

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

DÉVELOPPEMENT DES PARAMÈTRES DE CONSERVATION ET  
D'EXTRACTION DES ÉCHANTILLONS DE SOL CONTENANT DU 4,4'-  
MÉTHYLÈNEDIANILINE

MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
À LA MAITRISE EN CHIMIE

PAR  
AUDREY CORALIE JOLY

JUIN 2021

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 à l'Université du Québec à Montréal, Jacques Lesage, pour m'avoir fait confiance et laissé la chance de prendre part à ce projet. Également pour m'avoir guidé pendant toutes les étapes du projet grâce à son expertise. Je remercie également pour son aide mon co-directeur, le professeur David Dewez à l'université du Québec à Montréal.

Mes remerciements s'adressent ensuite à Marielle Carrier et Lucille Richard, techniciennes de l'IRSST, qui m'ont grandement aidé lors des nombreux obstacles que j'ai pu rencontré de l'optimisation à la validation de la méthode d'analyse. Je remercie également Martin Beauparlant, directeur des laboratoires de l'IRSST, pour m'avoir autorisé l'accès aux instruments qualifiés. Je remercie aussi, Sébastien Gagné, Simon Aubin et Pierre-Luc Cloutier, professionnels scientifiques de l'IRSST, pour m'avoir consacré du temps à discuter de mon projet en partageant leurs expériences.

Mes remerciements se poursuivent envers *International Isocyanates Institute, Inc (III)*, pour le financement du projet et les réunions de progressions, et également des remerciements envers Robert West pour les corrections grammaticales en anglais de l'article.

Mes remerciements se concluent alors avec les membres de ma famille et mes amis, tout particulièrement Marie-Carmel, Thomas, Kevin, Jean-Claude qui ont tout fait pour m'aider à traverser ces deux dernières années grâce à leurs nombreux encouragements et leurs soutiens.

## DÉDICACE

À mon frère Thomas,

## TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES .....	x
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS .....	xii
RÉSUMÉ.....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
CHAPITRE I introduction .....	2
1.1 Les isocyanates.....	2
1.1.1 Leur fabrication .....	3
1.1.2 Leur toxicité.....	4
1.2 Les mousses de polyuréthane .....	5
1.3 Le MDA.....	6
1.3.1 Le MDA et le sol .....	8
1.3.2 La disponibilité du MDA et le sol .....	9
1.3.3 La toxicité du MDA.....	12
1.3.4 Les méthodes d'analyses disponibles et leurs limites .....	13
1.4 Développement et validation de méthodes analytiques.....	14
1.4.1 Établir un historique .....	14
1.4.2 Échantillonnage des sols.....	14
1.4.3 Extraction sur phase solide (SPE) .....	16
1.4.4 UPLC-MS/MS .....	16
1.4.5 Validation de méthodes .....	19
1.5 Objectifs .....	21

CHAPITRE II ARTICLE SCIENTIFIQUE : DEVELOPMENT OF A METHOD FOR PRESERVATION, EXTRACTION, AND QUANTIFICATION OF 4,4'-METHYLENEDIANILINE (MDA) IN SOIL OF VARIED TEXTURE AND ORGANIC MATTER CONTENT .....	22
2.1 Abstract.....	23
2.2 Introduction .....	23
2.3 Materials and methods.....	27
2.3.1 Chemicals .....	27
2.3.2 Soils and impregnation procedure .....	27
2.3.3 Calibration curve .....	28
2.3.4 UPLC/MS/MS parameters.....	28
2.3.5 Sample extraction .....	29
2.3.6 Analytical performance .....	30
2.4 Results and discussion.....	30
2.4.1 Test of stability .....	30
2.4.2 Impregnation.....	32
2.4.3 Analytical performance .....	34
2.4.3.1 Retention time .....	34
2.4.3.2 Crosstalk.....	34
2.4.3.3 Carry-over .....	35
2.4.3.4 Dynamic range, LOD and LOQ.....	35
2.4.3.5 Matrix effect.....	35
2.4.3.6 Accuracy and precision .....	36
2.4.4 Preservation techniques .....	37
2.5 Conclusion.....	42
2.6 Acknowledgements .....	42
2.7 References .....	43
CHAPITRE III DISCUSSION.....	47
3.1 Méthode d'imprégnation du MDA dans le sol.....	47
3.2 Choix du standard interne et du surrogate.....	48
3.3 Étude cinétique de la baisse de concentration de MDA dans les sols.....	48
3.4 Influence de la concentration des métaux du sol sur la rétention de MDA.....	52
CONCLUSION.....	60

BIBLIOGRAPHIE ..... 62

## LISTE DES FIGURES

Figure	Page
1.1 Figure de résonance des fonctions isocyanates .....	3
1.2 Formation de fonction isocyanate par réaction entre une fonction amine et un phosgène. ....	4
1.3 Réaction entre une fonction isocyanate et un polyol.....	6
1.4 Structures chimiques du 4,4'-MDI et du 4,4'-MDA .....	7
1.5 Schéma d'une source d'ionisation électrospray (ESI).....	19
2.1 Evolution of 4,4'-MDA spiked by phase equilibrium in extraction solution in contact with soil for 0, 7, 14 and 21 days.....	31
2.2 Chromatograms of the SS (MDA-d4), the IS (MDA- <sup>13</sup> C <sup>15</sup> N <sub>2</sub> ) and the analyte (MDA) from the standard at 25 ng/mL.....	39
2.3 Comparison of two types of soil preservation with a) soil 2.45%, b) soil 5%, c) soil 10% of organic compound for 14 days.....	41

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
1.1 Type de mousses de polyuréthane utilisées et leurs applications .....	10
1.2 Concentrations et coefficients de variation de MDA récupérés dans chaque type de mousse de PU après 1, 2 ou 3 extractions successives avec (n=4) pour PU A, B, D et E et (n=6) pour PU C .....	11
1.3 Concentrations moyennes et coefficients de variation (n=3) de MDA extraits dans un mélange de PU A et C, avec et sans chauffage ainsi qu'en présence de sol ou non.....	12
2.1 UPLC gradient for the 4,4'-MDA, the internal standard and the surrogate analysis .....	33
2.2 Residual concentration of 4,4'-MDA after about 78 days of impregnation	33
2.3 Parameters of the validation method for the MDA in soil.....	37
3.1 Extraction d'un sol sec, d'un sol sec + eau et d'un sol sec + eau + sulfate de sodium à l'aide du sol B prélevé en 2019 .....	49
3.2 Quantité de MDA extraite dans 1g de sol en contact avec différents volume d'eau .....	50
3.3 Diminution de la concentration de MDA dans un sol imprégné en contact avec 500 µL d'eau et sécher 36 jours dans l'étuve ou au réfrigérateur .....	51
3.4 Concentrations de métaux dans le sol naturel A collecté à l'été 2017 .....	54

3.5	Concentrations de métaux dans le sol naturel B imprégné et non imprégné collectés à l'été 2017 et 2019.....	54
3.6	Les m/z des ions observées avec le TOF-MS pour trois échantillons de sol en contact avec des volumes d'eau différents.....	56
3.7	Les m/z des ions observés avec le TOF-MS pour les deux premiers répliqués du Jour 0 de l'étude de cinétique.....	58

## LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

UQAM	Université du Québec À Montréal
PU	Polyuréthane
IRSST	Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail
(Boc) <sub>2</sub> O	Di-tert-butyl-dicarbonat
BF <sub>3</sub>	Trifluorure de bore
SOCl <sub>2</sub>	Chlorure de thionyle
PCl <sub>3</sub>	Trichlorure de phosphore
MDI	4,4'-diphénylméthane diisocyanate
pMDI	Diphénylméthane diisocyanate polymérique
MDA	4,4'-méthylènedianiline
VEMP	Valeur d'exposition moyenne pondérée
DL50	Dose létale médiane
SPE	Solid Phase Extraction
UPLC	Ultra high Pressure Liquid Chromatography
MS	Mass Spectrometry

TDI	Toluène diisocyanate
HDI	Hexaméthylène diisocyanate
OSB	Oriented strand board
DBA	Di-n-butylamine
DAN	1,8-diaminonaphtalene
MOPIP	1-(2-méthoxyphényl)pipérazine
MAMA	9-(N-méthylaminométhyl)-anthracène
ESI	Electrospray ionisation
TOF	Time of flight
ICP-OES	Inductively coupled plasma – optical emission spectrometry
MRM	Multiple reaction monitoring
SEA	Spectroscopie d'émission atomique
SAA	Spectroscopie d'absorption atomique
MCX	Mixed-mode cation exchange

## LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

ppb	partie par millions
mL	millilitre
L	litre
kg	kilogramme
ug	microgramme
ng	nanogramme
°C	degré celsius
Da	dalton
%	pourcent
m/z	masse sur charge
lb	livres
ft <sup>3</sup>	pieds cube

## RÉSUMÉ

Afin d'évaluer la quantité de Méthylènedianiline (MDA) qui peut se retrouver dans des sols, des méthodes de conservation, d'extraction et de quantification ont été développées et optimisées. Le MDA est l'un des amines précurseurs à la fabrication de Diphénylméthane diisocyanate (MDI). Cependant les fonctions isocyanates qui constituent ce dernier, sont très réactives. Par conséquent leur hydrolyse, ou photolyse, peut recréer du MDA. Si l'on considère alors qu'un certain nombre d'engrais utilisés en agriculture sont recouverts de mousse de polyuréthane à base de MDI, alors la possibilité de retrouver du MDA dans le sol devient probable. Ainsi, la quantité de MDA retenue par le sol dépendrait de la composition du sol lui-même (matière organique, humidité, saisons, etc.). Bien que le MDA soit facilement biodégradable, photolysable et réactif avec la matière organique naturelle du sol, il peut être intéressant de mener des études de surveillance pour détecter la présence de la substance dans l'environnement. La mise au point d'une méthode d'imprégnation pour laquelle le MDA pourrait être uniformément distribué dans un échantillon de sol où les réactions de dégradation se produisent ont fait partie intégrante de cet effort de développement. L'imprégnation du sol, la stabilisation, l'extraction et la quantification du MDA dans le sol ont été validées à l'aide d'échantillons de sol de 1g allant de 2.4 % à 10 % de matière organique. La stabilité du MDA dans les sols imprégnés a été évaluée sur une période de 78 jours avec la méthode Brunet et al. (2018) qui a été améliorée pour utiliser à la fois un standard interne et un étalon de recouvrement. Ce dernier corrigerait alors les pertes d'analyte qui peuvent survenir lors de la collecte, la stabilisation, la conservation, l'extraction et l'analyse des échantillons de sols. La LOD et la LOQ pour la détermination du MDA dans le sol sont de 0,107 et 0,358 µg/kg (poids sec) respectivement, avec un domaine dynamique allant de 5 à 250 µg/kg. Pour la réplicabilité, le résultat était de 4,28% et pour la répétabilité, il était de 9,32%. La précision était de 96,4% et la récupération totale était de 82,02%. La stabilité du MDA a été démontrée dans des échantillons de sol sec ou dans des échantillons complètement immergés dans du méthanol pour une période de 14 jours. Ainsi, malgré la réactivité et la dégradabilité du MDA dans le sol, des échantillons pourraient être prélevés sur le terrain pour être expédiés à des laboratoires éloignés pour l'extraction et l'analyse.

Mots-clés : étalon de recouvrement, MDA, standard interne, MDI, imprégnation, conservation, UPLC-MS/MS

## ABSTRACT

In order to assess the amount of Methylenedianiline MDA that can be found in soils, conservation, extraction and quantification methods have been developed and optimized. MDA is one of the precursor amines in the manufacture of Diphenylmethane diisocyanate MDI. However, the isocyanate functions which constitute the latter are very reactive. Consequently their hydrolysis, or photolysis, would make it possible to recreate MDA. Considering then that a number of fertilizers used in agriculture are coated with MDI-based polyurethane foam, then the possibility of finding MDA in the soil would be likely. Thus, the amount of MDA retained by the soil would depend on the composition of the soil itself (organic matter, humidity, seasons, etc.). Although MDA is readily biodegradable, photolyzable, and reactive with natural organic matter in the soil, it may be of interest to conduct monitoring studies to survey for the presence of this substance in the environment. Integral to this development effort was the development of a soil impregnation method by which MDA could be uniformly distributed within a soil sample where these degradation reactions are expected to occur. The soil impregnation, stabilization, extraction, and quantitation of MDA in soil were validated using 1g soil samples ranging from 2.4% to 10% wt. in organic matter. The stability of MDA in impregnated soils was analyzed over 78 days with the method of Brunet et al. which has been improved to use both internal and additional surrogate standards and which was shown to correct for any losses of the substance which may occur during the collection, stabilization, holding, extraction, and analysis of the soil samples. The LOD and LOQ values for the determination of 4,4'-MDA in soil are 0.107 and 0.358  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (dry wt.), respectively, with a dynamic range between 5 and 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . For the intra-day precision, the result was 4,28% and for the inter-day, it was 9,32%. The accuracy was 96,4% and the total recovery obtained was 82.02%. The stability of MDA was demonstrated in dry soil samples or in samples completely immersed in methanol over a 14-day period. Thus, despite the reactivity and degradability of MDA in soil, samples could be collected and preserved in the field for shipment to distant laboratories for extraction and analysis.

Keywords : surrogate, MDA, internal standard, MDI, impregnation, preservation, UPLC-MS/MS.



## CHAPITRE I

### INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, les sujets de recherche en chimie qui traitent de l'environnement sont de plus en plus nombreux. Dans ce chapitre, il est donc question de mettre l'emphasis sur la théorie des étapes d'un développement analytique qui permet de connaître les quantités exactes de contaminant pouvant se retrouver dans une matrice environnementale.

#### 1.1 Les isocyanates

Les isocyanates sont des molécules avec une ou des fonctions (-N=C=O) qui sont très réactives avec des composants ayant des fonctions alcools, amines, phénols, etc (Figure 1.1). Il est possible de les regrouper à la fois selon le nombre de fonction isocyanate présentes, soit les mono-, les di- ou les polyisocyanates. Mais il est également possible de les regrouper selon leurs structures, soit aliphatiques, acycliques ou aromatiques. Chacun ayant donc des utilisations distinctes. Par exemple, parmi les monoisocyanates, le méthylisocyanate peut à la fois servir d'intermédiaire de réaction dans la production d'insecticides et à la fois se trouver comme produit de dégradation dans la fumée de certaines marque de cigarettes (California Office Of Environmental Health and Hazard Assessment (OEHHA), 2001). Pour les diisocyanates, on retrouve le diisocyanate de diméthylméthane (MDI), le diisocyanate de toluène (TDI). Ces derniers sont davantage utilisés pour les mousses utilisées en mobilier ou alors les mousses d'isolation de bâtiment (Roberge *et al.*, 2013). En dernier lieu, comme

exemple pour les polyisocyanates il y a le hexaméthylène diisocyanate (HDI) isocyanurate qui est utilisé comme revêtements de peinture pour les voitures (Wang *et al.*, 2015).



Fig1.1 Figure de résonance des fonctions isocyanates.

### 1.1.1 Leur fabrication

Il existe différentes méthodes de fabrication d'isocyanates mais la plupart sont destinées aux monos isocyanates. Il s'agirait de combiner une fonction amine avec un Dicarbonate de di-tert-butyle  $(\text{Boc})_2\text{O}$  (Knölker *et al.*, 1995) ou une fonction urée avec du trichlorure de phosphore  $\text{PCl}_3$  ou du chlorure de thionyle  $\text{SOCl}_2$  ou trifluorure de bore  $\text{BF}_3$  (Ulrich et Sayigh, 1966). Cependant la méthode la plus répandue pour les di et poly isocyanates, serait alors la réaction qui induirait des fonctions amines avec le phosgène (Figure 1.2). Encore une fois, les différentes réactions pouvant avoir lieu vont permettre de distinguer les différents isomères. Par exemple, pour le MDI, il y a le 2,2'-MDI, le 2,4'-MDI et le 4,4'-MDI. Ce dernier est cependant le plus utilisé et la version commerciale en comporte près de 50 % (CNESST, 2002).

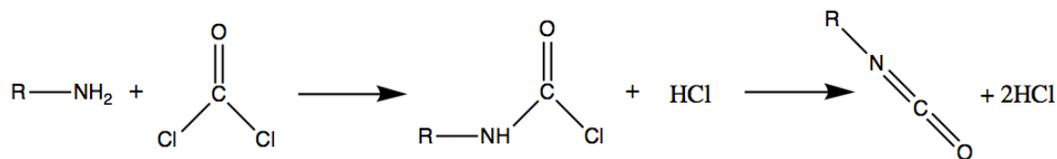


Fig1.2 Formation de fonction isocyanate par réaction entre une fonction amine et un phosgène.

### 1.1.2 Leur toxicité

Malgré une forte utilisation, les isocyanates n'en demeurent pas moins dangereux. Ainsi, le gouvernement canadien a fixé une VEMP à 5 ppb pour le monomère de MDI par exemple (Roberge *et al.*, 2013). Cette limite est très représentative de l'effet toxique du MDI car certains dommages sont le plus souvent irréversibles. Le MDI peut entraîner des problèmes cutanés, respiratoires, de vision, voir même des cancers.

Le problème de santé le plus courant avec les isocyanates est d'ordre respiratoire. La maladie la plus courante est l'"asthme professionnel". Son appellation vient du fait que ce sont les travailleurs exposés lors de l'utilisation accrue ou lors de l'application qui en sont le plus touchés. En raison de sa faible volatilité, le MDI est très présent sous forme particulaire. L'inhalation de ces dernières vont donc amorcer l'étape d'induction, c'est à dire, une phase d'exposition asymptotique. Lors d'une nouvelle exposition des symptômes vont donc apparaître et laisser place à la phase de latence. En dernier lieu il y a la phase de la symptomatologie asthmatique où le travailleur est diagnostiqué à cause de l'aggravation de ses symptômes (Castranova *et al.*, 2002; Roberge *et al.*, 2013). Pour certaines personnes, il est même possible de développer la maladie sans la phase de latence et pour d'autre de même y laisser leurs vies (Maghni *et al.*, 2015).

Le MDI arrivé dans le corps peut alors être métabolisé. Par exemple lorsqu'un travailleur y est exposé, la détection de l'amine correspondant au MDI, le MDA, peut être quantifié dans l'urine (Lépine *et al.*, 2020).

Comme il s'agit d'un irritant, par contact cutané, il peut irriter la peau, les yeux et par ingestion il peut induire des problèmes de transit intestinal (Cocker, 2007).

Cependant il a été démontré qu'une exposition à forte dose au pMDI, pouvait entraîner l'apparition de cancer au niveau du système respiratoire chez le rat (Reuzel *et al.*, 1994). Pour toutes les raisons citées ci-dessus, il est important de posséder les équipements adéquats lors de manipulation d'isocyanates en milieu de travail (Lara et Vennes, 2002).

## 1.2 Les mousses de polyuréthane

Les diisocyanates sont les isocyanates qui seront étudiés dans ce mémoire. Depuis plusieurs années, ceux-ci sont de plus en plus utilisés pour la création des mousses de polyuréthane, des adhésifs, des colles, etc. La colle de MDI, qui sert de liant pour la fabrication de panneaux de copeaux de bois orientés (OSB) qui sont utilisés en construction. La pulvérisation de mousse isolante à base de MDI, par exemple, sert elle aussi à l'isolation dans le domaine du bâtiment. Les mousses de MDI et TDI sont très utilisées pour les mobiliers, c'est à dire, matelas, oreillers, canapés, etc. (Roberge *et al.*, 2013). De faibles quantités sont également utiles à la fabrication de semelles de chaussures (Tillotson *et al.*, 2019) et de montres de sports (Elliott *et al.*, 2018). En dernier lieu, ici, l'utilisation de revêtement de fertilisant à base de MDI en agriculture pour le contrôle de la distribution dans le sol (WIPO, 2015). Pour la création de ces différentes mousses, les diisocyanates doivent réagir avec des polyols.

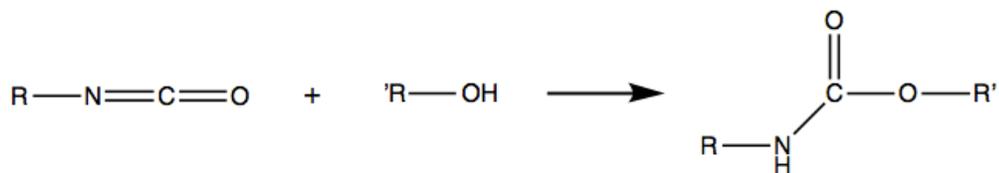


Fig1.3 Réaction entre une fonction isocyanate et un polyol.

Les différentes synthèses peuvent induire des catégories de mousses différentes. En effet des petits polyols vont permettre la fabrication de mousses de polyuréthane rigides comme celles utilisées en isolation. À contrario, les mousses de polyuréthane flexibles telles que celles des matelas sont fabriquées avec des grands polyols (Figure 1.3). De plus, au niveau des isocyanates choisis, s'il s'agit d'un monomère, d'oligomère ou bien d'un mélange il sera alors possible d'obtenir des propriétés uniques (Roberge *et al.*, 2013).

L'évaluation de l'exposition des isocyanates dans l'air des milieux de travail est très importante et complexe. Malgré leur polymérisation les fonctions -NCO restent réactives et pour la quantification de ces dernières, il est donc très important de les stabiliser en les dérivants. Pour cela, il existe une quantité de produits d'agents de dérivation tel que le DBA, le DAN, le MOPIP, le MAMA, etc. (Aubin *et al.*, 2020).

### 1.3 Le MDA

Le 4,4'-méthylènedianiline ou MDA, est un amine primaire aromatique qui est à la fois l'amine précurseur utilisé dans la fabrication du MDI et est également possiblement l'un des produits de dégradation du MDI par hydrolyse ou photolyse (Degli-Innocenti

*et al.*, 2001). Il est cependant fabriqué par réaction de l'aniline avec du formaldéhyde. Depuis peu, une nouvelle catalyse qui emploie le liquide ionique de  $\text{SO}_3\text{H}$  comme catalyseur au lieu du  $\text{HCl}$  est de plus en plus utilisée. (Tian *et al.*, 2015). Plus l'aniline sera présent comme réactif dans la réaction, plus la proportion de formation du 4,4'-MDA sera élevée face aux oligomères (Environment and Climate Change Canada/Health Canada., 2017). Il peut être détecté dans différents échantillons aqueux ayant été en contact avec des serviettes de papier colorées (Yavuz *et al.*, 2016), ou dans l'eau ayant été en contact avec des emballages alimentaires (Brede *et al.*, 2003) ou alors dans des échantillons d'ustensiles de cuisine en contact avec la nourriture (Sendón *et al.*, 2010).

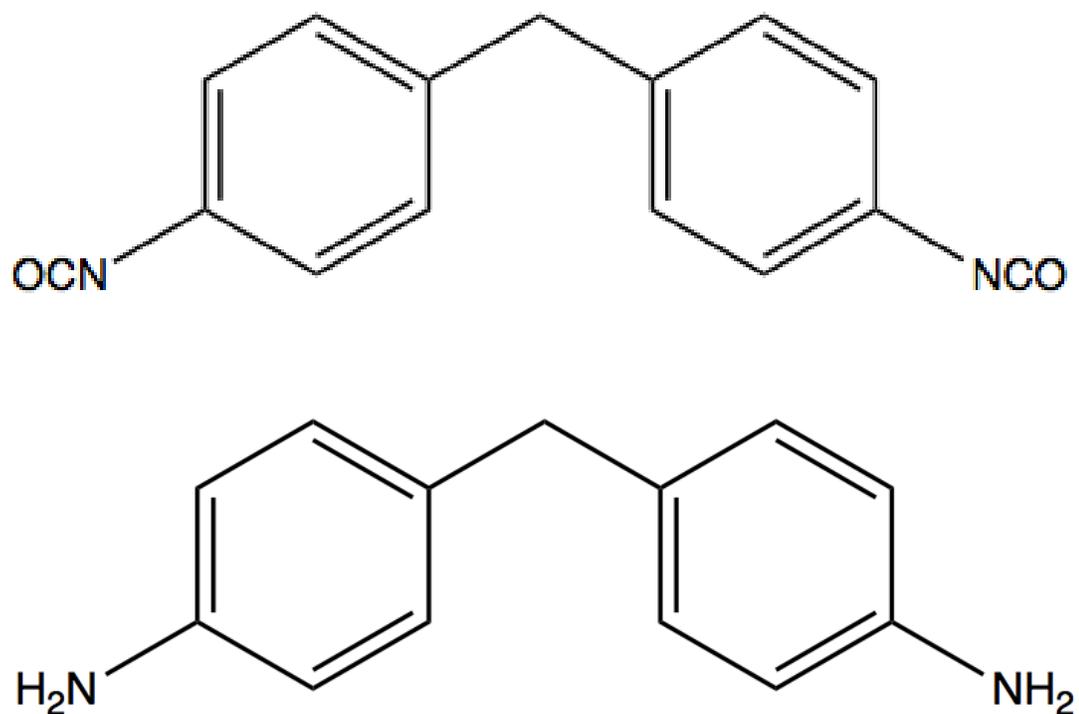


Fig1.4 Structures chimiques du 4,4'-MDI et du 4,4'-MDA.

Dans ce mémoire, la possible dégradation des enrobages de fertilisants à base de MDI ou le déversement de MDA ou le mauvais recyclage de mousse de PU seront également traitées (Behrendt et Naber, 2009; Degli-Innocenti *et al.*, 2001).

### 1.3.1 Le MDA et le sol

Au milieu du XXème siècle, la composition humique du sol a été clairement établie. Elle représente 85 à 90% environ de la matière organique dans le sol. Les substances humiques sont composées d'humin, d'acide humique et d'acide fulvique (Hayes, 2009). L'humin correspond à la portion insoluble dans l'eau, l'acide humique est la portion insoluble à pH acide ( $<2$ ) et l'acide fulvique est considéré comme la partie soluble dans l'eau à tous les pH (Aiken *et al.*, 1985). À l'origine, les substances humiques étaient seulement considérées comme des polyélectrolytes qui empêchaient la dissociation de molécules étrangères à pH acide. Les liaisons possibles et connues étaient alors des liaisons hydrogènes ou des liaisons de Van der Waals. Cependant, à pH basique la dissociation pouvait se faire plus aisément. C'est finalement en 1980 que Parris a démontré qu'il s'agissait en fait principalement de liens covalents  $-C\equiv N$  entre les amines primaires aromatiques et les substances humiques (Parris, 1980). Par la suite, des tests d'adsorption et de désorption du MDA ont été réalisés par Cowen. En revanche, l'utilisation d'une imprégnation de sol forcée, anaérobique et irréaliste à l'aide de sol à faible teneur de matière organique n'a servi qu'à conclure que le MDA était difficile à récupérer (Cowen, W.F. *et al.*, 1996). Ce n'est que deux ans plus tard, malgré l'utilisation de sols pauvres en matière organique, que des études cinétiques ont pu affirmer qu'en milieu anaérobique le MDA est davantage retenu. Ainsi, en milieu aérobique, les réactions avec un sol limoneux n'étaient pas aussi fréquentes que celles avec un sol sablonneux (Cowen, William. F. *et al.*, 1998). En dernier lieu, West a démontré grâce à la radioactivité sous atmosphère anaérobique que 4 phénomènes de

biodégradation par dénitrification (bactérienne, acides gras volatils, réduction des ions fer ou sulfate) pouvaient se révéler être très efficaces pour la rupture des liens covalents formés par le MDA.

### 1.3.2 La disponibilité du MDA et le sol

Le MDA peut se retrouver en contact avec le sol de plusieurs façons différentes. Comme mentionné précédemment au paragraphe 1.3, sa présence peut être due notamment à l'utilisation d'engrais enrobés de mousse de PU à base de MDI ou encore associé au processus de dégradation du PU dans l'environnement. Des essais d'extraction de MDA de plusieurs types de mousse de PU ont été réalisés préalablement lors de l'optimisation de la méthode d'analyse du MDA dans les sols. Pour ce faire, 0,2g de chaque mousse de PU ont été extraits selon la méthode de Brunet (Brunet *et al.*, 2018). Ces résultats ont démontré que l'hydrolyse et/ou la solvololyse (Kornejew et Stoychev, 2010) provoquée par le contact des mousses de polyuréthane avec du MeOH basique, laissait une quantité variable de MDA biodisponible en fonction des différentes structures de mousse de PU (Tableau 1.1 et 1.2).

Il est aussi important de constater dans les tableaux 1.1 et 1.2, que des extractions successives d'un même échantillon de 0,2g de chaque mousse de PU, démontrent qu'une quantité résiduelle de MDA est extractible à chaque fois. Il est aussi possible d'observer qu'une structure ayant des polyéthers seulement, ne confèrerait pas une grande extraction de MDA (Behrendt et Naber, 2009).

Tableau 1.1 Type de mousses de polyuréthane utilisées et leurs applications.

Lettre associée	Utilisation de chaque PU	Structure de chaque PU
A	Revêtement de fertilisant	À base de mélange 50 :50 de polyether et polyesther (<3mm diamètre de coquilles, fines)
B	Mousse de pulvérisation à 2 composants (stabilisation du sol)	p-MDI + polyéther densité d'environ 4lb/ft <sup>3</sup> coupé ~ < 1cm x 1cm x 1cm
C	Mousse flexible à base de MDI (coussin de siège)	60 :40 de mélange de pMDI/MDI avec polyéther/polyesther polyols coupé ~ < 1cm x 1cm x 1cm
D	Mousse de pulvérisation à 1 composant (Scellant/isolation domestique)	Prépolymère de pMDI avec polyols de polyéther + MDI avec agents gonflants d'hydrocarbure coupé ~ < 2cm x 2cm x 2cm
E	Polyurée de MDI	pMDI dans l'eau

Les données du tableau 1.1 ont été indiquées par les fournisseurs eux-mêmes.

Tableau 1.2 Concentrations et coefficients de variation de MDA récupérés dans chaque type de mousse de PU après 1, 2 ou 3 extractions successives avec (n=4) pour PU A, B, D et E et (n=6) pour PU C.

	[MDA] extrait dans la mousse de PU A (ug/kg)	[MDA] extrait dans la mousse de PU B (ug/kg)	[MDA] extrait dans la mousse de PU C (ug/kg)	[MDA] extrait dans la mousse de PU D (ug/kg)	[MDA] extrait dans la mousse de PU E (ug/kg)
1er extrait	14258	133,08	387,72	61,055	8342,8
	25%	43%	30%	3%	13%
2e extrait	1455,6	139,77	54,110	27,448	547,60
	29%	42%	30%	5%	11%
3e extrait	628,12	-	25,050	-	186,54
	21%		9%		16%

Pour démontrer le fait que cette biodisponibilité de MDA réagit avec le sol, les mêmes échantillons doublement ou triplement extrait précédemment ont été extraits de nouveau. Dans un premier temps, seul un triplicata de 3,2 mg d'un mélange de PU A et C ont été extraits de la même façon que précédemment. Un autre triplicata de 3,2 mg a également été extrait, mais cette fois l'agitation d'une heure a été remplacée par un chauffage de 30 min à 90°C. Le chauffage n'a donc pas eu d'influence significative sur la dégradation de la mousse de PU. Cependant la quantité de MDA extractible a augmenté d'environ 39%. Le chauffage serait donc une aide à l'extraction de MDA contenu dans la mousse de PU.

Tableau 1.3 Concentrations moyennes et coefficients de variation (n=3) de MDA extraits dans un mélange de PU A et C, avec et sans chauffage ainsi qu'en présence de sol ou non.

seulement le mélange de mousses A et C		mélange de mousses A et C + sol	
[MDA] moyenne extraite sans chauffage (ug/kg)	[MDA] moyenne extraite avec chauffage (ug/kg)	[MDA] moyenne extraite sans chauffage (ug/kg)	[MDA] moyenne extraite avec chauffage (ug/kg)
1407	1959	3,438	4,974
13%	23%	29%	25%

En répétant les extractions de mousses de PU avec ou sans chauffage mais cette fois en incorporant 1 g de sol dans les vials, il est possible d'observer que la quantité de MDA extractible en présence du sol est beaucoup plus petite. Cela témoigne alors de la grande rétention du MDA par le sol comme discuter précédemment (Tableau 1.3). Ces résultats préliminaires au début du projet de recherche de maîtrise ont été obtenu par notre équipe afin de permettre de développer la méthode.

### 1.3.3 La toxicité du MDA

Depuis les années 80, le MDA a été classé comme un possible cancérigène (de la thyroïde et du foie), surtout par voie orale, selon l'IARC (International Agency for Research on Cancer (IARC), 1986). Le transfert par voie orale peut-être possible dû aux transferts de MDA contenus dans les emballages alimentaires vers les aliments grâce à l'eau présente dans les aliments (Brede *et al.*, 2003). Des lésions au foie et aux

reins sont donc le plus souvent observées. Les DL50 indiquées pour le rat et l'humain varient respectivement de 100 à 450 mg/kg et 260 mg/kg. Au niveau d'une exposition cutanée, le MDA est considéré comme un irritant. Les DL50 suite à l'exposition dans une solution à 50% d'eau sont supérieures à 2500 mg/kg (INRS, 2017).

Au niveau environnemental, le gouvernement canadien a fixé une norme de 0,023 mg/kg (poids sec) de MDA dans le sol (Environment and Climate Change Canada/Health Canada., 2017). Cependant peu de recherches auraient prouvé une bioamplification.

#### 1.3.4 Les méthodes d'analyses disponibles et leurs limites

Il existe très peu de méthodes pour l'analyse du MDA dans les mousses de PU ou alors dans les sols. Kornejew et al. ont étudié le MDA hydrolyser ou solvolyser dans les mousses de PU flexibles par chromatographie d'exclusion stérique et chromatographie gazeuse. Cependant, il ne s'agissait pas du dosage unique du MDA mais du MDA lié au polyols de la mousse de PU (Kornejew et Stoychev, 2010).

Une autre méthode développée par Brunet et al., semble démontrer que le MDA peut être extrait du sol avec du méthanol basique, suivi d'une purification par SPE et d'une analyse par UPLC-MS/MS (Brunet *et al.*, 2018). Néanmoins, le temps de rétention des échantillons est trop proche du temps ou volume mort d'élution de la colonne chromatographique utilisée pour cette méthode. De plus, l'étude de matrice environnementale requière souvent l'emploi d'un étalon de recouvrement, permettant de soutenir, voire de corriger, les résultats obtenus lors de la quantification. En dernier lieu, validation de la méthode était basée sur une étude de l'interaction du MDA dans les sols utilisant la technique d'extraction d'équilibre de phase. Cette technique consistait à insérer l'analyte dans la solution d'extraction. La matrice solide n'était

donc pas en contact direct avec le composé d'intérêt. Donc il n'y avait pas de contact direct entre le MDA et les différentes fonctions du sol (Brunet *et al.*, 2018).

#### 1.4 Développement et validation de méthodes analytiques

Pour attester de la robustesse d'une méthode analytique, il est important de respecter un certain nombre d'étapes. Toute méthode doit être appropriée au regard des types d'échantillons et des analytes qui doivent être dosés. Dans ce mémoire, l'analyse du MDA dans des échantillons de sol a donc suivi les étapes de la procédure DR12-VMC (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2015).

##### 1.4.1 Établir un historique

La traçabilité s'appliquant sur la provenance des échantillons qui doivent être échantillonnés et analysés ainsi que leurs propriétés physico-chimiques permettent d'avoir de bonnes indications.

##### 1.4.2 Échantillonnage des sols

Lors de l'échantillonnage de sol, il est important d'utiliser le bon échantillonneur (truelle, forage, tubes, etc.) et le bon type d'échantillonnage. Le type de contaminations dans le sol va donc être l'élément déclencheur des différents choix. Chaque type de contamination correspond à une stratégie d'échantillonnage particulière. Selon le Cahier 5, du Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et des Parcs

du Québec, une contamination peut être qualifiée de «naturelle», peut avoir lieu suite à un déversement, la présence de matériaux ou encore de résidus miniers (MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, 2009). La contamination requièrera alors une évaluation plus exhaustive afin de déterminer à l'aide de carte décisionnelle quel type d'échantillonnage selon les suivants devra être appliqué :

- échantillonnage ciblé : prélèvement d'échantillons dans les zones soupçonnées d'être contaminées
- échantillonnage aléatoire simple : si le sol est homogène, prélèvement au hasard
- échantillonnage aléatoire systématique : prélèvement selon une maille tracée au préalable (1 échantillon au centre d'une cellule de la maille et un autre au hasard dans la même cellule mais à la même place pour chaque cellule)
- Échantillonnage composé à incrément systématique : prélèvement selon une maille qui permet d'obtenir un minimum de 30 cellules (1 échantillon, 1 duplicata, 1 triplicata chacun à la même place pour chaque cellule).

Il est évident que les informations précédentes doivent être connues car il est possible que les résultats d'analyses subissent une influence. Il en est de même pour les modes de conservations des échantillons. Pour des échantillons de sols ne contenant pas de contaminants volatils, le ministère recommande de limiter la prolifération bactérienne en conservant les échantillons de sol à 6°C pour un maximum de 180 jours (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2013). Cependant, si les contaminants sont volatils ou même semi-volatils, la méthode de conservation dans le MeOH est celle qui est préconisée par EPA (United States Environmental Protection Agency (EPA), 1992).

### 1.4.3 Extraction sur phase solide (SPE)

L'extraction en phase solide (SPE) est la méthode qui a été choisie par Brunet et al., de façon à concentrer l'échantillon et à se débarrasser des composés non désirés (Brunet *et al.*, 2018). Il s'agit d'une technique de préparation d'échantillon par extraction rapide et économique sur la consommation de solvants par rapport à l'extraction liquide. La SPE est souvent utilisée pour des échantillons environnementaux, alimentaires, pharmaceutiques et biochimiques. En premier lieu, la cartouche choisie doit présenter des affinités avec le ou les composé(s) d'intérêt(s) et doit être conditionnée à l'eau ou à l'aide d'autres solvants. Cependant de nos jours, de nombreuses cartouches ne nécessitent plus l'étape de conditionnement. Le cas s'applique d'ailleurs pour le choix de la cartouche MCX qui présente des affinités avec le MDA et dont l'échantillon peut directement y être introduit après acidification. Cette dernière permet donc de produire du  $\text{MDA}^+$  et du  $\text{MDA}^{2+}$  qui vont être retenus par la phase stationnaire de la cartouche contenant des anions  $\text{SO}_3^-$ . L'analyte et les interférents sont tous en solution et ils vont être déposés dans la cartouche afin que seul l'analyte soit retenu ou seulement très peu d'interférents avec lui. Ensuite l'analyte va subir une phase de « lavage » avec une solution acide ou basique ou un mélange de solvants, en fonction du type d'échantillon. Cela permet d'éliminer davantage d'interférents avant d'arriver à l'étape d'élution où l'analyte aura une meilleure affinité avec la phase mobile et quittera la cartouche. Le choix des solutions et des solvants à utiliser va donc influencer l'efficacité d'extraction du ou des analyte(s) souhaité(s) (Humbert, 2010; Li, J. et Zhu, 2018).

### 1.4.4 UPLC-MS/MS

La chromatographie liquide à ultra haute pression (UPLC) est beaucoup utilisée depuis les 10 dernières années pour l'étude d'amines dans des matrices complexes. Il s'agit

d'une technique de séparation ayant un domaine d'application un peu plus grand que la chromatographie gazeuse. Un faible volume d'échantillon liquide est injecté dans la colonne UPLC. L'échantillon y est alors élué grâce à la phase mobile, qui s'y écoule en continu à débit constant. L'échantillon est alors en interaction constante avec la phase stationnaire qui compose la colonne. Les éluants peuvent être régis par deux modes : isocratique ou gradient. Le mode isocratique signifie aucun changement de proportion des éluants. Ce mode permet certaines fois un meilleur couplage avec certains détecteurs. Mais le plus souvent le mode gradient est plus commode pour effectuer la séparation d'un grand nombre de composés ou même pour introduire une phase de lavage plus efficace pour éluer certains composés si la rétention y est trop importante. Néanmoins en fonction des éluants choisis, le mode gradient peut demander un temps plus élevé d'équilibrage entre chaque analyse. Les colonnes UPLC sont fabriquées de façon à être de plus en plus spécifiques face aux différents amines à séparer. Elles permettent d'ailleurs de séparer certains composés à de plus basses températures qu'avant sans pour autant altérer la séparation. Ces colonnes sont aussi plus petites que les colonnes HPLC et peuvent également résister à de plus hautes pressions. Le temps d'éluion de chaque composé est donc raccourci tout en ayant une bonne qualité de séparation.

Le couplage du UPLC avec la spectrométrie de masse (MS), permet d'obtenir une meilleure sensibilité et précision. En effet, l'échantillon liquide qui est élué de la colonne UPLC, devient à la fois gazeux et ionisé et la détection du nombre d'ions de charge égale va alors permettre la qualification et/ou la quantification de chacun des composés. Il existe une panoplie de source d'ionisation et d'analyseur. L'une des sources qui se couple le mieux avec l'UPLC est la source ESI (Electrospray ionisation). Cette source permet à l'analyte liquide de passer à travers un capillaire sous tension progressive et de s'entourer de charges et par conséquent former des gouttelettes d'ions. Ces dernières peuvent être chargées positivement ou négativement en fonction du mode d'ionisation choisi. L'évaporation du solvant des gouttelettes va avoir lieu grâce au

chauffage de la source, au flux de gaz  $N_2$  présent à la sortie du capillaire et à l'embout de ce dernier. Les ions sous forme gazeuse sont alors dirigées vers l'analyseur (de Hoffmann et Stroobant, 2005; Rouessac *et al.*, 2004).

L'analyseur triple quadrupôle (QqQ), permet de couvrir une gamme de masse allant d'environ 50 à 2000 Da. Il est donc très efficace pour la détection de petites molécules. Il peut fonctionner sur des modes différents SRM, MRM, scan, etc. Pour le mode MRM, dans un premier temps les ions parents vont entrer dans le  $Q_1$ . Seuls les ions indiqués selon les transitions à analyser vont être conservés. La sélection a lieu, aux quadrupôles  $Q_1$  et  $Q_3$ , par variation de courant continu et alternatif. Après  $Q_1$ , ils vont ensuite intégrer la cellule de collision ( $q_2$ ). Cette dernière va alors fractionner les ions parents sélectionnés sous une forte pression de gaz inerte et une accélération due aux changements de tension. Les collisions avec le gaz vont alors former des ions fragments qui eux même vont être dirigés vers le deuxième analyseur ( $Q_3$ ).

L'utilisation du QqQ, permet l'augmentation de la sensibilité de la méthode car le fractionnement en fonction des transitions MRM, permet d'effectuer du MS/MS. La combinaison de la SPE comme méthode d'extraction avec le HPLC comme technique de séparation en plus du QqQ comme détecteur, permettent que le MDA, le standard interne (IS) et l'étalon de recouvrement (SS) puissent être quantifiés à l'état de trace (ng/mL). Le choix des éluants, du débit, des paramètres MS (voltage du capillaire et du cône, type de source, les transitions MRM, etc) sont donc des paramètres à optimiser au mieux afin d'obtenir des résultats fiables.(de Hoffmann et Stroobant, 2005; Rouessac *et al.*, 2004).

Dans notre cas, nous avons fait le choix de la SPE comme technique d'extraction et le choix du UPLC-MS/MS avec QqQ.

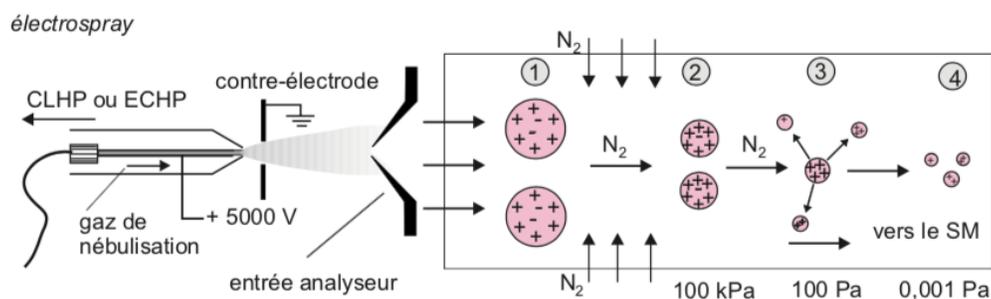


Fig1.5 Schéma d'une source d'ionisation électrospray (ESI). (Rouessac *et al.*, 2004)

#### 1.4.5 Validation de méthodes

La dernière étape de création d'une nouvelle méthode de quantification est sa validation. Pour cela 6 éléments doivent être pris en compte (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2015; CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2018).

Premièrement il y a l'étape de détermination de la limite de détection (LOD) et de la limite de quantification (LOQ). La limite de détection correspond à la plus petite concentration qui peut être qualifiée de fiable après les différentes étapes de conservation, d'extraction et d'analyse. C'est-à-dire que la limite de quantification correspond à la plus petite concentration qui pourrait être à la fois fiable et quantifiable. Ici les deux limites seront déterminées après l'analyse de 10 réplicats du plus petit standard. Ainsi la LOD se calcule en appliquant un facteur de 3 à l'écart-type du plus petit standard, pour  $n=10$ , et la LOQ en y appliquant un facteur de 10. Pour que la limite de détection soit acceptable il faut que le ratio de la moyenne des concentrations sur la LOD soit compris entre 4 et 10.

Ensuite il faut chercher à déterminer la justesse (l'exactitude) de la méthode. Cette dernière est mesurable grâce à l'analyse d'une référence à chaque jour d'analyse ou

grâce à l'analyse d'un échantillon CQ qui proviendrait d'une deuxième source (c'est à dire, que l'échantillon ne doit pas avoir la même solution mère que les autres échantillons). La valeur absolue de la moyenne de l'écart relatif d'un certain nombre d'échantillons soustraite à 100%, indique donc l'exactitude de la méthode d'analyse.

Au niveau de la précision de la méthode, elle se détermine en deux étapes. En premier lieu, on doit déterminer la réplicabilité. Pour se faire il faut sélectionner 4 concentrations et produire 6 réplicats. Pour chaque concentration, il faut impérativement que tous les réplicats soient analysés le même jour, avec le même instrument, par la même personne. En second lieu, on doit déterminer la répétabilité, qui elle fait varier un des paramètres ; c'est à dire qu'il faut changer le jour ou la personne ou l'instrument mais toujours pour 4 mêmes concentrations.

La dernière étape, consiste en la détermination du pourcentage de récupération qui sert à connaître les interférences de l'analyte avec la matrice où il se trouve. Pour se faire, deux groupes d'échantillons doivent être préparés. Un premier groupe où l'analyte se retrouve en présence de la matrice et un second groupe où l'analyte se retrouvera en solution en l'absence de la matrice. Le pourcentage de récupération de la méthode résulte donc de la moyenne des pourcentages de récupération de 5 concentrations. Ainsi, le calcul du pourcentage de récupération de chaque concentration correspond à la moyenne des concentrations de 6 réplicats en présence du média sur la moyenne des concentrations de 6 réplicats en l'absence du média. (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2015; CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2018)

## 1.5 Objectifs

Afin de comprendre le comportement du MDA dans une matrice de sol, les objectifs de ce mémoire sont :

- Développer une méthode d'imprégnation du MDA dans une matrice de sol
- Optimiser des méthodes d'extraction et de quantification du MDA dans une matrice de sol
- Déterminer et Développer des méthodes de conservation de sol contenant du MDA
- Augmenter la robustesse d'une méthode de quantification
- Comprendre les interactions du MDA avec différents types de sol de composition organique différente
- Comprendre l'influence des métaux sur la rétention du MDA dans différents types de sol
- Tenter d'identifier le devenir du MDA au cours du temps dans une matrice de sol

## CHAPITRE II

### ARTICLE SCIENTIFIQUE : DEVELOPMENT OF A METHOD FOR PRESERVATION, EXTRACTION, AND QUANTIFICATION OF 4,4'- METHYLENEDIANILINE (MDA) IN SOIL OF VARIED TEXTURE AND ORGANIC MATTER CONTENT

Audrey Joly, Sébastien Gagné, Robert West, Simon Aubin, David Dewez and  
Jacques Lesage

Article soumis pour évaluation au journal : LCGC North America.

Audrey Joly : A réalisé toutes les expériences nécessaire à la production de l'article, a également écrit l'article, produit les figures et les tableaux et fait toutes les recherches bibliographiques associées.

Sébastien Gagné, Robert West, Simon Aubin, David Dewez et Jacques Lesage : Ont participé à l'interprétation des résultats, et au processus de révision de l'article.

## 2.1 Abstract

4,4'-methylenediphenyl diisocyanate (4,4'-MDI) is widely used in the formulation of polyurethane foams, sealants and controlled-release coatings for agricultural fertilizers and pesticides, which may be applied to soil. Degradation of these MDI-based polyurethanes, by hydrolysis for example, could result in transient formation of 4,4'-methylenedianiline (MDA). Although MDA is reactive with natural organic matter in soil, it may be of interest to conduct monitoring studies to survey for the presence of the substance in the environment. An existing procedure developed, optimized, and validated for the extraction of MDA from soils has been improved by the addition of both internal and additional surrogate standards to correct any losses of the substance which may occur during collection, stabilization, holding, extraction, and analysis of the soil samples. The retention of MDA in soil with a variety of textures and organic matter content allowed the development of a soil impregnation method. Soil impregnation, stabilization, extraction, and quantitation of MDA in soil was validated using 1g samples of soils ranging from 2.4% to 10% organic matter. It was demonstrated that MDA is stable in dry soil samples or in samples which are completely immersed in methanol.

Keywords : 4,4'-methylenedianiline; UPLC-MS/MS; impregnation; preservation; soil; surrogate standard; internal standard

## 2.2 Introduction

Isocyanates are used to form thermoset polymers by reaction with amines or alcohols. [1] MDI (4,4'-methylene diphenyl diisocyanate or 4,4'-MDI) is a diisocyanate often used in the manufacture of flexible foam and insulation, as a binder in wood products

(e.g., oriented strand board [OSB] or particle board) and as an extended-release coating for fertilizer and pesticide formulations. It is an irritant that can cause occupational asthma in over-exposed workers.

MDA (4,4'-methylenedianiline or 4,4'-MDA) is an aromatic primary amine derived from the condensation of aniline and formaldehyde.[2] MDA is a precursor in the production of MDI. MDI is produced commercially by phosgenation of MDA; however, during degradation of MDI-based polyurethanes by hydrolysis or photolysis, small amounts of MDA may be regenerated. Therefore, MDA can be the precursor and eventually the product of the degradation of MDI. [3]

MDA is a possible human carcinogen.[4] Due to its low vapour pressure and limited water solubility, exposures to the substance may occur in solid (aerosol, particle) form more often than in vapour form. [5] C. Brede et al. [6] also demonstrated by GC-MS that 4,4-MDA and other amines contained in food packaging can migrate to water. Thus, food could also be a potential source of MDA exposure for humans.

Although MDI and MDA are not naturally found in soils, Environment Canada has established a screening-level standard for MDA concentration in soil of 0.023 mg/kg (dry weight).[2] In agriculture, more and more fertilizers are used with MDI-based polymers.[7] MDA is very reactive in the presence of soil organic matter. Once in contact with soil, MDA participates in both reversible (adsorption) [8] and irreversible (covalent binding to organic matter) [8] sorption processes which strictly limit its potential to reach the groundwater.[9] However, these same sorption processes can make it very difficult to extract MDA from soil samples, and recoveries of the substance from soils can be very difficult. In early studies of sorption and biodegradation of primary aromatic amine substances in soil,[10] particularly harsh extraction methods such as Soxhlet extraction in dichloromethane or methanol, reflux in boiling caustic (50% NaOH), and sonication in methanol and sulfuric acid proved

ineffective in fully recovering the substances from soil.[11] More recently, work has examined effectiveness of pressurized/heated solvent extraction conditions such as obtained with automated accelerated solvent extraction instrumentation (Dionex™ ASE™; Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) which also could not produce quantitative recovery of the aromatic amine from soil (unpublished results of Huntsman Corporation). Because such extraction instruments provide automated and efficient extraction performance for most analytes, they have become a standard approach for soil extractions in modern environmental analytical laboratories. However, employment of such thermally-assisted extraction methods also warrants caution in their application to MDA in soil, as thermally-enhanced hydrolysis of polyurethane materials is known to produce the aromatic amine and polyol precursors of polyurethanes.[12, 13] For this reason, such thermally-assisted extraction methods were intentionally not evaluated for the present study; instead, a variety of solvent and pH conditions were tested which arrived at the optimal extraction conditions reported here. Under such conditions, formation of MDA via decomposition of polyurethane contaminants in the soil samples would not be expected.

According to the “Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec” (CEAEQ), samples can be preserved for 180 days at 6°C or less to minimize microbiological activity.[14] Any un-bound MDA present in soil will be rapidly biodegraded to carbon dioxide,[10] and there is potential that any MDA conjugation products with soil organic matter could also be partly or slowly biodegraded to free up this MDA.[11] According to EPA, it is better if the soil sample is put in contact with methanol (MeOH) during sampling to preserve it until analysis. This technique works very well with volatile organic compounds as it tends to keep organic analytes in the dissolved (condensed) phase and thus minimize volatilization from the sample. The methanol can also serve to “sterilize” the soil by disruption of cell membranes of bacteria at high concentrations.[15] The use of methanol as a field-applied preservative

for MDA is also favorable, as this solvent is employed in the MDA extraction protocol described here and previously.[16]

Several aromatic amine quantification methods already exist in the published literature. However, the only existing method that is relevant to environmental monitoring of MDA is that of Brunet et al [17], who developed a method for extracting and quantifying 4,4'-MDA in soils. A solid phase extraction (SPE) step removes the soil organic matter component from the soil extract solution, and thereby minimizes the matrix effect by preventing the sample further covalent bonding with organic matter. The SPE step can also be used to increase the concentration of the sample, and potentially achieve lower LOD and LOQ values than reported here. The choice of UPLC-MS/MS with the multiple reaction monitoring (MRM) mode of the triple-quadrupole mass spectrometer has made it possible to reach much more sensitive detection limits. On the other hand, a drawback in the validation of this method is the spike of MDA to soil which was already in phase equilibrium (i.e., where soil has been equilibrated with the extraction solvent), and as such did not fully represent a matrix similar to that of real samples which are freshly-collected in the field. The objectives of this study were; (1) to reinforce the previous method by adding a surrogate standard to track sample stability during collection, shipment, and storage of soil samples; (2) to produce a realistic soil sample spiking procedure which would simulate collection of soil (containing MDA) in the field, and (3) by adding a more robust internal standard for quantification. Environmental analyses most often require surrogates that can follow the evolution of the analyte.[18] These objectives made it possible to validate the analytical method's performance and evaluate the most appropriate preservation technique. [19]

## 2.3 Materials and methods

### 2.3.1 Chemicals

4,4'-MDA ( $\geq 99,3\%$ ), methanol, water (both HPLC grade) were from Sigma-Aldrich (Milwaukee, Wisconsin, USA). The internal standard (IS), 4,4'-MDA-[15N2,13C], ( $\geq 98\%$  isotopic purity) was from IsoScience (Ambler, PA, USA). The surrogate, 4,4'-MDA-d8 (99% isotopic purity), was purchased from C/D/N Isotopes (Pointe-Claire, Québec, Canada). The glacial acetic acid ( $\geq 99.7\%$ ) was from J.T. Baker. Both sulfuric and phosphoric acids (ACS Reagent) were from Caledon Laboratories Ltd. (Georgetown, Ontario, Canada). Potassium dichromate (ACS) and ferrous sulfate heptahydrate ( $> 99\%$ ) were from VWR International (Radnor, Pennsylvania, USA). Finally, the NH<sub>4</sub>OH (trace metal grade), 1,10-phenanthroline monohydrate (ACS), and formic acid (Optima LC/MS grade) were purchased from Fischer Scientific (Hampton, New Hampshire, USA).

### 2.3.2 Soils and impregnation procedure

Four types of soil were used to develop and validate the MDA impregnation, extraction, preservation and quantification methods. Two of them were natural field-collected surface soils from Saint-Donat, Quebec, Canada with a percentage of total organic carbon of 0.89% and 2.45% as determined by the wet oxidation-titration method.[20] Two other soils with 5% and 10% total organic carbon were created by mixing the field-collected soil with an organic compost-rich commercial potting soil (Botanix Inc., Trois-Rivières, QC) and all-purpose dry sand (Bomix Inc., Saint-Léonard, QC). To verify the natural and targeted percentage of total organic carbon in each soil, the method MA. 405 – C1.1 [20] was implemented. The sand was washed with MeOH and dried at 27°C in the oven. The soils were also dried at the same temperature in the oven and cleared of large particles by passing them through a 2 mm sieve.

To impregnate the soils, a 100 mL solution of 399.73 ng/mL of 4,4'-MDA in water was prepared and put in contact with 100 g of soil in a Nalgene pot. This mixture was stirred for 30 minutes and then filtered on a Buchner funnel. The filtrate was recovered, and the volume was measured. After being dried at 27°C in the oven, the mass difference was weighed, and the mixture was stored in the Nalgene pot at room temperature.

### 2.3.3 Calibration curve

All the stock solutions were diluted in MeOH. The concentrations were approximately 157 µg/mL, 100 µg/mL and 276 µg/mL for 4,4'-MDA, the internal standard (IS) and the surrogate standard (SS), respectively.

For the calibration curve, seven standards were prepared in the soil extraction solvent matrix (5% NH<sub>4</sub>OH in MeOH). The different concentrations were 0, 0.5, 1, 5, 10, 20 and 25 ng/mL for the 4,4'-MDA and the SS. The IS concentration remained stable at 14 ng/mL.

### 2.3.4 UPLC/MS/MS parameters

ACQUITY™ UPLC BEH C18 of 1.7 µm (2.1 mm x 50 mm) with a pre-column Vanguard ACQUITY™ UPLC BEH C18 1.7 µm (2.1 mm x 5 mm) was used in an ACQUITY™ H-Class LC system from Waters Corp. (Brossard, QC). The column was kept at 50°C and the samples were maintained at 12°C. The mobile phases used were water, 1% acetic acid in water and methanol. The gradient used for the elution is described in Table 2.1 with a flow rate of 0.5 mL/min. The UPLC was coupled with a

Xevo™ TQD mass spectrometer in ESI positive mode with the following multiple reaction monitoring (MRM) transitions: 199.1 → 106.0 for 4,4'-MDA (quantification), 199.1 → 165.0 for 4,4'-MDA (confirmation), 203.2 → 108.1 for 4,4'-MDA-d4 (surrogate) and 202.04 → 108.06 for 4,4'-MDA-13C15N2 (internal standard). The cone voltage was 44 V for 4,4'-MDA (quantification) and 48 V for the others. The IS and SS had the same collision energy of 24 V, but for the 4,4'-MDA (quantification) it was 22 V and for the 4,4'-MDA (confirmation) it was 26 V.

The source temperature was 150°C, the desolvation gas was N2 which flowed at 1000L/hr at 500°C, and the capillary voltage was maintained at 0.8 kV.

All results were quantified with automatic integration on MassLynx™ software.

### 2.3.5 Sample extraction

First, all samples (1 g) were extracted by solid-liquid extraction in contact with 10 mL of 0.1% NH<sub>4</sub>OH in methanol containing approximately 14 ng/mL of the surrogate. All solutions were stirred for one hour, filtered with 10 mL syringes adapted on a 10 µm Versapor membrane filter, with 100 µL of formic acid added to each solution. Only 1 mL of each solution was loaded to the Oasis MCX mixed-mode cation exchange cartridges (1 cc; Waters Corp. Brossard, QC), at 1 drop/second flow, followed by 2 x 1 mL of 2% formic acid in water solution and 2 x 1 mL of MeOH for the washing step. At the end, the MDA and SS were eluted with 5% NH<sub>4</sub>OH in MeOH, filtered with a 3 mL syringe on a PDVF filter and 10 µL of 4,4'-MDA-13C15N2 IS solution in MeOH was added for a total concentration of 14 ng/mL.

### 2.3.6 Analytical performance

It is important to have the same soil with different concentrations of MDA for validation. To this end, a mixture of variable gravimetric fractions of non-impregnated soil and impregnated soil was made in order to obtain the desired concentrations.

To measure the matrix effect, the different soil mixtures were first compared to soil-free extraction solution samples spiked with an MDA solution in methanol.

The soil mix impregnated with MDA at 0.5 ng/mL was used to evaluate the LOD and the LOQ with 10 replicates. The inter- and intra-day precision was performed with 6 mixed soil replicates at 0.5, 1, 3, 5 and 8 ng/mL of MDA. At the end, the accuracy was calculated with 7 replicates of 8 ng/mL of MDA in impregnated soils. To validate the method, the guidelines of Quebec government method DR-12-VMC were followed. [19]

## 2.4 Results and discussion

### 2.4.1 Test of stability

Using the Brunet method [17] of analysis, the stability of MDA in a soil sample was assessed. The objective was to determine if a change in the percentage of organic matter in the soil affects the amount of MDA absorbed by the soil. For this purpose, soils containing organic matter at 0%, 0.89%, 5% and 10% organic matter doses were spiked onto the soils by phase equilibrium and tested. The phase equilibrium condition is defined as when soil is brought in contact with sufficient amount of an extraction solution to achieve a supernatant phase, into which MDA was spiked. In this way, there is a better distribution and progressive contact between the MDA and the soil, which

are subsequently allowed to interact over time. A 1 g (dry wt.) portion of each soil remained in contact with the extraction solution (10 mL of 0.1%  $\text{NH}_4\text{OH}$  in MeOH) for 0, 7, 14, 21 days. MDA solution was spiked in the solution. Between 0 and 7 days, a drop in the extracted concentration of MDA was observed. This is due to the many reversible and irreversible associations that are made between MDA and the particulate and organic matter in the soil. After the 7th day, a higher concentration of MDA was extracted. This meant that some reversible links had broken down. As indicated by Lee [8] and Paris, [21] depending on the amount of moisture present in the soil, it is possible to promote either imine or amine formation between a primary aromatic amine and soil organic matter. The most important observation at this point was that after 14 days of contact, the different soils all showed stability. (Fig. 2.1).

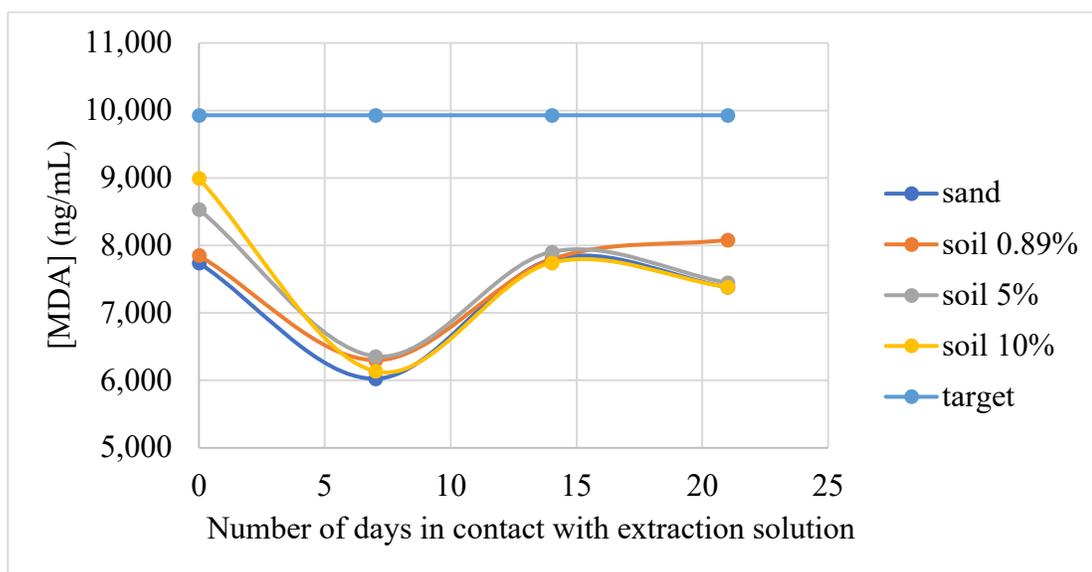


Fig 2.1 Evolution of 4,4'-MDA spiked by phase equilibrium in extraction solution in contact with soil for 0, 7, 14 and 21 days.

### 2.4.2 Impregnation

To replicate a matrix similar to that of a freshly collected soil sample taken from a potentially MDA-impacted site, the soils referred to in this article were impregnated with an aqueous MDA solution to give a uniform distribution of the analyte throughout the soil matrix. This impregnation procedure can be contrasted with a conventional soil spiking procedure, where a small aliquot of concentrated MDA solution would be injected into a very localized portion of soil and then distributed through the soil via mechanical mixing. Preliminary experiments were conducted to compare the effectiveness of soil impregnation using water or methanol as the impregnating solvent matrix. Impregnation of the soil using water was favoured because, during impregnation with MeOH, a loss of about 2% of soil organic matter content was observed, and some alteration (inhibition) of the natural biological activity of the impregnated soil could also be expected. The reduced amount of organic matter in the soil potentially affects the reaction between MDA and the residual organic matter in the soil. As shown in Table 2, several days after the impregnation, the different soils were extracted and analyzed in triplicate for two consecutive days. The residual MDA concentration for 1 g of each soil remained stable. (Table 2.2).

Table 2.1 UPLC gradient for the 4,4'-MDA, the internal standard and the surrogate analysis

Time (min)	%A (Water)	%C (1% Acetic Acid/Water)	%D (Methanol)
0	70	10	20
1	70	10	20
4	0	20	80
7	0	20	80
7.1	70	10	20
8.2	70	10	20

Table 2.2 Residual concentration of 4,4'-MDA after about 78 days of impregnation

Organic carbon content (% dry wt) in soil matrix	[MDA] (ng/mL) target for 1 g	Volume of the filtrate (mL)
0%	0.429	92
2.45%	8.143	78
5%	11.615	81
10%	14.923	68

### 2.4.3 Analytical performance

Several aspects of the previously published analytical method of Brunet et al [17] were evaluated for further optimization in the trace quantitation of MDA in soil extracts. Each of these aspects are described below.

#### 2.4.3.1 Retention time

A modification in the UPLC retention time of about 0.6 min as reported by Brunet et al [17] to 1 min was necessary to move the analyte, IS, and surrogate standard peaks further away from non-retained interferent components eluted in the dead volume of the column. (Fig. 2.2) To this end, a gradient modification and rectification of the solvent solution concentration at 5% NH<sub>4</sub>OH in MeOH was used.

#### 2.4.3.2 Crosstalk

The potential for crosstalk between the targeted mass spectral signals associated with the surrogate and the internal standard was observed since there is only 1 Da of difference. In order to limit this interference, tests were done using UPLC separations on a separate high-resolution instrument to evaluate the contribution of each, and appropriate concentrations were chosen.

#### 2.4.3.3 Carry-over

Preliminary experiments with method development revealed the potential for carry-over of MDA residues in the UPLC injector and/or flow path when samples or standards having high MDA concentrations were followed by blank samples or samples with very low MDA concentrations. Since in some cases this carry-over was shown to be up to 5% of the previous analyzed samples, it is important to run some blank solvent samples between the end of the calibration curve and the beginning of the samples series as well as in between each set of 5 samples.

#### 2.4.3.4 Dynamic range, LOD and LOQ

In this study, we report LOD and LOQ values for detection of MDA in soil which are based on extraction and analysis of MDA-impregnated soil samples, as opposed to the previously reported values which were based on analysis of MDA spiked to soil samples which were already in phase equilibrium with the extraction solvent. These revised LOD and LOQ values are 0.107 and 0.358 ng/mL, respectively, for a variance to mean ratio of 0.5 ng / mL.

Preliminary experiments indicated that the UPLC-MS-MS response to MDA in the soil extract matrix begins to deviate from linearity when extended to concentrations spanning more than about three orders of magnitude. Therefore, to maintain a desirable linear calibration curve ( $R^2 \geq 0.990$ ) and quantitation of “unknown” samples, the concentrations of calibration standards and samples should be maintained within the linear dynamic range of 5 to 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  of MDA.

#### 2.4.3.5 Matrix effect

As shown earlier, the MDA reacts very strongly with the soils. For this reason, when the standard curve for standards prepared in 5%  $\text{NH}_4\text{OH}$  in MeOH was compared to

the standard curve prepared in a blank soil extract matrix (containing some dissolved soil organic matter), the total recovery was 82.02%  $\pm$ 11.25%. In this previously published method, the IS played the role of correcting for both of these potential modes of signal suppression in the MDA analysis. In the present (improved) method, a separate IS is used to account for variation in UPLC-MS response to the analyte, while the SS accounts for any reactive/degradation losses of the analyte between collection and extraction of the soil sample. The addition of an SS along with the IS suppressed the overcorrection due to the use of the IS alone, as previously reported. [17]

#### 2.4.3.6 Accuracy and precision

For the accuracy, the test was done by analyzing an extra sample of 1 g of the impregnated soil while running another series of samples required for the validation method. This has to be extracted and analyzed the same day. To calculate the 96.4% accuracy, a total of seven samples of impregnated soil were extracted over seven different days.

To establish the intra-day precision, six replicates of four different concentrations were extracted and analyzed on the same day. On the other hand, to establish the inter-day precision, the test was done with one replicate of four different concentrations on six different days. The data shows an intra-day precision of 4.28% and an inter-day precision of 9.32%. (Table 2.3)

Table 2.3 Parameters of the validation method for the MDA in soil.

<b>Parameters</b>	<b>Values</b>
Dynamic range	5 to 250 ug/kg (0.5 to 25 ng/mL)
LOD	1.07 ug/kg (0.107 ng/mL)
LOQ	3.58 ug/kg (0.358 ng/mL)
Recovery	82.02% $\pm$ 11.25%
Accuracy	96.4%
Intra-day precision	4.28%
Inter-day precision	9.32%

#### 2.4.4 Preservation techniques

A study was carried out to determine the effectiveness of techniques which could be employed to preserve MDA concentrations in a soil sample during the time elapsed between the field sampling and laboratory extraction/analysis events. Several preservation techniques with more or less variable durations already exist. Here, since the concentration of MDA remained stable for a long time, the matrix was considered inactive. Therefore, the soil can be kept for a long period of time. In order to recreate an active matrix, a 50:50 mixture of dry impregnated soil and dry non-impregnated soil was produced. The drop in the concentration of MDA extracted in each sample, as seen in Figure 2.1, is due to the MDA then remaining available in the impregnated soil. Both types of preservation have the same evolution profile depending on the soil type. Between day 0 and day 1, reversible and irreversible reactions take place at available

sites. This is therefore attributed to the reactivation of the matrix from incorporation of the non-impregnated soil. As the percentage of organic carbon increases in the soil, the extracted MDA concentration moves further away from the target value by the first day. However, after one day of storage following the sampling, all the reversible reactions appear to have stabilized and the sample can then be analyzed up to 14 days. The large variation observed in the results with 5% and 10% organic matter in soils are likely due to the fact that the soils are not natural.

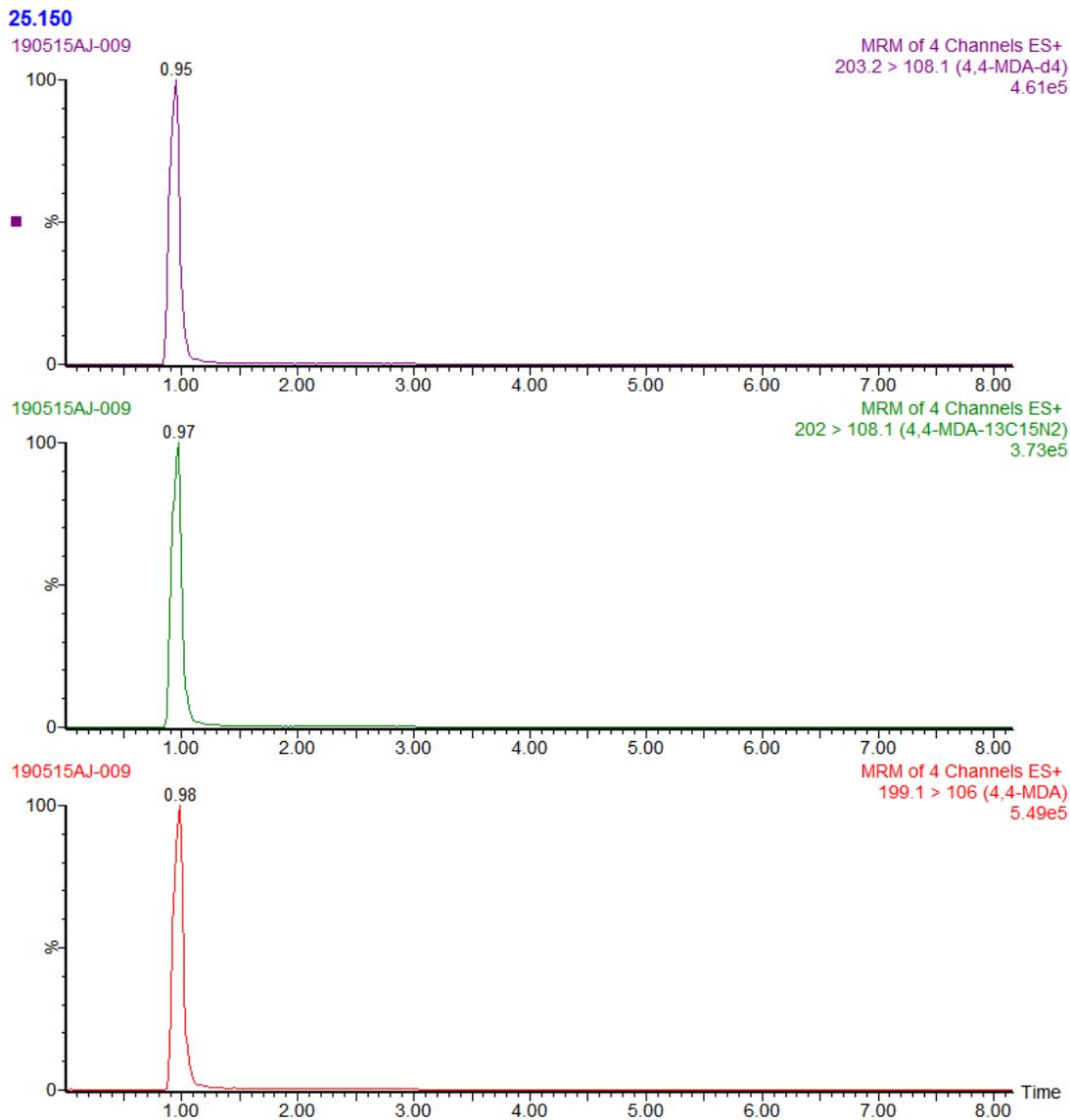
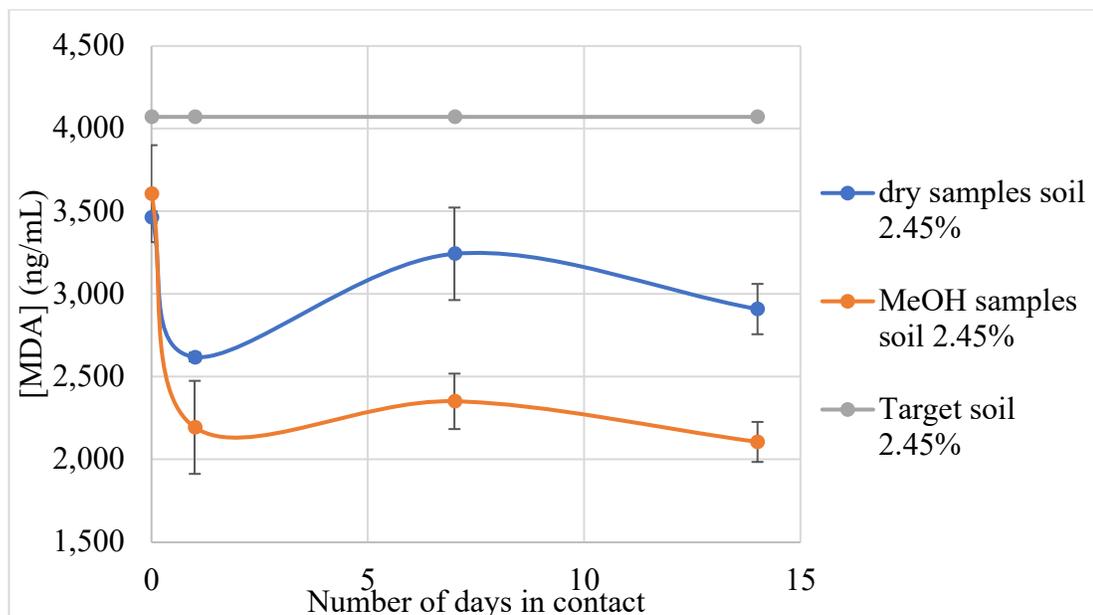


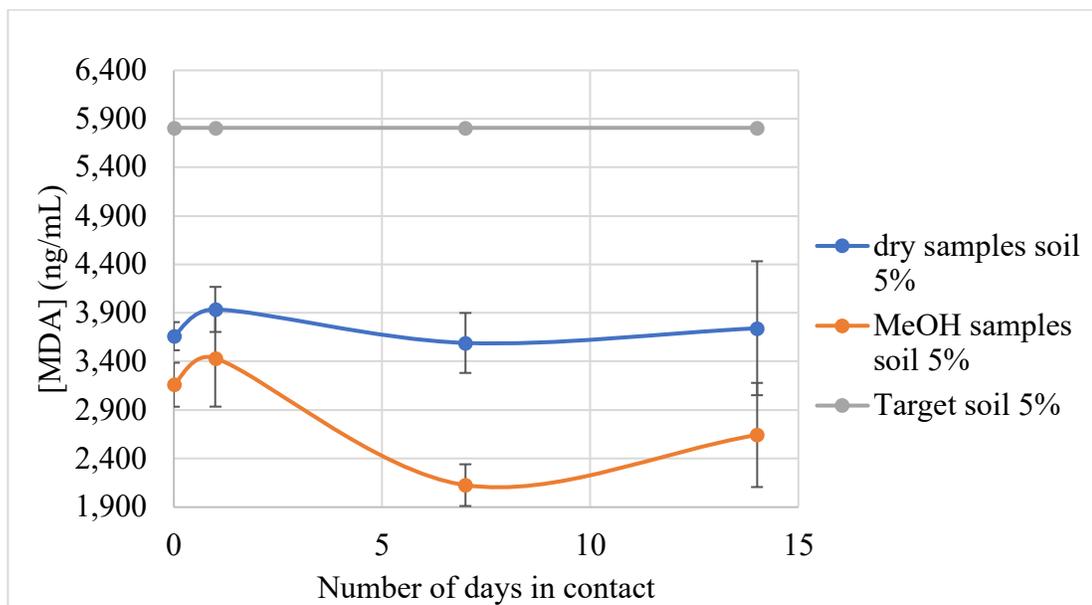
Fig 2.2 Chromatograms of the SS (MDA-d4), the IS (MDA- $^{13}\text{C}^{15}\text{N}_2$ ) and the analyte (MDA) from the standard at 25 ng/mL

It is important to transport the soil without prior laboratory drying. To choose the right method of preservation, one has to know the contact time of the PU foam coated

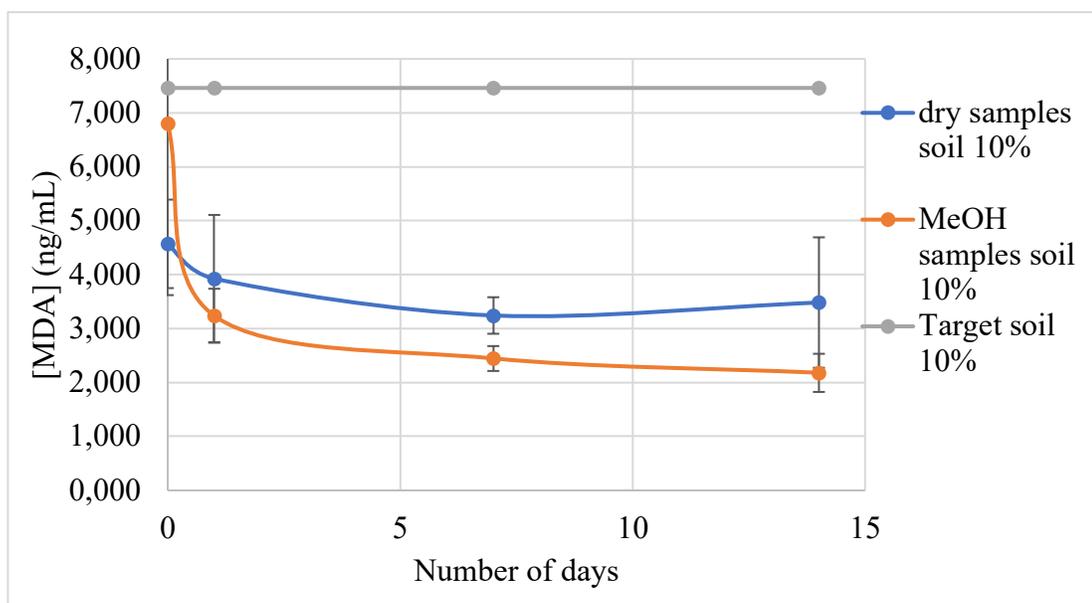
fertilizer with the soil, for example. If the PU material stays on a dry soil for a long period of time, the reaction can be considered to be more stable and a dry soil preservation method is appropriate. Conversely, if the PU foam stays on a moist soil for a short period of time, it may be most practical to have sample collection vials in the field which are pre-weighed and pre-filled with methanol. The weight of vial plus methanol plus soil would be determined upon arrival of the samples at the laboratory, and additional soil samples (collected and sealed in empty vials) can determine the soil moisture content upon their return to the laboratory. In this way, the soil sample can be immediately and efficiently preserved in an extraction-ready solvent, and the results of its MDA concentration can be reported on an MDA mass per unit dry weight of soil (e.g., mg/Kg dry wt.). When possible, a dry preservation technique is better, because it requires less manipulation of the sample in the field and provides a better recovery in MDA. (Fig. 2.3)



a)



b)



c)

Fig 2.3 Comparison of two types of soil preservation with a) soil 2.45%, b) soil 5%, c) soil 10% of organic compound for 14 days

## 2.5 Conclusion

In our previous publication, a robust method for quantitation of MDA in soil extracts was presented and validated with the aid of samples where MDA was spiked to soil samples which were in phase equilibrium with the proposed extraction solvent. In the present paper, we present results of extraction efficiency and stability for monitoring of MDA in soil samples representative of the field-collected state with a wide-range of soil organic matter compositions. The extraction procedure described here may be considered as best-available methodology for soil samples which may contain polyurethane materials as known or unknown contaminants, as the possibility for thermally-mediated decomposition of the polyurethane to MDA is avoided. Even where this extraction method may not always produce 100 % recovery of MDA in some soils, the use of field-spiked surrogate and lab-spiked internal standards, along with methanol preservation of the samples in the field, will enable the practice of the previously published method within a very robust environmental monitoring method for soils. The optimized and validated methods presented here can be employed in conjunction with incremental sampling methodology (IMS) to implement a soil monitoring program which is targeted to specific research or regulatory needs. [22]

## 2.6 Acknowledgements

The authors acknowledge the Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en Sécurité du Travail (IRSST) for providing instrument support as well as the International Isocyanate Institute, Inc., which supported this research activity. The authors also want to thank Pr. L. Breau for the English correction.

This work was supported by the International Isocyanate Institute, Inc. under Grant number 621.

The research herein reported was performed under Agreement with the International Isocyanate Institute, Inc. Any conclusions are those of the author and not of the Institute.

## 2.7 References

- [1] B. Roberge, S. Aubin, C. Ostiguy, J. Lesage, Guide de prévention pour une utilisation sécuritaire des isocyanates. Démarche d'hygiène du travail. 2013.
- [2] Environment and Climate Change Canada/Health Canada., Environment and Climate Change Canada Screening Assessment for Methylenediphenyl Diisocyanates and Methelenediphenyl Diamines (CASRN 101-68-8; 2536-05-2; 5873-54-1; 9016-87-9; 26447-40-5; 101-77-9; 25214-70-4), 2017.
- [3] F. Degli-Innocenti, G. Bellia, M. Tosin, A. Kapanen, M. Itävaara, Polymer degradation and stability 73 (2001) 101.
- [4] International Agency for Research on Cancer (IARC). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of the chemicals to human, Some Chemicals Used in Plastics and Elastomers. 1986, pp. 347.
- [5] U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES Public Health Service of Agency for Toxic Substances and Disease Registry., TOXICOLOGICAL PROFILE FOR METHYLENEDIANILINE. 1998.

- [6] C. Brede, I. Skjevraak, H. Herikstad, *Journal of Chromatography A* 983 (2003) 35.
- [7] B. Azeem, K. KuShaari, Z.B. Man, A. Basit, T.H. Thanh, *Journal of controlled release* 181 (2014) 11.
- [8] L.S. Lee, A.K. Nyman, H. Li, M.C. Nyman, C. Jafvert, *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 16 (1997) 1575.
- [9] D.C. Allport, D.S. Gilbert, S.M. Outterside, *MDI and TDI: safety, health and the environment: a source book and practical guide*, John Wiley & Sons, 2003.
- [10] W.F. Cowen, A.M. Gastinger, C.E. Spanier, J.R. Buckel, R.E. Bailey, *Environmental science & technology* 32 (1998) 598.
- [11] T. Schupp, H. Allmendinger, C. Boegi, B.T. Bossuyt, B. Hidding, S. Shen, B. Tury, R.J. West, *The environmental behavior of methylene-4, 4' -dianiline*, Springer. 2018, pp. 91.
- [12] G. Behrendt, B.W. Naber, *J. Univ. Chem. Technol. Metall* 44 (2009) 3.
- [13] D. Simón, A. Borreguero, A. De Lucas, C. Gutierrez, J. Rodriguez, *Sustainable Polyurethanes: Chemical Recycling to Get It*, Springer. 2014, pp. 229.
- [14] CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., *Modes de conservation pour l'échantillonnage des sols*, Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs. 2013.
- [15] C. Gustafson, C. Tagesson, *Occupational and Environmental Medicine* 42 (1985) 591.

- [16] United States Environmental Protection Agency (EPA). Preparation of Soil Sampling Protocols: Sampling Techniques and Strategies (EPA/600/R-92/128). 1992.
- [17] C. Brunet, S. Aubin, S. Gagné, R. West, J. Lesage, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 41 (2018) 919.
- [18] CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC., Lignes directrices concernant les travaux analytiques en chimie, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 2018.
- [19] 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. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 2015, p. 9.
- [20] 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. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, 2014, p. 9.
- [21] G.E. Parris, *Environmental Science & Technology* 14 (1980) 1099.
- [22] INTERSTATE TECHNOLOGY AND REGULATORY COUNCIL., Incremental Sampling Methodology. INTERSTATE TECHNOLOGY AND REGULATORY COUNCIL., 2012.



## CHAPITRE III

### DISCUSSION

Dans ce chapitre, des résultats complémentaires obtenus en parallèle à l'implantation de méthodes de conservation, d'imprégnation, d'extraction et d'analyse plus robustes du MDA dans des matrices seront présentés. Les différentes analyses ont été réalisées de manière exploratoire afin de témoigner de la complexité des réactions entre la matrice de sol et le MDA.

#### 3.1 Méthode d'imprégnation du MDA dans le sol

Des méthodes existantes d'imprégnation du MDA dans le sol, étaient davantage réalisées en milieu anaérobique (Schupp *et al.*, 2018). Ici, aucune disposition atmosphérique particulière n'a été appliquée. Cependant le protocole d'imprégnation a été testé avec du méthanol et de l'eau. Le pourcentage de matière organique était connu pour chaque sol. À la suite de l'imprégnation et du séchage des échantillons, il a été possible de titrer à nouveau une portion de sols imprégnés. Ainsi, une différence de 2 % en moins de matière organique a été calculée pour le sol ayant été imprégné au MeOH. Dûe à cette baisse qui reflèterait une stérilisation partielle des fonctions du sol, on a donc choisi de réaliser l'imprégnation avec de l'eau.

### 3.2 Choix du standard interne et du surrogate

Afin de contribuer à la robustesse de la méthode, plusieurs standards internes ont été testés. À la base, dans la méthode de Brunet et al., le standard interne utilisé était le 4,4'-MDA-d<sub>8</sub> (Brunet *et al.*, 2018). Ce dernier, en présence d'un solvant comme le méthanol, réalise un échange d'hydrogène et devient ainsi 4,4'-MDA-d<sub>4</sub>. En présence d'une matrice de sol sa réaction avec le sol était semblable à celle du MDA lors de son ajout en équilibre de phase. C'est pourquoi, le 4,4'-MDA-d<sub>8</sub> semblait être un meilleur choix comme étalon de recouvrement (surrogate) plutôt qu'en tant que standard interne. Le choix d'un étalon de recouvrement pour suivre la progression du MDA lors de l'étape d'extraction et d'analyse a donc été fait. En contrepartie le 4,4'-MDA-<sup>13</sup>C<sup>15</sup>N<sub>2</sub> semblait être plus robuste face à la matrice de sol, c'est donc lui qui a été choisi comme standard interne et qui fut introduit après les éluions de SPE afin de corriger les variations dues à l'UPLC-MS/MS uniquement.

Étant donné que le standard interne et le surrogate n'ont qu'un seul Dalton de différence, les concentrations des deux produits ont été ajustées de façon à limiter la contribution du signal de l'un par rapport à l'autre (crosstalk).

### 3.3 Étude cinétique de la baisse de concentration de MDA dans les sols

Dans un premier temps, au fil de plusieurs extractions, la présence ou l'absence d'humidité a créé une différence au niveau de la quantité de MDA dosée dans un même sol, voir tableau 3.1. Étant donné que la rétention du MDA avec le sol est très importante, la quantité de MDA extraite correspond alors au MDA résiduel qui se retrouverait alors libre. Comme on peut l'illustrer sur la figure 2.1, certains des liens réversibles qu'effectue le MDA permettraient dans retrouver une portion « libre ».

Tableau 3.1 Extraction d'un sol sec, d'un sol sec + eau et d'un sol sec + eau + sulfate de sodium à l'aide du sol B prélevé en 2019.

	[MDA] (ng/mL) 1g sol sec	[MDA] (ng/mL) 1g sol sec + 100 uL d'eau	[MDA] (ng/mL) pour 1 g sol sec + 100 uL d'eau + sulfate de sodium
Moyenne (n=3)	4,217	7,476	7,636
Écart-type	0,162	1,15	0,986

Il s'avèrerait alors que lorsque le sol contient une certaine quantité d'eau lors de l'extraction, la quantité de MDA extraite est presque doublée. Un test de séchage du sol avec un peu de sulfate de sodium avant de procéder à l'extraction a également été réalisé. Mais les quantités de MDA dosées sont demeurées semblables à celle recueillie pour le sol humide.

Ensuite, il a donc fallu étudier si la variation de la quantité d'eau présente dans 1 g de sol pouvait influencer également la quantité de MDA extraite. Cette fois 1 g de sol en triplicata a été mis en contact avec 100, 300 ou 500  $\mu$ L d'eau. Les moyennes rapportées, dans le tableau 3.2 ont été calculées à partir d'un triplicata.

Tableau 3.2 Quantité de MDA extraite dans 1g de sol en contact avec différents volume d'eau.

moyenne [MDA] (ng/mL)	écart-type (ng/mL)	Volume d'eau ajouté à 1 g de sol
6,679	0,806	100 uL
6,599	0,408	300 uL
6,074	0,0851	500 uL

Il a donc été possible de démontrer que, quelque soit le volume d'eau en contact avec le sol, aucune différence de concentration de MDA extraite n'est observée.

Le type de séchage des sols après l'imprégnation du MDA est un paramètre à considérer car il a énormément d'influence sur la rétention du MDA dans le sol. Plusieurs essais ont été effectués pour tenter d'expliquer quels sont les paramètres qui interfèrent en priorité sur la rétention du MDA dans le sol. Premièrement 10 mg de sol naturel prélevé au cours de l'été 2019 et 10 mg de sol naturel collecté en hiver 2019 ont été imprégnés. Pour sécher les sols, deux échantillons de sols de chaque saison ont été mis à l'étuve et deux autres ont été entreposés dans des contenants en verre sur la

paillasse. Les sols ont ensuite été extraits et analysés. Les sols qui ont séché sur la paillasse contenaient alors moins de MDA au bout d'un mois que les sols ayant séché dans l'étuve à l'abri de la lumière. Une hypothèse a alors été émise selon laquelle le contenant de verre n'a pas permis de bloquer l'arrivée de la lumière. Il se peut donc que le MDA dans le sol ait pu être dégradé par la lumière du laboratoire. Il s'avère également que lorsque le sol imprégné de MDA est conservé à l'abri de la lumière et de la chaleur, il est possible d'observer une diminution de la concentration de MDA au fil du temps. Cela témoigne encore de l'aspect complexe des réactions pouvant avoir lieu entre le MDA et la matrice de sol.

Tableau 3.3 Diminution de la concentration de MDA dans un sol imprégné en contact avec 500  $\mu$ L d'eau et séché 36 jours dans l'étuve ou au réfrigérateur.

Jours	Temps (min)	[MDA] dans l'étuve (ng/mL) (n=3)	Écart-type des échantillons dans l'étuve (ng/mL)	[MDA] dans le réfrigérateur (ng/mL)	Écart-type des échantillons dans le réfrigérateur
0	0	6,249	0,275	7,149	2,91
1	1440	4,569	0,482	6,696	0,621
2	2880	4,264	0,482	6,435	0,137
7	10080	2,413	0,351	4,656	0,435
14	20160	1,573	0,378	4,150	1,29
16	23040	1,528	0,397	4,218	0,406
36	51840	1,065	0,064	1,290	0,098

Cette étude a été réalisée en disposant 1g de chaque sol en contact avec 500 $\mu$ L d'eau dans des éprouvettes. Deux catégories de séchage ont donc été appliquées durant 36

jours. Pour chaque type de séchage/jour les échantillons ont été réalisés en triplicata. Au jour 0, tous les sols ont été mis en contact avec 500  $\mu\text{L}$  d'eau, et les premiers triplicata ont directement été extraits. Durant les jours suivants, les sols ont été extraits puis analysés. Il a ainsi pu être observé que la quantité de MDA au fil des jours est de plus en plus petite. De plus, la quantité de MDA qui décroissait était plus rapide pour les échantillons ayant un séchage dans l'étuve.

Plusieurs hypothèses ont encore été soulevées de cette étude. Premièrement, si l'on compare les données obtenues par rapport à celles de West et al., il est possible de dire que l'activité bactérienne du sol pourrait jouer un rôle clé dans la baisse en concentration de MDA (Schupp *et al.*, 2018). En effet, lors de leur étude sur la cinétique du MDA, ils avaient utilisé un sol ayant été stérilisé auparavant. L'étude avait aussi été réalisée sous atmosphère anaérobique. Ici, aucune mesure anti-bactérienne ou atmosphérique n'a été prise. Le fait d'avoir séché le sol dans l'étuve à une température de 25°C comme un sol d'été a permis d'observer l'effet de l'activité bactérienne et de la décomposition de la matière organique qui est beaucoup plus rapide que dans l'autre sol séché à 4°C tel un sol d'hiver. En considérant une équation de pseudo premier ordre, tel que dans une précédente étude, la constante de vitesse évaluée pour le sol dans l'étuve est de 13 jours contre 26 jours pour le sol dans le réfrigérateur. (Schupp *et al.*, 2018). Deuxièmement, cette disparition du MDA laisse à croire à une possible dégradation de ce dernier.

### 3.4 Influence de la concentration des métaux du sol sur la rétention de MDA

Afin de connaître l'influence des métaux présents sur la rétention du MDA dans le sol, notre équipe a décidé d'utiliser la technique d'analyse d'ICP-OES de la méthode

MA.200 – Mét. 1.2 (CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, 2014).

L'échantillon de sol solide a donc été digéré et mis en solution afin qu'il soit nébulisé à travers un plasma d'argon. L'argon occupe ici plusieurs fonctions. D'une part l'argon qui circule dans la torche en quartz va favoriser la désolvatation de l'analyte jusqu'à son atomisation. Ensuite, dans la partie froide de la flamme, l'Argon ionique à 7500K effectue un transfert de charge aux métaux d'intérêts. Ces derniers en se relayant émettent un rayonnement qui sera alors capté par un réseau de diffraction. L'avantage de cette technique est sa sensibilité, à cause du temps de résidence des échantillons qui est plus long dans le plasma qu'en SEA (spectroscopie d'émission atomique) ou SAA (spectroscopie d'absorption atomique), et aussi grâce au fait que plusieurs métaux peuvent être analysés en même temps avec plusieurs longueurs d'onde différentes pour chacun (Rouessac *et al.*, 2004).

Les sols naturels, nommés sols A et B, prélevés à Saint-Donat à des périodes différentes, ont donc été analysés à l'ICP-OES. Le sol A qui contient environ 0,89% de matière organique est également majoritairement constitué de fer et d'aluminium (Tableau 3.4). Le sol B qui contient 2,45% de matière organique en été et près de 3,45% de matière organique en hiver est également majoritairement constitué de fer et d'aluminium (Tableau 3.5).

Tableau 3.4 Concentrations de métaux dans le sol naturel A collecté à l'été 2017.

Sol A collecté en été 2017	
Éléments	Concentration (ppm)
Fe	99,80
Al	47,94
Mg	8,931
K	3,480
Na	1,527
Mn	0,5681
Zn	0,2439
Cu	0,08841
pour n=3 avec des coefficients de variation variant de 4 à 15%	

Tableau 3.5 Concentrations de métaux dans le sol naturel B imprégné et non imprégné collectés à l'été 2017 et 2019.

	Sol B collecté en été 2017 non imprégné	Sol B collecté en été 2017 imprégné	Sol B collecté en été 2019 non imprégné	Sol B collecté en été 2019 imprégné
Éléments	Concentrations en ppm			
Fe	122,8	116,3	219,0	213,4
Al	61,19	54,43	88,99	80,35
Mg	7,659	6,583	12,59	14,57
K	2,748	2,164	2,643	2,506
Mn	1,596	1,538	3,616	3,699
Na	0,9400	0,7827	1,433	1,346
Zn	0,3159	0,2815	0,5219	0,7884
Cu	0,0975	0,0607	0,2661	0,2503
pour n=3 et des CV variant de 0,5 à 29%				

Plusieurs observations ont pu être soulevées. Premièrement, plus la quantité de matière organique était élevée, plus les métaux présents l'étaient aussi. Deuxièmement, seule la quantité de potassium ne semblait pas varier en fonction des saisons même des années et ne variait pas non plus dans un sol non contaminé, c'est à dire exempt de MDA. Afin de pouvoir évaluer les liaisons que le MDA et le sol pouvaient effectuer, les sols de chaque saison ont donc été analysés avec et sans imprégnation au MDA. De ce fait, en général, pour tous les éléments lorsque le sol était imprégné de MDA, la quantité de métaux diminuait. Cela peut sans doute être dû à des liaisons que le MDA pourrait avoir avec les métaux qui les rendraient alors moins disponibles lors de l'extraction. Ou alors, comme le suggérait Li et al., peut être que les réactions d'oxydoréduction dues à l'ajout du MDA ont pu induire de nouvelles réactions encore inconnues. Le MDA dépendrait donc de la quantité de matière organique présente dans le sol mais aussi de l'inorganique (Li, H. *et al.*, 2003).

En s'inspirant de l'article de Li et al., un balayage des échantillons de cinétique avec un TOF-MS a été réalisé afin d'évaluer les possibilités de dégradation du MDA (Li, H. *et al.*, 2003). Selon Li et al, lors de leur investigation avec trois amines imprégnés dans le sol, les auteurs se sont rendus compte que la présence de métaux dans le sol influe sur la rétention des amines dans le sol en fonction de leur oxydation/réduction. Les métaux induisent même une polymérisation pour certains amines.

Le TOF-MS est une technique ayant une meilleure résolution pour l'analyse des masses tel que le QqQ. C'est à dire qu'après que les ions aient été générés par une source d'ions positifs, les ions sont soumis à un champ électrique afin d'acquérir une certaine énergie cinétique dans une première partie du tube. Ensuite les ions se retrouvent dans le tube, sans champ électrique cette fois, et vont se diriger vers le détecteur grâce aux différences de potentiel appliqués autour du tube. Les plus légers auront un parcours

plus rapide et arriveront en premier, tandis que les plus lourds arriveront ensuite. Le « temps de vol » des ions correspond alors à leur  $m/z$ . Le choix du TOF-MS dans ce cas relève à la fois de sa vitesse d'acquisition, mais aussi de la possibilité de pouvoir avoir accès à une gamme de masse très étendue (jusqu'à 500000 Da)(de Hoffmann et Stroobant, 2005; Rockwood *et al.*, 2018).

Étant donné que le mode balayage est un peu plus sensible avec un TOF-MS qu'avec un QqQ, les échantillons de cinétique contenant de très faibles concentrations, ont pu révéler certains résultats. La quantification ayant été effectuée préalablement grâce au LC-MS/MS doté d'un QqQ, ici il s'agissait seulement d'observer des  $m/z$  différents de ceux que l'on connaît (IS, SS et analyte) et que l'on utilise pour le mode MRM.

Tableau 3.6 Les  $m/z$  des ions observées avec le TOF-MS pour trois échantillons de sol en contact avec des volumes d'eau différents.

échantillons	$m/z$ observés
1 g de sol sec + 100uL d'eau	155,1533 - 199,1218 - 230,3320 - 244,2032 - 254,1842
1 g de sol sec + 300uL d'eau	155,1533 - 199,1228 - 244,2021 - 254,1842
1 g de sol sec + 500uL d'eau	155,1533 - 199,1213 - 244,2015 - 254,1842

Dans le tableau précédent, seuls les premiers répliqués de chaque groupe de sol mis en contact avec différents volumes d'eau (100, 300 ou 500  $\mu\text{L}$ ) ont été analysés au TOF-MS (Tableau 3.6).

Pour les échantillons de sol en contact avec différents volume d'eau, il est possible de remarquer la présence du pic de  $[\text{MDA}+\text{H}^+]$  à 199 Da. Trois autres pics à 155, 244 et 254 Da étaient également présents dans les trois spectres. Cependant le pic à 155 Da semble le seul à avoir subi une baisse d'intensité à l'ajout d'un plus grand volume d'eau. Le plus remarquable fut cependant le pic à 230 Da. Ce dernier n'apparaît que dans le spectre du sol ayant été en contact avec 100  $\mu\text{L}$  d'eau.

Parmi les échantillons de cinétique, seuls les échantillons du premier jour ont fourni des données exploitables. Pour que certaines hypothèses puissent être émises, les deux premiers répliqués des deux catégories ont été analysés.

Tableau 3.7 Les m/z des ions observés avec le TOF-MS pour les deux premiers répliqués du Jour 0 de l'étude de cinétique.

Temps d'élution du pic (min) séchage à l'étuve	m/z observés séchage à l'étuve	Temps d'élution du pic (min) séchage au réfrigérateur	m/z observés séchage au réfrigérateur
6,93	230,2475 - 274,2734 - 318,2989	7,03	276,1950 - 290,2686 - 334,2950 - 362,3261
6,99	230,2474 - 274,2735 - 318,2996 - 334,2947 - 362,3250	6,93	230,2479 - 274,2732
7,03	290,2686 - 318,3001 - 362,3258	6,99	230,2476 - 274,2733 - 290,2684 - 318,2995 - 334,2948 - 362,3257
7,20	228,1948 - 288,2896	7,20	244,2631 - 272,2587 - 288,2895
5,26	182,1204 - 218,2108	5,25	174,1848 - 218,2107
5,37	234,2050 - 262,2370	5,37	234,2053 - 262,2369
6,18	202,2161 - 246,2423	6,18	202,2163 - 246,2424
7,70	258,2789 - 302,3053	7,70	258,2779 - 302,3053 - 346,3303

Le MDA n'a pas tendance à polymériser tel que le p-Methoxyaniline et le  $\alpha$ -Naphthylamine. Cependant il est possible d'observer que le pic de MDA s'est effectivement atténué au profit de l'apparition de plusieurs autres pics. Ces ions n'ont pu être identifiés, mais il est clair que le MDA s'est lié à d'autres substrats car tous les ions sont plus grands que l'ion 199 m/z. Il est aussi possible que le MDA ne se dégrade pas en plus petites molécules, mais qu'il reste toujours présent dans le sol dû à ses nombreuses liaisons. Dans les deux catégories de sols ont tout même beaucoup ions similaires. Cependant entre les différents temps d'élution des composés très peu d'ions étaient semblables (Tableau 3.7). La complexité de la matrice de sol est trop importante pour qu'une conclusion puisse être établie à l'aide des résultats obtenus dans cette partie.



## CONCLUSION

En conclusion, afin de répondre à l'objectif principal du projet de recherche, une méthode d'analyse pour la quantification du MDA dans les sols a été optimisée et développée. C'est-à-dire, premièrement grâce au développement d'une méthode d'imprégnation du sol. La méthode utilisée au préalable, celle du dopage en équilibre de phase n'était pas représentative des interactions directes du MDA et du sol. Il fallait attendre 14 jours avant que toutes les réactions aient lieu (réactions réversibles et irréversibles) pour que la concentration de MDA dans le sol puisse enfin se stabiliser. La nouvelle technique d'imprégnation du sol permet donc l'obtention d'un échantillon de sol plus réaliste où la concentration de MDA retenue dans le sol varie selon le pourcentage de matière organique présent. Deuxièmement, la distinction entre le rôle du nouveau standard interne (qui corrige les déviations dues à l'appareillage au moment de l'analyse) et de l'étalon de recouvrement (qui corrige les déviations au moment de l'extraction et de l'analyse), permet d'éviter les surcorrections de la concentration de MDA qui pouvaient avoir lieu lorsque les deux rôles étaient confondus. D'autre part, le temps d'élution a été déplacé afin de s'éloigner de la zone du volume mort de la colonne. La validation de la méthode a été complétée pour un domaine dynamique situé entre 0,5 et 25 ng/mL avec une LOD à 0,107 ng/mL et une LOQ à 0,358 ng/mL. Le pourcentage de récupération est maintenant à 82,02 % car des interactions directes ont lieu entre le MDA et le sol. La réplicabilité est à 4,28% et la répétabilité à 9,32 %. Cette nouvelle méthode, utilisant du sol imprégné, requerrait alors l'utilisation de nouvelles méthodes de conservation afin de pouvoir acheminer des échantillons de sol contaminé jusqu'au laboratoire lors d'un échantillonnage. Deux méthodes efficaces ont donc été validées. Soit par mélange 50 :50 de sol contaminé et non contaminé à l'état sec, soit

par immersion de ce même mélange dans du méthanol. Ces deux méthodes ont prouvé que les échantillons pouvaient être extraits et analysés entre le 1<sup>er</sup> jour jusqu'au 14<sup>ème</sup> jour de conservation.

Pour conclure, au niveau des objectifs secondaires, étant donné que les sols utilisés dans cette étape (voir chapitre III) sont les sols naturels non stérilisés, l'activité bactérienne y est encore présente. De ce fait, la concentration de MDA diminue au cours du temps. En imitant deux types de séchage d'un sol mouillé en hiver et en été, il fut possible d'observer que le MDA diminuait plus vite à haute température. Mais l'activité bactérienne n'est pas la seule influence exercée sur la concentration de MDA dans le sol. La teneur en eau dans le sol a démontré une augmentation de la quantité de MDA extractible. Les ions observés au TOF-MS pour des échantillons de sols ayant été en contact avec différents volume d'eau, ont démontré la présence de 4 ions similaires dans les trois échantillons et un ion supplémentaire a été observé dans l'échantillon contenant 100 µL d'eau. Cela pourrait donc être une information à prendre en compte pour les futures analyses. De plus, lors de l'analyse à l'ICP-OES de sols non imprégné et imprégné, une baisse de la disponibilité des métaux dans les sols contaminés est observée. En dernier lieu, nous avons tenté de mesurer la diminution de l'intensité du MDA au fil des jours a tenté d'être analysée à l'aide du TOF-MS afin d'émettre des hypothèses sur la possible dégradation ou les possibles formations de liens que le MDA pourrait faire avec le sol. La perspective de l'identification des différents ions observés est donc à prendre en considération.

## BIBLIOGRAPHIE

- Aiken, G. R., McKnight, D., Wershaw, R. L. et MacCarthy, P. (1985). An introduction to humic substances in soil, sediments, and water. *A Wiley-Interscience Publication*, 1-9.
- Aubin, S., Hamdi, E. M., Joly, A., Sarazin, P., Lesage, J., Breau, L., Gagné, S. (2020). On site comparison of the OSHA 42, Asset EZ4-NCO, Iso-Chek, DAN and CIP10 methods for measuring toluene diisocyanate (TDI) at a polyurethane foam factory. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 17(5), 207-219. doi: 10.1080/15459624.2020.1731518
- Behrendt, G. et Naber, B. W. (2009). The chemical recycling of polyurethanes. *J. Univ. Chem. Technol. Metall*, 44(1), 3-23.
- Brede, C., Skjevraak, 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(1-2), 35-42.
- Brunet, C., Aubin, S., Gagné, S., West, R. et Lesage, J. (2018). 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*, 41(15-16), 919-926.
- California Office Of Environmental Health and Hazard Assessment (OEHHA). (2001). *Determination of Non Cancer Chronic Reference Exposure Level*(Appendix 3)
- Castranova, V., Frazer, D. G., Manley, L. K. et Dey, R. D. (2002). Pulmonary alterations associated with inhalation of occupational and environmental irritants. *Int Immunopharmacol*, 2(2-3), 163-172. doi: 10.1016/s1567-5769(01)00169-2

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.  
(2013). *Modes de conservation pour l'échantillonnage des sols*(DR-09-02) :  
Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des  
Parcs.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.  
(2015). *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 : Ministère du Développement durable, de  
l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.  
(2014). *Détermination des métaux : méthode par spectrométrie de masse à  
source ionisante au plasma d'argon* MA. 200 – Mét 1.2, Rév. 5. Ministère du  
Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les  
changements climatiques du Québec : Ministère du Développement durable, de  
l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.  
(2018). *Lignes directrices concernant les travaux analytiques en chimie* DR-  
12-SCA-01. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la  
Lutte contre les changements climatiques : Ministère du Développement  
durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques.

CNESST. (2002). *Diisocyanate-4,4' de diphénylméthane (MDI)* : CNESST.

Cocker, J. (2007). Biological monitoring for isocyanates. *Occupational Medicine*,  
57(6), 391-393. doi: 10.1093/occmed/kql148

Cowen, W. F., Gastinger, A. M., Spanier, C. E., Buckel, J. R. et Bailey, R. E. (1996).  
*Sorption and microbial degradation of toluene diamines and methylene  
dianiline in soil under aerobic and anaerobic conditions* (III Report No.  
11230.).

Cowen, W. F., Gastinger, A. M., Spanier, C. E., Buckel, J. R. et Bailey, R. E. (1998).  
Sorption and microbial degradation of toluenediamines and methylenedianiline  
in soil under aerobic and anaerobic conditions. *Environmental science &  
technology*, 32(5), 598-603.

- de Hoffmann, E. et Stroobant, V. (2005). *Mass spectrometry; Spectrometrie de masse* (3e éd.).
- 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. *Polymer degradation and stability*, 73(1), 101-106.
- Elliott, N. M., Henry, M., Gardner, S. et Willis, K. (2018). Analysis of 4,4'-Methylenedianiline in Water-Based Migrations Without Sample Preparation Using LC/MS. *American Laboratory*.
- Environment and Climate Change Canada/Health Canada. (2017). *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)*.
- Hayes, M. H. B. (2009). Evolution of Concepts of Environmental Natural Nonliving Organic Matter. Dans *Biophysico - Chemical Processes Involving Natural Nonliving Organic Matter in Environmental Systems* (p. 1-39).
- Humbert, L. (2010). *Extraction en phase solide (SPE): théorie et applications, vol. 22*. EDP Sciences.
- INRS. (2017). *Base de données FICHES TOXICOLOGIQUES : 4,4'-diaminodiphénylméthane*.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (1986). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of the chemicals to human, Some Chemicals Used in Plastics and Elastomers, 39*,
- Knölker, H.-J., Braxmeier, T. et Schlechtingen, G. (1995). A Novel Method for the Synthesis of Isocyanates Under Mild Conditions. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 34(22), 2497-2500. doi: 10.1002/anie.199524971
- Kornejew, E. et Stoychev, V. (2010). Determination of carcinogen 4,4'-diamino diphenyl methane (MDA) in polyols derived from flexible polyurethane foam solvolysis by combination of SEC and GC/MS.

- Lara, J. et Vennes, M. (2002). *Guide pratique de protection respiratoire* : IRSST R-319.
- Lépine, M., Sleno, L., Lesage, J. et Gagné, S. (2020). A validated UPLC-MS/MS method for the determination of aliphatic and aromatic isocyanate exposure in human urine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412(3), 753-762. doi: 10.1007/s00216-019-02295-y
- Li, H., Lee, L. S., Schulze, D. G. et Guest, C. A. (2003). Role of soil manganese in the oxidation of aromatic amines. *Environmental science & technology*, 37(12), 2686-2693.
- 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. *Journal of Separation Science*, 41(4), 831-838. doi: 10.1002/jssc.201700980
- Maghni, K., Malo, J.-L. et Lemièrre, C. (2015). *Exposition à des agents pouvant causer l'asthme professionnel - Utilisation du test d'activation des basophiles pour l'identification précoce de la sensibilisation allergique chez les travailleurs.*
- MINISTÈRE DU DÉVELOPPEMENT DURABLE, DE L'ENVIRONNEMENT ET DES PARCS DU QUÉBEC,. (2009). *Guide d'échantillonnage à des fins d'analyses environnementales : Cahier 5 - Échantillonnage des sols*(Cahier 5) Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
- Parris, G. E. (1980). Covalent binding of aromatic amines to humates. 1. Reactions with carbonyls and quinones. *Environmental Science & Technology*, 14(9), 1099-1106.
- Reuzel, P. G. J., Arts, J. H. E., Lomax, L. G., Kuijpers, M. H. M., Kuper, C. F., Gemhardt, C., Löser, E. (1994). Chronic Inhalation Toxicity and Carcinogenicity Study of Respirable Polymeric Methylene Diphenyl Diisocyanate (Polymeric MDI) Aerosol in Rats1. *Toxicological Sciences*, 22(2), 195-210. doi: 10.1093/toxsci/22.2.195
- Roberge, B., Aubin, S., Ostiguy, C. et Lesage, J. (2013). *Guide de prévention pour une utilisation sécuritaire des isocyanates. Démarche d'hygiène du travail.*

- Rockwood, A. L., Kushnir, M. M. et Clarke, N. J. (2018). 2 - Mass Spectrometry. Dans N. Rifai, A. R. Horvath et C. T. Wittwer (dir.), *Principles and Applications of Clinical Mass Spectrometry* (p. 33-65). Elsevier.
- Rouessac, F., Rouessac, A. et Daniel, C. (2004). *Analyse chimique - Méthodes et techniques instrumentales modernes* (6e éd.) Dunod.
- Schupp, T., Allmendinger, H., Boegi, C., Bossuyt, B. T., Hidding, B., Shen, S., West, R. J. (2018). The environmental behavior of methylene-4, 4' -dianiline. Dans *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 246* (p. 91-132). Springer.
- Sendón, R., Bustos, J., Sánchez, J. J., Paseiro, P. et Cirugeda, M. E. (2010). Validation of a liquid chromatography–mass spectrometry method for determining the migration of primary aromatic amines from cooking utensils and its application to actual samples. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 27(1), 107-117. doi: 10.1080/02652030903225781
- Tian, J., An, H., Cheng, X., Zhao, X. et Wang, Y. (2015). Synthesis of 4, 4' -methylenedianiline catalyzed by SO<sub>3</sub>H-functionalized ionic liquids. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 54(31), 7571-7579.
- Tillotson, R., Crumplin, T. E., Jones, G. J., Marshall, G. et Dawson, J. (2019). Analysing for 4,4' -diaminodiphenylmethane in heritage collections containing solid and medium density flexible linear polyester polyurethanes using liquid chromatography/mass spectrometry. *Heritage Science*, 7(1), 49. doi: 10.1186/s40494-019-0290-x
- Ulrich, H. et Sayigh, A. A. R. (1966). Synthesis of Isocyanates and Carbodiimides. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 5(8), 704-712. doi: 10.1002/anie.196607041
- United States Environmental Protection Agency (EPA). (1992). *Preparation of Soil Sampling Protocols: Sampling Techniques and Strategies (EPA/600/R-92/128)*
- Wang, G., Li, K., Zou, W., Hu, A., Hu, C., Zhu, Y., Argyropoulos, J. (2015). Synthesis of HDI/IPDI hybrid isocyanurate and its application in polyurethane coating. *Progress in Organic Coatings*, 78, 225-233. doi: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2014.08.017>

WIPO. (2015). *METHOD OF FORMING AN ENCAPSULATED FERTILIZER* WO 2015/167988 A1. : INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT).

Yavuz, O., Valzacchi, S., Hoekstra, E. et Simoneau, C. (2016). Determination of primary aromatic amines in cold water extract of coloured paper napkin samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 33(6), 1072-1079. doi: 10.1080/19440049.2016.1184493