

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE D'EXTRACTION ET DE DOSAGE DE
LA 4,4'-MÉTHYLÈNEDIANILINE DANS LES SOLS ET DANS L'AIR

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
À LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR
CAMILLE BRUNET

JANVIER 2019

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.10-2015). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont d'abord à mon directeur de recherche, le professeur associé Jacques Lesage, de l'Université du Québec à Montréal (UQÀM) qui a su me guider et me conseiller quand j'en avais besoin ainsi qu'à mon codirecteur Livain Breau, professeur de l'UQÀM. Je voudrais aussi remercier Sébastien Gagné et Simon Aubin de l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST). Vos connaissances, conseils et encouragements tout au long des deux années ont grandement aidé à la réalisation de mon projet.

Je voudrais aussi remercier les techniciens de l'IRSST qui ont toujours voulu m'orienter et m'aider. En particulier, Marielle Carrier, qui avec nos nombreuses discussions, a fait avancer mon projet à grands pas. Je te remercie.

Je remercie également l'IRSST, en particulier Martin Beauparlant, de m'avoir accueillie et fourni l'instrumentation adéquate pour la réalisation du projet ainsi qu'*International Isocyanate Institute, Inc (III)* pour le financement de mon projet. Également, je remercie tous les membres collaborateurs de III, en particulier Robert West qui ont su apportés de bonnes discussions lors de nos téléconférences.

Finalement, je voudrais dire un gros merci à ma famille de m'avoir toujours soutenue dans les hauts et les bas de mon projet.

TABLES DES MATIÈRES

| | |
|---|------|
| REMERCIEMENTS | ii |
| LISTE DES FIGURES..... | vi |
| LISTE DES TABLEAUX..... | vii |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES | viii |
| Liste des symboles et des unités | ix |
| RÉSUMÉ | x |
| ABSTRACT | xi |
| CHAPITRE I introduction –cadre théorique..... | 12 |
| 1.1 Utilisation de MDA dans l'industrie | 12 |
| 1.1.1 Applications de MDA en lien avec le polyuréthane | 12 |
| 1.1.2 Autres applications de MDA dans l'industrie | 13 |
| 1.2 Effets sur la santé..... | 14 |
| 1.3 Réglementation et évaluations environnementales (air/sol)..... | 14 |
| 1.4 Méthodes actuellement utilisées pour l'analyse des amines et de la MDA..... | 15 |
| 1.5 Étapes au développement d'une méthode analytique robuste | 15 |
| 1.5.1 Échantillonnage..... | 16 |
| 1.5.2 Préservation et entreposage..... | 20 |
| 1.5.3 Préparation de l'échantillon | 20 |
| 1.5.4 Analyse de l'échantillon et la validation de la méthode | 20 |
| 1.6 Objectifs de cette étude..... | 22 |

| | |
|---|--------|
| CHAPITRE II article 1 – development of a method for extraction and determination of 4,4-methylenedianiline in soils by uplc-ms-ms | 24 |
| 2.1 Abstract..... | 27 |
| 2.3 Introduction..... | 28 |
| 2.4 Methods | 33 |
| 2.4.1 Chemicals..... | 33 |
| 2.4.2 Instruments and analytical conditions..... | 33 |
| 2.4.3 Soil | 35 |
| 2.4.4 Solid phase extraction (SPE) and Soil Extraction..... | 36 |
| 2.4.5 Standard curve preparation | 37 |
| 2.4.6 Analytical performance evaluation | 37 |
| 2.5 Results and discussion | 39 |
| 2.5.1 Solid phase extraction (SPE)..... | 39 |
| 2.5.2 Liquid chromatography and mass spectrometry | 40 |
| 2.5.3 Analytical performance..... | 40 |
| 2.6 Future Method Adaptations | 46 |
| 2.7 Conclusion..... | 46 |
| 2.8 Acknowledgement | 47 |
| 2.9 ORCID..... | 47 |
| 2.10 Bibliography | 48 |
| CHAPITRE III développement d'une méthode d'extraction et de dosage du 4,4'-méthylènedianiline dans l'air | 53 |
| 3.1 Introduction – Mise en contexte | 54 |
| 3.1.1 Réglementation | 54 |
| 3.1.2 Méthode actuellement utilisée pour l'analyse des amines et de la MDA dans l'air..... | 55 |
| 3.2 Matériels et méthodes..... | 55 |
| 3.2.1 Produits chimiques..... | 55 |
| 3.2.2 Instrumentations et conditions analytiques | 56 |
| 3.2.3 Préparation des filtres imprégnés..... | 58 |
| 3.2.4 Préparation de la courbe..... | 59 |
| 3.2.5 Extraction | 60 |
| 3.2.6 Validation de la méthode analytique..... | 60 |
| 3.3 Résultats et discussion | 62 |

| | | |
|--------------------------------|---|----|
| 3.3.1 | Chromatographie liquide et spectrométrie de masse | 62 |
| 3.3.2 | Résultats de la validation | 62 |
| 3.4 | Conclusion | 68 |
| CHAPITRE IV perspectives | | 70 |
| CONCLUSION générale | | 71 |
| RÉFÉRENCES..... | | 73 |

LISTE DES FIGURES

| Figure | Page |
|--|------|
| 1.1 Développement, mise au point et validation d'une méthode analytique | 16 |
| 2.1 Graphical abstract | 28 |
| 2.2 Extracted ion chromatograms of a matrix blank, matrix blank + IS, LOQ and a simulated sample (conc. ~ 9,8 ng/mL) | 43 |
| 3.1 Chromatogrammes d'ion extrait pour le blanc filtre + SI, la VMR et un échantillon simulé | 67 |
| 3.2 Stabilité du MDA sur un filtre | 68 |

LISTE DES TABLEAUX

| Tableau | Page |
|--|------|
| 2.1 Summary of Instrument Parameters Used for UPLC Separation of MDA and MDA-d4 | 33 |
| 2.2 Compound Multiple Reaction Monitoring (MRM) Parameters Used for Quantification of MDA and MDA-d4 | 35 |
| 2.3 Summary of Results for Examination of Potential Matrix Effect between MDA and Soil | 41 |
| 2.4 Method Performance Parameters..... | 44 |
| 2.5 Summary of Results for Intra-Day Precision Determination | 45 |
| 2.6 Summary for Results for Inter-Day Precision Determination..... | 45 |
| 3.1 Paramètres CLUP utilisés | 57 |
| 3.2 Paramètres ESI-SM-SM | 58 |
| 3.3 Paramètre de la performance de la méthode..... | 63 |
| 3.4 Répétabilité de la méthode..... | 64 |
| 3.5 Réplicabilité de la méthode | 64 |
| 3.6 Effet de la maitrce entre la MDA et le filtre..... | 65 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

| | |
|-------|---|
| CLHP | Chromatographie liquide à haute performance |
| CLUP | Chromaographie liquide ultra performante |
| CV | Coefficient de Variation |
| ESI | Interface d'électronébulisation (electrospray ionisation) |
| IARC | International Agency for research on cancer (CIRC) |
| III | Internatone Isocyanate Institute, Inc |
| IRSST | Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail |
| LDM | Limite de détection (LOD) |
| LQM | Limite de quantification (LOQ) |
| MDA | 4,4'-méthylènedianiline |
| MRM | Multiple Reactions Monitoring |
| MDI | 4,4'-méthylènediphényldiisocyanate |
| NIOSH | National Institute for Occupational Safety and Health |
| PU | Polyuréthane |
| SI | Standard interne |
| SM | Spectrométrie de masse (MS) |
| SM/SM | Spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) |
| SPE | Extraction en phase solide |
| UQÀM | Université du Québec à Montréal |
| VEMP | Valeur d'Exposition Moyenne Pondérée |
| VMR | Valeur minimale rapportée |

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

| | |
|-----------------|--------------------|
| cm ³ | centimètre cube |
| g | gramme |
| h | heure |
| kg | kilogramme |
| kV | kilovolt |
| L | Litre |
| m ³ | mètre cube |
| mg | milligramme |
| min | minute |
| mm | millimètre |
| mL | millilitre |
| ng | nanogramme |
| ppm | partie par million |
| µg | microgramme |
| µL | microlitre |
| µm | micromètre |
| V | volt |
| °C | degré Celcius |

RÉSUMÉ

Les amines, telles que la MDA est grandement utilisée dans les industries. En effet, la MDA est un produit précurseur utilisé principalement dans la formation de MDI. Le MDI est grandement utilisé dans la formation de polyuréthane. Le polyuréthane à base de MDI est retrouvé dans un vaste domaine d'application tel que la construction, dans le médical ou encore dans le domaine environnemental. Dans le domaine environnemental, le polyuréthane à base de MDI est retrouvée sous forme d'encapsulant ou encore comme liant d'agrégat. Outre le lien que peut avoir la MDA avec le polyuréthane, la MDA peut être retrouvée dans les plastiques ou encore comme intermédiaire dans la formation d'époxy. Le fait d'utiliser grandement la MDA dans l'industrie peut causer des effets néfastes sur la santé des travailleurs. En effet, la MDA est un produit possiblement cancérigène qui peut être absorbé par les trois voies. La voie cutanée est la plus probable. C'est pourquoi il est essentiel d'avoir une méthode d'extraction et de quantification du MDA dans les sols et dans l'air.

Une méthode d'extraction et de dosage du MDA dans les sols a été développée. Pour se faire, les paramètres chromatographiques, tels que les phases mobiles, le débit et le gradient ont été optimisés pour avoir les meilleures conditions. Par la suite, une méthode d'extraction du MDA dans les sols a été développée. L'utilisation de l'extraction solide-liquide ainsi que l'extraction en phase solide a été préconisée. Tous les paramètres de la méthode d'extraction et d'analyse du MDA dans les sols ont été optimisés et validés selon la méthode utilisée du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Le domaine linéaire de la méthode est de 5 µg/kg à 250 µg/kg. La récupération moyenne obtenue pour cette méthode est de 101,11 %. La seconde partie de cette étude consistait à développer une méthode d'extraction et de dosage du MDA dans l'air. La partie chromatographique est la même que celle utilisée pour la détermination du MDA dans les sols. La méthode d'extraction du MDA quant à elle est basée sur la méthode 5029 de NIOSH, qui utilise un filtre de fibre de verre calciné et imprégné d'acide sulfurique pour capter la MDA dans l'air. La nouvelle solution d'extraction développée comprend l'hydroxyde d'ammonium comme base. Après optimisation de la méthode d'extraction, la méthode a été validée. Le domaine établie de la méthode est de 3 µg/m³ à 168 µg/m³. La récupération moyenne obtenue est de 98,02 %. Mots clés : 4,4-méthylènedianiline, 4,4-méthylènediphényldiisocyanate, sol, air, CLUP-SM/SM.

ABSTRACT

Amines, such as MDA, are widely used in industries. Indeed, MDA is a precursor product used primarily in the formation of MDI. MDI is widely used in polyurethane formation. MDI-based polyurethane is used for a wide range of applications such as construction, in the medical field or in the environmental field. In the environmental field, polyurethane based on MDI is found in the form of encapsulant or as an aggregate binder. MDA can also be found in plastics or as an intermediary in the formation of epoxy. Extensive use of MDA in industry can cause adverse effects on worker's health. Indeed, MDA is a possible carcinogen that can be absorbed by all the three routes. The dermal route is most likely. That is why it is essential to have a method of extraction and quantification of MDA in soil and in air.

A method for extracting and measuring MDA in soils has been developed. The chromatographic parameters, such as the mobile phases, the flow rate and the gradient have been optimized to have the best conditions. Subsequently, a method of extracting MDA from soils was developed. The use of solid-liquid extraction as well as solid phase extraction has been recommended. After optimization of the extraction and sampling parameters methods were validated following the Quebec Center of Expertise in Environmental Analysis guidelines. The dynamic range of the method is from 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The average recovery obtained for this method is 101.11 %. The second part of this study involved developing a method for extracting and measuring MDA in air. Due to the use of the same compound, the same chromatography was used for the determination of MDA in soils. The MDA extraction method is based on the NIOSH 5029 method, which uses a calcined glass filter impregnated with sulfuric acid to capture MDA in the air. The base used to extract MDA is ammonium hydroxide. After optimization of the extraction, the method has been validated. The established dynamic range of the method is from 3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ to 168 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. The average recovery obtained is 98.02 %.

Keywords : 4,4-methylenedianiline, 4,4-methylenediphenyldiisocyanate, soil, air, UPLC-MS/MS.

CHAPITRE I

INTRODUCTION –CADRE THÉORIQUE

Les amines sont des composés organiques ayant un groupement fonctionnel qui comprend un atome d'azote. Les amines sont généralement toxiques et ont une odeur caractéristique. D'essentielles amines sont retrouvées dans la vie courante comme dans les acides aminés, dans l'aniline ou encore dans les amines biogéniques. Tandis que d'autres amines sont utilisées comme solvants, pesticides, adhésifs, polymères et dans bien d'autres composés (Fekete *et al.*, 2010). Une des amines qui est grandement utilisé en l'industrie est la 4,4'-méthylènedianiline (MDA) en raison de son utilisation comme produit intermédiaire dans des procédés de fabrication.

1.1 Utilisation de MDA dans l'industrie

La MDA est un produit précurseur utilisé dans l'industrie qui sert à former divers composés. Ainsi, en raison de sa grande utilisation, cette molécule peut être retrouvée dans l'environnement comme dans les sols ou dans l'air où ils sont plus étudiés.

1.1.1 Applications de MDA en lien avec le polyuréthane

La grande majorité de la MDA produit dans l'industrie est pour la production du 4,4-méthylènedianiline diisocyanate (MDI). Le MDI est utilisé dans la production du polyuréthane (PU) pour plusieurs applications. En effet, le PU à base de MDI est

retrouvé dans divers domaines d'applications dont la construction, le médical, l'alimentaire, l'ameublement ou encore dans le domaine environnemental. La mousse flexible de PU est retrouvée dans les coussins d'automobile, de furniture ou encore dans les éponges (Marand *et al.*, 2004b). Dans le domaine médical, le PU est utilisé pour l'équipement médical (Shintani, 1995). Dans la construction, le PU en mousse est utilisé pour l'isolation (Puscasu *et al.*, 2014).

Dans ce projet, la présence de la MDA dans l'environnement est principalement étudiée. En effet, le PU à base de MDI est utilisé dans la formation de stabilisateurs de roche ou de sol, de liant d'agrégat ou encore dans l'enrobage d'encapsulant de pesticides à libération contrôlée ou de la formulation d'engrais pour le domaine de l'agriculture. Ces applications pourraient faire en sorte que la MDA soit présente dans l'environnement par la dégradation à long terme du PU à base de MDI (Degli-Innocenti *et al.*, 2001). De plus, la présence de MDA pourrait provenir de l'hydrolyse de MDI déversés accidentellement lors du transport (Allport *et al.*, 2003).

1.1.2 Autres applications de MDA dans l'industrie

La MDA est un produit qui entre dans plusieurs procédés industriels autres que le PU. La MDA est une des amines aromatiques primaires qui est utilisée dans la fabrication du plastique utilisé dans l'emballage dans le domaine de l'alimentation (Brede *et al.*, 2003). La MDA est un produit intermédiaire utilisé dans la fabrication de polymère tel que l'époxy (Moore, 1978). De plus, dans l'industrie des colorants de papier ou de textiles, les amines telles que la MDA sont grandement utilisées (Mei *et al.*, 2015).

Avec la grande panoplie d'utilisation de MDA dans l'industrie, la probabilité de trouver la MDA dans l'environnement, plus précisément dans le sol ou dans l'air, est importante.

1.2 Effets sur la santé

Les amines aromatiques telles que la MDA sont reconnues pour avoir un effet néfaste pour la santé. La MDA est classée catégorie 2B, soit cancérigène possible, pour l'humain par l'*International Agency for research on cancer* (IARC) (International Agency for research on cancer, 1986). En effet, la MDA s'est révélée cancérigène chez le rat (Haseman *et al.*, 1987). La MDA peut être absorbée par la voie digestive, le système respiratoire et par la voie cutanée (Lauwerys, 2007). Cette dernière voie est la plus probable en milieu industriel (Cocker *et al.*, 1994). De plus, plusieurs études ont démontré la présence de la MDA dans l'urine des travailleurs exposés à ce composé (Marand *et al.*, 2004a). La MDA peut être aussi retrouvée dans le sang. (Dalene *et al.*, 1996; Dalene *et al.*, 1995).

1.3 Réglementation et évaluations environnementales (air/sol)

La réglementation et l'évaluation environnementale du MDA dépendent de la matrice dans lequel la MDA est retrouvée. Pour les sols, les peu d'informations qui sont retirées de la littérature sur l'évaluation environnementale de la MDA seront citées dans le chapitre 2. Le principe de réglementation de l'évaluation environnementale se réfère à la pollution d'un contaminant. Pour l'air, il ne faut pas parler de l'évaluation environnementale, mais plutôt de la limite d'exposition. En milieu de travail, l'exposition des travailleurs à diverses substances chimiques y compris la MDA est étudiée. Ces données seront vues dans le chapitre 3, et sont basées sur la réglementation de la santé et sécurité du travail (SST) et des risques de développer une maladie par le contaminant.

1.4 Méthodes actuellement utilisées pour l'analyse des amines et de la MDA

L'analyse des amines telles que la MDA est un sujet de pointe de nos jours, en raison de la toxicité de celles-ci. De plus, leur extraction et leur détermination sont ardues en raison de leur haut caractère polaire dans les différentes matrices. Il existe plusieurs méthodes d'extractions pour extraire la MDA issues de différentes matrices. Ces différentes méthodes d'analyses d'amines et de la MDA seront vues plus en détail dans les deux chapitres suivants.

1.5 Étapes au développement d'une méthode analytique robuste

Que ce soit dans les sols, dans l'air ou dans une matrice différente, le développement d'une méthode analytique robuste comprend les mêmes grandes étapes. La figure suivante tiré du document Développement, mise au point et validation d'une méthode analytique (I-G020) de l'IRSST (Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail, 2013) indique les grandes étapes d'une validation analytique.

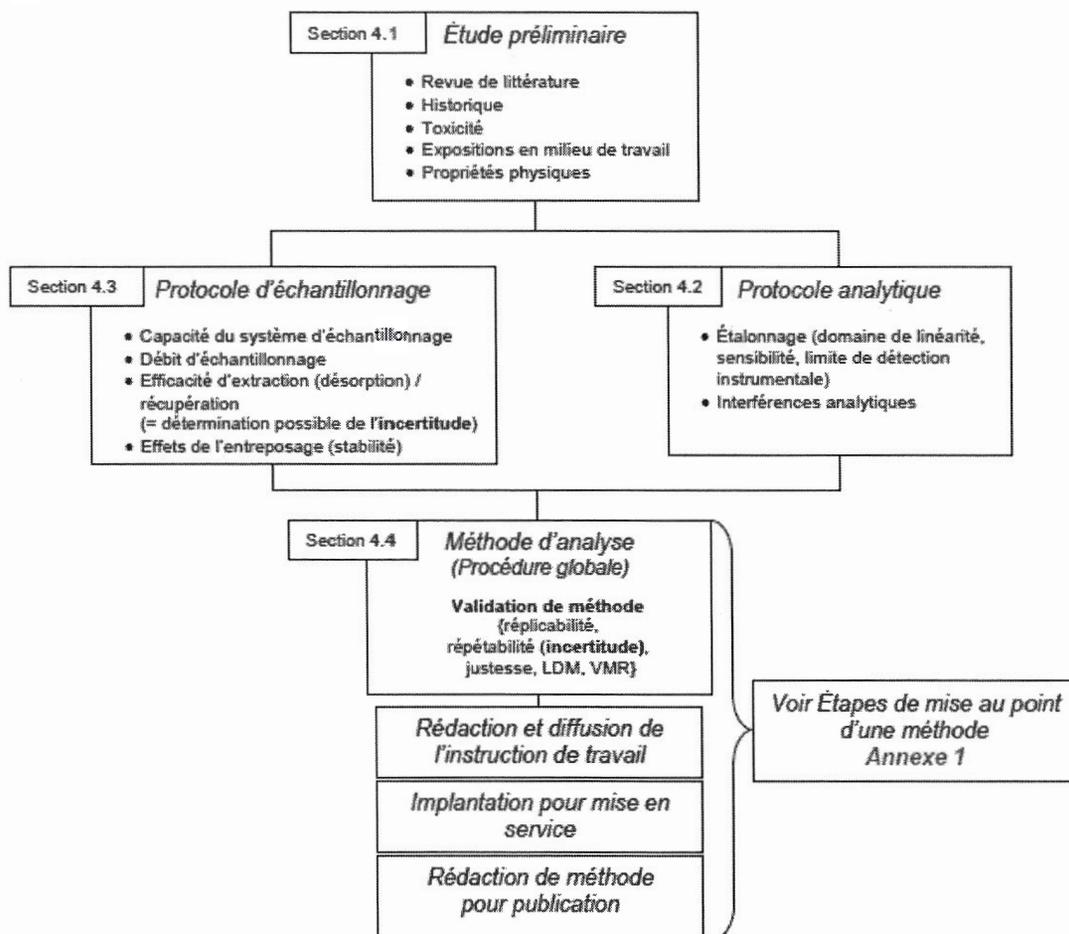


Figure 1.1 Développement, mise au point et validation d'une méthode analytique

Ces grandes étapes sont résumées comme suit:

1.5.1 Échantillonnage

L'échantillonnage est une étape essentielle dans une méthode analytique robuste. Cette étape diffère selon ce qui est collecté. En effet, la qualité de l'échantillonnage a une importance au niveau du résultat. Si l'échantillonnage est mal faite, cela pourrait entraîner une perte au niveau de l'échantillon ou à l'inverse une surévaluation de la concentration. Deux types de matrices d'échantillons vont être étudiées en détail.

1.5.1.1 Air

L'institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) a mis sur pied un guide d'échantillonnage des contaminants dans l'air en milieu de travail (Drolet et Beauchamp, 2012). Ce guide propose plusieurs techniques d'échantillonnage qui seront expliqués ci-dessous.

Pour un échantillon d'air, il existe différents moyens de collection d'échantillons. Par exemple, l'appareil à lecture directe donne des résultats instantanément (ex : les dispositifs colorimétriques à lecture directe). Ce type d'appareil mesure les contaminants qui se retrouvent dans l'air par l'intensité de coloration. Il existe aussi des milieux capteurs qui peuvent être utilisés à l'aide d'une pompe. Ces milieux capteurs sont divisés en quatre grandes catégories soit les barboteurs, les tubes adsorbants, les dosimètres passifs ou les sacs d'échantillonnage. Ces types de milieux capteurs échantillonnent différentes molécules. En effet, les barboteurs sont utilisés pour quelques acides inorganiques et quelques composés organiques. Il faut savoir que tous ces appareils ou milieux capteurs sont pour les échantillons sous forme de gaz ou de vapeurs. Certaines substances nécessitent d'être impérativement stabilisées lors de l'échantillonnage. La stabilisation se fait par une réaction chimique. Un réactif réagira avec le composé pour former un composé non volatil et stable. Ce processus d'échantillonnage s'appelle la chimisorption. L'utilisation de cette technique de stabilisation est compatible avec plusieurs médias d'échantillonnage. Ce réactif peut être sur des filtres imprégnés comme c'est le cas avec la MDA, soit dans la solution de désorption avec les barboteurs ou encore dans les adsorbants des tubes comme pour les aldéhydes.

Il existe d'autres dispositifs d'échantillonnage pour les aérosols. Un aérosol peut être défini par une suspension de particules liquides ou solides (poussières et fumées) qui se retrouvent dans un milieu gazeux. Par exemple, il existe différentes cassettes pour

échantillonner des poussières inhalables ou des poussières totales ou respirables qui sont utilisées à l'aide d'une pompe de prélèvement.

La MDA peut être retrouvée sous forme d'aérosol et de vapeur dans l'industrie (Gunderson et Clarine, 1988).

Pour chaque méthode d'analyse d'air, le temps de prélèvement et le débit de la pompe varient. Ainsi, pour chaque méthode, il faut optimiser ces conditions en fonction de la norme de chaque produit échantillonné et la capacité du média collecteur. Comme, montré ci-dessus, il existe de nombreuses variantes d'échantillonnage. Dans notre cas, le débit et le temps d'échantillonnage ont été basés sur la méthode 5029 de NIOSH qui quantifie la MDA dans l'air (National Institute for Occupational Safety and Health 1996). Le temps d'échantillonnage a été fixé en fonction de la concentration à la valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP).

1.5.1.2 Sols

Pour les sols, le Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec en collaboration avec le centre d'expertise en analyse environnementale du Québec a mis sur pied un guide d'échantillonnage des sols qui est résumé ci-dessous (Ministère du développement durable de l'environnement et des parcs du Québec, 2008).

Avant même d'élaborer sur le type d'échantillonneur, il faut détailler le type du patron d'échantillonnage. Il existe quatre approches d'échantillonnage.

- 1) L'échantillonnage aléatoire simple : Les échantillons sont pris au hasard sur le terrain.

- 2) L'échantillonnage aléatoire systématique : Les échantillons sont prélevés selon une structure régulière (ex. : maille).
- 3) L'échantillonnage ciblé : Les échantillons sont prélevés où la contamination est soupçonnée.
- 4) L'échantillonnage combiné : Le terrain d'échantillonnage est divisé en zones distinctes par la présence de différents modes de dispersion des contaminants ou encore par différents types de contaminant.

Dans les sols, la profondeur d'échantillonnage est nécessaire à savoir pour une détermination adéquate du contaminant. En effet, certains types de contaminants peuvent migrer vers les couches plus profondes à l'aide de la matière organique présente dans le sol.

Par la suite, il faut préciser le type d'échantillon, soit un échantillon composé ou un échantillon ponctuel. Un échantillon ponctuel signifie un prélèvement à un endroit précis. Tandis qu'un échantillon composé vient d'un ensemble de sous-échantillons.

Finalement, il existe trois méthodes d'échantillonnages et leurs types d'échantillonneurs qui leur sont appropriés. L'échantillonnage à partir d'un forage requiert comme son nom l'indique tout l'équipement nécessaire pour le forage. L'échantillonnage de faible profondeur s'effectue à moins d'un mètre de profondeur. L'équipement nécessaire pour cet échantillonnage est très simple; soit une tarière manuelle ou encore une pelle et une truelle. Et puis finalement, l'échantillonnage dans un puit d'exploration ou une tranchée requiert des appareils de chantiers tels qu'une pelle hydraulique ou une excavatrice. Cette technique permet d'échantillonner jusqu'à 7 mètres de profondeur.

1.5.2 Préservation et entreposage

Cette étape a une importance sur la qualité de l'échantillon et ainsi sur le résultat produit. La préservation et l'entreposage diffèrent selon le type d'échantillon. Selon le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, tous les échantillons d'eaux ou de sols doivent être conservés à 4°C et pour une durée allant de 48 heures à 180 jours selon ce qui est analysé (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2010).

Pour les échantillons d'air, la stabilité de l'analyte sur le média collecteur est étudiée lors de la validation de la méthode. Pour chaque échantillon la préservation et l'entreposage diffèrent. (Kennedy *et al.*, 1995; OSHA, 2003)

1.5.3 Préparation de l'échantillon

La préparation de l'échantillon est une étape clé dans le processus d'un développement d'une méthode analytique. Cette étape mise sur la méthode d'extraction adéquate pour la matrice utilisée (sol, air) et sur le composé analysé. En effet, pour chaque type d'échantillon la méthode d'extraction peut différer. Comme mentionné dans la section 1.4 (*Méthodes actuellement utilisées pour l'analyse des amines et de la MDA*), de nombreuses méthodes d'extraction peuvent être utilisées pour l'analyse des amines telles que l'extraction en phase solide (Li et Zhu, 2018) ou encore la micro-extraction en phase liquide (Reddy-Noone *et al.*, 2007). Une autre méthode utilisée pour la préparation de l'échantillon est l'équilibre de phase qui est utilisée lorsqu'il est impossible de fortifier un échantillon directement sur la matière. Ainsi, la fortification se fait dans un liquide.

1.5.4 Analyse de l'échantillon et la validation de la méthode

L'analyse de l'échantillon peut se faire par divers appareil. Cela dépend de l'analyte étudié. Si l'analyte est d'origine organique, comme avec la MDA, la plupart du temps

la chromatographie liquide ou gazeuse est utilisée. Si, par contre, l'analyte est plutôt un métal, la spectrométrie à plasma à couplage inductif est un des instruments qui pourraient être utilisés. Après avoir choisi l'appareil approprié pour analyser l'analyte voulu, il faut optimiser ces paramètres pour avoir un signal optimal et une bonne résolution du pic attendu.

Pour obtenir une méthode d'analyse robuste et fiable, il faut la valider. Tous les laboratoires d'analyse valident leur méthode avec plusieurs grands paramètres communs. L'appellation et la définition de ces termes pourraient peut-être varier entre différents laboratoires. La limite de détection (LDM) signifie la plus basse concentration détectable pour l'analyte étudié qui a subi tout le processus d'extraction dans une matrice donnée. La limite de quantification (LQM) est définie par la concentration minimale de l'analyte que peut être quantifiée avec la méthode d'analyse. La précision de la méthode est calculée par la réplicabilité et la répétabilité. La réplicabilité de la méthode est calculée par l'écart entre des échantillons de différentes concentrations. Ces échantillons doivent être préparés par la même personne, la même journée et avec le même instrument. Une méthode d'analyse de composé a une bonne réplicabilité, quand l'écart est plus petit ou égal à 10%. La répétabilité est calculée encore par l'écart entre des échantillons de différentes concentrations. Par contre, au moins un de ces éléments soit le jour, l'analyste ou l'instrument doit varier. Pour une bonne répétabilité pour une méthode d'analyse de composé dans l'air, l'écart des concentrations doit aussi être faible soit de $\leq 10\%$. La réplicabilité et la répétabilité recherchées peuvent varier selon ce qui est analysé et comment il est analysé. Quand l'erreur humaine est tenue en compte, comme dans le comptage de l'amiante, cette valeur peut être nettement plus grande que 10%. La précision peut aussi inclure la justesse/exactitude de la méthode qui correspond à l'écart entre la valeur attendue et la valeur obtenue. La sensibilité est calculée par le rapport du signal de l'analyte sur sa concentration. Le dernier paramètre évalué est

l'étude de désorption ou de récupération. Cette technique dépend de la technique d'échantillonnage et varie selon les laboratoires. Cette étude consiste à la récupération de l'analyte soit avec ou sans média collecteur ou avec ou sans matrice tous dépendant de l'échantillon analysé. Pour les sols, l'étude de récupération se fera avec et sans sol, tandis que pour l'air l'étude se fait avec et sans filtre. (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2015; Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail, 2013)

Une méthode analytique robuste comme mentionnée plus haut comprend plusieurs étapes et paramètres à optimiser. En effet, ce projet mise sur le développement des de la préparation de l'échantillon et l'analyse de l'échantillon ainsi que la validation de la méthode.

1.6 Objectifs de cette étude

Après lecture de la littérature sur la MDA, il en ressort que très peu d'informations sont disponibles sur ce composé dans les sols. Donc, le premier objectif de ce projet consiste à développer une méthode d'extraction et de dosage de MDA dans les sols. Pour ce premier objectif, plusieurs étapes y sont associées.

- Optimiser les paramètres de la chromatographie liquide ultra performante (CLUP) et de la spectrométrie de masse en tandem (SM/SM) pour avoir les conditions optimales sur le dosage du MDA.
- Optimiser la préparation d'échantillons pour avoir une extraction adéquate de MDA dans les sols.
- Validation de la méthode. Plus précisément, évaluer la répétabilité, la reproductibilité, la spécificité, la sensibilité, la justesse et l'exactitude la

méthode selon la méthode du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2015).

La seconde partie du projet consiste à développer une méthode d'extraction et de dosage de MDA dans l'air. Pour cette partie, il existe déjà quelques méthodes (citée dans le chapitre 3) dans la littérature, mais aucune utilisant la spectrométrie de masse en tandem pour la détection du MDA. Voici les étapes pour cette deuxième partie du projet :

- Optimiser les paramètres CLUP si nécessaire en utilisant les mêmes paramètres que la méthode de MDA dans les sols cités plus haut.
- Optimiser la méthode d'extraction du MDA dans l'air, en utilisant comme principale source la méthode de NIOSH 5029 (National Institute for Occupational Safety and Health 1996), mais en l'optimisant pour l'analyse SM/SM.
- Valider la méthode en évaluant les paramètres suivant : la répétabilité, la reproductibilité, la spécificité, la sensibilité, la justesse et l'exactitude selon la méthode utilisée par l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail. (Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail, 2013)
- Implanter la méthode analytique, après validation, afin de permettre l'analyse routinière de MDA dans l'air.

CHAPITRE II

ARTICLE 1 – DEVELOPMENT OF A METHOD FOR EXTRACTION AND DETERMINATION OF 4,4-METHYLENEDIANILINE IN SOILS BY UPLC- MS-MS

Camille Brunet^{1,2}, Simon Aubin², Sébastien Gagné^{2*}, Robert West³, Jacques Lesage¹

Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies. 2019

- 1) Chemistry Department
Université du Québec à Montréal
PO Box 8888, succ. Centre-Ville
Montréal, Québec, H3C 3P8

- 2) Laboratory Division
Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail
505, De Maisonneuve Blvd West.
Montréal, Québec, H3A 3C2
sebastien.gagne@irsst.qc.ca

- 3) International Isocyanate Institute, Inc.
321 West Main St, Boonton, NJ 07005

CONTRIBUTION DES AUTEURS

Auteur principal : Camille Brunet

Rôle : J'ai fait l'expérimentation reliée à l'article. De plus, j'ai rédigé l'article, tous en faisant les figures et la recherche bibliographique

Co-auteurs :

- 1) Simon Aubin : Encadrements à la production des résultats et de la production de l'article
- 2) Sébastien Gagné : Encadrements à la production des résultats et de la production de l'article
- 3) Robert West : Encadrements à la production des résultats, et de la production de l'article
- 4) Jacques Lesage : Encadrements à la production des résultats et de la production de l'article

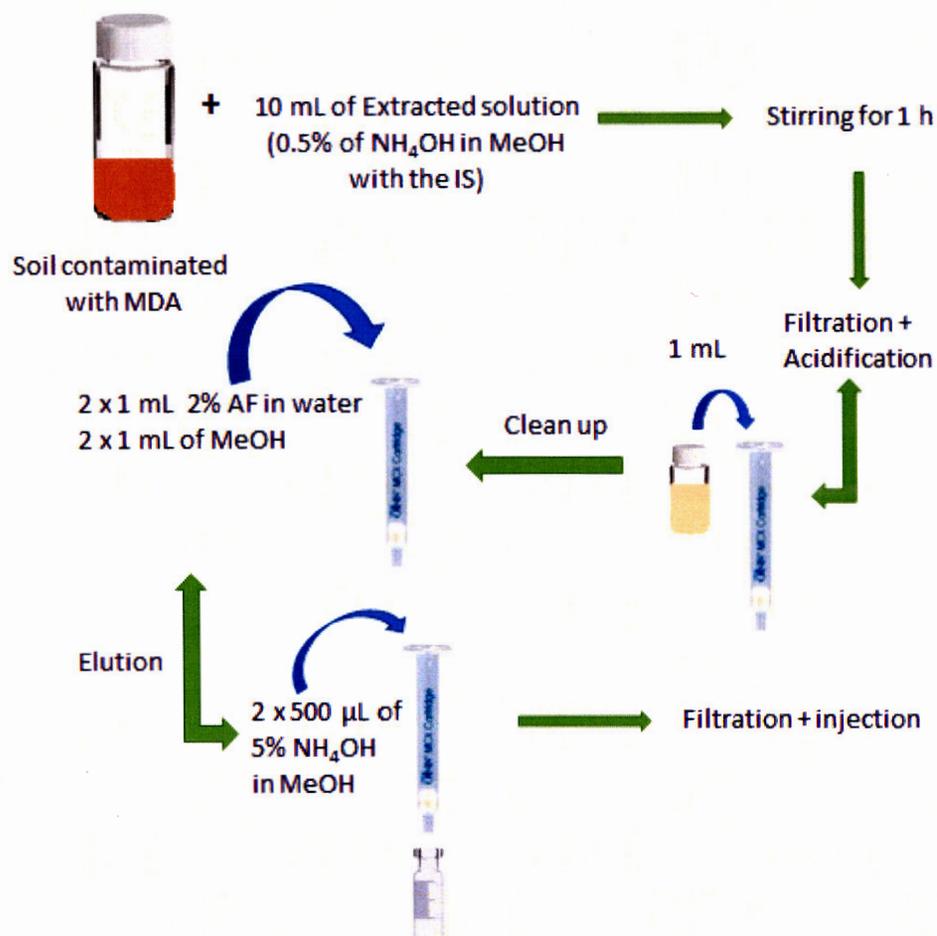
Ce chapitre traite sur le développement d'une méthode d'extraction et de dosage de la MDA dans les sols. L'article a déjà été publié dans la revue *Journal of Chromatography & Related Technologies* avec comité de pairs (Brunet *et al.*, 2019). Selon nos connaissances de la littérature, aucune méthode actuelle ne propose une méthode d'extraction et de quantification de la MDA dans les sols à des niveaux de traces. Certaines études renseignent sur le danger environnemental de la MDA tandis que d'autre analyse le destin de la MDA dans l'environnement. C'est pourquoi il est essentiel de développer une méthode d'extraction et de dosage de la MDA dans les sols. Une méthode d'extraction comprenant une extraction solide liquide suivie d'une extraction en phase solide a été optimisée. Puis, une méthode de dosage a été développée en optimisant les paramètres chromatographiques et les paramètres de la spectrométrie de masse. Après avoir, optimisé tous ces paramètres, la validation de la méthode a été réalisée en conformité avec l'approche utilisée par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. La validation de la méthode permet d'établir la robustesse de la méthode en évaluant la performance analytique de celle-ci. La validation de la méthode a été réalisée avec un sol sablonneux. Le domaine établi pour cette méthode est de 5 µg/kg à 250 µg/kg (sol sec). La récupération moyenne obtenue est de 101,1 % ± 5,2 %. La limite de détection et la limite de quantification de cette méthode est respectivement 0,731 µg/kg et 2,44 µg/kg en supposant une masse de sols d'un gramme. Finalement, cette méthode est sensible, sélective pour la MDA et donne une bonne précision. Elle est maintenant disponible pour être évaluée avec différents types de sols.

2.1 Abstract

The 4,4-methylenedianiline (MDA) substance is an important chemical intermediate which is produced in very large tonnages, the majority of which is consumed in its conversion to 4,4-methylenediphenyl diisocyanate (MDI). The MDA substance has known adverse effects which can be associated with human and environmental exposure. The growing number and volume of applications of polyurethane formulations containing MDI in the open environment and in agriculture has led to increased concern about indirect exposure to MDA in the environment, where it may occur as a potential degradation product of these polyurethane materials. This method employs ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. A recovery of (101.1 ± 5.2) % of MDA was demonstrated for samples prepared by spiking known amounts of MDA to a representative sandy loam surface soil. The overall method was adjusted to deliver a dynamic MDA detection range from 5 to 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ MDA load (dry wt.) in soils. The accuracy of the method was evaluated at 87%, while intra- and inter-day precision were 9% and 8%, respectively. When coupled with an integrated soil sampling strategy and a solid-liquid extraction protocol validated across a wide variety of soil types, the developed method will prove a powerful tool for definitively quantifying the occurrence (or absence) of MDA in both targeted and exploratory soil monitoring programs.

Keywords: 4,4'-methylenedianiline, 4,4-methylenediphenyldiisocyanate, Soil, SPE, UPLC-MS/MS.

2.2 Graphical abstract



2.3 Introduction

The 4,4-methylenedianiline (MDA) substance is a precursor product used in the production of 4,4-methylenediphenyldiisocyanate (MDI), which in turn is widely used in the production of polyurethane for several applications. The MDI-based polyurethanes (PU) find broad usage in furniture, recreation, construction, and

environmental-related products.^[1-4] In the environmental sector, MDI-based polyurethane formulations are increasingly used in such applications as aggregate binders, soil/rock stabilization, and encapsulant coatings for controlled release of agricultural pesticide and fertilizer formulations. These and other such applications can lead to a concern that MDA may be present in the environment as a product of longterm degradation or weathering of such MDI-based polyurethane formulations,^[5] or as a hydrolysis product of MDI which could be accidentally spilled during transportation incidents.^[6] Considering the magnitude and modes of potential indirect release of MDA into the environment, it is important to have a robust method for monitoring environmental concentrations of MDA.

MDA is categorized as a possible human carcinogen by the International Agency for Research on Cancer (IARC).^[7] MDA can be absorbed through the skin, the digestive tract and the respiratory system.^[8] Studies have shown that MDA is excreted in the urine^[9] of workers exposed to the compound. The ease of absorption upon exposure and the toxicity of the chemical strengthen the need to evaluate the presence of MDA from all potential point sources. Since applications or spillages of MDI-based formulations into soil are a possible source of exposure to MDA in the environment, the development of analytical tools for reliable assessment of the breadth, frequency, and magnitude of potential environmental exposure is of high interest.

The environmental hazards of the MDA substances have been recently reviewed by Schupp et al.^[10] where is shown that reproduction of the soil oligochaete (earthworm) is the most sensitive of the tested potential hazards across terrestrial plant, microorganism, invertebrate, and vertebrate species. Based on the available hazard testing with these terrestrial species, a predicted no effect concentration (PNECsoil) of 1.13 mg/kg (dry wt.) has been derived for the risk assessment of potential MDA exposures in soil, within the framework of the European Union REACH law.^[11] In

their recently finalized screening assessment for a grouping of MDI and MDA substances,^[12] Environment Canada estimated a maximum soil concentration of 0.023 mg MDA/kg (dry wt.) based on an assumed 100% deposition of atmospheric MDI emissions and subsequent (hydrolytic) 100% conversion to MDA on soil surfaces within a 10 km radius of a point-source MDI release. The same report cites the results of historical environmental monitoring programs in Japan, where infrequent detections of MDA were reported to be on the order of 0.001 – 0.02 µg/L in surface water, and 0.015 mg/kg (dry wt.) in aquatic sediment.

Collectively, these existing hazard, risk, and exposure assessments for MDA indicate that a very sensitive and selective analytical method, with a detection limit on the order of 0.005 mg/kg (dry wt.), would be necessary to quantitatively evaluate the potential risk associated with measured MDA concentrations in soil.

The environmental fate of MDA has been extensively studied across a wide number and variety of standard laboratory tests. The results of these studies have been summarized in a forthcoming review by Schupp et al.^[13] which concludes that the substance is rapidly degraded in the environment by a combination of concurrent photolysis, biodegradation, and abiotic (oxidation) reaction processes. Of particular importance for substances like MDA, which possess the primary aromatic amine functional group, is their well-studied reactions to form covalent bonds with components of natural organic matter (i.e. humic matter), which often results in the formation of irreversibly bound residues in soils and aquatic sediments.^[14] Because of this reactivity with natural organic matter present in soil, any soil monitoring method for MDA must involve steps to mitigate or eliminate this reaction which could serve to reduce measured concentrations or give false-negative detections. Even where soils are treated using solid-liquid extraction procedures, the concomitant removal of soluble organic matter along with MDA from soil particles would not be expected to

prevent further reaction between MDA and organic matter in the resulting soil extract solution, especially if the MDA occurs in its most reactive non-protonated state ($\text{pH} > 3.5$). Thus, an effective soil monitoring method should include steps to mitigate or eliminate this potential “matrix effect” even after soil samples are extracted.

Amine monitoring is a peak topic nowadays. Several extraction methods such as solid-phase micro-extraction,^[15] solid-phase extraction^[16] or liquid phase micro-extraction^[17] have been used to quantify extraction, concentration and analysis of amines. There are various analytical methods for analyzing amines which span the chromatographic spectrum: hydrophilic interaction liquid chromatography and mass spectrometry,^[18] gas chromatography,^[19] ion chromatography,^[20] liquid chromatography with mass spectrometry,^[21] or liquid chromatography with electrochemical detection^[22] have been developed, although perhaps not specifically developed to include MDA among the targeted analytes.

MDA has been analyzed and quantified in many different chemical and biological matrices. Kleiman et al.^[23] quantified MDA in grease by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy, while Yang et al.^[24] quantified, among other amines, MDA in textiles by dispersive liquid-liquid micro-extraction. The microbial degradation of MDA in soil was studied by Cowen et al.^[25] In terms of regulatory analyses, the National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) developed a method to quantify airborne MDA by high performance liquid chromatography coupled with a visible UV spectrometer and an electrochemical detector.^[26] While this method appears well adapted for air monitoring, it likely lacks the necessary selectivity and sensitivity for analysis of soil samples having a complex matrix of potentially interfering components.

Based on current knowledge, no method has been produced specifically for the purpose of quantifying MDA in soil, particularly at trace levels. In addition, extracting amines in the environment is a challenge due to their sorption to soils by organic partitioning, cation-exchange, and covalent binding mechanisms.^[13] The extraction and analysis of soils for MDA presents additional challenges, as samples containing polyurethane-based contaminants can produce false-positive detections for MDA if heating and/or grinding of the samples occurs at any step during extraction and analysis. The objective of this research is to develop a method for the determination and extraction of MDA in soils which incorporates the following key elements:

- Precision:
 - Use of a stable-isotope labeled internal standard to correct for sample-to-sample variations in recovery from soils and in detector response.
 - High resolution UPLC separation of MDA and MDA-d₄ internal standard from potential interferent peaks of the complex soil matrix
- Sensitivity:
 - Highly sensitive mass spectrometric detection employing positive mode electrospray ionization
 - Solid-phase extraction (SPE) step allowing for volumetric concentration of soil extract solutions
- Selectivity:
 - Mass-selective detection based on signature molecular ions for MDA and MDA-d₄, and confirmatory fragment ions using multiple reaction monitoring (MRM)
- Accuracy:

- Solid-phase extraction (SPE) step which removes dissolved organic matter from the soil extract solution, preventing continuation of the reactive “matrix effect”
- SPE step to convert MDA to the protonated form, preventing continuation of “matrix effect” reactions between MDA and organic matter
- Avoidance of high temperature exposures during the sample preparation and analysis steps, thereby minimizing the potential for artefactual detections resulting from thermal decomposition of sample contaminants.

2.4 Methods

2.4.1 Chemicals

The 4,4-methylenedianiline reference material (purity 99.3%), as well as the methanol and water (MeOH, H₂O; both HPLC grade) used for the soil extraction, were purchased from SigmaAldrich (Milwaukee, Wisconsin USA). The internal standard (IS), 4,4-methylenedianiline-2,2',6,6',N,N,N',N'-d₈ (purity 99 atom %), was purchased from C/D/N Isotopes (Pointe-Claire, Quebec, Canada). The MeOH, H₂O, formic acid (FA) all Optima® LC/MS grades and ammonium hydroxide (NH₄OH; Trace Metal grade) were obtained from Fisher Scientific (Markham, Ontario, Canada). Glacial acetic acid (GAA, HPLC grade) was acquired from J.T. Baker (Avantor Performance Materials, LLC, Center Valley, Pennsylvania, USA).

2.4.2 Instruments and analytical conditions

The UPLC-MS/MS system was an Acquity H-Class Xevo TQD (triple quadrupole) mass spectrometer from Waters (Beverly, Massachusetts, USA). The analyses were carried out using a BEH C₁₈ Acquity UPLC column of 1.7 μm (2.1 mm X 50 mm)

from Waters. A pre-column Vanguard™ Acquity UPLC BEH C₁₈ 1.7 μm (2.1 X 5 mm) was also used to protect the analytical column from an accumulation of soil extract contaminants.

The eluent gradient and associated mobile phases are shown in Table 2.1.

Table 2.1 Summary of Instrument Parameters Used for UPLC Separation of MDA and MDA-d₄

| Eluent Gradient : | | | |
|-------------------|---------|------------------------------------|------------|
| Time (min) | % Water | % of 1% Acetic acid in water | % Methanol |
| Initial | 60 | 20 | 20 |
| 0.4 | 60 | 20 | 20 |
| 4 | - | 20 | 80 |
| 7 | - | 20 | 80 |
| 7.1 | 60 | 20 | 20 |
| 8.2 | 60 | 20 | 20 |

The column temperature was maintained at 50 °C and a constant eluent flow rate of 0.5 mL/min was used. The injection volume was 5 μL and the sample temperature was maintained at 12 °C. The Xevo TQD was operated in electrospray ionization/positive polarity mode (ESI+), the source temperature was set at 150 °C, the capillary voltage at 0.80 kV, the desolvation temperature at 500 °C, the desolvation N₂ gas flow at 1000 L/hr, and the gas cone flow at 60 L/hr. The MS signal acquisition was performed in multiple reaction monitoring (MRM) mode. The MRM parameters used for detection and confirmation of MDA and the IS were

optimized by infusing them in a 100% MeOH solvent. Table 2.2 shows the MS parameters used for the analyte compounds.

Table 2.2 Compound Multiple Reaction Monitoring (MRM) Parameters Used for Quantification of MDA and MDA-d₄

| Compounds | MRM transition (m/z) | Cone voltage (V) | Collision energy (V) |
|-------------------------|--------------------------|------------------|----------------------|
| MDA | 199.1 --> 106.0 (quant.) | 44 | 22 |
| | 199.1 --> 165 (conf.) | 48 | 26 |
| MDA-d ₄ (IS) | 203.2 --> 108.1 | 48 | 24 |

Note that with MDA-d₈ (IS), there is a proton exchange of the amine deuterium atoms in the the mobile phase, leading to formation and detection of the IS as MDA-d₄. The MS peak areas for MDA and IS quantification were determined using the automatic integration feature, and manual adjustments were done only where auto-integrations did not cover the entire peak. The calibration curve regression equation was determined using a least-squares linear regression fit of the peak area versus MDA concentration data, with an MDA concentration weighting factor of 1/x.

2.4.3 Soil

The soil used for these experiments to optimize and validate the extraction method was collected from Saint-Donat, Quebec, Canada. The texture of this soil was classified as sandy loam, having a percentage of total organic carbon of 0.89% and a

pH of 5.54. These soil characterization data were obtained by an analysis performed by an accredited laboratory using method MA. 405 - C1.1^[27] for the percentage of total organic and MA. 100 – pH 1.1^[28] for the pH. The collected soil was screened on a 2 mm sieve and air-dried at 30 °C for 6 hr.

2.4.4 Solid phase extraction (SPE) and Soil Extraction

Oasis MCX Mixed-Mode Cation Exchange 1 cc (30 mg) cartridges were purchased from Waters Limited (Mississauga, Ontario, Canada). Samples are prepared with an initial solid-liquid extraction followed by a filtration and solidphase extraction (SPE).

The generation of a representative soil extract solution was necessary to optimize and validate the SPE cleanup and UPLC-MS/MS analysis steps. The recovery of MDA from a representative surface soil was evaluated using a variety of organic solvent and pH combinations. Optimal recovery was achieved for the tested soil using a combination of MeOH and alkaline pH. It was assumed that MeOH serves to recover MDA which is reversibly adsorbed with soil organic matter, while elevated pH results from conversion of MDA to its nonprotonated form where it can be released from any cationexchange interactions with soil components. For the method validation experiments, soil extract solutions were prepared by combining one gram of soil with 10 mL of the extraction solution (0.5% NH₄OH in MeOH, containing the IS at 13.472 ng/ mL). At this stage, 50 µL of various solutions of different concentrations of MDA were spiked in phase equilibrium for the validation. Phase equilibrium means that the MDA is spiked directly into the extraction solution and not into the soil. The resulting solutions are stirred for 1 hr and then filtered through a syringe containing a 10 µm Versapor® membrane filter. 100 µL of formic acid is added to the solution to neutralize and acidify it. This addition of acidic solution converts MDA and IS to their fully protonated (and less reactive) forms. One milliliter of the filtered extract was transferred to the SPE column. The SPE was

washed successively with 2 X 1 mL of a solution of 2% (v/v) formic acid in water and with 2 X 1 mL of MeOH. Finally, elution was performed with 2 X 500 μ L of a solution of 5% (v/v) NH_4OH in MeOH. For the SPE column, the SPE was drawn through using a vacuum of positive air pressure. An approximate flow rate of 1 drop/second was used.

The final extract was filtered on a syringe containing a hydrophilic polyvinylidene difluoride PDVF filter with a pore size of 0.22 μm and a diameter of 13 mm.

2.4.5 Standard curve preparation

For the preparation of the calibration curve, one blank and 7 MDA calibration solutions of concentrations ranging from 0.5 ng/mL to 25 ng/mL (0 ng/mL, 0.5 ng/mL, 1 ng/mL, 5.003 ng/mL, 10.007 ng/mL, 20.014 ng/mL and 25.017 ng/mL) were made. The stock (33.68 $\mu\text{g/mL}$ for the IS, 297.82 $\mu\text{g/mL}$ for the MDA) and intermediate (0.674 $\mu\text{g/mL}$ for the MDA- d_8 , 0.714 ng/mL for the MDA) solutions of MDA and the IS used to make the standards were made in MeOH. The solvent used for the calibration curve was 5% NH_4OH in MeOH. The internal standard (MDA- d_8) was added to each curve solution to obtain a concentration of 13.472 ng/mL.

The calibration concentration range of the method based on solid-liquid extraction of 1 g of soil with 10 mL solvent is equivalent to 5 $\mu\text{g/kg}$ to 250 $\mu\text{g/kg}$ of MDA in soil.

2.4.6 Analytical performance evaluation

The analytical performance evaluation was completed in accordance with the approach presented in method DR-12-VMC,^[29] which is consistent with the guidelines issued by the Quebec government branch in charge of environmental laboratory accreditation. This approach used the addition of a fortified solution of MDA produced in MeOH. These solutions were introduced into the sample by the

phase equilibrium described in the solid-phase extraction and soil extraction section (above) in this paper in order to minimize the matrix effects caused by interaction of MDA with organic matter in the soil. Consequently, some of the validation data were expressed in ng/mL. These samples followed the extraction protocol mentioned above. The limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) were measured with ten sample replicates (0.512 ng/mL). The standard deviation of the sample peak areas was measured. The LOD and LOQ were calculated as three and ten times the standard deviation, respectively. The concentrations of replicates were distributed over the calibration range.

As noted previously, the primary aromatic amines such as MDA are known to react with natural organic matter present in soils to form covalently-bonded residues. The potential influence of this reactive “matrix effect” of the soil organic matter was investigated by comparing measured MDA concentrations for six replicate samples (each) where MDA is spiked at five different concentrations to soil in “phase equilibrium” with the soil extraction solution, and to soil extract solution without soil added. Intra-day precision was evaluated using six replicates of four different concentrations injected the same day. Inter-day precision was also evaluated using four concentrations and repeated on six different days using the same instrument and analyst. The accuracy of the method was calculated against a different MDA stock solution that was carried through the entire extraction procedure and injected during each injection session. The concentration of the solution that was used for the accuracy was 11.839 ng/mL. The analytical uncertainty (u) was obtained according to the formula of method DR12-INC^[30] and incorporated the bias and overall precision. This formula uses the total relative standard deviation (TRSD). The extended uncertainty (U) is also calculated by applying a coverage factor $k = 2$ to u .

2.5 Results and discussion

2.5.1 Solid phase extraction (SPE)

The challenge in developing a method for extraction and quantification of MDA in soils lies in both the variability and complexity of the sample (soil) matrix. SPE was used in this study because of this technique's ability to separate the analyte from a multi-phase, complex matrix that may include substances which can interfere with or deteriorate the chromatography of the MDA and IS analytes. The SPE step also eliminates most of the soil organic matter from the soil extract solution, thereby eliminating the potential for continued reaction with the MDA analyte. Although not demonstrated here, the inclusion of an SPE step in this method also makes it possible to achieve a volumetric concentration of the MDA analyte (thus lowering LOD and LOQ) by loading larger volumes of soil extract while eluting the SPE column using the same volume of eluent. Use of a mixed-mode sorbent was favored since this type of sorbent is selective for complex matrices. The OASIS MCX (mixed cation exchange) sorbent consists of a PVP-DVB (poly(vinylpyrrolidone-divinylbenzene)) backbone modified with a highly acidic sulfonic acid cation-exchanging group (having $pK_a < 1$)^[31,32] which can be used without conditioning and equilibration.^[33] The SPE protocol provided by the manufacturer has been optimized for recovery of MDA in the soil by increasing the number of wash steps in order to have the best possible recovery of MDA from the soil extract matrix. The protocol is as follows:

- I. The sample is first acidified with formic acid (100 μ L to 10 mL sample) to ensure that the analyte MDA (having pK_a of 4.96 at 20 °C) is loaded in the sorbent under a cationic form (pH between 4 and 5). A sample volume of 1 mL is loaded into the column.
- II. Two 1 mL aqueous acid washings (2% FA in water) remove water-soluble compounds that are very weakly bound to the sorbent.

- III. Three successive 1 mL washings with MeOH are performed to elute all non-protonated compounds from the SPE column and contribute to matrix cleaning.
- IV. MDA is then released in its neutral form by elution of the SPE column with two 0.5 mL portions of basic methanol (5% NH₄OH in MeOH, pH ~11).

2.5.2 Liquid chromatography and mass spectrometry

For the mass spectrometric detection of MDA and IS in this study, these analytes are ionized in positive polarity electrospray ionization mode and the molecular $[M + H]^+$ ions and characteristic fragment ions are monitored. A quantitative MRM transition and a confirmation MRM transition were selected for both MDA and IS, and monitored for each injection. The mobile phase is kept at a constant acidic pH to provide a constant source and concentration of protons needed for consistent ionization of MDA and IS in positive polarity mode. This feature is particularly important as the sample solution was injected at a basic pH from the SPE process column. The MS/MS parameters are given in Table 2.2. From the chromatographic aspect, the most important challenge was to optimize the eluent composition and pH, column selection, and autoinjector rinse parameters to reduce tailing and sample carry-over, which were originally encountered.

2.5.3 Analytical performance

Analytical performances are presented for the overall method, including extraction of MDA from the soil in phase equilibrium. It was not within the scope of this study to determine recovery of MDA when spiked directly to soil.

2.5.3.1 Matrix effects

Two internal calibration curves were generated: one in which the MDA standards

were prepared in basic MeOH and another in which acidified aqueous samples were carried through the complete SPE protocol. The relationship between area counts and concentration of analyte among these two curves is very similar, showing that the effect of SPE matrix is negligible (data not shown). Fortified samples in phase equilibrium with and without soil were compared and are shown in Table 2.3.

Table 2.3 Summary of Results for Examination of Potential Matrix Effect between MDA and Soil

| | | | | | | |
|---|------------------------------|---------|---------|---------|----------|----------|
| | Concentration (ng/mL) | 0.512 | 1.002 | 4.226 | 9.811 | 23.994 |
| | ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (5.12) | (10.02) | (42.26) | (98.11) | (239.94) |
| | | n = 6 | n = 6 | n = 6 | n = 6 | n = 6 |
| | Mean (ng/mL) | 0.427 | 0.894 | 4.649 | 10.8625 | 28.248 |
| | ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (4.27) | (8.94) | (46.49) | (108.63) | (282.45) |
| Phase equilibrium with soil contact | Standard deviation (ng/mL) | 0.029 | 0.069 | 0.383 | 1.187 | 2.074 |
| | ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (0.290) | (0.69) | (3.83) | (11.87) | (20.74) |
| | %CV | 6.78 | 7.73 | 8.24 | 10.92 | 7.34 |
| | | | | | | |
| Phase equilibrium with no soil contact | Mean (ng/mL) | 0.396 | 0.848 | 4.74 | 11.142 | 29.252 |
| | ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (3.96) | (8.48) | (47.40) | (111.42) | (292.52) |
| | Standard deviation (ng/mL) | 0.063 | 0.074 | 0.291 | 0.506 | 1.061 |
| | ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (0.63) | (0.74) | (2.91) | (5.06) | (10.61) |
| | %CV | 15.96 | 8.75 | 6.14 | 4.54 | 3.63 |
| | %Recovery | 108.0 | 105.4 | 98.1 | 97.5 | 96.6 |

*assuming 1g dry wt. of analysed soil

CV is coefficient of variation

The results can be explained by the fact that there is more variation in the presence of low concentrations of MDA in soils due to its potential for reacting with the soil

extract matrix. A recovery of (101.1 ± 5.2) % was obtained. The presence of the internal standard also helps to minimize the impact of the matrix on all concentrations by correcting the variations that could be obtained with soil types, SPE processing and sample-to-sample variation. Finally, the use of solid-phase extraction helps to reduce the matrix effect through the many washing steps.

2.5.3.2 Carry Over

A standard blank injected after the highest point of the calibration curve showed that the carry-over is about 4% of the highest standard, i.e. approximately twice the LOQ. To avoid this phenomenon, standard blanks were injected after the concentrated samples. It should be noted that such carry-over can sometimes be a function of the instrument (auto-injector) design and the programmed sequence of instrument operations. Therefore, potential for carry-over should be carefully examined when this method is adapted to instruments of different models or manufacturers than described here.

2.5.3.3 Interferences

Figure 2.2 represents the chromatograms of MDA in a soil blank, a soil blank with IS, the minimal reported value (MRV) and a simulated sample, respectively.

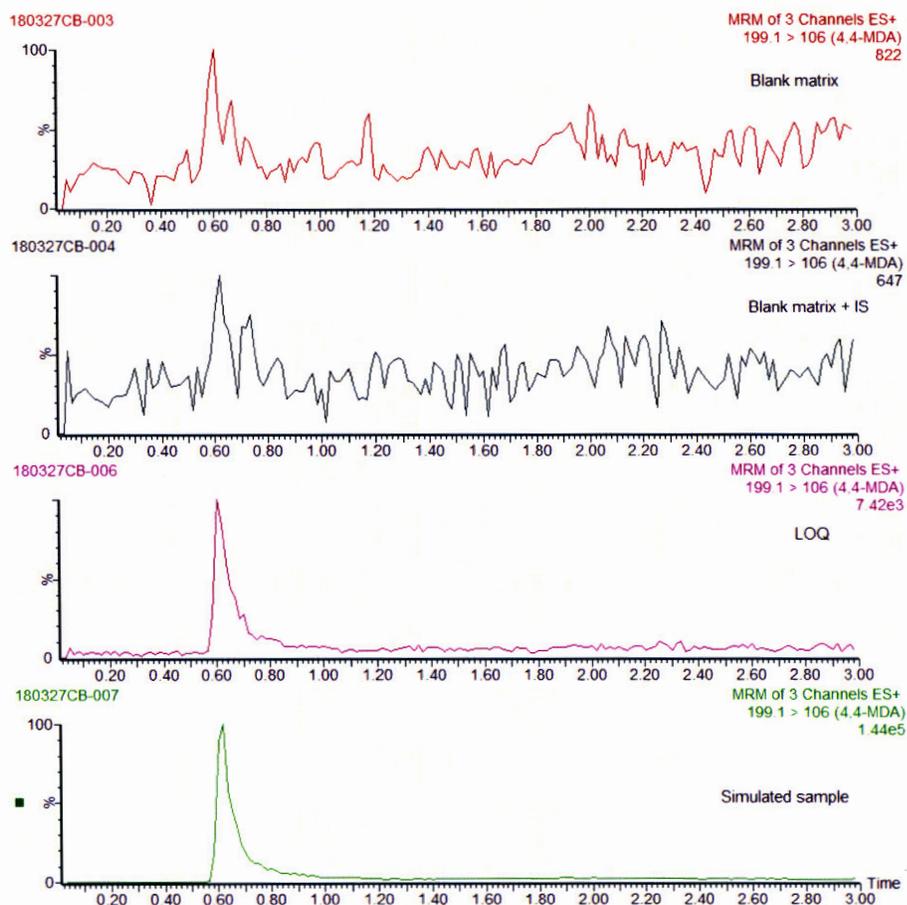


Figure 2.2 Extracted ion chromatograms of a matrix blank, matrix blank + IS, LOQ and a simulated sample (conc. ~ 9.8 ng/mL)

As noted, no interference is observed in the soil blank. Early investigations showed that the MDA and IS peaks were significantly tailing, requiring optimization of the UPLC column and eluents employed. The tailing is well-controlled with the gradient used and the carry-over is removed by injecting a blank after the concentrated samples. The MDA and MDA- d_4 peaks co-elute, but with the different MRM transitions, they can be clearly differentiated without crosstalk as shown in the blank with IS.

2.5.3.4 Dynamic range, LOD, LOQ, accuracy and precision

Table 2.4 shows the validation data obtained with this method.

Table 2.4 Method Performance Parameters

| Compound | MDA |
|--|---------|
| LOD (ng/mL) | 0.073 |
| ($\mu\text{g}/\text{kg}$) [*] | (0.731) |
| LOQ (ng/mL) | 0.244 |
| ($\mu\text{g}/\text{kg}$) [*] | (2.44) |
| Accuracy (%) (n = 9) | 86.9 |
| Analytical uncertainty (%) | 8.6 |
| Extended uncertainty (%) (k=2) | 17.1 |

^{*} assuming 1g (dry wt.) of analysed soil

The dynamic range was determined to be 0.5 ng/mL to 25 ng/mL with an $R^2 \geq 0.990$. The limit of detection and limit of quantification are expected to be sufficient for MDA determination from real soil samples. The minimum reported value chosen is 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, which is the smallest point of the curve. The analytical uncertainty and extended uncertainty are respectively 8.6% and 17.1%, while the overall method accuracy obtained is 86.9%.

The intra-day and inter-day precision data are presented in Tables 2.5 and 2.6.

Table 2.5 Summary of Results for Intra-Day Precision Determination

| | | | | |
|--------------------------------|---------|---------|----------|----------|
| Concentration (ng/mL) | 1.002 | 4.226 | 9.811 | 23.994 |
| ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (10.02) | (42.26) | (98.11) | (239.94) |
| | n = 6 | n = 6 | n = 6 | n = 6 |
| Mean (ng/mL) | 0.894 | 4.649 | 10.863 | 28.248 |
| ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (8.94) | (46.49) | (108.63) | (282.48) |
| Standard deviation | | | | |
| (ng/mL) | 0.069 | 0.383 | 1.187 | 2.074 |
| ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (0.69) | (3.83) | (11.87) | (20.74) |
| %CV | 7.73 | 8.24 | 10.92 | 7.34 |
| Mean Intra-day precision (%) | | | | 8.56 |
| * assuming 1g of analysed soil | | | | |

Table 2.6 Summary of Results for Inter-Day Precision Determination

| | | | | |
|--------------------------------|---------|---------|----------|----------|
| Concentration (ng/mL) | 1.002 | 4.226 | 9.811 | 23.994 |
| ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (10.02) | (42.26) | (98.11) | (239.94) |
| | n = 6 | n = 6 | n = 6 | n = 6 |
| | days | days | days | days |
| Mean (ng/mL) | 1.052 | 4.76 | 11.01 | 29.431 |
| ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (10.52) | (47.60) | (111.10) | (294.31) |
| Standard deviation | | | | |
| (ng/mL) | 0.129 | 0.295 | 0.645 | 1.328 |
| ($\mu\text{g}/\text{kg}$)* | (1.290) | (2.95) | (6.45) | (13.28) |
| %CV | 12.26 | 6.19 | 5.86 | 4.51 |
| Mean Inter-day precision (%) | | | | 7.21 |
| * assuming 1g of analysed soil | | | | |

An intra-day precision of < 9% and an inter-day precision of <8% are obtained for this method for four concentrations spanning 5 – 250 µg MDA/kg (dry wt.) soil. These data show that the difference in measurement precision between samples made and analyzed on different days and those made and analyzed on the same day is minimal.

2.6 Future Method Adaptations

The results presented here show that a very sensitive and precise measurement of MDA is possible for soil extract solutions obtained from solid-liquid extraction of a representative sandy loam soil. The application of the presented method to monitoring of a broad range of soils may require additional optimization and validation of the basic MeOH extraction solvent, and any associated process for mixing/ homogenization of the soils before or during the solid-liquid extraction step. It can be expected that variation in soil properties, especially in soils with a high percentage of organic matter and/or clay content, could significantly affect the efficiency of MDA extraction. In this case, the use of a surrogate standard which has physical/chemical, functional and reactive properties similar to MDA could provide more information about possible loss of MDA during sampling, preservation, shipping, and holding of soils prior to extraction and analysis. For the moment, MDA-d₄ plays a correction role that compensates for the potential loss of MDA in soils during sample processing, as well as correcting for variations in instrument response, over the duration of a sample analysis sequence.

2.7 Conclusion

Methods of monitoring and quantifying MDA in soils are not widespread and may not suitably account for the unique physical/chemical and reactive properties of the

substance. This research presents a novel method for extracting and measuring MDA in solvent extracts of soils which provides excellent sensitivity, selectivity, and precision while avoiding potential generation of artefactual detections from thermal/mechanical degradation of polyurethane contaminants. The inclusion of the SPE clean-up step is an important component of the method's extraction step which increases method's sensitivity and selectivity. The SPE mixed-mode column and numerous washing cycles used in this study clean up the sample and reduce the potential for matrix effects and interferences. The validation data obtained over a range of 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ to 250 μg MDA/kg provide information on the robustness of the method. The method has been shown to be sensitive with LOD and LOQ in the low mg/kg range, while also providing excellent accuracy and precision. The validation of this method could be extended to the study of MDA extraction from a wider range of soils having differing textures, cation-exchange capacities, and percentages of organic matter to provide a better understanding of this variable. The method presented is now available for such adaptations by environmental specialists who want to develop and validate broadly applicable monitoring methods for MDA in the environment.

2.8 Acknowledgement

The authors wish to thank the Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) for providing instrument support and the International Isocyanate Institute, Inc. for their financial support. The research reported herein was performed under an agreement with the International Isocyanate Institute, Inc. Any conclusions are those of the authors and not necessarily of the Institute.

2.9 ORCID

Sébastien Gagné <http://orcid.org/0000-0002-8374-339X>

2.10 Bibliography

- [1] Marand, A.; Karlsson, D.; Dalene, M.; Skarping, G. Extractable Organic Compounds in Polyurethane Foam with Special Reference to Aromatic Amines and Derivatives Thereof. *Anal. Chim. Acta.* **2004**, 510(1), 109–119.
- [2] Shintani, H. Formation and Elution of Toxic Compounds from Sterilized Medical Products: Methylenedianiline Formation in Polyurethane. *J. Biomater. Appl.* **1995**, 10(1), 23–58.
- [3] Puscasu, S.; Aubin, S.; Van Tra, H.; Gagné, S. Adaptation of CIP10 for the Sampling of 4,4'-Methylene Diphenyl Diisocyanate Aerosols. *Analy. Methods.* **2014**, 6(4), 1101.
- [4] Mazzu, A. L.; Smith, C. P. Determination of Extractable Methylene Dianiline in Thermoplastic Polyurethanes by HPLC. *J. Biomed. Mater. Res.* **1984**, 18(8), 961–968.
- [5] Degli-Innocenti, F.; Bellia, G.; Tosin, M.; Kapanen, A.; Itävaara, M. Detection of Toxicity Released by Biodegradable Plastics After Composting in Activated Vermiculite. *Polym. Degradation Stability.* **2001**, 73(1), 101–106.
- [6] Allport, D. C.; Gilbert, D. S.; Outterside, S. M., MDI and TDI: Safety, Health and the Environment. A Source Book and Practical Guide. In *Wiley, Chichester*, Gilbert International Ltd; GIL: Wiley, NY, USA, **2003**; pp 455.
- [7] International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of the Chemicals to Human, Some Chemicals Used in Plastics and Elastomers. International Agency for Research on Cancer (IARC): Lyon, **1986**, Vol. 39, pp 347–368.

- [8] Lauwerys, R. R. *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*. 5th ed.; Elsevier Masson: Issy-les-moulineaux, France, **2007**.
- [9] Marand, A.; Karlsson, D.; Dalene, M.; Skarping, G., Determination of Amines as Pentafluoropropionic Acid Anhydride Derivatives in Biological Samples Using Liquid Chromatography and Tandem Mass Spectrometry. *Analyst*. **2004**, 129(6), 522–528.
- [10] Schupp, T.; Allmendinger, H.; Bossuyt, B. T.; Hidding, B.; Tury, B.; West, R. J., Review of the Ecotoxicological Properties of the Methylenedianiline Substances. *Rev. Env. Contam. Toxicol.* **2017**, 241, 39–72.
- [11] European Chemicals Agency (ECHA) 4,4'-Methylenedianiline (CASRN 101-77-9). <https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/15201> (accessed January).
- [12] Environment and Climate Change Canada Screening Assessment for Methylenediphenyl Diisocyanates and Methylenediphenyl Diamines (CASRN 101-68-8; 2536-05-2; 5873-54-1; 9016-87-9; 26447-40-5; 101-77-9; 25214-70-4); Environment and Climate Change Canada/Health Canada: Gatineau, Quebec, 2017.
- [13] Schupp, T. A. H.; Boegi, C.; Bossuyt, B. T. A.; Hidding, B.; Shen, S.; Tury, B.; West, R. J. The Environmental Behavior of Methylene-4,4'-Dianiline (MDA). *Rev. Env. Contam. Toxicol.* **2018**, 246, 91–132.
- [14] Parris, G. E. Covalent Binding of Aromatic Amines to Humates. 1. Reactions with Carbonyls and Quinones. *Env. Sci. Technol.* **1980**, 14, 1099–1106.

- [15] Lucaire, V.; Schwartz, J. J.; Delhomme, O.; Ocampo-Torres, R.; Millet, M. A Sensitive Method Using SPME Pre-Concentration for the Quantification of Aromatic Amines in Indoor Air. *Anal. Bioanal. Chem.* **2018**, 410(7), 1955–1963.
- [16] Li, J.; Zhu, M., Separation and Determination of Polyurethane Amine Catalysts in Polyether Polyols by Using UHPLC–QTOF-MS on a Reversed-Phase/Cation-Exchange Mixed-Mode Column. *J. Sep. Sci.* **2018**, 41(4), 831–838.
- [17] Reddy-Noone, K.; Jain, A.; Verma, K. K. Liquid-Phase Microextraction and GC for the Determination of Primary, Secondary and Tertiary Aromatic Amines as Their IodoDerivatives. *Talanta.* **2007**, 73(4), 684–691.
- [18] Ridder, J. B.; Karlsson, D.; Dalene, M.; Skarping, G., Analysis of Aqueous Alkanolamines Using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography and Mass Spectrometry. *Anal. Chem. Lett.* **2013**, 3(5-6), 298–313.
- [19] Dawodu, O. F.; Meisen, A., Gas Chromatographic Analysis of Alkanolamine Solutions Using Capillary and Packed Columns. *J. Chromatogr. A.* **1993**, 629(2), 297–307.
- [20] Chang, I. H.; Lee, C. G.; Lee, D. S., Development of an Automated Method for Simultaneous Determination of Low Molecular Weight Aliphatic Amines and Ammonia in Ambient Air by Diffusion Scrubber Coupled to Ion Chromatography. *Anal. Chem.* **2003**, 75(22), 6141–6146.
- [21] Fournier, M.; Lesage, J.; Ostiguy, C.; Van Tra, H., Sampling and Analytical Methodology Development for the Determination of Primary and Secondary Low Molecular Weight Amines in Ambient Air. *J. Environ. Monit.* **2008**, 10(3), 379–386.

- [22] Santagati, N. A.; Bousquet, E.; Spadaro, A.; Ronsisvalle, G., Analysis of Aliphatic Amines in Air Samples by HPLC with Electrochemical Detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2002**, 29(6), 1105–1111.
- [23] Kleinman, S. L.; Peterman, M. C.; Benhabib, M.; Cheng, M. T.; Hudson, J. D.; Mohler, R. E. Rapid Quantification of 4,40 - Methyleneedianiline by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Anal. Chem.* **2017**, 89(24), 13190–13194.
- [24] Yang, L.; Yiwei, W.; Caiying, L.; Yan, Z., Determination of Aromatic Amines from Textiles Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. *J. Sep. Sci.* **2013**, 36(5), 947–952.
- [25] Cowen, W. F.; Gastinger, A. M.; Spanier, C. E.; Buckel, J. R.; Bailey, R. E., Sorption and Microbial Degradation of Toluenediamines and Methyleneedianiline in Soil Under Aerobic and Anaerobic Conditions. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, 32(5), 598–603.
- [26] Neumeister, C., National Institute for Occupational Safety and Health NIOSH Method 5029: 4, 4'-Methyleneedianiline. In NIOSH *Manual of Analytical Methods (NMAM)*, 4th ed.; National Institute for Occupational Safety and Health: Atlanta, GA, **1996**.
- [27] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, *Détermination du carbone organique total dans les solides: dosage par titrage*. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques: **2014**; Vol. Rév. 1., p 9.

- [28] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, *Détermination du pH: méthode électrométrique*. Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs du Québec: **2014**; Vol. MA. 100 – pH 1.1.
- [29] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques: Québec, **2015**; p 29.
- [30] Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, *Guide d'estimations de l'incertitude des mesures pour l'analyse chimique*. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatique: Québec, 2016; p 14.
- [31] Fontanals, N.; Marcé, R. M.; Borrull, F.; Cormack, P. A. G. Mixed-Mode Ion-Exchange Polymeric Sorbents: Dual-Phase Materials that Improve Selectivity and Capacity. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2010**, 29(7), 765–779.
- [32] Brousmiche, D. W.; O'Gara, J. E.; Walsh, D. P.; Lee, P. J.; Iraneta, P. C.; Trammell, B. C.; Xu, Y.; Mallet, C. R., Functionalization of Divinylbenzene/N-vinylpyrrolidone Copolymer Particles: Ion Exchangers for Solid Phase Extraction. *J. Chromatogr. A.* **2008**, 1191(1-2), 108–117.
- [33] WATERS Taking the complexity out of SPE method development. <http://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720005685en.pdf> (accessed August).

CHAPITRE III

DÉVELOPPEMENT D'UNE MÉTHODE D'EXTRACTION ET DE DOSAGE DU 4,4'-MÉTHYLÈNEDIANILINE DANS L'AIR

Ce chapitre répond aux exigences secondaires liées au développement d'une méthode d'extraction et de dosage de la MDA dans l'air. Selon, nos connaissances actuelles, très peu de méthodes existent pour quantifier la MDA dans l'air et encore moins en utilisant la chromatographie liquide couplée avec un spectromètre de masse en tandem. En effet, cette technique permet de déterminer la MDA à de très faible niveau dû à sa haute sensibilité. La MDA, possible cancérigène, est un des composés que peut être retrouvé en milieu de travail dû à sa haute utilisation dans l'industrie. La validation de la méthode selon le protocole décrit dans le guide de Développement, mise au point et validation d'une méthode analytique (I-G-020) de l'IRSST a permis d'obtenir une méthode robuste pour l'extraction et la quantification du MDA dans l'air. Le domaine établie de la méthode est de $3\mu\text{g}/\text{m}^3$ à $168\mu\text{g}/\text{m}^3$ soit 20% de la VEMP de $0,81\text{ mg}/\text{m}^3$. La récupération moyenne obtenue est de 98,02%. La limite de détection et de quantification sont respectivement $0,027\mu\text{g}/\text{m}^3$ et $0,089\mu\text{g}/\text{m}^3$. La valeur minimale choisie est de 0,5 ng/mL. En raison de sa faible limite de détection, la méthode est sensible et sélective pour la MDA. Cette méthode est maintenant disponible pour évaluer le niveau de MDA dans un milieu de travail.

3.1 Introduction – Mise en contexte

Le développement de la méthode d'extraction et de dosage de la MDA dans l'air a été réalisé en adaptant la méthode d'extraction et de dosage de la MDA dans les sols. En effet, en analysant le même composé, les paramètres chromatographiques et les conditions instrumentales seront similaires ou les mêmes. De plus, comme il sera expliqué dans les sections ci-dessous, le domaine linéaire analysé par la CLUP-SM-SM est le même que celui utilisé dans la méthode des sols. Par contre, le développement pour arriver au même domaine est différent et sera expliqué dans la partie sur la préparation des échantillons. La méthode d'analyse de la MDA dans les sols a été utilisée pour développer celle dans l'air. Comme expliqué ci-après, le même solvant d'élution sera utilisé.

En changeant de matrice, la réglementation, l'extraction et l'analyse de la MDA peuvent varier, mais pas les effets sur la santé. C'est pourquoi il est important d'avoir une méthode pour détecter la MDA dans l'air qui est validé.

3.1.1 Réglementation

La MDA peut être retrouvée sous forme d'aérosols ou encore de vapeurs dans les industries qui utilisent ce composé (Gunderson et Clarine, 1988). La valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP) du Québec pour la MDA est de 0,1 ppm ou de 0,81 mg/m³ (Québec, 2018). Cette valeur sert de base pour le calcul du domaine d'application de la méthode. La "Total limit value – time weight average" (TLV-TWA) de la MDA selon l'American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) est de 0,1 ppm ou de 0,81 mg/m³ (notation *skin*) (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH), 2018*) soit la même que celle du Québec.

3.1.2 Méthode actuellement utilisée pour l'analyse des amines et de la MDA dans l'air

Les amines, comme la MDA, peuvent être trouvées tant sous forme de vapeur (Parshintsev *et al.*, 2015) que d'aérosol (Huang *et al.*, 2016) dans un milieu de travail. Ce qui rend plus compliqué le prélèvement et l'analyse de ces amines. En effet, les amines peuvent être analysées par chromatographie gazeuse couplée avec un détecteur à ionisation à flamme (GC-FID) (National Institute for Occupational Safety and Health 1994) ou encore par la chromatographie liquide couplée avec la spectrométrie de masse (CL-SM/SM) (Fournier *et al.*, 2008). Les amines peuvent aussi être dérivées pour augmenter la stabilité de celles-ci (Claeson *et al.*, 2004; Fournier *et al.*, 2008; Gómez-Alonso *et al.*, 2007). Par contre, en les dérivant cela augmente le temps de préparation au laboratoire et ainsi diminue la productivité.

Une récente méthode d'analyse de la MDA dans l'air est la méthode 5029 de NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health 1996). Cette méthode détecte la MDA par HPLC avec détection UV et électrochimique.

Les prochaines sections décriront le développement d'une méthode d'extraction et de dosage de la MDA dans l'air. Ces méthodes ont été réalisées en adaptant la méthode 5029 de NIOSH ainsi que la méthode d'analyse du MDA dans les sols décrite au chapitre 2.

3.2 Matériels et méthodes

3.2.1 Produits chimiques

La 4,4'-méthylènedianiline (pureté $\geq 99,3\%$) a été achetée de Sigma-Aldrich (Milwaukee, Wisconsin, USA). Le standard interne (SI) soit la 4,4'-méthylènedianiline-2,2',6,6',N,N,N',N'-d₈ provient de C/D/N isotopes (pureté 99 %

atome, Pointe-Claire, Québec, Canada). Le méthanol (MeOH), l'eau (H₂O) (tous de grade Optima® LC/MS ainsi que l'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH; grade TraceMetal) ont été achetés de Fisher Scientific (Markham, Ontario, Canada). L'acide acétique glacial (GAA, grade HPLC) provient de J.T. Baker (Avantor Performance Materials, LLC, Center Valley, Pennsylvania, USA). L'acide sulfurique (H₂SO₄) a été acheté de J.T. Baker (Avantor Performance Materials, LLC, Center Valley, Pennsylvania, USA).

3.2.2 Instrumentations et conditions analytiques

L'appareil utilisé tout au long du projet est un CLUP système Acquity H-Class couplé à un spectromètre de masse Xevo TQD (triple quadrupôle), tous achetés de Waters (Beverly, Massachusetts, USA). Les analyses ont été faites avec une colonne Acquity UPLC BEH C₁₈ de diamètre et de longueur de (2,1 mm x 50 mm) et d'une grosseur de particule de 1,7 µm aussi acquis de Waters. De plus, une colonne de garde Vanguard™ Acquity UPLC BEH C₁₈ de diamètre et de longueur (2,1 mm x 5 mm) et de grosseur de particule de 1,7µm a été utilisée pour prolonger la durée de la conne.

Les conditions analytiques optimisées et utilisées pour la chromatographie liquide sont montrées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3.1 Paramètres CLUP utilisés

| Paramètres CLUP | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|--|----|----|-------------|----|----|----|----------|----|----|----|-----|----|----|----|---|---|----|----|---|---|----|----|-----|----|----|----|-----|----|----|----|
| débit: | 0,5 mL/min | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Volume d'injection: | 5 μ L | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Température de la colonne: | 50 °C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Température des échantillons: | 12°C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Phases mobiles: | Eau (A) 1% acide acétique dans l'eau (B) MeOH (C) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Gradient: | <table border="1"> <thead> <tr> <th>Temps (min)</th> <th>%A</th> <th>%B</th> <th>%C</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Initiale</td> <td>60</td> <td>20</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>0,4</td> <td>60</td> <td>20</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>-</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>-</td> <td>20</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>7,1</td> <td>60</td> <td>20</td> <td>20</td> </tr> <tr> <td>8,2</td> <td>60</td> <td>20</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table> | | | Temps (min) | %A | %B | %C | Initiale | 60 | 20 | 20 | 0,4 | 60 | 20 | 20 | 4 | - | 20 | 80 | 7 | - | 20 | 80 | 7,1 | 60 | 20 | 20 | 8,2 | 60 | 20 | 20 |
| Temps (min) | %A | %B | %C | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Initiale | 60 | 20 | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 0,4 | 60 | 20 | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | - | 20 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | - | 20 | 80 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7,1 | 60 | 20 | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8,2 | 60 | 20 | 20 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Une éventuelle adaptation de la méthode analytique devrait être nécessaire si l'instrumentation utilisée ne permet pas l'utilisation de trois pompes. Il suffirait de mettre de l'acide acétique dans l'eau et dans le méthanol.

La source d'électronébulisation Xevo TQD a été opérée en mode positif (ESI+). L'acquisition du signal SM a été faite en mode "*Multiple Reaction Monitoring (MRM)*". Les paramètres de source et de fragmentation ont été produits par l'infusion de chaque produit dans une solution de 100% MeOH. Aucun flux d'appoint n'a été nécessaire. De plus, il faut noter que pour le SI, il a un échange de deutérium avec les

protons de l'eau pour former la MDA-d₄. Les paramètres utilisés avec cette source sont cités dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3.2 Paramètres ESI-SM-SM

| Paramètres ESI-SM-SM | | | |
|---|-----------------------------|---------------------|--------------------------|
| Source d'ionisation | | | |
| Température de la source | 150 °C | | |
| Température de désolvatation | 500 °C | | |
| Débit du gaz de désolvatation (N ₂) | 1000 L/h | | |
| Débit du gaz du cône (N ₂) | 60 L/h | | |
| Capillarité du voltage | 0,80 kV | | |
| Paramètres MRM | | | |
| Composés | Transitions MRM (m/z) | Voltage du cône (V) | Énergie de collision (V) |
| MDA | 199,1 --> 106,0 (quant.) | 44 | 22 |
| | 199,1 --> 165 (conf.) | 48 | 26 |
| MDA-d ₄ (SI) | 203,2 --> 108,1 | 48 | 24 |

3.2.3 Préparation des filtres imprégnés

Les filtres en fibres de verre qui proviennent de Merck Millipore Ltd (Irlande) sont pré-calcinés en laboratoire. Par la suite, ces filtres sont imprégnés d'une solution d'H₂SO₄ 0,75 % V/V dans du méthanol. 600 µL de cette solution d'acide sulfurique est mis sur chacun des filtres préalablement mis sur une grille recouverte d'aluminium. Les filtres sont laissés dans un dessiccateur porte ouverte à pression

ambiante toute une nuit pour une évaporation complète du méthanol. Les filtres en fibres de verre calcinés et imprégnés à l'acide sulfurique sont par la suite conservés à 4 °C jusqu'à 6 mois.

3.2.4 Préparation de la courbe

La préparation de la courbe se fait avec un blanc de courbe ainsi que 6 solutions de la MDA de concentration allant de 10 ng/mL à 505 ng/mL (10,11 ng/mL, 40,42 ng/mL, 96,25 ng/mL, 204,52 ng/mL, 397,01 ng/mL et 505,29 ng/mL). Les solutions mères (115,81 µg/mL pour la MDA et 739,40 µg/mL pour le SI) et les solutions intermédiaires (12,03 µg/mL pour la MDA et 20,70 µg/mL pour le SI) sont faites dans du méthanol. Le solvant utilisé pour faire la courbe d'étalonnage est une solution de 5% (v/v) de NH₄OH dans du méthanol. La concentration du standard interne dans la courbe est de 414,06 ng/mL.

Par la suite, 150 µL de chacune des 7 solutions sont mis dans 2850 µL de solvant (5% (v/v) de NH₄OH dans du méthanol) préalablement mis dans un vial de 4 mL.

Le domaine de la méthode est basé sur les paramètres d'échantillonnage. Les paramètres d'échantillonnage utilisés sont le temps de prélèvement de la pompe qui est de 15 minutes et le débit de la pompe d'échantillonnage qui est de 1 L/min. Le domaine de la méthode est de 10 ng/mL à 505 ng/mL ce qui équivaut à 3 µg/m³ à 168 µg/m³. Le domaine utilisé va juste qu'à 20% de la VEMP du MDA. En raison de la sensibilité de l'appareil utilisée, les solutions de la courbe d'échantillonnage sont diluées 1 dans 20 comme mentionné plus haut. Ce qui fait un domaine pour l'appareil de 0,5 ng/mL à 25 ng/mL équivalant à un domaine de 0,17 µg/m³ à 8 µg/m³. Les résultats seront présentés en fonction de ce dernier domaine.

3.2.5 Extraction

La méthode d'extraction est principalement basée sur la méthode d'extraction 5029 de NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health 1996) qui a analysé la MDA dans l'air. Pour le protocole de validation, un filtre de fibre de verre calciné et imprégné d'acide est mis face non gaufrée vers le bas dans une jarre. 5 mL de la solution de désorption (5% (v/v) de NH_4OH dans du méthanol contenant le SI a une concentration de 414,06 ng/mL) sont ajoutés dans la jarre. Par la suite, 50 μL d'une variété de solutions sont enrichis en équilibre de phase dans la jarre. Cette étape est nécessaire seulement pour la validation de la méthode ou pour les échantillons de contrôle de qualité. Le terme en équilibre de phase signifie que la solution fortifiée de MDA est ajoutée directement dans la solution de désorption contenant le filtre et non directement sur le filtre. Les jarres sont ensuite agitées à l'aide d'un agitateur latéral de marque *Ebarbach* pendant 30 minutes puis laissé reposer pendant 30 minutes. Les extraits sont filtrés à l'aide d'une seringue et d'un filtre de 0,22 μm . Dans un vial pour injection, 50 μL de l'extrait filtré est mis dans 950 μL de solvant (5% (v/v) de NH_4OH dans du méthanol) sont mis. La solution est finalement analysée par le CLUP-SM-SM.

3.2.6 Validation de la méthode analytique

La performance analytique est évaluée par la validation de la méthode à l'aide du guide I-G-020 de l'IRSST (Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail, 2013)

Les paramètres analytiques évalués sont les mêmes que ceux cités dans la partie *Analytical performance* du chapitre 2. De plus, ces paramètres sont évalués de la même manière. Pour cette méthode, la limite de détection (LDM) et la limite de quantification (LQM) ont été calculées avec dix répliquas d'échantillons qui équivalent à 0,498 ng/mL soit la valeur minimale rapportée (VMR).

La seule composante de la validation de la méthode analytique qui a été ajoutée est l'étude de la stabilité des filtres. Cette étape a été faite par l'ajout d'une solution fortifiée (50 µL de la solution de 19,925 µg/mL de MDA) de la MDA directement sur les filtres. Ces filtres ont été conservés à -4°C pendant 4 semaines. Au jour 0, cinq filtres ont été extraits. Par la suite, chaque semaine, trois filtres ont été extraits pour étudier la stabilité du MDA sur les filtres.

L'incertitude analytique a été calculée différemment. En effet, l'incertitude analytique est le coefficient de variation analytique de la méthode (CV_a) qui est calculé avec l'étude de désorption. L'incertitude analytique est égale à la racine carrée de la somme des CV divisés par le nombre de concentrations étudiées. De plus, pour cette méthode l'incertitude totale (CV_T) et l'incertitude totale étendue ($CV_{T\text{ étendue}}$) sont calculées. L'incertitude totale est calculée par l'équation ci-dessous où CV_E équivaut à l'incertitude d'échantillonnage qui vaut 5% lorsque l'échantillonnage se fait à l'aide d'une pompe (Drolet et Beauchamp, 2012).

$$CV_T = \sqrt{(CV_E)^2 + (CV_A)^2}$$

L'incertitude totale étendue a été calculé en prenant en compte le facteur de recouvrement (k) qui est de 1,96 en assumant un nombre de degrés de liberté plus grand que 24.

$$CV_{T\text{étendue}} = \left(\sqrt{(CV_E)^2 + (CV_A)^2} \right) * k$$

3.3 Résultats et discussion

3.3.1 Chromatographie liquide et spectrométrie de masse

Pour cette étude, la MDA et le standard interne ont été ionisés avec une source d'ionisation d'électronébulisation en mode positif. Leur molécule protonée $[M+H]^+$ ainsi que leurs fragments respectifs ont été étudiés. Pour la MDA, deux transitions MRM sont utilisées, soit une pour la quantification et une pour la confirmation. Pour le standard interne, seulement une transition MRM de quantification a été choisie. Pour les mêmes raisons que pour la méthode d'extraction de MDA dans les sols, une phase mobile à pH constant a été choisie. Les solutions de la courbe d'étalonnage ainsi que les échantillons sont injectés dans l'appareil en milieu basique, donc un pH acide est nécessaire dans la phase mobile, pour avoir une meilleure protonation de la molécule.

3.3.2 Résultats de la validation

La performance analytique de la méthode a été étudiée en laboratoire par la technique de l'équilibre de phase. Aucun échantillonnage terrain n'a été effectué pour cette méthode pour en évaluer la performance et ainsi compléter la validation.

3.3.2.1 Domaine linéaire, limite de détection, limite de quantification, exactitude et incertitude

Le tableau 3.3 indique les valeurs de limite de détection, d'exactitude et d'incertitude de la méthode. Le domaine de la méthode est de 10 ng/mL à 505 ng/mL ce qui équivaut à 20% de la VEMP. Comme indiqué précédemment, en raison de la sensibilité de l'appareil le domaine est, après dilution, de 0,5 ng/mL à 25 ng/mL avec un R^2 de $\geq 0,990$. Les très basses valeurs obtenues pour la limite de détection et la limite de quantification indiquent sur la sensibilité de l'appareil. La valeur de 0,268 ng/mL obtenue découle de la limite de détection de l'appareil. C'est pour cette raison

que la valeur minimale rapportée (VMR) serait de 0,5 ng/mL ou 0,17 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ soit le plus petit point de la courbe. L'incertitude analytique est de 4,40% ce qui indique une faible erreur analytique. La justesse de la méthode est de 91% qui est calculée à l'aide d'une différente solution stock de MDA qui a suivi toute la procédure d'extraction et qui a été injecté durant chaque session d'injection.

Tableau 3.3 Paramètres de la performance de la méthode

| | | MDA |
|----------------------------|------------------------------|-------|
| LDM | (ng/mL) | 0,080 |
| | ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | 0,027 |
| LQM | (ng/mL) | 0,268 |
| | ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | 0,089 |
| Justesse (%) | | 91,0 |
| CV _a (%) | | 4,40 |
| CV _T (%) | | 6,66 |
| CV _{T étendu} (%) | | 13,06 |

3.3.2.2 Précision de la méthode

La précision de la méthode est évaluée par deux facteurs : la répétabilité et la réplicabilité. Quatre concentrations entrant dans le domaine instrumental soit 0,16 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ et 8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ont été utilisées. Dans un premier temps, la répétabilité évalue la précision de la méthode au niveau des échantillons faits et injectés sur plusieurs jours différents. Les résultats sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 3.4 Répétabilité de la méthode

| | | | | | |
|----------------------------------|------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Concentration | (ng/mL) | 2,491 | 9,962 | 19,925 | 24,906 |
| | ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | 0,83 | 3,32 | 6,64 | 8,30 |
| | | n=6 jours | n=6 jours | n=6 jours | n=6 jours |
| Moyenne | (ng/mL) | 2,215 | 8,727 | 17,594 | 22,223 |
| | ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | 0,738 | 2,909 | 5,865 | 7,408 |
| Écart-type | (ng/mL) | 0,07 | 0,41 | 0,68 | 0,83 |
| | ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | 0,02 | 0,14 | 0,23 | 0,28 |
| | %CV | 3,05% | 4,75% | 3,87% | 3,72% |
| Réplicabilité moyenne des CV (%) | | | 3,85 | | |

Une réplicabilité moyenne de 3,85% a été obtenue. Cette valeur démontre une bonne précision de la méthode. Dans un second temps, la réplicabilité a été évaluée par l'analyse de répliquas d'échantillon injecté la même journée.

Tableau 3.5 Réplicabilité de la méthode

| | | | | | |
|----------------------------------|------------------------------|--------|---------|---------|---------|
| Concentration | (ng/mL) | 2,491 | 9,962 | 19,925 | 24,906 |
| | ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | 0,83 | 3,32 | 6,64 | 8,30 |
| | | n=6 | n=6 | n=6 | n=6 |
| Moyenne | (ng/mL) | 2,162 | 8,220 | 16,168 | 20,808 |
| | ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | 720,67 | 2739,94 | 5389,33 | 6935,89 |
| Écart-type | (ng/mL) | 0,06 | 0,27 | 0,15 | 0,39 |
| | ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | 0,02 | 0,09 | 0,05 | 0,13 |
| | %CV | 2,94% | 3,23% | 0,91% | 1,86% |
| Réplicabilité moyenne des CV (%) | | | 2,23 | | |

Une réplicabilité moyenne de 2,23% est obtenue. Ceci indique une faible variation au niveau instrumentale et expérimentale, ce qui est excellent. Il est remarqué que dans les tableaux de répétabilité et de réplicabilité les valeurs moyennes obtenues sont systématiquement sous les concentrations connues, ceci pourrait être dû à la variation instrumentale et expérimentale.

3.3.3.3 Effet de la matrice

Des échantillons fortifiés en équilibre de phase en présence de filtre et sans présence de filtre ont été comparés. Ces résultats sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3.6 Effet de la matrice entre la MDA et le filtre

| | | Concentration | (ng/mL) | 0,498 | 2,491 | 9,962 | 19,925 | 24,906 |
|---|------------|----------------------|----------------------|--------|-------|--------|--------|--------|
| | | | (µg/m ³) | 0,17 | 0,83 | 3,32 | 6,64 | 8,30 |
| | | | | n=6 | n=6 | n=6 | n=6 | n=6 |
| Solution avec média collecteur | Moyenne | (ng/mL) | 0,443 | 2,162 | 8,220 | 16,168 | 20,808 | |
| | | (µg/m ³) | 0,148 | 0,721 | 2,740 | 5,389 | 6,936 | |
| | Écart-type | (ng/mL) | 0,024 | 0,063 | 0,265 | 0,147 | 0,388 | |
| | | (µg/m ³) | 0,01 | 0,02 | 0,09 | 0,05 | 0,13 | |
| | | %CV | 5,45% | 2,94% | 3,23% | 0,91% | 1,86% | |
| Solution sans média collecteur | Moyenne | (ng/mL) | 0,450 | 2,149 | 8,439 | 16,989 | 21,095 | |
| | | (µg/m ³) | 0,15 | 0,72 | 2,81 | 5,66 | 7,03 | |
| | Écart-type | (ng/mL) | 0,034 | 0,051 | 0,221 | 1,177 | 0,422 | |
| | | (µg/m ³) | 0,01 | 0,02 | 0,07 | 0,39 | 0,14 | |
| | | %CV | 7,57% | 2,39% | 2,61% | 6,93% | 2,00% | |
| Coefficient désorption/récupération (%) | | | 98,3 | 100,62 | 97,4 | 95,17 | 98,64 | |

Une récupération moyenne de $98,02 \pm 1,98\%$ a été obtenue. Une faible différence entre les concentrations avec et sans filtre a été remarquée. L'ajout d'un standard

interne dans une méthode analytique aide à minimiser l'impact de la matrice en corrigeant la variation entre les concentrations qui pourrait survenir. L'effet de matrice du filtre en contact avec la courbe d'étalonnage n'a pas été étudié, car la courbe d'étalonnage subit une dilution de 1/20 donc la matrice du filtre devrait être négligeable. De plus, les résultats montrés ci-dessus, démontrent que la matrice du filtre est négligeable par rapport aux échantillons ne contenant pas de filtre. Généralement, la courbe d'étalonnage subit les mêmes étapes d'extractions que les échantillons. Mais, dans notre cas, ceci n'est pas nécessaire puisqu'il n'y a pas une très faible différence de concentrations entre les échantillons qui contiennent un filtre et ceux qui n'en contiennent pas. Donc, la courbe d'étalonnage n'est pas en contact avec le filtre puisqu'elle n'est pas influencée de manière significative par la présence du filtre.

3.3.3.4 Interférences et effet mémoire (carry over)

Aucune interférence n'est observée dans le blanc de filtre comme il est indiqué dans la figure ci-dessous. La figure suivante représente les chromatogrammes de la MDA dans un blanc filtre avec le standard interne, dans la VMR et dans un échantillon simulé. Une trainée ("tailing") de MDA est remarquée dans l'échantillon simulé. Les paramètres UPLC de la colonne et des éluions ont été optimisés pour avoir le minimum de trainée. Les pics de la MDA et de la MDA-d₄ co-élues, mais il est facilement possible de bien les différencier avec les différentes transitions MRM qu'il est obtenu avec la spectrométrie de masse.

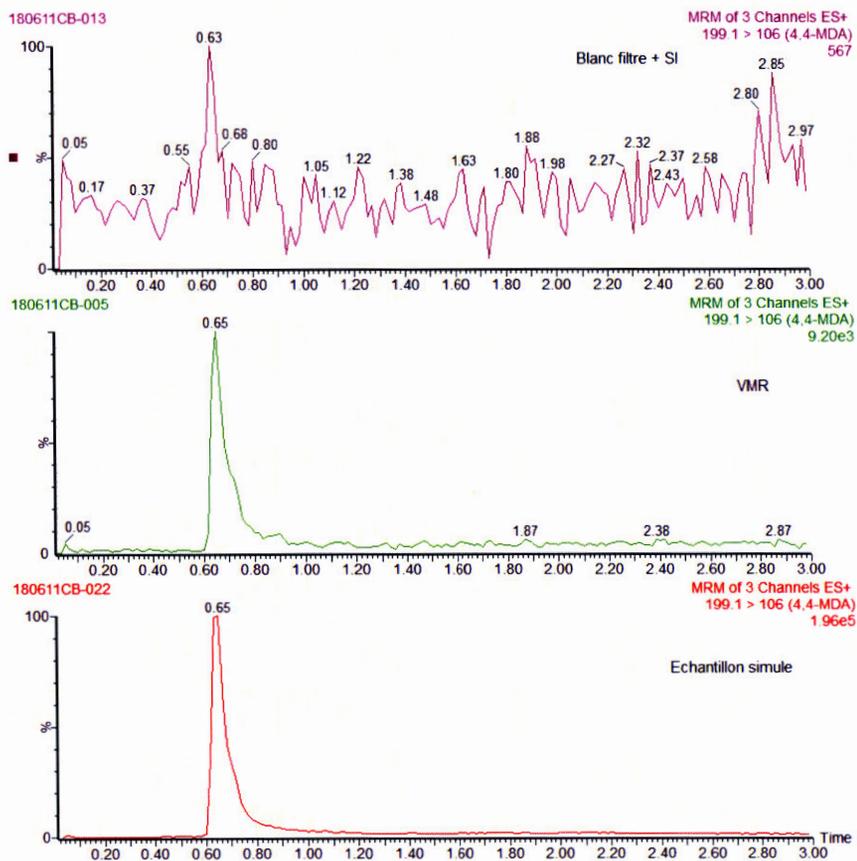


Figure 3.1 : Chromatogrammes d'ion extrait pour le blanc filtre + SI, la VMR et un échantillon simulé

Un effet mémoire est observé après l'injection d'un blanc après le plus haut point de la courbe. L'effet mémoire est d'environ 2% du plus haut point de la courbe c'est-à-dire environ 1,5 fois la VMR. Ce phénomène peut parfois provenir d'une fonction de la conception des instruments (par exemple : l'auto-injecteur). Pour contrer, l'effet mémoire un blanc est injecté après les échantillons concentrés. L'ajout du blanc après les échantillons devrait être suffisant car les échantillon anticipés ne devraient pas être très concentrés en MDA.

3.3.3.5 Stabilité du filtre

La stabilité du MDA durant 4 semaines sur un filtre gardé à 4°C a été étudiée. Comme il est remarqué sur la figure ci-dessous, la MDA est stable sur plusieurs jours.

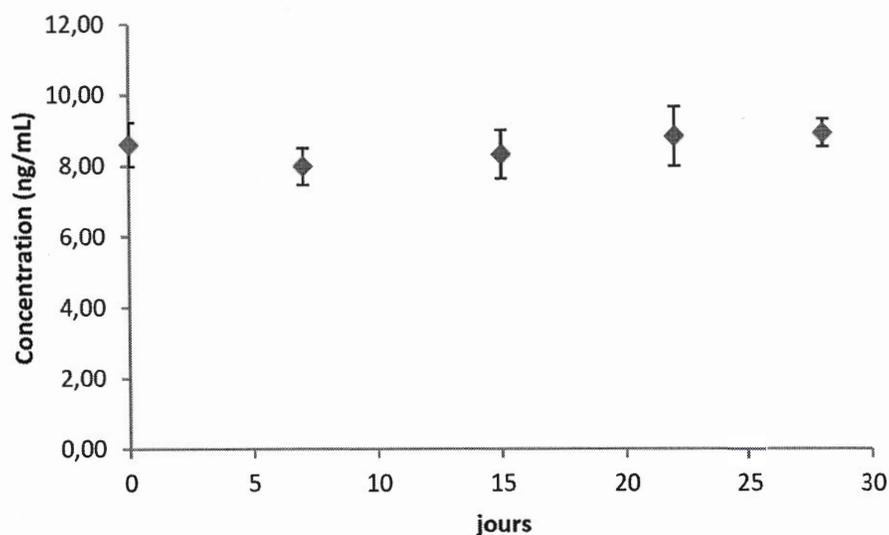


Figure 3.2 Stabilité du MDA sur un filtre

Très peu de variation est remarquée. En effet, la concentration cible visée est de 9,96 ng/mL. Donc, les échantillons reçus au laboratoire n'ont pas besoin d'être extraits dans les premiers jours suivant l'échantillonnage.

3.4 Conclusion

La méthode d'extraction et de quantification de la MDA dans l'air développé est robuste dues aux nombreux paramètres validés. Le domaine de la méthode a été déterminé en utilisant un débit et un temps d'échantillonnage fixe. Il est de $3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ à $168 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Le plus haut point équivaut à 20% de la VEMP. La méthode est très sensible en raison de l'instrument utilisé soit la chromatographie liquide couplée par

un spectromètre de masse en tandem. Les paramètres chromatographiques utilisés sont les mêmes que la méthode de quantification de la MDA dans les sols ainsi deux méthodes pourraient être analysé à la suite de l'autre.

CHAPITRE IV

PERSPECTIVES

Pour la méthode d'extraction et de dosage de la MDA dans les sols, plusieurs voies sont encore à explorer. En effet, l'utilisation de sol ayant une composante plus organique devrait être étudiée. Les composantes organiques pourraient potentiellement jouer un rôle sur la récupération de la MDA en se liant à celle-ci. La stabilité de la MDA dans les sols serait aussi à observer, afin de s'assurer d'éventuelle dégradation du produit lors du transport de la MDA pour être quantifiée. De plus, il serait intéressant d'étudier les réactions qui pourraient être produites entre la MDA et différentes composantes des sols quand ceux-ci sont contaminés par une source quelconque.

Pour la méthode d'extraction et de dosage dans l'air, il serait judicieux d'aller tester la méthode sur le terrain pour étudier l'efficacité de la méthode et ainsi compléter la validation de la méthode. En effet, aucun échantillonnage terrain n'a été effectué pour cette méthode jusqu'à maintenant.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La grande utilisation des amines telle la MDA dans l'industrie est une préoccupation en raison des effets nocifs que peut procurer les amines sur la santé humaine. La MDA est reconnue comme un produit possiblement cancérigène, en raison de la cancérogénicité de la MDA chez le rat. Ce composé peut être absorbé par les trois voies, mais principalement par la voie cutanée. C'est pourquoi il est essentiel d'avoir une méthode d'extraction et de quantification de ce composé dans différentes matrices.

L'objectif principal de cette étude était de développer une méthode d'extraction et de dosage du 4,4'-méthylènedianiline dans les sols et dans l'air. L'objectif a été atteint pour ces deux différentes matrices.

La méthode d'extraction et de quantification de la MDA dans les sols permet d'avoir une méthode sensible, sélective et précise au niveau environnemental. La MDA peut être retrouvé dans le polyuréthane à base de MDI. Ce dernier est retrouvé comme liant d'agrégat ou encore sous forme d'encapsulant. En effet, cette méthode permet de quantifier la MDA à de faible concentration. Le domaine de celle-ci est de 5 µg/kg à 250 µg/kg. La méthode d'extraction utilise une extraction en phase solide avec plusieurs cycles de lavages qui permettent la diminution de l'effet de matrice et ainsi une meilleure sensibilité et moins de contaminations. La récupération moyenne obtenue est de 101,11%. L'ajout d'un standard interne aide à corriger les pertes qui pourraient survenir lors de l'extraction et les différences de sensibilité instrumental qui pourraient survenir. Différentes matrices devraient être étudiées pour évaluer la

performance de la méthode. En effet, différents pourcentages d'organiques dans le sol pourrait potentiellement affecté la MDA.

La seconde partie de cette recherche était de développer une méthode d'extraction et de quantification de la MDA dans l'air. Cette méthode permet de quantifier la MDA dans l'air des milieux de travail qui utilisent la MDA comme composé dans leur produit de fabrication. En effet, la MDA peut être retrouvée comme produit intermédiaire dans la fabrication d'époxy ou encore de plastique. L'utilisation de la spectrométrie de masse permet de quantifier la MDA à de très bas niveau. Cette méthode a un domaine de $3\mu\text{g}/\text{m}^3$ à $168\mu\text{g}/\text{m}^3$ pour un volume de désorption et un volume d'air échantillonné donnés. La VMR est de $0,17\mu\text{g}/\text{m}^3$ soit de 0,02% de la VEMP, ce qui est très bas. Cette nouvelle méthode d'extraction et de quantification de la MDA pourrait être utilisée dans différents milieux de travail qui permettrait éventuellement d'étudier l'exposition des travailleurs à la MDA.

Les deux méthodes développées comportent ces avantages. En effet, selon nos connaissances actuelles aucune méthode n'a été développée pour la quantification spécifique de la MDA dans les sols. La technique d'extraction en phase solide utilisée pour l'extraction des sols est rapide. Cette méthode offre la possibilité de faire des nombreux lavages de la matrice et ainsi diminuer son effet sur les résultats. Tandis que la méthode d'analyse de la MDA dans l'air est plus sensible que les précédentes études qui ont été faites en raison de l'instrumentation. De plus, ces deux méthodes sont relativement très peu coûteuses et utilisent des produits moins néfastes pour la santé telles que le méthanol, pour le protocole d'extraction.

RÉFÉRENCES

- Allport, D.C., Gilbert, D.S. et Outterside, S.M. (2003). *MDI and TDI: safety, health and the environment: a source book and practical guide*. England : John Wiley & Sons.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). (2018). *Threshold Limit Values of Chemical Substance and Physical Agents and Biological Exposure Indices*. Cincinnati, OH : ACGIH.
- Brede, C., Skjevrak, I. et Herikstad, H. (2003). Determination of primary aromatic amines in water food simulant using solid-phase analytical derivatization followed by gas chromatography coupled with mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 983(1), 35-42. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)01652-7](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01652-7)
- Brunet, C., Aubin, S., Gagné, S., West, R. et Lesage, J. (2019). Development of a method for extraction and determination of 4,4'-methylenedianiline in soils by solid-phase extraction and UPLC-MS-MS. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 1-8. doi: 10.1080/10826076.2018.1539673
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. (2010). *Modes de conservation des échantillons relatifs à l'application du Règlement sur l'exploitations agricoles*. Québec : Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec.
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. (2015). *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*. Québec : Ministère du

Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques.

- Claeson, A.S., Östin, A. et Sunesson, A.L. (2004). Development of a LC-MS/MS method for the analysis of volatile primary and secondary amines as NIT (naphthylisothiocyanate) derivatives. [Article]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378(4), 932-939. doi: 10.1007/s00216-003-2205-6
- Cocker, J., Nutley, B.P. et Wilson, H.K. (1994). A biological monitoring assessment of exposure to methylene dianiline in manufacturers and users. [Article]. *Occupational and Environmental Medicine*, 51(8), 519-522. doi: 10.1136/oem.51.8.519
- Dalene, M., Jakobsson, K., Rannug, A., Skarping, G. et Hagmar, L. (1996). MDA in plasma as a biomarker of exposure to pyrolysed MDI-based polyurethane: Correlations with estimated cumulative dose and genotype for N-acetylation. [Article]. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 68(3), 165-169. doi: 10.1007/BF00381626
- Dalene, M., Skarping, G. et Brunmark, P. (1995). Assessment of occupational exposure to 4,4' -methylenedianiline by the analysis of urine and blood samples. [Review]. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 67(2), 67-72. doi: 10.1007/BF00572228
- Degli-Innocenti, F., Bellia, G., Tosin, M., Kapanen, A. et Itävaara, M. (2001). Detection of toxicity released by biodegradable plastics after composting in activated vermiculite. [Article]. *Polymer Degradation and Stability*, 73(1), 101-106. doi: 10.1016/S0141-3910(01)00075-1 S
- Drolet, D. et Beauchamp, G. (2012). *Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail*. (T-06) (8e édition, version 8.1 éd.). Montréal (Qc) : Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail. Récupéré de <http://www.irsst.qc.ca/media/documents/PubIRSST/T-06.pdf>

- Fekete, A., Malik, A.K., Kumar, A. et Schmitt-Kopplin, P. (2010). Amines in the environment. [Review]. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 40(2), 102-121. doi: 10.1080/10408340903517495
- Fournier, M., Lesage, J., Ostiguy, C. et Van Tra, H. (2008). Sampling and analytical methodology development for the determination of primary and secondary low molecular weight amines in ambient air. *J Environ Monit*, 10(3), 379-386. doi: 10.1039/b719091n
- Gómez-Alonso, S., Hermosín-Gutiérrez, I. et García-Romero, E. (2007). Simultaneous HPLC analysis of biogenic amines, amino acids, and ammonium ion as aminoenone derivatives in wine and beer samples. [Article]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 608-613. doi: 10.1021/jf062820m S
- Gunderson, E.C. et Clarine, C. (1988). A Sampling and Analytical Method for Airborne m-Phenylenediamine (MPDA) and 4,4'-Methylenedianiline (MDA). [Article]. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 49(10), 531-538. doi: 10.1080/15298668891380178
- Haseman, J.K., Huff, J.E., Zeiger, E. et McConnell, E.E. (1987). Comparative results of 327 chemical carcinogenicity studies. [Article]. *Environmental Health Perspectives*, 74, 229-235. doi: 10.1289/ehp.8774229 Scopus.
- Huang, X., Deng, C., Zhuang, G., Lin, J. et Xiao, M. (2016). Quantitative analysis of aliphatic amines in urban aerosols based on online derivatization and high performance liquid chromatography. [Article]. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 18(7), 796-801. doi: 10.1039/c6em00197a Scopus.
- Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail. (2013, Février 2013). *Développement, mise au point et validation d'une méthode analytique*. (I-G-020)(version 6 (documentation interne)).

- International Agency for research on cancer. (1986). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of the chemicals to human, Some Chemicals Used Plastics and Elastomers*. (Vol. 39). Lyon : International Agency for Research on Cancer (IARC).
- Kennedy, E.R., Fischbach, T.J., Song, R., Eller, P.M. et Shulman, S.A. (1995). *Guidelines for Air Sampling and Analytical Method Development and Evaluation*. : U.S. Department of Health and Human Services.
- Lauwerys, R.R. (2007). *Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles*. (5e éd.). Issy-les-moulineaux, France : Elsevier Masson.
- Li, J. et Zhu, M. (2018). Separation and determination of polyurethane amine catalysts in polyether polyols by using UHPLC-Q-TOF-MS on a reversed-phase/cation-exchange mixed-mode column. [Article]. *Journal of Separation Science*, 41(4), 831-838. doi: 10.1002/jssc.201700980
- Marand, A., Karlsson, D., Dalene, M. et Skarping, G. (2004a). Determination of amines as pentafluoropropionic acid anhydride derivatives in biological samples using liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Analyst*, 129(6), 522-528. doi: 10.1039/b403439b
- Marand, A., Karlsson, D., Dalene, M. et Skarping, G. (2004b). Extractable organic compounds in polyurethane foam with special reference to aromatic amines and derivatives thereof. [Article]. *Analytica Chimica Acta*, 510(1), 109-119. doi: 10.1016/j.aca.2003.12.063
- Mei, C.-F., Liu, Y.-Z., Long, W.-N., Sun, G.-P., Zeng, G.-Q., Xu, M.-Y. et Luan, T.-G. (2015). A comparative study of biodegradability of a carcinogenic aromatic amine (4,4' -Diaminodiphenylmethane) with OECD 301 test methods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 111, 123-130. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.10.008>

- Ministère du développement durable de l'environnement et des parcs du Québec. (2008). *Guide d'échantillonnage à des fins d'analyse environnementales: Cahier 5 - Échantillonnage des sols*. (courante éd.). Québec : Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec.
- Moore, W.M. (1978). Methylenedianiline. Dans Mark, H. F., Othmer, D. F., Overberger, C. G. et Seaborg, G. T. (dir.), *Kirk-Othmer Encyclopedia of chemical technology* (3rd éd., Vol. 2, p. 338-348). New York : John Wiley & Sons.
- National Institute for Occupational Saety and Healt (1994). Amines, Aromatic : method 2002. Dans *NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM)* (4 éd.). Washington.
- National Institute for Occupational Safety and Healt (1996). NIOSH Method 5029: 4, 4'-Methylenedianiline. Dans *NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM)*, (4th éd.).
- OSHA. (2003). *Evaluation Guidelines for Air Sampling Methods utilizing chromatographic analysis*. (T-005).
- Parshintsev, J., Rönkkö, T., Helin, A., Hartonen, K. et Riekkola, M.L. (2015). Determination of atmospheric amines by on-fiber derivatization solid-phase microextraction with 2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl chloroformate and 9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride. [Article]. *Journal of Chromatography A*, 1376, 46-52. doi: 10.1016/j.chroma.2014.12.040
- Puscasu, S., Aubin, S., Van Tra, H. et Gagné, S. (2014). Adaptation of CIP10 for the sampling of 4,4' -methylene diphenyl diisocyanate aerosols. *Analytical Methods*, 6(4), 1101. doi: 10.1039/c3ay41679h

Québec. (2018). Règlement sur la santé et la sécurité du travail (RSST). Dans *lois sur la santé et la sécurité du travail* (p. 270) : Éditeur officiel du Québec.

Reddy-Noone, K., Jain, A. et Verma, K.K. (2007). Liquid-phase microextraction and GC for the determination of primary, secondary and tertiary aromatic amines as their iodo-derivatives.. *Talanta*, 73(4), 684-691. doi:10.1016/j.talanta.2007.04.043

Shintani, H. (1995). Formation and Elution of Toxic Compounds from Sterilized Medical Products: Methylenedianiline Formation in Polyurethane. [Article]. *Journal of Biomaterials Applications*, 10(1), 23-58. doi: 10.1177/088532829501000102