

**IDENTIFICATION ET DOSAGE DE LA MELAMINE ET DE SES PRODUITS DE
DEGRADATION DANS LES ALIMENTS PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE
GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE EN TANDEM**

Document : LABERCA/08MEL-A1.7 7^{ème} revision du 20/10/08

1^{ère} édition du 09/07/07

Recherche et développement méthodologique :

B. Veyrand, S. Elaudais, Ph. Marchand

Responsable scientifique : J.P. Antignac

Directeur : B. Le Bizec

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS DE SECURITE

Des gants doivent être portés pour manipuler les acides et les bases concentrés, les solvants organiques ainsi que les standards (produits purs ou solutions). D'une manière générale, les réactifs de dérivation et les solvants sont utilisés sous une hotte ventilée.

0 Introduction

La DG SANCO a transmis en septembre 2008, via le RASFF, des informations concernant la présence de mélamine dans des laits pour enfants. L'ajout de mélamine lors de la fabrication de produits laitiers a pour objectif d'augmenter frauduleusement et artificiellement la teneur apparente en protéine du produit. La consommation de denrées alimentaires contaminées peut provoquer des troubles rénaux chez les enfants en bas âge ; plusieurs décès ont été rapportés par les autorités chinoises. L'importation en Europe de produits laitiers et de produits composés de plus de 50% de produits laitiers en provenance de Chine est interdite ; toutefois, il n'est pas exclu que certains Etats membres estiment que les produits composés ne sont pas concernés par cette interdiction. A ce stade, il n'a pas été identifié de circuit de commercialisation en France. Cependant, compte tenu du risque pour la santé des consommateurs, en particulier les enfants, il convient de s'assurer de l'absence de ces produits sur le marché français. Compte tenu de ces éléments, il s'est avéré nécessaire de développer une méthode analytique de recherche de la mélamine et de ses produits de dégradation (ammélide, amméline, acide cyanurique).

1 Objet et domaine d'application

La méthode décrite dans cette note s'applique à la recherche de la mélamine et de ses principaux métabolites (ammelide, ammeline et acide cyanurique) dans les aliments par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem après ionisation par impact électronique (GC-(EI)-MS/MS), acquisition des signaux en SRM et dosage par dilution isotopique.

2 Principe

La méthode comprend plusieurs étapes, dont les principales sont les suivantes :

- Préparation de l'échantillon
- Extraction solide/liquide
- Filtration
- Dérivation
- Détection, identification et dosage par GC-(EI)-MS/MS
- Exploitation des données et interprétation des résultats

3 Réactifs et produits

Au cours de l'analyse, sauf indications différentes, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau ultra pure ou de l'eau distillée. Les références des fournisseurs sont données à titre indicatif.

3.1 - Substances de référence

- 3.1.1** – Mélamine (BCP Instruments)
- 3.1.2** – Amméline (BCP Instruments)
- 3.1.3** – Acide cyanurique (BCP Instruments)
- 3.1.4** – Ammélide (BCP Instruments)
- 3.1.5** – Melamine $^{13}\text{C}_3\text{-}^{15}\text{N}_3$ (CIL – CNLM-8150-1.2)
- 3.1.6** – Acide cyanurique $^{13}\text{C}_3\text{-}^{15}\text{N}_3$ (CIL – CNLM-4661-1.2)
- 3.1.7** – Benzoguanamine (étalon externe) (BCP Instruments)
- 3.1.8** – Mix Melamine à 100 ng/μL (solution comprenant la mélamine, l'ammelide, l'ammeline et l'acide cyanurique)
- 3.1.9** – Mix Melamine à 10 ng/μL (solution comprenant la mélamine, l'ammelide, l'ammeline et l'acide cyanurique)
- 3.1.10** – Mix étalons internes à 1 ng/μL (solution comprenant la mélamine $^{13}\text{C}_3\text{-}^{15}\text{N}_3$ et l'acide cyanurique $^{13}\text{C}_3\text{-}^{15}\text{N}_3$)

Les solutions standards de mélamine, amméline, ammélide et acide cyanurique sont réalisées dans un mélange H₂O/Diéthylamine (80/20, v/v). Les solutions de benzoguanamine sont

réalisées dans la pyridine, et les solutions de Melamine $^{13}\text{C}_3\text{-}^{15}\text{N}_3$ et Acide cyanurique $^{13}\text{C}_3\text{-}^{15}\text{N}_3$ dans de l'eau ultrapure.

Toutes les solutions sont conservées au réfrigérateur ($\leq 4^\circ\text{C}$).

Après réception et avant toute utilisation, ces standards doivent être caractérisés au moins par une méthode GC-MS ; la pureté de l'échantillon et l'identité du composé devront être prouvées.

3.2 - Produits chimiques et réactifs nécessaires

3.2.1 - Diéthylamine (Sigma-Aldrich – D0806-1L)

3.2.2 - Pyridine (Aldrich – 27,097-P)

3.2.3 - Acétonitrile (SDS – 00637G21)

3.2.4 - MSTFA (Fluka – 69479)

3.3 - Gaz

3.3.1 - Azote (générateur d'azote), et piège à eau (Merck - 6107)

3.3.2 - Hélium Alpha 1 (Air liquide)

4 Appareillage

Les références des fournisseurs sont données à titre indicatif.

4.1 - Pipettes automatiques

4.2 - Centrifugeuse

4.3 - Agitateur (type "Vortex")

4.4 - Blocs chauffants, évaporateurs

4.4.1 - Pour flacons de dérivation, équipé d'un système d'évaporation à azote (C.I.L. - Therme-vap)

4.4.2 - Pour flacons, uniquement pour des réactions de dérivation (Pierce - 18780)

4.4.3 - Pour tubes à hémolyse, équipé d'un système d'évaporation à azote :

- plaque chauffante thermostatée,

- rampes d'évaporation (Mini-vap Supelco - 2.2971),

- portoirs de diamètre 16 : H92612 (pour tubes en verre (4.10)),

- robinets en plastique pour réglage du débit d'azote (Prolabo - 07487007).

4.5 - Flacons de dérivation

4.5.1 - Flacons de dérivation et capsules (Chromacol – 09 CTV et 11AC7)

4.5.2 - Pince à sertir (Chromacol – CR-11)

4.5.3 - Pince à dessertir (Chromacol – DCR-11)

4.6 - Tubes en verre à usage unique (CML TVU 16) **et leurs bouchons** (CML – 0BA13)

4.7 - Broyeur (type moulinette)**4.8 – Filtres teflon 0,45 µm** (CIL – L605806)**4.9 - Equipement GC-MS/MS**

- 4.9.1-** Chromatographe en phase gazeuse équipé d'une colonne capillaire, d'un injecteur split/splitless, d'un four avec température programmable jusqu'à 300°C (Hewlett Packard - 6890) et d'un injecteur automatique (Hewlett Packard - 7683).
Colonne capillaire de phase apolaire à faible bleeding de type DB-5MS.
Longueur = 30 m
Diamètre interne = 0,25 mm
Epaisseur de film = 0,25 µm
- 4.9.2 -** Spectromètre de masse en tandem de type quadripolaire (Micromass – type Quattro Micro) permettant l'analyse en impact électronique de molécules de poids moléculaire jusqu'à 1000 u.
- 4.9.3 -** Station informatique de travail
- 4.9.4 -** Imprimante

5 Echantillons

- 5.1** - La quantité de prélèvement doit être suffisante et permettre de répéter au moins une fois l'analyse.
- 5.2** - Les échantillons sont stockés et analysés avec une identification propre au laboratoire.
- 5.3** - Les conditions de transport et de conservation doivent maintenir l'intégrité de l'échantillon et ne pas porter préjudice aux résultats. Conserver l'échantillon de préférence à l'abri de la lumière.

6 Analyse de dépistage

NB : Dans le cas de matrice difficilement broyable et homogénéisable, il convient de prendre une quantité de 0,5 g d'échantillon afin d'obtenir un prélèvement représentatif du lot.

Les quantités d'étalons internes et de solvant d'extraction sont à ajuster en conséquence.

6.1 - Préparation des échantillons

Broyer chaque échantillon dans un broyeur parfaitement propre (4.7) jusqu'à obtention d'une poudre fine.

6.1.1 - Traitement des échantillons

Peser 100 mg (± 10 mg) de l'échantillon et les placer directement dans un tube en verre (4.6). Ajouter 200 ng du mix étalon (200 μ L de la solution « Mix étalons » à 1 ng/ μ L (3.1.10)).

6.1.2 - Echantillon blanc

Peser 100 mg (± 10 mg) d'un aliment exempt de mélamine et de ses produits de dégradation. Ajouter 200 ng du mix étalon (200 μ L de la solution « Mix étalons » à 1 ng/ μ L (3.1.10))

6.1.3 - Echantillon blanc supplémenté (2,5 ppm)

Peser 100 mg (± 10 mg) d'un aliment exempt de mélamine et de ses produits de dégradation. Ajouter 200 ng du mix étalon (200 μ L de la solution « Mix étalons » à 1 ng/ μ L (3.1.10)) et 250 ng du mix mélamine (25 μ L de de la solution « Mix melamine » à 10 ng/ μ L (3.1.9)).

6.2 – Extraction solide/liquide

6.2.1 - Ajouter aux échantillons préalablement préparés 4 mL d'un mélange H₂O/Acétonitrile (50/50, v/v)

6.2.2 - Agiter au vortex pendant 30 s.

6.2.3 - Passer dans un bain à ultrasons pendant environ 30 min.

6.2.4 - Centrifuger pendant environ 10 min à 2000g.

6.3 – Filtration

La phase liquide (6.2.4) est filtrée à travers un filtre nylon 0,45 μ m (4.8) afin d'obtenir un minimum de 50 μ L de filtrat.

6.4 - Dérivation

Lors de cette étape, porter une attention particulière aux points critiques suivants :

♦ *travailler de façon anhydre ; la moindre trace d'eau hydrolysera les composés silylés : il peut s'agir d'un flacon de dérivation mal évaporé, d'une seringue mal rincée, d'un temps de contact trop long avec l'air ambiant...*

♦ *ne pas respirer les vapeurs du réactif de dérivation, ce qui implique de travailler sous hotte.*

- 6.4.1 - Prélever 50 µL du précédent filtrat (6.3) et les placer dans un vial (4.5.1).
 6.4.2 - Ajouter 25 µL d'une solution de benzoguanamine à 0,1 ng/µL (3.1.4).
 6.4.3 - Evaporer à sec sous courant d'azote.
 6.4.4 - Ajouter 50 µL de MSTFA (3.2.4) et capsuler.
 6.4.5 - Agiter au vortex pendant au moins 30 secondes.
 6.4.6 - Placer les vials dans un bloc chauffant (4.4) et chauffer à 60 (± 5)° C pendant 45 (± 10) min.

6.5 - Détection par GC-MS/MS

6.5.1 – Conditions chromatographiques

o Gaz vecteur

Hélium

Débit constant : environ 1 mL.min⁻¹

o Injection

Splitless, temps de purge 1 min

Température : 280°C

Débit de purge : 20 mL/min

Volume injecté : 2 µL

o Colonne

Les composés sont séparés sur une colonne apolaire : DB – 5 MS : 30 m x 0,25 mm (d.i.), 0,25 µm (épaisseur du film).

• Programme de température

120°C (1 min) - 10°C/min jusqu'à 320°C (2 min)

6.5.2 - Conditions spectrométriques

Ionisation en EI + (impact électronique mode positif)

Energie d'ionisation : 70 eV

Ci-dessous les transitions suivies en mode MRM et les temps de rétention approximatifs des différents analytes :

Tableau 1 : Liste des analytes et de leurs conditions spectrométriques
 (EE : étalon externe ; EI : étalon interne ; AR : analyte recherché ; * :TR indicatif)

Molécules	Type	TR* (min)	Transitions	Energie de collision (eV)
Acide cyanurique ¹³ C ₃ ¹⁵ N ₃	EI	8.34	351>336	5
Acide cyanurique	AR	8.35	345>330 345>188	5 5
Ammélide	AR	9.59	344>329 344>286	5 15
Amméline	AR	10.60	343>328 343>285	5 10
Mélamine ¹³ C ₃ ¹⁵ N ₃	EI	11.35	348>333	5
Mélamine	AR	11.36	342>327 342>285 342>171	5 15 20
Benzoguanamine	EE	14.54	331>316 331>171	5 20

7 Analyse de confirmation

L'échantillon déclaré suspect au terme de la première analyse doit être extrait de nouveau avant de conclure définitivement à sa non conformité (identification et quantification selon les critères définis dans la décision 2002/657/EC).

7.1 - Préparation des échantillons

Broyer chaque échantillon dans un broyeur parfaitement propre (4.7) jusqu'à obtention d'une poudre fine.

7.1.1 - Traitement des échantillons

Peser 100 mg (± 10 mg) de l'échantillon et les placer directement dans un tube en verre (4.6). Ajouter 200 ng du mix étalon (200 μ L de la solution « Mix étalons » à 1 ng/ μ L (3.1.10)).

7.1.2 - Echantillon blanc

Peser 100 mg (± 10 mg) d'un aliment exempt de mélamine et de ses produits de dégradation. Ajouter 200 ng du mix étalon (200 μ L de la solution « Mix étalons » à 1 ng/ μ L (3.1.10))

7.1.3 - Gamme d'échantillons supplémentés

Peser 5 x 100 mg (± 10 mg) d'un aliment exempt de mélamine et de ses produits de dégradation. Ajouter 200 ng du mix étalon (200 μ L de la solution « Mix étalons » à 1 ng/ μ L (3.1.10)) à chaque échantillon, puis insérer successivement dans les différents tubes :

- 50 ng de mix mélamine (50 μ L de de la solution « Mix melamine » à 1 ng/ μ L)
Ech « G 0,5 »
- 100 ng de mix mélamine (100 μ L de de la solution « Mix melamine » à 1 ng/ μ L)
Ech « G 1 »
- 200 ng de mix mélamine (20 μ L de de la solution « Mix melamine » à 10 ng/ μ L)
Ech « G 2 »
- 500 ng de mix mélamine (50 μ L de de la solution « Mix melamine » à 10 ng/ μ L)
Ech « G 5 »
- 1 μ g de mix mélamine (100 μ L de de la solution « Mix melamine » à 10 ng/ μ L)
Ech « G 10 »

NB : Dans le cas où l'échantillon est suspecté, lors de la première analyse, à une concentration supérieure à 10 ppm, il convient d'adapter la droite de calibration en conséquence.

7.2 – Extraction solide/liquide

7.2.1 - Ajouter aux échantillons préalablement préparés 4 mL d'un mélange H₂O/Acétonitrile (50/50, v/v)

7.2.2 - Agiter au vortex pendant 30 s.

7.2.3 - Passer dans un bain à ultrasons pendant environ 30 min.

7.2.4 - Centrifuger pendant environ 10 min à 2000g.

7.3 – Filtration

La phase liquide (7.2.4) est filtrée à travers un filtre nylon 0,45 μm (4.8) afin d'obtenir un minimum de 50 μL de filtrat.

7.4 - Dérivation

Lors de cette étape, porter une attention particulière aux points critiques suivants :

♦ *travailler de façon anhydre ; la moindre trace d'eau hydrolysera les composés silylés : il peut s'agir d'un flacon de dérivation mal évaporé, d'une seringue mal rincée, d'un temps de contact trop long avec l'air ambiant...*

♦ *ne pas respirer les vapeurs du réactif de dérivation, ce qui implique de travailler sous hotte.*

7.4.1 - Prélever 50 μL du précédent filtrat (7.3) et les placer dans un vial (4.5.1).

7.4.2 - Ajouter 25 μL d'une solution de benzoguanamine à 0,1 $\text{ng}/\mu\text{L}$ (3.1.4).

7.4.3 - Évaporer à sec sous courant d'azote.

7.4.4 - Ajouter 50 μL de MSTFA (3.2.4) et capsuler.

7.4.5 - Agiter au vortex pendant au moins 30 secondes.

7.4.6 - Placer les vials dans un bloc chauffant (4.4) et chauffer à 60 (± 5)° C pendant 45 (± 10) min.

7.5 - Détection par GC-MS/MS

7.5.1 – Conditions chromatographiques

o Gaz vecteur

Hélium

Débit constant : environ 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$

o Injection

Splitless (temps de purge 1 min)

Température : 280°C

Débit de purge : 20 mL/min

Volume injecté : 2 μL

o Colonne

Les composés sont séparés sur une colonne apolaire : DB – 5 MS : 30 m x 0,25 mm (d.i.), 0,25 μm (épaisseur du film).

• Programme de température

120°C (1 min) - 10°C/min jusqu'à 320°C (2 min)

7.5.2 - Conditions spectrométriques

Ionisation en EI + (impact électronique mode positif)

Energie d'ionisation : 70 eV

Ci-dessous les transitions suivies en mode MRM et les temps de rétention approximatifs des différents analytes :

Tableau 2 : Liste des analytes et de leurs conditions spectrométriques
(EE : étalon externe ; EI : étalon interne ; AR : analyte recherché ; * :TR indicatif)

Molécules	Type	TR* (min)	Transitions	Energie de collision (eV)
Acide cyanurique ¹³ C ₃ ¹⁵ N ₃	EI	8.34	351>336	5
Acide cyanurique	AR	8.35	345>330 345>188	5 5
Ammelide	AR	9.59	344>329 344>286	5 15
Ammeline	AR	10.60	343>328 343>285	5 10
Mélamine ¹³ C ₃ ¹⁵ N ₃	EI	11.35	348>333 348>173	5 20
Melamine	AR	11.36	342>327 342>285 342>171 342>213	5 15 20 10
Benzoguanamine	EE	14.54	331>316 331>171	5 20

Légende : EE : étalon externe ; EI : étalon interne ; AR : analyte recherché ; * :TR indicatif.

8 Interprétation des résultats et stratégie d'analyse

8.1 - Identification des analytes

Le résultat de l'analyse de l'échantillon blanc doit être pris en considération. Les chromatogrammes diagnostiques correspondant doivent être analysés de façon détaillée et comparés aux échantillons. Seuls les étalons internes et externes doivent être retrouvés.

Chaque pic chromatographique devra, pour être pris en compte, répondre aux critères fixés dans la décision 2002/657/CE, à savoir :

- les étalons interne et externe sont présents (rapport S/N > 3),
- le rapport du temps de rétention de l'analyte à celui de l'étalon interne, c'est-à-dire le temps de rétention relatif de l'analyte, est égal à celui de l'analyte standard avec une tolérance de $\pm 0,5$ % ,
- au moins deux transitions diagnostiques de l'analyte sont détectées (rapport S/N>3),
- le rapport d'intensité des deux transitions diagnostiques doit correspondre à la valeur obtenue pour l'analyte standard, avec une tolérance qui est indiquée dans le Tableau ci-dessous.

Tableau 3 : Variabilité tolérée pour les rapports d'intensité entre deux signaux diagnostiques obtenus en GC-MS/MS (réfrence : décision 2002/657/EC).

Rapport entre la transition mesurée et la transition la plus intense	Variabilité tolérée
> 50 %	20 %
20-50 %	25 %
10-20 %	30 %
< 10 %	50 %

8.2 - Quantification

- Lors de la première analyse de dépistage, la quantification est effectuée en se basant sur l'échantillon blanc supplémenté :

Les aires relatives (Aire analyte / Aire de l'étalon interne) sont comparées et une première concentration est estimée sur la base du calcul suivant :

Exemple de calcul pour la détermination de la concentration en mélamine :

$$\text{Concentration}_{\text{échantillon}} \text{ (en ppm)} = 2,5 \times [\text{Aire}_{342>327} / \text{Aire}_{348>333}]_{\text{échantillon}} / [\text{Aire}_{342>327} / \text{Aire}_{348>333}]_{\text{ajout}}$$

La quantification lors de l'étape de dépistage peut être effectuée par la feuille excel de calcul fourni par le LABERCA.

- Lors de l'analyse de confirmation, la quantification est effectuée en se basant sur la courbe de calibration : à partir de l'équation obtenue avec la droite de calibration, la concentration est calculée en rapportant l'aire relative sur la droite.

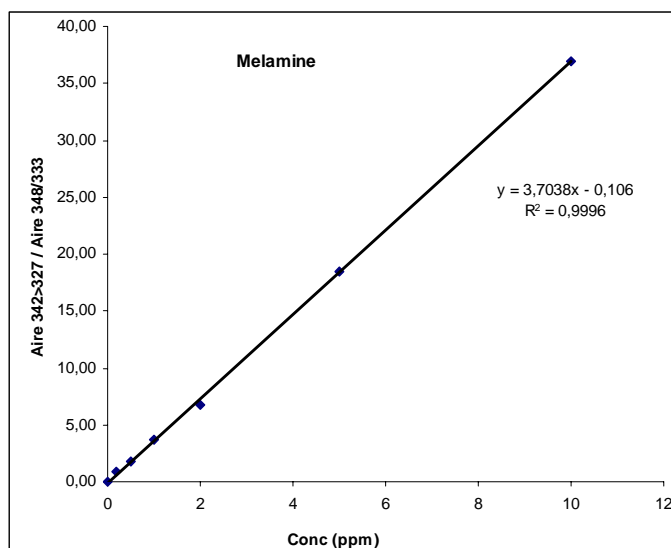


Figure 1 : Exemple de droite de calibration obtenue pour la mélamine

8.3 – Expression des résultats

Lors de la première analyse de dépistage, si la mélamine est identifiée et détectée à un niveau de concentration inférieur à $1,25 \text{ mg.kg}^{-1}$, l'échantillon est déclaré **conforme**. Au dessus de cette valeur, l'échantillon est déclaré suspect et l'analyse est répétée selon le protocole de confirmation (Paragraphe 7).

Lors de la seconde analyse de confirmation, l'échantillon est déclaré **non-conforme** si la concentration mesurée excède la limite de décision ($CC\alpha$) déterminée lors de la validation de la méthode.

Si la concentration est inférieure au $CC\alpha$, l'échantillon est déclaré conforme.

Dans tous les cas, saisir les concentrations estimées dans un fichier excel (source LABERCA) récapitulant le commémoratif de chaque échantillon.

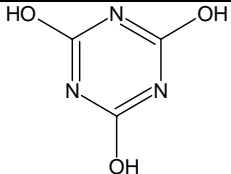
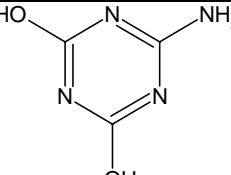
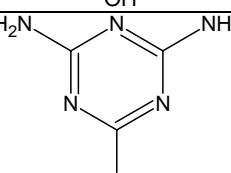
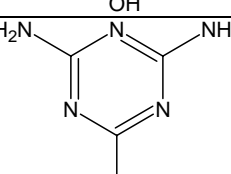
Dans le rapport d'essai doivent apparaître :

- Dans le cas d'un échantillon conforme (concentration en mélamine $< CC\alpha$) :
« **Echantillon conforme – Document de référence : Decision 2008/757/EC de la Commission Européenne** »
- Dans le cas d'un échantillon non-conforme (concentration en mélamine $\geq CC\alpha$) :
« **Echantillon non-conforme, Concentration en mélamine de X,Y ppm – Document de référence : Decision 2008/757/EC de la Commission Européenne** »

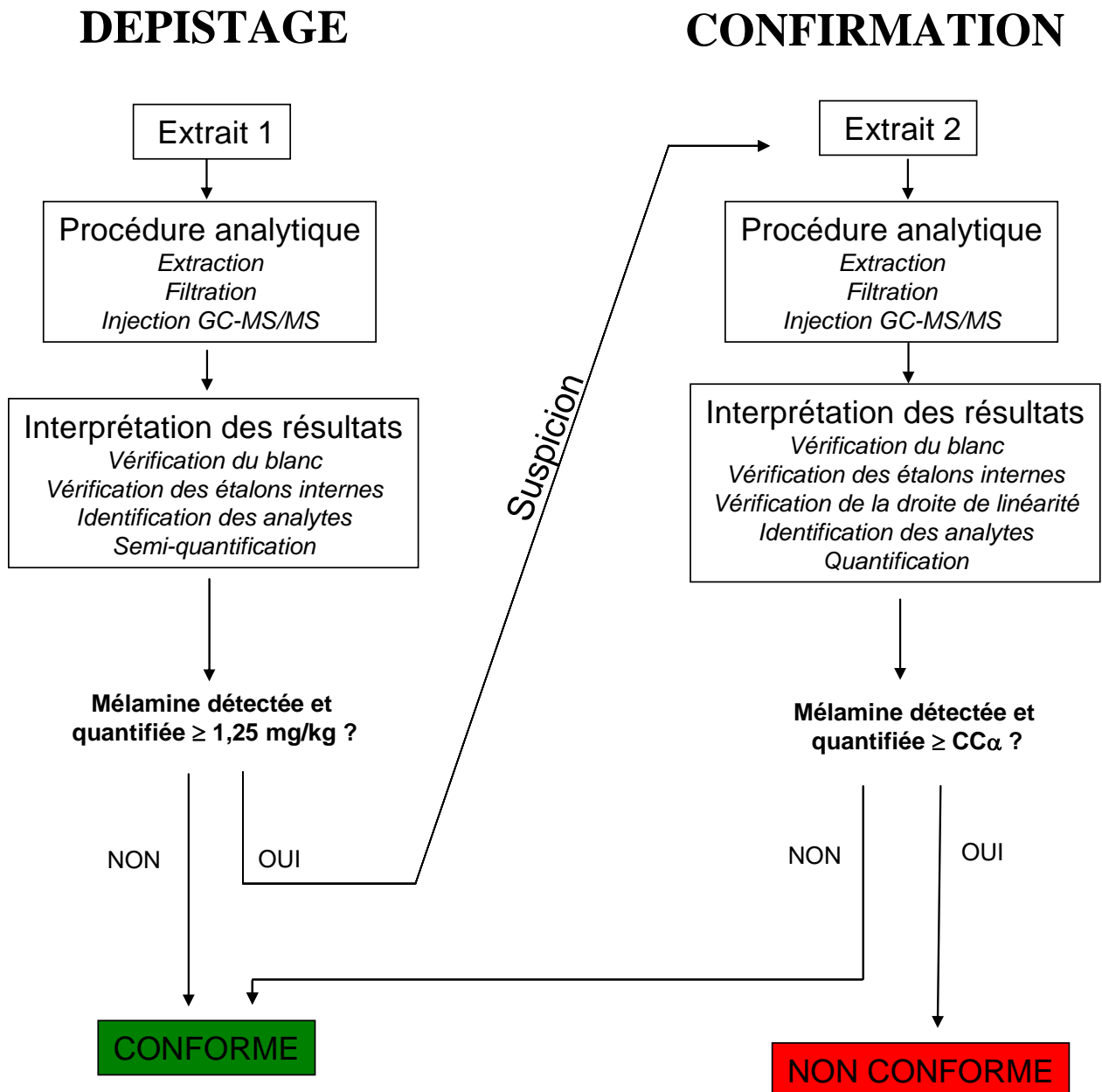
9 Références

- 1 - “GC-MS Method for screening and confirmation of melamine and related analogs”, US EPA method, Version 2 May 2007 (<http://www.fda.gov/cvm/GCMSscreen.htm>).
- 2 - 2002/657/CE Décision de la Commission du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats.
- 3 - 2008/757/EC – Decision de la Commission du 26 septembre 2008 imposant des conditions spéciales concernant l'import de produits contenant du lait ou des produits laitiers en provenance de Chine.

ANNEXE I : Structure chimique des composés recherchés

Nom	Molécules	Formule brute	Masse molaire (g.mol ⁻¹)	Masse après dérivation
Acide cyanurique		C ₃ H ₃ N ₃ O ₃	129	345
Ammelide		C ₃ H ₄ N ₄ O ₂	128	344
Ammeline		C ₃ H ₅ N ₅ O	127	343
Melamine		C ₃ H ₆ N ₆	126	342

ANNEXE II : STRATEGIE ANALYTIQUE



ANNEXE III : EXEMPLE D'UNE FEUILLE D'INTERPRETATION


**FEUILLE DE CRITERES D'IDENTIFICATION (2002/657/CE) POUR LES ANALYSES DE
CONFIRMATION PAR CHROMATOGRAPHIE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE
Version 2**

Date	17/10/2008	GC-EI-MS	GC-CI-MS	GC-HR-MS	GC-MS/MS XXXXXXXXXXXX	LC-MS/MS	
Analyte :	Melamine	Ajout	Echantillon	Echantillon	Echantillon	Echantillon	Echantillon
Matrice :							
Références Echantillons		Aj 2,5 ppm	Ech 1	Ech 2	Ech 3		
Tr Etalon		11,250	11,350	11,350	11,350		
Tr Analyte		11,270	11,360	11,360	11,360		
Tr Analyte / Tr Etalon		1,002	1,001	1,001	1,001		
Tolérance Tr +/- (%)	0,5	0,997 1,007	IN	IN	IN		
Abondance Etalon		3134	1248	1109	1188		
Abondance signal 1 (PB)	342 > 327	13881	157	1080	3904		
Abondance signal 2	342 > 285	1312		87	412		
Abondance signal 3	342 > 171	4423	71	323	1212		
Abondance signal 4	>						
Rapport 1 (signal 2 / signal 1)		0,095		0,081	0,106		
Tolérance Rapport 1 +/- (%)	50	0,047 0,142		IN	IN		
Rapport 2 (signal 3 / signal 1)		0,319	0,452	0,299	0,310		
Tolérance Rapport 2 +/- (%)	25	0,239 0,398	OUT	IN	IN		
Rapport 3 (signal 4 / signal 1)							
Tolérance Rapport 3 +/- (%)							
Points d'identification			2,5	5,5	5,5		
Conclusion		X	PRESENCE NON CONFIRMEE	PRESENCE CONFIRMEE	PRESENCE CONFIRMEE		
Concentration estimée	Unité : ppm	2,50	0,07	0,55	1,85		
Commentaires							

 Informations générales à saisir

 Signaux à saisir

 Calcul/Conclusion automatique

Visa Operateur	
-------------------	--

Visa Responsable	
---------------------	--

ANNEXE IV : POINTS CRITIQUES

Points critiques	Identification des critères					Surveillance		Action Corrective
	Paramètre	valeur cible	Tolérance	Matériel	Danger	Contrôle	Enregistrement	
Préparation des échantillons								
Broyage / Echantillonnage	Représentativité de l'échantillon			Broyeur	Mesure non représentative de l'échantillon	Visuel	Aucun	Refaire l'échantillonnage
Prise d'essai	Pesée	X mg	Lecture à 1 décimales	Balance	Dosage non exact	Vérification balance	Rapport métrologique	Refaire l'analyse
Dérivation								
Evaporation	Flux d'azote et rotavapor	Flux et vide contrôlés		Rampe d'évaporation et rotavapor	Présence d'eau résiduelle	Contrôle visuel	Aucun	Refaire l'analyse
Détection								
Sensibilité/Spécificité	S/N	> 5 pour les étalons internes et externes		Spectromètre	Perte de sensibilité	Ajout	Feuille d'injection	Changer la colonne, l'insert ou le septum Nettoyer la source