pour les calculs d'utiliser les rapports de la surface des pics (ou des hauteurs) obtenus par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse en mode sélectif, conformément à la procédure des 8.10 et suivants.

10 Expression des résultats

Le résultat pour chaque congénère est égal à la moyenne des valeurs obtenues lors des déterminations parallèles. Il est exprimé en milligrammes par kilogramme de pâte, de papier ou de carton en l'état. Arrondir au 0,01 mg/kg le plus proche lorsque sa valeur est inférieure à 1 mg/kg et au 0,1 mg/kg le plus proche dans le cas contraire. Les valeurs < à 0,01 mg/kg sont notées comme inférieures à cette valeur.

Si demandé, calculer la teneur totale en PCB de la pâte, du papier et du carton conformément à la méthode indiquée à l'Annexe A. Arrondir le résultat au 0,1 mg/kg le plus proche. Les valeurs inférieures à 0,1 mg/kg sont simplement notées comme inférieures à cette valeur < 0,1 mg/kg.

11 Précision

Pour un essai interlaboratoires, la méthode d'essai a donné pour les congénères déterminés les résultats de répétabilité (r) et de reproductibilité (R) indiqués dans le tableau 2.

Tableau 2: Répétabilité et reproductibilité trouvées dans un essai Interlaboratoires

| | r $n=3$ | R $n=5$ |
|-----------|--------------|--------------|
| 0,2 mg/kg | < 10 % | < 25 % |
| 3,0 mg/kg | < 10 % | < 20 % |

12 Rapport d'essai

Le rapport d'essai doit se référer à cette Norme européenne et doit mentionner:

- a) date et lieu de l'échantillonnage;
- b) date et lieu de l'essai;
- c) identification du matériau soumis aux essais;
- d) résultats comme spécifié au paragraphe 10;
- e) si l'on a effectué un essai de confirmation et, si oui, son résultat;
- f) référence du PCB technique;
- g) référence à la méthode modifiée, quand applicable;
- h) toute divergence par rapport à la méthode préconisée ou toute autre circonstance pouvant avoir eu une influence sur les résultats.

Annexe A (informative)

Méthode d'estimation de la teneur totale en PCB

La quantité totale de PCB peut être estimée lorsque la distribution des sept congénères est très ressemblante à celle d'un mélange technique de PCB. Le chromatogramme de l'échantillon est comparé à ceux des échantillons de comparaison (5.6). Le mélange technique donnant la distribution la plus proche de celle de l'échantillon est pris comme référence.

La quantification est réalisée par addition des surfaces ou des hauteurs des sept pics correspondant aux congénères de l'échantillon puis par comparaison avec les mêmes pics du mélange technique retenu comme référence. Il est recommandé, quelle que soit la teneur en PCB indiquée, de mentionner le mélange technique retenu en même temps que le résultat obtenu.

Annexe B (informative)

Description du réservoir d'extraction

Dimensions en mm

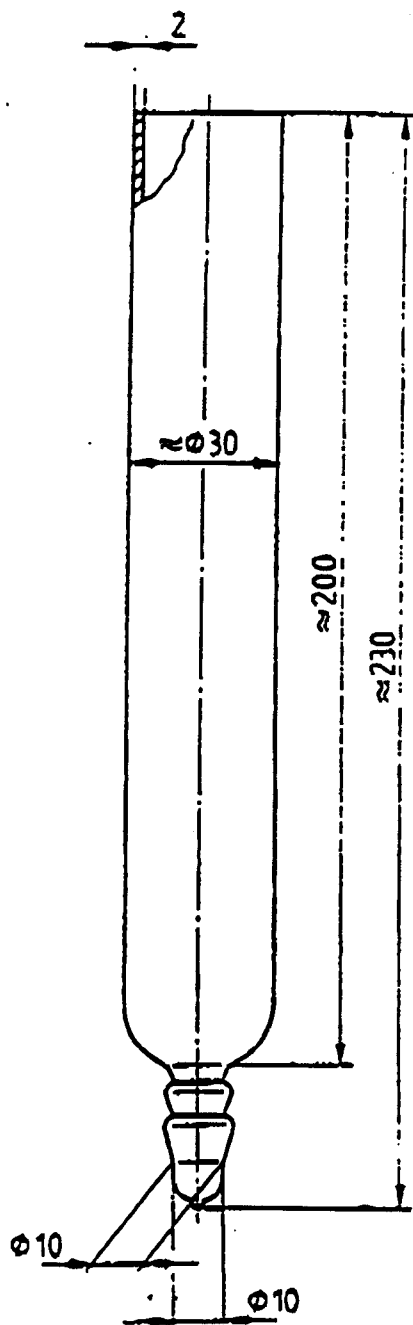
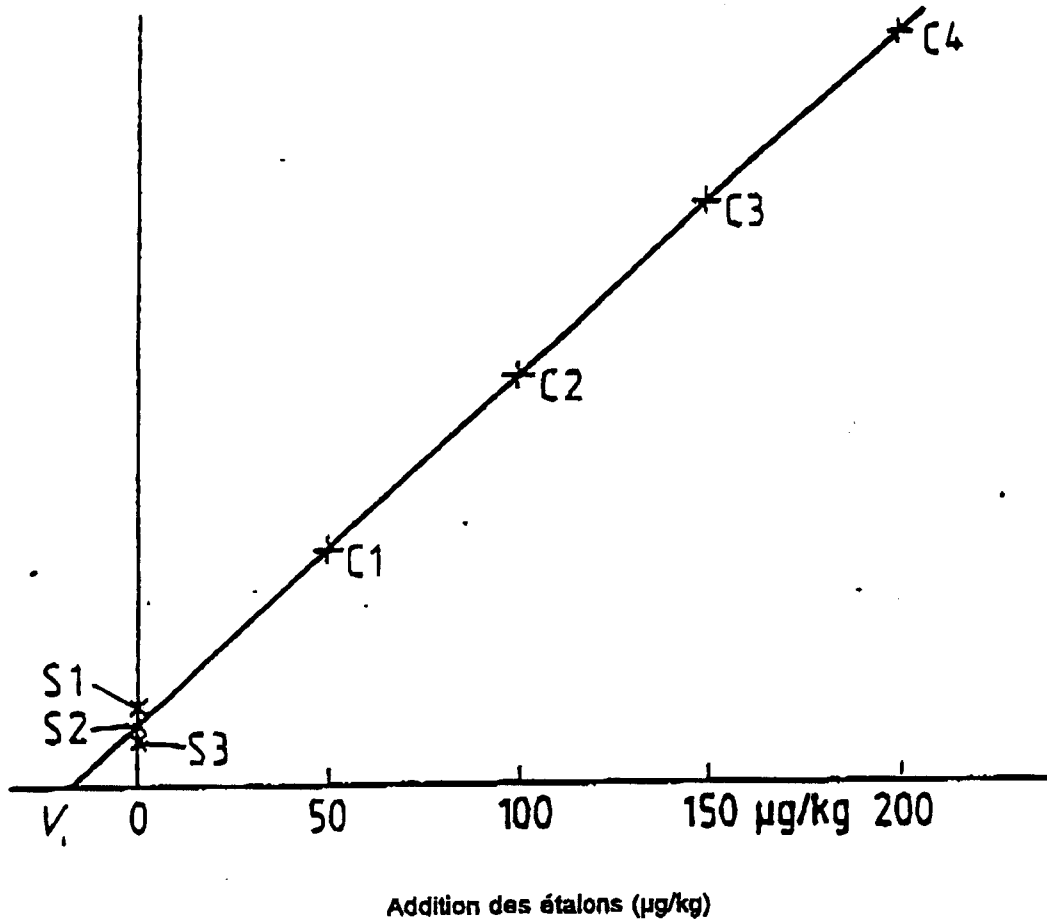


Figure B.1:

Annexe C (informative)**Détermination graphique de la teneur en congénère dans la pâte, le papier ou le carton**

Rapport des aires de pic congénère/étalon interne

**Figure C.1:**

L'intersection de la droite sur l'axe X donne le niveau de congénère de la pâte, du papier et du carton (V_1).

NOTE: Les quantités exactes d'étalon (C1 à C4) ajoutées, en µg/kg, dépendent de la masse exacte des substances de référence sélectionnés au paragraphe 5.10.5.