

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

ÉTUDE DE SURVEILLANCE BIOLOGIQUE DE L'EXPOSITION CHEZ LES
TRAVAILLEURS PULVÉRISANT DE LA MOUSSE ISOLANTE À BASE
D'ISOCYANATE DE TYPE MDI

MÉMOIRE
PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR
EVE SASSEVILLE

AVRIL 2022

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.04-2020). 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 concernent tout d'abord mon directeur de recherche, Professeur Jacques Lesage associé à l'Université du Québec à Montréal, pour m'avoir donné cette immense opportunité de faire mes preuves avec ce projet de recherche. Il a toujours cru en moi et m'a soutenu tout le long de la réalisation du projet. J'aimerais aussi remercier ma co-directrice, Professeure Lekha Sleno, associée à l'Université du Québec à Montréal, pour m'avoir accompagnée et dirigée malgré les difficultés pour faire avancer ce projet.

Mes remerciements s'adressent aussi à toute l'équipe de l'IRSST qui m'a permis de réaliser ce projet malgré les difficultés rencontrées avec la Covid-19. M. Éric Langlois, technicien de l'IRSST, qui m'a offert une formation et accompagné lors de la réalisation des expériences de laboratoire. M. Sébastien Gagné et M. Pierre-Luc Cloutier, professionnels scientifiques de l'IRSST, pour m'avoir conseillé et dirigé pour mener à bien ce projet. Mme Capucine Ouellet, professionnelle scientifique, de m'avoir accompagné dans mes démarches d'échantillonnage qui malheureusement n'ont jamais abouties.

Mes remerciements se concluent alors avec les membres de ma famille et mes amis, tout particulièrement Manon, Roger, Anne et mon amoureux Mehdi qui ont tout fait pour m'aider à traverser ces dernières années grâce à leurs nombreux encouragements et leurs soutiens. J'aimerais finir mes remerciements avec une grande amie et une femme extraordinaire qui m'a aidé à réaliser mes idées Maryline Bélanger Bouliga.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	I
TABLE DES MATIÈRES	II
LISTE DES FIGURE.....	IV
LISTE DES TABLEAUX	VII
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	VIII
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS	X
RÉSUMÉ	XI
CHAPITRE 1 : INTRODUCTION.....	1
1.1. Les isocyanates	1
1.2. La genèse des isocyanates	1
1.3. Le polyuréthane	2
1.3.1 Les différentes utilisations du polyuréthane	4
1.4. Toxicité des isocyanates	8
1.4.1 Effets aigus	9
1.4.2 Effets chroniques	9
1.4.3 Moyen de protection	10
1.5. Analyse spécifique pour le MDI dans l'air et dans l'urine	12
1.5.1 Analyse de l'air	12
1.5.2 Analyse toxicologique	15
1.6. Objectifs.....	21
CHAPITRE 2 : MÉTHODOLOGIE D'ÉVALUATION.....	23
2.1. Analyse de l'air	23
2.1.1 CIP10	23
2.1.2 Réactifs utilisés pour l'analyse	25
2.1.3 Technique utilisée pour analyser les échantillons d'air	25
2.1.4 Méthode d'analyse des échantillons d'air.....	26
2.2. Surveillance biologique.....	27
2.2.1 Technique d'analyse pour les échantillons biologiques	28
CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION	40
3.1. Calibration et vérification de la méthode d'analyse du MDI dans des échantillons d'air.....	40
3.2. Étalonnage de la méthode d'analyse du MDA dans des échantillons d'urine.....	42

3.3.	Aspect de contrôle des échantillons contaminés	46
3.3.1	Résultats des centrifugations	46
3.3.2	Centrifugation vs filtration	51
3.3.3	Désorption	52
3.4.	Dégradation	53
3.4.1	Résultats de l'analyse des deux types de PU A par extraction SPE dans des sols contaminés	53
3.4.2	Résultats de l'analyse des deux types de PU A par extraction liquide-liquide dans l'urine	54
3.4.3	Analyse qualitative des spectres IR du PU A	55
3.4.4	Résultats de l'analyse quantitative des variables de l'hydrolyse impactant	64
CHAPITRE 4 : CONCLUSION		66
CHAPITRE 5 : LIMITATIONS DE L'ÉTUDE		69
RÉFÉRENCES		72

LISTE DES FIGURE

Figure 1.1 : Structures de résonance du groupement d'isocyanate	1
Figure 1.2 Structure chimique du polyuréthane	3
Figure 1.3 : Synthèse du polyuréthane par polyaddition d'un isocyanate avec un polyol ..	3
Figure 1.4 : Structures des diisocyanates les plus communs à être utilisés comme monomère pour synthétiser le polyuréthane.....	3
Figure 1.5 : Schéma de principe de l'osmose directe (Alex, 2017)	5
Figure 1.6 : Schéma du phénomène de gel-dégel (Exo, 2019).....	6
Figure 1.7 : Image des différents polyuréthanes broyés et utilisés dans le cadre de ce projet de recherche; PU A, PU B, PU C et PU D	8
Figure 1.8 : Schématisation d'un filtre dans une cassette d'échantillonnage qui serait confronté à des particules de différentes tailles	13
Figure 1.9 : Schéma des différents appareils utilisés pour récupérer des échantillons d'air; A (barboteur), B (barboteur à embout fritté), C (cassette à filtre), D (barboteur à embout fritté couplé en série à une cassette à filtre) et E (ASSET TM EZ4-NCO) (Boutin, 2004; Puscasu, 2015)	14
Figure 1.10 : Cascade métabolique proposée à la suite de l'absorption des isocyanates (Lépine, 2019).....	17
Figure 1.11 : Mécanisme réactionnel d'une hydrolyse acide d'un amide secondaire (Nancy-metz, 2021).....	20
Figure 1.12 : Schéma du principe d'une extraction liquide-liquide où la phase organique est composée de toluène	21
Figure 2.1: Schéma du fonctionnement du CIP10 avec la force centrifuge (Arelco, 2003)	24
Figure 2.2 : Image des différentes parties mécaniques d'un CIP10-M (Arelco, 2003)....	24
Figure 2.3 : Réaction entre le MOPIP et le MDI pour créer un dérivé uréide dans le tributylphosphate (TBP).....	25
Figure 2.4 : Schématisation des différentes étapes afin d'extraire le MDA d'un échantillon d'urine	28

Figure 2.5 : Schéma de la fragmentation du MDA et de l'étalon interne à l'aide d'un MS en tandem, illustration des ions fragmentaires qui seront utilisés pour quantifier les concentrations en MDA dans les échantillons d'urine.....	29
Figure 2.6 : Réaction probable de lorsque le polyuréthane est soumis à des conditions d'hydrolyse acide	36
Figure 3.1 : Exemple de droite d'étalonnage obtenue lors de l'analyse des concentrations de MDI dans des échantillons d'air	41
Figure 3.2 : Compilation des chromatogrammes de chaque étalon utilisé pour élaborer la droite d'étalonnage de la figure 19. La longueur d'onde d'analyse était de 250 nm	41
Figure 3.3 : Exemple de droite d'étalonnage obtenue lors de l'analyse des échantillons d'urine (voir section 2.2.1.1.1.2) afin de quantifier les concentrations en MDA. (A) droite d'étalonnage élaborée à l'aide des 7 étalons présents dans le tableau 4 (B) droite obtenue montrant la variation des signaux de l'étalon interne (SI).....	43
Figure 3.4 : Exemple de chromatogrammes utilisés pour élaborer la droite d'étalonnage présent dans la figure 21	44
Figure 3.5 : Exemple de chromatogrammes (A) Échantillon réel provenant de l'analyse décrite à la section 2.2.1.1.1.2 (échantillon filtré à temps 0) (B) Exemple de signaux de l'étalon interne (SI) présent dans cet échantillon	45
Figure 3.6 : Graphique qui montre l'impact d'une centrifugation sur des échantillons de contrôle à une concentration connue en MDA.....	46
Figure 3.7 : Graphique à bande de l'analyse des échantillons d'urine contaminés par du PU A qui ont été soumis à une centrifugation, qui ont été non-centrifugés et qui ont été dilués et non-centrifugés	47
Figure 3.8 : Graphique à bande de l'analyse des échantillons d'urine contaminés par du PU B qui ont été soumis à une centrifugation, qui ont été non-centrifugés et qui ont été dilués et non-centrifugés	48
Figure 3.9 : Graphique à bande de l'analyse des échantillons d'urine contaminés par du PU C qui ont été soumis à une centrifugation, qui ont été non-centrifugés et qui ont été dilués et non-centrifugés	49
Figure 3.10 : Graphique à bande de l'analyse des échantillons d'urine contaminés par du PU D qui ont été soumis à une centrifugation, qui ont été non-centrifugés et qui ont été dilués et non-centrifugés	50
Figure 3.11 : Graphiques représentant la cinétique de désorption du polyuréthane A et du polyuréthane B dans une période d'analyse de 24h, ainsi que la comparaison graphique de l'efficacité de la filtration vs la centrifugation, ces essais ont été effectués en triplicata	53
Figure 3.12 : Spectre IR du diisocyanate de diphenylméthane (MDI) ainsi que sa structure moléculaire	56

Figure 3.13 : Spectre IR du 4,4'-diaminodiphénylméthane (MDA) ainsi que sa structure moléculaire.....	58
Figure 3.14 : Spectre IR du polyuréthane de type A après avoir subi une étape de lavage (voir section 2.2.1 pour voir les étapes de préparation) (PU A lavé) et celui brut (PU A brut).....	59
Figure 3.15 : Compilation des spectres IR du polyuréthane type A (PU A brut) soumis aux différents aspects d'une hydrolyse (chauffage à 100°C pendant 1 heure, milieu réactionnel acide avec agitation pendant 1 heure et finalement un mélange des deux).....	62
Figure 3.16 : Compilation des spectres IR du PU A brut (en rouge) ainsi que le PU A brut soumis à un milieu réactionnel acide et un chauffage à 100°C pendant 1 heure (en bleu).....	63

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1: Ensemble des différents types de polyuréthanes (A, B, C et D), ainsi que leur fonction industrielle et leur composition globale (Joly, 2019)	8
Tableau 2.1 : Tableaux des différentes concentrations en phase mobile afin de réaliser l'analyse par gradient dans un HPLC-MS/MS	29
Tableau 3.1 : Données récoltées lors de l'étalonnage de la méthode d'analyse du MDI dans des échantillons d'air à l'aide d'un HPLC-PDA	40
Tableau 3.2 : Compilation des données obtenues lors de l'élaboration d'une des nombreuses droites d'étalonnage utilisées pour ces expériences	42
Tableau 3.3 : Comparaison entre l'efficacité de la centrifugation et de la filtration en fonction du temps de contact (0, 1, 4, et 24 heures) des particules de polyuréthane dans l'urine.....	52
Tableau 3.4 : Comparaison entre le polyuréthane A avant lavage (PU A) et après lavage par la méthode d'analyse du MDA par SPE	54
Tableau 3.5 : Comparaison entre le PU A lavé et brut lors d'une analyse d'échantillons d'urine contaminés par extraction liquide/liquide	55
Tableau 3.6 : Compilation des résultats quantitatifs de l'analyse des filtrats lors de l'observation de l'impact des différents aspects d'une hydrolyse	65

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

ADN : Acide désoxyribonucléique

APR : appareil de protection respiratoire

CE : énergie de collision

CIP10: capteur individuel de polluant

CSST (CNESST) : Commission des normes de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail

CV : coefficient de variation

EPI : équipement de protection individuelle

ESI : ionisation par nébulisation électrostatique

FPC : facteur de protection caractéristique

FTIR : La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse

HDI : Diisocyanate d'hexaméthylène

HPLC-PDA : Chromatographie liquide à haute performance couplé à un détecteur UV à barrette de diodes

HSL: Health and Safety Laboratory

IBE : indice biologique d'exposition

IRSST : Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail

LC-FLD : Chromatographie en phase liquide couplé à un détecteur de fluorescence

LC-MS : Chromatographie en phase liquide couplé à un spectromètre de masse

LDM : limite de détection de la méthode

LQM : limite de quantification de la méthode

LL : Limite de linéarité

MDA : 4,4'-diaminodiphénylméthane

MDI : Diisocyanate de diphénylméthane

MOPIP: 1,2-methoxyphenylpiperazine

MRM: multiple reaction monitoring

NCI: negative chemical ionization

NIOSH: National Institute for Occupational Safety & Health

OSHA: Occupational Safety and Health Administration

PU : polyuréthane

RADS : Syndrome d'irritation bronchique

RMNH : Résonance magnétique nucléaire de l'hydrogène

SI : étalon interne

SPE : Extraction sur phase solide

TBP: tributylphosphate

TDA: Toluediamine

TDI : Diisocyanate de toluène

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

L/min : litre par minute

ng/mL, µg/mL, mg/mL : nanogramme, microgramme et milligramme par millilitre

rpm : rotation par minute

m/z : masse sur charge

L/h : litre par heure

µL, mL : microlitre, millilitre

V : volt

°C : degré Celsius

nM, µM, mM, M : nanomolaire, micromolaire, millimolaire, molaire

h : heure

mg : milligramme

nm, µm : nanomètre, micromètre

cm⁻¹ : nombre d'onde

ppb : partie par milliard

RÉSUMÉ

Les isocyanates sont présents dans le quotidien des gens. En effet, les isocyanates sont utilisés pour la production du polyuréthane qui sert de matériaux de base pour la production de différents produits. Le milieu de la construction fait un usage abondant de ces produits. Ainsi, l'étude de ces molécules devient intéressante puisque beaucoup de travailleurs y sont exposés. La molécule dont il est question dans ce mémoire est le 4,4-méthylène diphényle diisocyanate (MDI). Le MDI est utilisée comme monomère pour la fabrication du polyuréthane. Ainsi il existe des risques que cette molécule soit présente dans l'environnement du polyuréthane. Pour vérifier cette théorie, une analyse de l'air a été effectuée dans les milieux de travail de la construction à l'aide d'une technique d'échantillonnage par CIP10 et d'une analyse à l'aide d'un HPLC-PDA. En complément à cette analyse, il y a eu aussi une surveillance biologique de l'exposition qui a été effectuée. Pour ce faire, il a fallu considérer les concentrations en 4,4'-diaminodiphénylméthane (MDA), car le MDI est métabolisé en MDA et est extrait dans l'urine. Cet indice a donné une idée de l'exposition du travailleur au MDI en considérant toutes les voies d'exposition. Ainsi, il y a eu une analyse de l'exposition par voie respiratoire et une analyse par suivi biologique. La méthode choisie pour l'analyse du MDA dans l'urine était une méthode récemment développée qui a été validée en laboratoire, mais jamais sur le terrain. Un travail en laboratoire était nécessaire pour analyser les aspects externes de la méthode afin de vérifier la robustesse de la performance de la méthode avec des conditions extrêmes. La méthodologie était de contaminer des échantillons d'urine avec 4 types de polyuréthane différents pour voir si le MDA présent dans ses particules influençait les résultats de concentration en MDA présent dans la matrice d'urine. Ainsi, en ajoutant des particules de polyuréthane dans des échantillons d'urine vierge, il était possible de simuler une situation où le travailleur contamine son échantillon d'urine à cause de facteurs divers comme les mains souillées ou les vêtements de travail. Par la suite avec les échantillons contaminés, plusieurs pistes de réflexion ont guidé la suite du mémoire. En effet, la première hypothèse était de voir s'il était possible de contrôler les concentrations de MDA présent dans les urines. Le but étant de limiter les risques de fluctuation des concentrations en MDA dans les échantillons d'urine contaminés en les soumettant au préalable à une centrifugation. Par la suite, la technique de centrifugation a été comparée à une technique de filtration afin de voir les différences entre l'efficacité des deux méthodes. Pour finir, la méthode d'extraction du MDA dans l'urine utilise une réaction d'hydrolyse très agressive, ce qui a mené à l'hypothèse que la présence de particule de polyuréthane dans les échantillons d'urine pourrait fausser les résultats obtenus, car cette étape dégraderait les particules pour libérer du MDA dans la matrice analysée. Pour vérifier cette hypothèse, un protocole analytique visant à évaluer le potentiel de dégradation des polyuréthanes a été développé.

Mots-clés : isocyanates, polyuréthane, 4,4-méthylène diphényle diisocyanate, (MDI), CIP10, 4,4'-diaminodiphénylméthane (MDA)

CHAPITRE 1 :

INTRODUCTION

1.1. Les isocyanates

Les isocyanates sont des molécules hautement réactives qui sont constituées de groupements caractéristiques appelés cyanate. Ce groupe fonctionnel est composé : de trois atomes, un oxygène, un carbone et un azote. La particularité de ce groupement est sa réactivité, puisque l'azote forme une double liaison avec le C qui est quant à lui lié par une double liaison à l'oxygène pour former cette formule chimique $N=C=O$. De plus, ce groupement fonctionnel se présente en trois formes de résonance, ce qui facilite sa réactivité (voir figure 1.1).

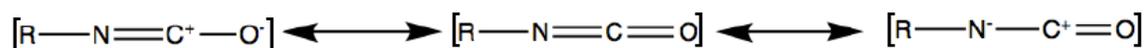


Figure 1.1 : Structures de résonance du groupement d'isocyanate

Il existe trois catégories d'isocyanate : ceux à une seule fonction NCO, appelés mono-isocyanate, ceux qui en ont deux, les diisocyanates et ceux qui possèdent plus de 3 fonctions isocyanates, les poly-isocyanates (Roberge et al., 2009). Dans ce mémoire, il sera question plutôt des diisocyanates.

1.2. La genèse des isocyanates

La synthèse des isocyanates a été étudiée au cours du 19^{ème} siècle, le premier chimiste qui a réussi à synthétiser cette molécule fut Wutz en 1848. En effet, il découvrit un procédé

de synthèse qui comprenait une alkylation à l'aide du cyanate de calcium et des esters organiques d'acide sulfurique. À la même époque, soit en 1844, Hentschel découvrit la possibilité de faire une phosgénation d'amine pour synthétiser des isocyanates. Suivant ses prédécesseurs, l'étude de cette molécule a mené le scientifique Otto Bayer à découvrir les premiers procédés de synthèse des diisocyanates ainsi que sa polymérisation par polyaddition (Poliuretanos, 2021). Cette découverte trouva une utilité aux isocyanates qui n'étaient jusqu'ici que des molécules qui suscitait la curiosité. En effet, monsieur Bayer découvrit qu'un isocyanate qui réagit avec un polyol donnait un polyuréthane aux propriétés fortes intéressantes pour différentes applications. Lors de sa découverte, ce type de matériaux était utilisé majoritairement en guise de revêtements, adhésif pour semelles de chaussure ou comme mousse isolante. C'est au courant de la Deuxième Guerre mondiale que le polyuréthane est devenu un matériau commun, mais surtout indispensable puisqu'il a été utilisé pour remplacer le caoutchouc qui était devenu un matériau très dispendieux et difficile à obtenir. Cependant, ce n'est qu'en 1980 que ce type de polymère connut une hausse de popularité puisqu'il sera utilisé dans le secteur des travaux de construction particulièrement pour l'isolation thermique des bâtiments. Différents dérivés du polyuréthane ont été exploités aussi exploités dans plusieurs milieux industriels, autres que la construction. En effet, ce type de polymère n'a pas fini de surprendre l'humanité (Delphine, 2020).

1.3. Le polyuréthane

Le polyuréthane est un polymère composé de liaisons carbamate (C=O) et d'amide (N-C=O) (voir figure 1.2). Pour le synthétiser, il faut passer par un processus de polymérisation par condensation incluant un polyol (HO-R-OH) et un diisocyanate (OCN-R-NCO). Lorsque mis en contact, les deux molécules réagissent ensemble et forment une liaison appelée uréthane qui devient le motif de répétition du polymère (voir figure 1.3). Il est aussi possible de voir un dégagement de dioxyde de carbone lié à la présence d'eau pendant l'hydrolyse de la fonction isocyanate. Ainsi, cette réaction est exothermique. Cependant, l'ajout de différents additifs produira des polyuréthanes aux propriétés variées allant d'une mousse souple et flexible au polyuréthane plutôt dur et fixe (Cottureau & Saint-Denis, 2017).

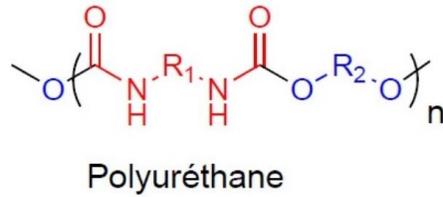


Figure 1.2 Structure chimique du polyuréthane

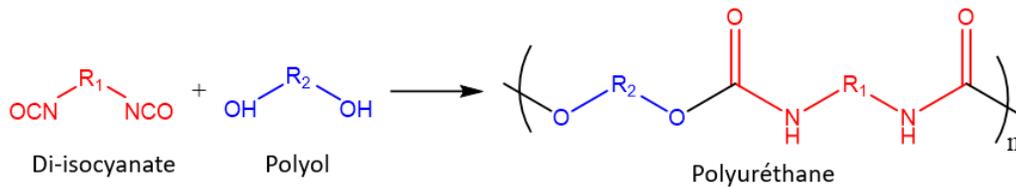


Figure 1.3 : Synthèse du polyuréthane par polyaddition d'un isocyanate avec un polyol

Les polyols utilisés pour cette synthèse ne sont pas définis, mais ce sont en général des produits dérivés du pétrole. Cependant, les diisocyanates les plus connus pour ce type de polymérisation sont le diisocyanate de diphénylméthane (MDI), de toluène (TDI) et d'hexaméthylène (HDI) (voir figure 1.4). Il existe des diisocyanates de type linéaire et aromatique. Comme le montre la figure 1.4 le HDI est plutôt un type de diisocyanate linéaire alors que le MDI et le TDI sont de type aromatique dû à la présence d'unité benzénique au centre de la molécule (Cocker, 2007).

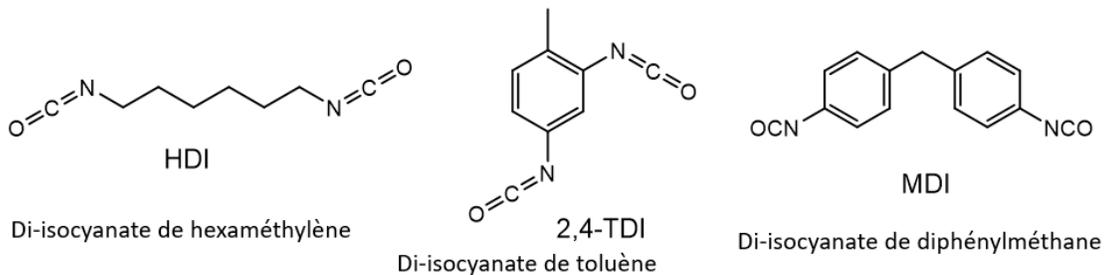


Figure 1.4 : Structures des diisocyanates les plus communs à être utilisés comme monomère pour synthétiser le polyuréthane

1.3.1 Les différentes utilisations du polyuréthane

Si ce matériau est si populaire, c'est surtout grâce à son application par pulvérisation qui séduit les entrepreneurs. Dans ce mémoire le terme PU désigne le polyuréthane. Bien que le polyuréthane soit utilisé pour l'isolation, il peut aussi être utilisé à d'autres fins. Il peut servir de vecteur pour fertiliser des sols (PU A) ou comme stabilisateur pour des sables meubles et le sol autour des structures de béton (PU B). En outre, il peut être utilisé pour obtenir des surfaces coussinées pour des meubles de toutes utilisations (PU C). Cependant, le PU est surtout connu pour être le matériau utilisé pour l'isolation de bâtiments (PU D) (voir tableau 1.1).

Utilisation du polyuréthane comme vecteur de fertilisation des sols (PU A)

Dans ce mémoire, le terme PU A va désigner le type de polyuréthane utilisé pour aider à la fertilisation des sols. En effet, il existe des granules d'engrais qui sont recouvertes d'une fine couche de polyuréthane et qui permettent de contrôler l'apport en nutriment dans les sols. Ce revêtement en polyuréthane utilise le principe d'osmose afin de réguler et de ralentir la distribution des nutriments (Alex, 2017). Cette technique est simple, elle consiste à séparer deux milieux aqueux de différente concentration par une membrane (voir figure 1.5). Lorsque l'osmose est directe, ceci sous-entend que les molécules de solvant vont passer d'un milieu dilué à un milieu concentré afin de dissoudre les nutriments. Ainsi les nutriments seront emportés par l'eau présente dans le sol pour alimenter la végétation.

Schéma de principe de l'osmose directe
 [d'après <http://www.ederna.com/oi-od>]

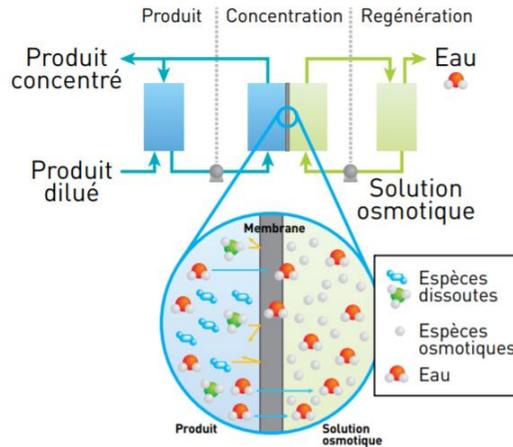
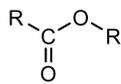


Figure 1.5 : Schéma de principe de l'osmose directe (Alex, 2017)

Cette technique permet d'éviter les pertes dues à une activité microbienne ou à l'humidité. Ainsi, l'efficacité de l'engrais est augmentée et chaque granule a une durée de vie augmentée. La libération des nutriments se fait tout au long du cycle de croissance des plantes, ce qui permet une alimentation précise et prévisible pendant plusieurs mois (Nutri-lawn, 2021). Le type de PU désigné par la lettre « A » provient d'une source inconnue. Cependant, la source à affirmer que ce polyuréthane est composé d'un mélange de polyuréthane, de polyéther (présence de liaison C-O-R) et de polyester



(présence de liaison $\text{C} = \text{O}$) d'un ratio de 50 :50. En général, les coquilles de PU sont de fine particule de diamètre plus petit que 3 mm. La composition générale de ce polyuréthane en particulier sera intéressante pour la suite du mémoire.

Utilisation du polyuréthane pour stabiliser les sols (PU B)

Dans ce mémoire, le terme PU B sera utilisé pour désigner le type de polyuréthane qui est utilisé pour stabiliser les sols. En effet, l'utilisation de polyuréthane pour stabiliser les sols meubles d'un terrain est une pratique répandue. Le principe est simple, il consiste à

injecter du polyuréthane qui en prenant de l'expansion va remplir les cavités des sols et donc renforcer celui-ci. Cette technique est couramment utilisée dans l'industrie minière afin de solidifier les tunnels de forage. Étant donné que ce type d'activité cause des vibrations sévères, l'utilisation du polyuréthane est de mise pour renforcer les structures souterraines afin qu'il résiste aux secousses (SIKA, 2015). Ainsi, le sol devient imperméable et les risques d'effondrement sont minimisés. De plus, cette technique permet de limiter les impacts dus à la sécheresse et d'éviter les affaissements de dalles de béton qui se retrouvent au-dessus du sol. Elle permet de stabiliser, niveler et redresser les surfaces bétonnières d'une résidence. Cette technique permet aussi d'égaliser et de structurer les sols, ce qui diminue les effets néfastes engendrés par les différentes températures du Québec, comme le gel-dégel qui cause beaucoup de problèmes de structure (Samson, 2020). Ce phénomène est problématique puisque l'eau présente dans le sol va geler et donc prendre de l'expansion. Lorsque l'eau va dégeler, elle va perdre de volume et causer des cavités qui fragilisent le sol (Exo, 2019) (voir figure 1.6). En injectant le polyuréthane dans le sol, le sol va devenir plus imperméable et les zones humides seront diminuées de volume, ce qui va limiter les endroits où l'eau va s'accumuler pour créer une cavité lorsqu'elle sera gelée. Pour ce type de polymère la source est encore inconnue cependant elle affirme que le polymère désigné par la lettre « B » serait un mélange de polyuréthane à base de MDI et de polyéther de faible densité.

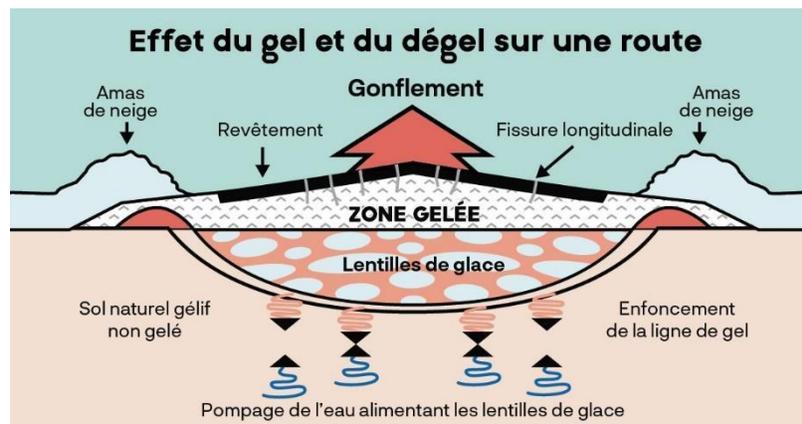


Figure 1.6 : Schéma du phénomène de gel-dégel (Exo, 2019)

Utilisation du polyuréthane pour les revêtements coussinés (PU C)

Le polyuréthane de type C désigne le polymère utilisé pour les surfaces coussinées. En effet, le polyuréthane peut être utilisée comme matériau de rembourrage pour les matelas, les sièges de voiture ou les canapés. La possibilité d'avoir un polyuréthane de faible densité rend l'utilisation de celui-ci intéressante puisqu'elle donne du confort à des surfaces plus dures. En effet, un matelas en polyuréthane est confortable grâce à sa faible densité qui ramollit le matériau pour offrir une surface agréable pour dormir. De plus, le polyuréthane est reconnu pour être un polymère élastomère qui permet donc de reprendre sa forme initiale lorsqu'il n'y a plus de pression exercée. De plus, ce matériau est économique, ainsi il est priorisé pour les meubles à bon marché afin d'offrir un confort égal à son coût (MFC, 2021). La source du polyuréthane désigné par la lettre « C » est inconnue cependant elle affirme que ce polyuréthane serait un mélange de 60 :40 de polyuréthane de MDI avec du polyéther, du polyester et des polyols.

Utilisation du polyuréthane pour l'isolation de bâtiment (PU D)

Le PU D est le terme utilisé pour identifier le polyuréthane qui sert pour l'isolation de bâtiment. Ce polyuréthane est principalement un liquide appliqué en jet et lorsqu'il entre en contact avec l'air va gonfler pour offrir une isolation parfaite. Ce matériau est intéressant pour l'isolation grâce à ses propriétés hydrofuges qui rendent une surface imperméable. De plus, le polyuréthane à des propriétés d'isolant thermique ce qui lui permet de garder la chaleur dans le bâtiment sans laisser passer l'air froid. Le polyuréthane utilisé dans le domaine de la construction permet aussi d'offrir une isolation acoustique et une résistance thermique optimale (Isotrie, 2021). Le polyuréthane utilisé dans le domaine de la construction est généralement plus complexe. En effet, même si la source du polymère désigner par la lettre « D » est inconnue, elle affirme que ce polymère serait un mélange de polyuréthane de MDI, de polyols, de polyéthers avec des agents gonflants d'hydrocarbures.

Tableau 1.1: Ensemble des différents types de polyuréthanes (A, B, C et D), ainsi que leur fonction industrielle et leur composition globale (Joly, 2019)

Lettres associées	Utilisation de chaque PU	Structure de chaque PU
A	Revêtement de fertilisant	À base de mélange 50 :50 de polyether et polyester (< 3 mm diamètre de coquilles, fines)
B	Mousse de pulvérisation à 2 composants (Stabilisation du sol)	p-MDI + polyéther densité d'environ 4lb/ft ³ coupé ~ < 1 cm x 1 cm x 1 cm
C	Mousse flexible à base de MDI	60 : 40 de mélange de pMDI/MDI avec polyéther/polyester polyols coupé ~ < 1 cm x 1 cm x 1 cm
D	Mousse de pulvérisation à 1 composant (Scellant/isolation domestique)	Prépolymère de pMDI avec polyols de polyéther + MDI avec agents gonflants d'hydrocarbure coupé ~ < 2 cm x 2 cm x 2 cm



Figure 1.7 : Image des différents polyuréthanes broyés et utilisés dans le cadre de ce projet de recherche; PU A, PU B, PU C et PU D

1.4. Toxicité des isocyanates

Étant donné que le polyuréthane est synthétisé avec des monomères qui contiennent des groupements d'isocyanate, il devient important de s'intéresser à la toxicité connue de ce type de molécule. En effet, lorsque le polyuréthane est soumis à une température élevée (de 100 à 200°C)(Boutin, 2004), une décomposition de celui-ci est observable. Elle cause de fines particules qui contiennent des isocyanates dangereux pour l'être humain; ces molécules formées sont des produits hautement réactifs et instables. Ce type de

comportement amène des dangers aigus et chroniques en fonction de l'exposition du travailleur (Roberge et al., 2013).

1.4.1 Effets aigus

Lorsqu'un travailleur est exposé aux isocyanates, il peut ressentir des effets aigus indésirables comme une irritation des muqueuses, des yeux, des voies respiratoires, de la voie digestive ainsi que de l'épiderme. En effet, les voies d'entrées des isocyanates ne sont pas qu'aériennes, mais une exposition cutanée et gastro-intestinale peut aussi causer des effets indésirables. L'irritation de la peau peut devenir une situation assez grave lorsque celle-ci devient une brûlure au 3^e degré. En effet, les isocyanates lorsqu'ils entrent en contact avec la peau peuvent entraîner une dermatite de contact allergique. En général, le corps réagit au contact des isocyanates en déclenchant le processus allergique dû au fait que ces molécules peuvent se lier aux protéines. Les vapeurs et les aérosols qui contiennent des isocyanates peuvent amener une réaction au niveau des orbites oculaires en déclenchant un réflexe de larmoiement, une sensation de brûlure et pouvant aller jusqu'à une conjonctivite. Les irritations des voies respiratoires et de la voie digestive peuvent causer des brûlures au niveau de la gorge et un écoulement nasal. Si les expositions aux isocyanates sont fréquentes et à de grandes concentrations, elles peuvent entraîner une irritation des bronches qui se manifeste par le syndrome d'irritation bronchique (RADS), une irritation des alvéoles et un œdème pulmonaire (CNESST, 2022).

1.4.2 Effets chroniques

Lors d'une exposition à long terme, cette molécule peut causer des effets irréversibles comme l'alvéolite et l'asthme professionnel. L'alvéolite d'hypersensibilité est une réaction inflammatoire des bronchioles terminales et des alvéoles qui est déclenchée par un mécanisme allergique suivant l'inhalation d'isocyanates. Celle-ci conduit à des symptômes de type grippal comme la fatigue, les douleurs articulaires, la fièvre, les

malaises, la toux, les essoufflements, les frissons et les douleurs musculaires. Pour ce qui est de l'asthme professionnel, cette maladie est causée par une inflammation des bronches. Elle se présente en trois mécanismes distincts qui contribuent à diminuer le diamètre des bronches. Le premier consiste à un œdème, soit une enflure de la paroi des bronches. Le deuxième est une contraction des muscles bronchiques et le troisième est une sécrétion de mucus au centre des bronches. Ces trois mécanismes de réactions physiques à l'exposition en continue aux isocyanates causent un rétrécissement qui nuit au passage de l'air, surtout durant la phase expiratoire de la respiration. Souvent, la voie de pénétration connue de ce type de polymère est aérienne dû à son procédé d'application. En effet, les travailleurs qui utilisent ce matériau doivent faire une application par pulvérisation, ce qui cause des microgouttelettes et une exposition aérienne aux isocyanates. Cependant, il ne faut pas sous-estimer l'exposition cutanée qui est la deuxième voie de pénétration la plus dangereuse (Roberge et al., 2013). Il existe trois phases dans le développement d'une hypersensibilité asthmatique lors d'une exposition à long terme aux isocyanates ; la phase d'induction, la phase de latence et la phase de la symptomatologie asthmatique. La première phase se situe entre le début de l'exposition et le début des modifications du système respiratoire, elle est asymptomatique. Elle est suivie de la phase deux, soit celle de latence, qui est la période entre les modifications biologiques réversibles et irréversibles. Cette phase est aussi asymptomatique cependant elle cause une sensibilisation à l'agent. Pour finir, la dernière phase, celle de la symptomatologie asthmatique, est la phase où le travailleur présente des difficultés respiratoires importantes et un besoin de consulter un médecin. Lorsque le travailleur développe cette maladie, il devient difficile pour lui de travailler dans un milieu qui ne contient que de fine présence d'isocyanates sans avoir de la difficulté à respirer. Cette réaction est réaction allergique.(CNESST, 2022)

1.4.3 Moyen de protection

Étant une molécule très dangereuse pour l'être humain, une évaluation de l'équipement de protection individuel (EPI) a été réalisée par plusieurs organismes connus, dont IRSST, NIOSH et OSHA (CSST, 2000). Cette étude a révélé que l'appareil de protection optimal pour travailler avec les isocyanates était un masque plein visage à adduction d'air. En

effet, le facteur de protection caractéristique (FPC) donne une indication sur le niveau de protection que doit fournir l'EPI en fonction de la concentration présente dans le milieu de travail. Selon NIOSH, lorsque la concentration d'exposition est inférieure à 0,05 ppm le FPC de l'équipement de protection est de 10 ou plus. Cependant, au Québec, il est recommandé d'utiliser un appareil de protection respiratoire (APR) à adduction d'air avec possibilité de protection oculaire s'il y a risque d'irritation. Lorsque le FPC est égale ou inférieur à 10, il est acceptable d'utiliser un masque à cartouche. Si les concentrations d'exposition sont plutôt de l'ordre de 0,125 ppm (FPC =25), il faut absolument utiliser un APR à adduction d'air à débit continu et avec protection oculaire s'il y a risque d'irritation. Si l'exposition est plutôt près de 0,25 ppm (FPC=50), il est recommandé de prioriser l'utilisation d'un APR autonome avec un masque complet ou un APR à adduction d'air avec un masque complet. Pour finir, si l'exposition est entre 0,25 et 1 ppm (FPC=2000), il est important d'utiliser un APR à adduction d'air à suppression avec un masque complet ou tout autre appareil à pression positive. Donc les appareils respiratoires à cartouche sont fortement déconseillés par ces organismes (IRSST, 2015; Roberge et al., 2013).

Pour plus de confort, plusieurs équipements de protection sont à la disposition des travailleurs (CSST, 2000). Il existe des équipements de protection individuelle (EPI) afin de protéger chaque partie du corps d'un employé autre que le visage. Pour accompagner l'appareil respiratoire à adduction d'air, il existe des tenues vestimentaires protectrices qui sont jetables communément appeler « couvre-tout » qui sont des vêtements adaptés qui recouvre entièrement le corps humain de la tête jusqu'au pied. Elles sont principalement composées de polypropylène enduit de polyéthylène et munies d'un capuchon afin d'apporter une protection optimale. D'autres EPI existent pour protéger les extrémités du corps humain, soit les mains et les pieds. Ainsi, il est possible d'accompagner le tout avec des gants de protection et des bottes de travail avec embout d'acier. Il existe plusieurs types de matériaux permettant d'offrir une protection optimale des mains. Le matériau dépend du type de travail qui doit être effectué. Ainsi, il existe des gants en butyle, Viton et multicouche de polyéthylène, alcool de vinyle et d'éthylène (PE/EVAL/PE). De plus, dépendamment de la durée et le type d'activité, les gants de néoprène et de PVC peuvent offrir une protection efficace. Pour ce qui est des gants de nitrile, ils ne sont principalement pas recommandés surtout lors d'une exposition au TDI. En contrepartie, ils peuvent être utilisés lorsque la personne travaille avec le MDI, mais il doivent être changés régulièrement (Pichette, 2019; Roberge et al., 2013).

1.5. Analyse spécifique pour le MDI dans l'air et dans l'urine

Étant donné la toxicité liée à l'exposition aux isocyanates, il devient intéressant d'évaluer l'exposition des travailleurs aux diisocyanates. En effet, les travailleurs peuvent être exposés à des quantités dangereuses de ceux-ci. Il existe deux types de voies de pénétration les plus efficaces, soit aériens et cutanés. Dans ce projet, l'exposition au MDI sera le centre d'intérêt. En effet, les études précédentes ont établi des normes d'exposition liées à l'exposition au MDI. Ainsi, la valeur d'indice biologique d'exposition (IBE) est de 50 nM de MDA et elle correspond à la valeur de la norme de 5 ppb de MDI dans l'air qui représente la norme québécoise (IRSST, 2022). Ainsi plusieurs méthodes existent afin d'évaluer l'exposition des travailleurs au MDI. En effet, la surveillance biologique est une méthode pour faire un suivi de l'exposition au MDI en quantifiant les concentrations de son métabolite ; le MDA. En ajout à cette technique, un échantillonnage de l'air ambiant des milieux de travail sera effectué. Ainsi, la combinaison de ces deux techniques a pour but de faire une évaluation entre l'exposition au MDI dans l'air versus l'efficacité des EPI respiratoire et cutanée.

1.5.1 Analyse de l'air

Étant une substance hautement toxique, plusieurs techniques d'analyse ont été développées afin de quantifier l'exposition aux isocyanates due à l'application du polyuréthane. Une surveillance environnementale peut être faite à l'aide d'échantillons d'air. Ainsi, plusieurs techniques d'échantillonnage d'air ont été testées comme les barboteurs et les cassettes à filtre. En effet, même si ces techniques sont fréquemment utilisées, elles présentent plusieurs inconvénients.

Par exemple, les barboteurs coniques sont réputés pour récolter des échantillons d'aérosol à l'aide d'un solvant de récupération. Cette méthode permet de récolter des échantillons avec des particules supérieures à 2 µm de diamètre. Afin d'augmenter l'efficacité de ceux-ci, il est possible d'utiliser des barboteurs frittés qui offrent un meilleur contact solvant-air et donc une qualité d'échantillonnage supérieure. Malheureusement, cette modification ne permet pas d'augmenter l'intervalle de diamètre des particules

récupérées ce qui nuit à la récolte d'échantillons puisque les aérosols, soit les particules inférieures à 2 μm , ne sont pas récoltés par les barboteurs (Puscasu et al., 2015).

Une autre technique d'échantillonnage, soit la cassette à filtre, peut être utilisée. Cette technique est une méthode dite « sèche » qui n'utilise aucun récipient avec des solvants. En effet, la cassette à filtre consiste à utiliser un filtre imprégné d'un stabilisateur pour permettre de stabiliser le MDI sur les filtres. Ainsi cette technique permet d'éviter une utilisation de solvant qui pourrait être toxique pour le travailleur. Cependant, cette méthode permet de capturer efficacement que les particules inférieures à 10 μm puisqu'à des diamètres plus gros l'accessibilité au réactif de dérivation par NCO du MDI est limitée (voir figure 1.8).

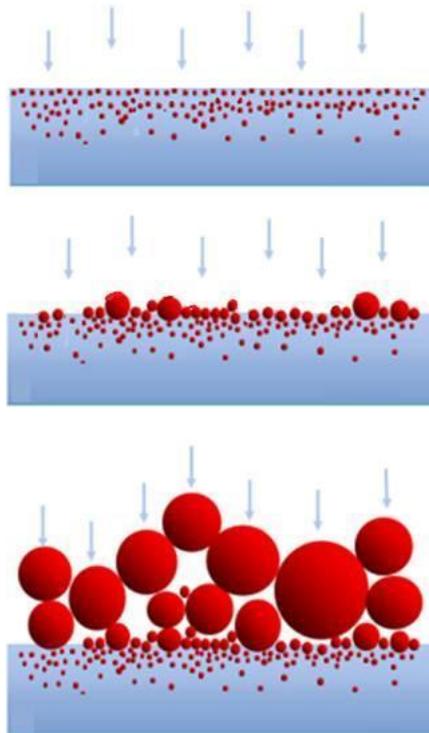


Figure 1.8 : Schématisation d'un filtre dans une cassette d'échantillonnage qui serait confronté à des particules de différentes tailles

En résumé, la meilleure des méthodes serait de coupler la méthode par barboteur avec celle des cassettes à filtre. Cependant, même avec cette idée de couplage, il reste une problématique importante, soit la manière d'échantillonner. En effet, la technique du barboteur implique un solvant volatil, comme le toluène, qui est une source de danger

pour le travailleur. Cette méthode reste encombrante et risque de nuire à leur travail. Ces techniques sont réalisées à des débits d'environ 1 L/min.

Enfin, une autre technique existe et offre une efficacité semblable à la cassette à filtre couplé à un barboteur, le ASSET™ EZ4-NCO. Ce dispositif est constitué d'un petit tube de polymère ayant une paroi interne recouvert d'un filtre. Ainsi, son utilisation est simple et peu encombrante. Cependant, le filtre devient vite saturé et le débit moyen d'échantillonnage n'est que de 0,2 L/min, ce qui reste très faible pour l'échantillonnage des aérosols.(Puscasu, 2015)

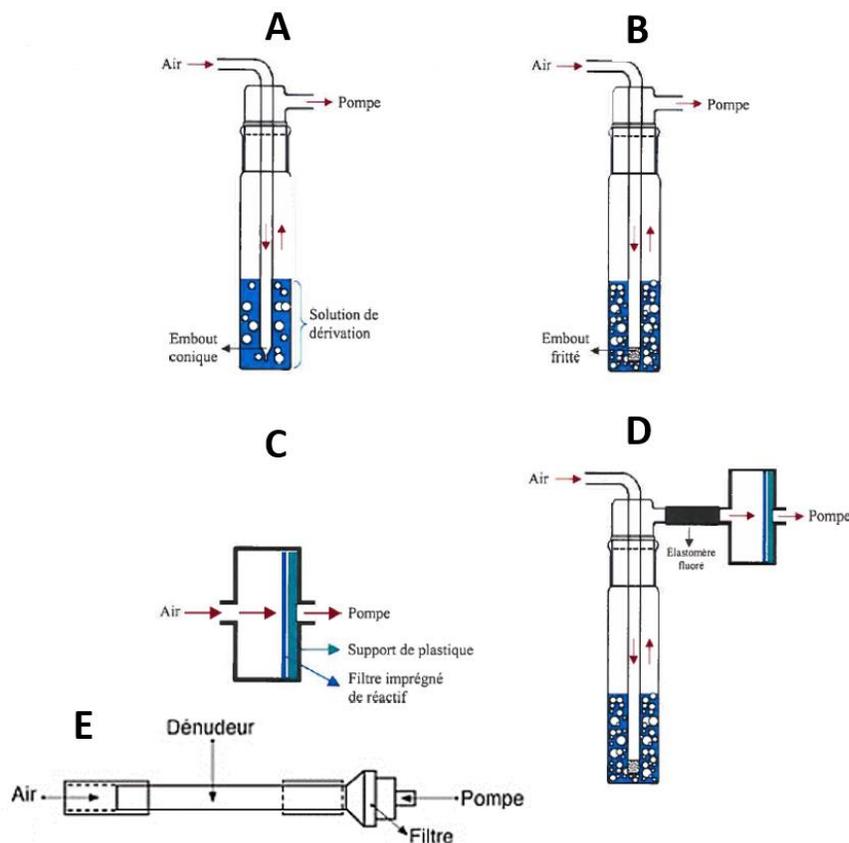


Figure 1.9 : Schéma des différents appareils utilisés pour récupérer des échantillons d'air; A (barboteur), B (barboteur à embout fritté), C (cassette à filtre), D (barboteur à embout fritté couplé en série à une cassette à filtre) et E (ASSET™EZ4-NCO) (Boutin, 2004; Puscasu, 2015)

N'étant pas les techniques idéales pour échantillonner en milieu de travail, il existe une autre technique qui utilise un petit appareil électronique, le CIP10. Elle permet d'échantillonner sans être dérangerant pour le travailleur (Puscasu et al., 2014). Suivant

les différentes méthodes d'échantillonnage qui existent pour obtenir des échantillons d'air, il devient intéressant d'utiliser un CIP10 pour l'évaluation de l'exposition. En effet, cet appareil est réputé pour être petit et silencieux. Il a été conçu à la base pour échantillonner des poussières à l'aide d'un filtre de polyuréthane. Cependant, il existe une alternative développée pour les contaminants microbactériens. En effet, le CIP 10-M est un CIP10 modifié qui, au lieu d'utiliser un filtre de polymère, utilise une coupelle de métal où il est possible d'y insérer un solvant. Ainsi, cette technique permet de récupérer toutes les particules polluantes indépendamment de leur diamètre. De plus, cet appareil offre une autonomie de batterie de 40 heures ce qui permet de réaliser un échantillonnage constant pendant de longue durée à un débit de 10 L/min, ce qui est idéal pour évaluer une exposition dans le cadre d'un quart de travail.

1.5.2 Analyse toxicologique

Par la suite, il faut vérifier le niveau d'exposition au MDI des différents travailleurs. Pour ce faire, ce sont les concentrations de MDA qui seront quantifiées puisque le MDI lorsqu'il entre en contact avec le corps humain est métabolisé en MDA, soit la forme hydrolysée du MDI.

Pour comprendre la conversion du MDI en MDA lorsqu'il entre en contact avec le corps humain, il faut tout d'abord comprendre ce que le corps fait lorsqu'il est en présence d'une substance toxique. En effet, lorsqu'un contaminant entre dans le système du corps humain, celui-ci subit une biotransformation afin de rendre la molécule inactive avant son élimination dans les fluides biologiques, notamment l'urine. Cette action se fait principalement à l'aide du foie qui est l'organe de prédilection pour métaboliser des substances toxiques. Ainsi, le foie va effectuer plusieurs biotransformations sur la substance pour la rendre hydrophile et donc être excrétée dans l'urine.(J. Greg Slatter, 1991)

Il existe deux phases de biotransformation, soit la phase I et la phase II. La phase I regroupe les réactions d'hydrolyse, d'oxydation et de réduction. Ces modifications de groupes fonctionnels ont pour but de rendre la molécule plus polaire facilitant son élimination. Par la suite, une molécule lorsqu'elle subit une biotransformation de phase I

peut aussi subir une transformation de phase II. La phase II regroupe les réactions de conjugaison avec des groupements polaires comme la glutathion et/ou acétyle. Bien que ces changements métaboliques aient pour but de rendre une substance moins toxique, il arrive que la molécule intermédiaire devienne plus toxique et se lie à des protéines provoquant de la cytotoxicité ou qu'elle se lie à ADN et être génotoxique (J. Greg Slatter, 1991). Ainsi, les isocyanates étant des molécules très réactives et instables vont se métaboliser rapidement à la suite de leur absorption. Étant transformés dans l'organisme, ils peuvent former des dérivés causant des effets cytotoxiques et génotoxiques. Lors de leur absorption, les isocyanates vont circuler par voies sanguines pour être hydrolysés *in vivo* en amine libre correspondant aux diamines (DFG, 2015). De plus, différents adduits peuvent également se former dans le plasma incluant des adduits avec l'hémoglobine ainsi que l'albumine. Les adduits d'hémoglobine sont formés à la suite d'une réaction intermédiaire d'oxydation de la forme diamine des diisocyanates. Tandis que les adduits d'albumine sont directement formés à partir des molécules d'isocyanates retrouvés dans le plasma. Ainsi, il est possible de quantifier les concentrations en MDA présent dans les différents fluides corporels (European Commission, 2005; Sennbro et al., 2006; Sepai et al., 1995). De plus, les isocyanates et leurs métabolites peuvent former des adduits avec l'ADN (Bolognesi et al., 2001; Sabbioni et al., 2010). En général, les isocyanates et leurs formes diamines peuvent également être métabolisés sous forme conjuguée à des macromolécules telles que des glycoprotéines, des protéines et des glutathions (Sepai et al., 1995). En effet, l'absorption rapide des isocyanates dans l'organisme augmenterait les chances que la réaction de conjugaison avec le groupement thiol du glutathion soit la biotransformation de prédominance permettant la formation d'isocyanate doublement conjugué au glutathion (adduits-bis-GS) (Pauluhn et al., 2006; Reisser et al., 2002). La présence d'intermédiaires mono- et di-acétylé est également observable avec les formes diamines des isocyanates (Bolognesi et al., 2001; Gledhill et al., 2005; Sepai et al., 1995). Ce sont les métabolites acétylés et conjugués de faible poids moléculaire qui sont finalement éliminés dans l'urine (Bhandari et al., 2016; Sennbro et al., 2006). Malgré toutes les informations qui ont été compilées à l'aide d'expériences sur les rats, il reste difficile d'obtenir un chemin précis des voies métaboliques des isocyanates (voir figure 1.10). Cependant, il est possible de conclure que la forme diamine des isocyanates est présente dans l'urine. Ainsi, il est possible de quantifier la présence de MDA qui est fortement liée à la présence de MDI dans l'organisme humain.

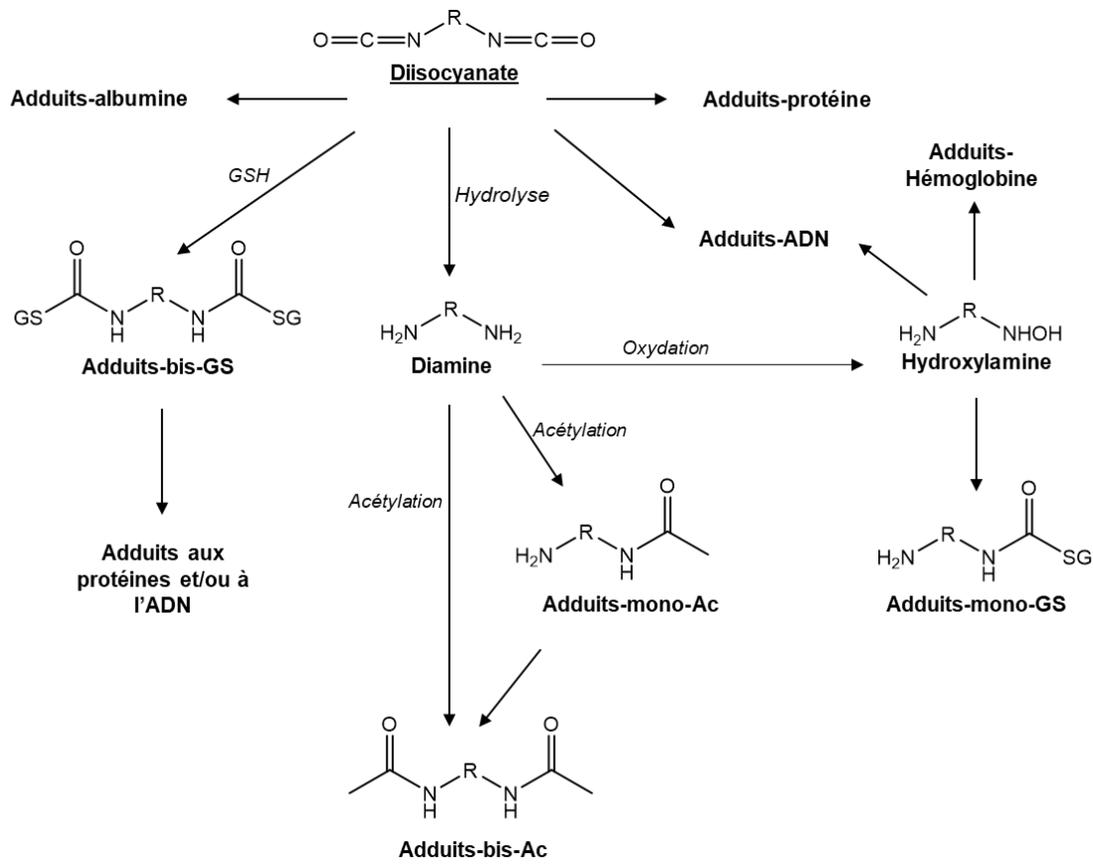


Figure 1.10 : Cascade métabolique proposée à la suite de l'absorption des isocyanates (Lépine, 2019)

Différentes techniques d'analyses biologiques

Il existe des techniques analytiques qui utilisent des échantillons de sang et/ou d'urine. Dépendamment du type de matériel biologique avec lequel l'analyse sera faite, ceci va jouer un rôle sur le type d'appareil analytique qui sera choisi. En effet, il existe des techniques d'analyses utilisant une chromatographie en phase gazeuse ou liquide. Ce choix dépend aussi du type d'extraction choisi pour isoler l'analyte. En effet, il existe des techniques d'extraction soit liquide-liquide ou par extraction sur phase solide (SPE). Ainsi, il est possible de quantifier les concentrations en MDA ce qui va donner une indication sur l'exposition du travailleur au MDI.

Cocker *et al.* de l'institut *Health and Safety Laboratory* (HSL) furent les premiers chercheurs à développer une méthode d'analyse du MDA dans l'urine. Cette méthode a été publiée en 1986 et elle consiste à une analyse chromatographique gazeuse couplée à un spectre de masse (GC-MS) avec une source d'ionisation NCI (negative chemical ionization). De plus, elle implique une hydrolyse basique de 60 minutes afin de libérer le MDA présent dans l'urine, suivie d'une extraction liquide-liquide par diéthyl éther afin d'isoler le MDA, pour finir par une étape de dérivation. Afin que le MDA puisse être analysé par GC-MS, il est nécessaire de passer par une étape de dérivation (Cocker *et al.*, 1986). Suivant l'exemple du groupe de recherche de Cocker *et al.*, le groupe de recherche de Skarping *et al.* développèrent par la suite une méthode d'analyse utilisant plutôt la chromatographie liquide couplée à un spectre de masse en tandem (LC-MS/MS) (Skarping *et al.*, 1994). Cette méthode a été utilisée quelques années plus tard afin d'effectuer une surveillance biologique de plusieurs diisocyanates incluant les isomères de TDI, HDI et MDI dans une même analyse (Marand *et al.*, 2004). Cette méthode utilise plutôt une hydrolyse acide afin de retrouver les métabolites présents dans l'urine qui correspondent à leur isocyanate respective. Par la suite, l'analyse comprend une extraction liquide-liquide à l'aide de toluène suivi d'une dérivation nécessitant une étape d'extraction supplémentaire afin de retirer l'excédent de réactif. Cette méthode a pour but l'analyse du MDI et elle comprend une hydrolyse de 16 heures afin d'analyser le MDA dans les urines. Depuis, le milieu de recherche a évolué et ce n'est qu'en 2002 que Sakai *et al.* a développé une méthode qui consistait à évaluer la présence du TDA dans l'urine des travailleurs sans l'étape de dérivation (Sakai *et al.*, 2002). Cette méthode a été optimisée afin de réduire le temps d'hydrolyse acide à 90 minutes. Elle est suivie d'une extraction liquide-liquide à l'aide de dichlorométhane. Les échantillons sont par la suite analysés par LC-MS.

Récemment, deux nouvelles méthodes ont été développées par le groupe de recherche de Bhandari *et al.* L'une des méthodes date de 2016, elle décrit d'avantage l'analyse des diisocyanates aromatiques (Bhandari *et al.*, 2016). Alors que l'autre méthode datant de 2018 concerne l'analyse des isocyanates aliphatiques. Les deux méthodes utilisent une extraction sur phase solide (SPE) et une hydrolyse acide d'une durée de 4 heures afin d'obtenir les métabolites d'intérêt. Les deux méthodes finissent par une analyse par LC-MS. En 2019, le groupe de recherche de Sun *et al.* a développé une méthode d'analyse des biomarqueurs d'exposition au MDI et des isomères de TDI par chromatographie liquide couplée à une détectrice de fluorescence (LC-FLD) (Sun *et al.*, 2019). Leur

méthode utilise le même protocole de préparation pour leur échantillon que celle de Bhandari *et al.* de 2016. Cependant, une étape de dérivation est ajoutée afin d'ajouter un chromophore fluorescent dans le but que les biomarqueurs soient analysés par un détecteur à fluorescence.

Malheureusement, les méthodes rapportées dans le précédent paragraphe comportent des aspects qui nécessitent une optimisation. Que ce soit au niveau du temps de l'analyse ou de la technique utilisée pour l'analyse, il reste d'autres pistes à explorer afin d'obtenir la méthode convenable. En effet, les méthodes vues précédemment comportaient des temps d'hydrolyse allant de 1 heure à 16 heures, ce qui reste très long. Il est certain que ce temps d'hydrolyse est justifié puisqu'il est important de s'assurer que les métabolites d'intérêt ont le temps de s'isoler de la matrice d'urine. Cependant, la technique utilisée dans notre étude ne comporte pas un temps d'hydrolyse aussi élevé que 16 heures. D'autre part, ces méthodes ont pour la plupart besoin d'étapes de préparation supplémentaires comme une dérivation et une extraction. Lors d'une préparation d'échantillon, il est préférable de limiter le nombre d'étapes de préparation d'un échantillon afin de limiter les risques de contamination et d'erreur. Ainsi, la méthode développée par l'IRSST comble toutes les attentes. En effet, la méthode développée est simple et ne comporte qu'une étape d'hydrolyse de seulement 1 heure et aucune autre étape de dérivation (Lépine *et al.*, 2018). De plus, cette méthode utilise une technique de signaux MRM qui demeure une technique de spectrométrie de masse en tandem très efficace pour quantifier une molécule en particulier avec une sensibilité et une résolution exceptionnelle.

Fonctionnement d'une hydrolyse

Afin d'isoler les molécules de MDA de sa matrice d'urine, il faut procéder à une hydrolyse (Lépine *et al.*, 2018). En effet, l'hydrolyse permet de transformer tous les métabolites des isocyanates en sa forme la plus simple soit la diamine correspondante. Suivant la figure 1.11, en faisant l'hydrolyse acide de l'urine, il est possible de cliver toutes les liaisons NCO d'amide secondaire présent dans les métabolites afin de libérer le MDA et de pouvoir l'isoler pour l'analyser par la suite. Cette étape est cruciale dans une analyse quantitative

de métabolite puisqu'elle permet que chaque espèce provenant du métabolisme des isocyanates puisse se retrouver dans une forme facilement analysable comme dans ce cas-ci une diamine. Une hydrolyse consiste à soumettre un échantillon à des conditions acide ou de basique extrêmes afin de cliver des liaisons covalentes de faible énergie à l'aide d'un excès d'ion hydronium (H_3O^+) (Aquaportail, 2010) (voir figure 1.11). Ainsi, les liaisons NCO d'amide secondaire présent dans les différents métabolites sont facilement clivables par hydrolyse afin d'obtenir une amine (Nancy-metz, 2021).

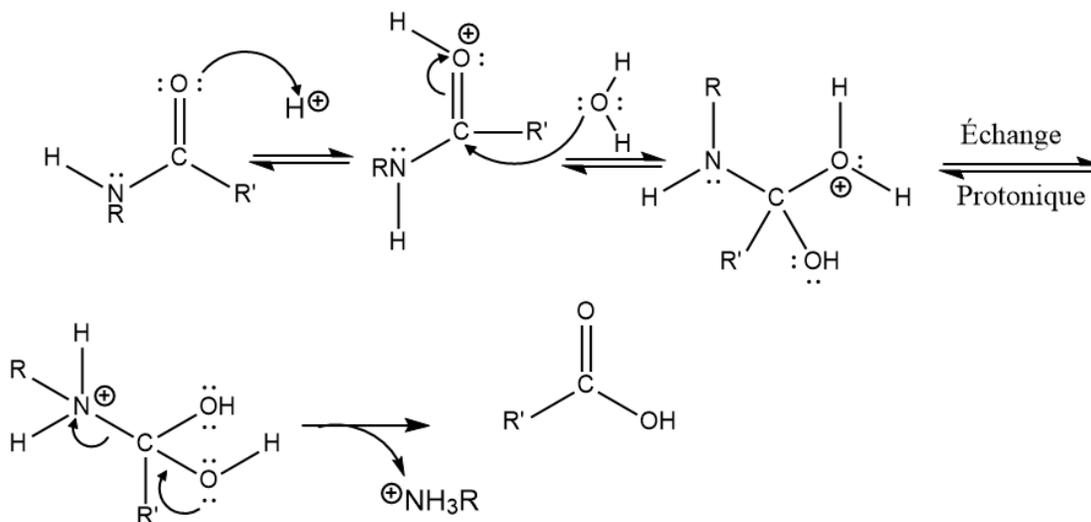


Figure 1.11 : Mécanisme réactionnel d'une hydrolyse acide d'un amide secondaire (Nancy-metz, 2021)

Principe d'une extraction liquide-liquide

Comme vu précédemment, il existe plusieurs techniques d'extraction; soit à l'aide d'un solvant (liquide/liquide) ou à l'aide d'une colonnette avec une phase solide (SPE). L'extraction est primordiale dans ce type d'expérience, car elle permet d'isoler le composé d'intérêt pour faciliter son analyse et éliminer toute forme d'interférence due à un effet de matrice quelconque. La méthode choisie utilise le principe d'extraction liquide-liquide. En effet, après avoir fait subir à l'échantillon une étape d'hydrolyse acide, il faut neutraliser le milieu pour enlever l'affinité de l'eau avec l'ion ammonium (NH_3^+) (Abe et al., 2010). D'une part, l'ion ammonium est le résultat d'une amine qui s'ionise grâce à la présence d'un

surplus d'ions hydronium. Ainsi, la présence d'acide dans le milieu aqueux augmente l'affinité de l'amine correspondant avec l'eau. En neutralisant le milieu acide à l'aide d'un surplus d'ions hydroxyde, l'ion ammonium revient à sa forme neutre, soit amine. D'autre part, les amines aromatiques n'auront pas une grande affinité avec l'eau, et lorsque le solvant organique, ici le toluène, sera ajouté au milieu réactionnel neutralisé, l'amine aura tendance à se mouvoir vers la phase organique. En résumé, l'amine sera donc extraite de la phase aqueuse vers la phase organique pour ensuite être évaporée et analysée (Abe et al., 2010). Dans ce cas précis, la phase organique sera au-dessus de la phase aqueuse car le toluène est de plus faible densité, soit $0,867 \text{ g/cm}^3$ en comparaison à l'eau $0,997 \text{ g/cm}^3$ mesuré à 20°C (voir figure 1.12). (Pubchem, 2021a, 2021b)



Figure 1.12 : Schéma du principe d'une extraction liquide-liquide où la phase organique est composée de toluène

1.6. Objectifs

Dans ce projet de recherche, le but était de réaliser une analyse environnementale en parallèle avec une analyse toxicologique dans le but d'établir une corrélation entre les différentes voies d'exposition au MDI. En effet, en faisant une analyse de l'exposition environnementale, il sera possible de quantifier la concentration en MDI présent dans les milieux de travail. En complément, l'analyse d'échantillons d'urine permettra de faire un suivi biologique de l'exposition à celui-ci. Lors de l'interprétation des résultats il sera donc possible de vérifier la corrélation entre la présence du MDI dans l'environnement de travail

et la présence du MDA dans l'urine ce qui va possiblement indiquer si le travailleur est bien protégé lors de l'utilisation de produit contenant des traces de MDI. Cependant, les concentrations de MDA trouvées dans l'urine ne seront pas exactement égales à celles avec lesquelles le travailleur a été exposé. En effet, lorsque le MDI est absorbé par le corps humain, il se transforme en plusieurs métabolites. En revanche, tous les métabolites provenant d'une exposition aux isocyanates ne se retrouvent pas uniquement dans l'urine. Effectivement, il est possible que certains métabolites vus précédemment (voir figure 10) se retrouvent plutôt dans le sang ou bio-accumulés dans le corps humain sans être excrétés. Ainsi cette donnée n'est pas prise en compte lorsque l'analyse du MDA est réalisé empêchant de tirer des conclusions hâtives. Elles permettent cependant d'obtenir une bonne estimation sur l'efficacité des moyens de protection des travailleurs. En parallèle à ce projet, une étude du contrôle de la contamination des échantillons a été effectuée. En effet, la méthode utilisée pour l'évaluation des concentrations en MDA dans l'urine est une méthode qui a été évaluée en laboratoire à l'aide de paramètres analytiques. En effet, la méthode a démontré une très bonne performance dans les contrôles de qualité interlaboratoire suivant le programme allemand G-EQUAS (Lépine et al., 2018). Cependant, la méthode n'a jamais été testée sur le terrain et donc plusieurs aspects externes restent à étudier. En effet, lors de l'échantillonnage d'urine, il n'est pas impossible que l'échantillon puisse se faire contaminer par de fines particules de polyuréthane. Ainsi, un protocole a été développé dans le but d'évaluer des techniques qui permettraient de mieux contrôler la possibilité de contamination externe des échantillons d'urine.

Pour finir, une étude de la dégradation du polyuréthane a été effectuée. En effet, lors de la préparation de l'analyse des échantillons d'urine, la présence de particule de PU pourrait fausser les résultats en se dégradant lors du procédé d'hydrolyse. Ce procédé utilise des acides concentrés qui ont de fortes chances de dégrader le PU et donner du MDA supplémentaire. Pour vérifier cette hypothèse, plusieurs analyses seront effectuées suivant une méthode d'extraction sur phase solide (SPE) du MDA présent dans le sol ainsi qu'une étude par spectre FTIR.

CHAPITRE 2 :

MÉTHODOLOGIE D'ÉVALUATION

2.1. Analyse de l'air

Suivant les différentes méthodes d'échantillonnage qui existent pour obtenir des échantillons d'air, il devient intéressant d'utiliser un CIP10 pour l'évaluation de l'exposition dans l'air. En effet, cet appareil est réputé pour être petit et silencieux. Il a été conçu à la base pour échantillonner des poussières à l'aide d'un filtre de polyuréthane. Cependant, il existe une alternative développée pour les contaminants microbactériens. En effet, le CIP 10-M est un CIP10 modifié qui, au lieu d'utiliser un filtre de polymère, utilise une coupelle de métal où on peut y insérer un solvant. Ainsi, cette technique permet de récupérer toutes les particules polluantes indépendamment de leur diamètre. Ainsi, la méthode d'échantillonnage dont il sera question dans ce mémoire sera la méthode par CIP10-M. Celle-ci a été choisie puisqu'elle est simple et efficace. De plus, elle permet de faire des analyses de l'air ambiant en poste personnel sans gêner les travailleurs grâce à son mode d'emploi.

2.1.1 CIP10

Le CIP10 (Capteur individuel de polluant) est un petit appareil à batterie qui utilise la force centrifuge pour récupérer les particules dans l'air (voir figure 2.1). Son fonctionnement est simple, pour l'activer il suffit d'un aimant et la turbine va se mettre en marche. Son autonomie de batterie permet d'échantillonner pendant 40h à un débit de 10L/min. Plus le débit est élevé, meilleure est la sensibilité de la méthode pour un même temps

d'échantillonnage. En effet, un débit aussi grand permet d'avoir des échantillons plus représentatifs des faibles concentrations en MDI dans l'air puisqu'un plus grand volume d'air est échantillonné. De plus, la coupelle en métal permet d'y insérer un solvant accompagné de son dérivé afin de stabiliser rapidement le MDI puisque c'est un produit très réactif. Contrairement à l'usage du toluène pour les barboteurs qui est un solvant volatile qui produit des vapeurs toxiques pour les travailleurs, le CIP10-M permet d'utiliser un solvant non volatile comme le tributylphosphate pour récupérer l'échantillon d'air.

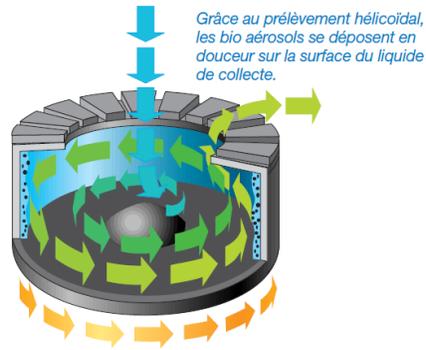


Figure 2.1: Schéma du fonctionnement du CIP10 avec la force centrifuge (Arelco, 2003)



Figure 2.2 : Image des différentes parties mécaniques d'un CIP10-M (Arelco, 2003)

2.1.2 Réactifs utilisés pour l'analyse

Afin de récupérer l'analyte avec du CIP-10, l'utilisation d'un solvant est nécessaire. De récentes études ont dévoilé que le meilleur solvant à utiliser pour la récupération du MDI ambiant était le TPB (Tributylphosphate) (Puscasu et al., 2014). En effet, il est préférable d'utiliser un solvant non volatil puisque le CIP10 est utilisé en poste personnel. Ainsi il est recommandé d'éviter l'évaporation du solvant et les vapeurs toxiques qui pourraient provenir du solvant de récupération présent dans l'appareil. Cependant, l'échantillonnage du MDI n'est pas une tâche facile puisque cette molécule est très réactive. Ainsi il faut lui offrir un milieu stabilisant. Avec l'ajout d'une petite quantité de réactif MOPIP (1,2-methoxyphenylpiperazine) dans le solvant de récupération, il est possible de dériver et donc de stabiliser les molécules de MDI récupérées (voir figure 2.3). De plus, cette étape permet d'analyser le MDI par UV puisque la réaction du MDI avec le MOPIP crée une fonction uréide augmentant le signal de détection de l'analyte en UV à 250 nm.

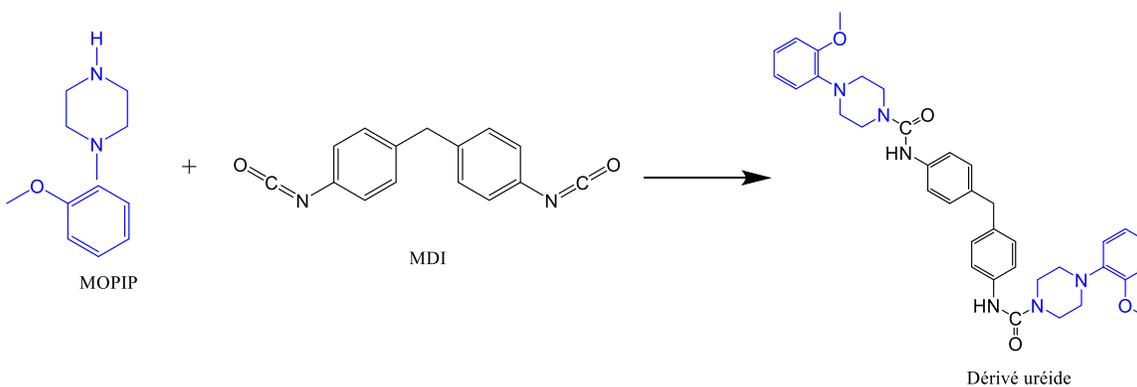


Figure 2.3 : Réaction entre le MOPIP et le MDI pour créer un dérivé uréide dans le tributylphosphate (TBP)

2.1.3 Technique utilisée pour analyser les échantillons d'air

La méthode choisie pour l'analyse est une méthode qui a été développée en 2014 et utilisée dans le cadre d'autres projets d'IRSST afin d'obtenir des concentrations en monomère (MDI, TDI et HDI) présent dans les milieux de travail (Puscasu et al., 2014).

Ainsi, cette méthode a déjà été passablement testée sur le terrain et validée pour soutenir son efficacité à répondre au besoin du projet en cours. Aucun autre protocole d'évaluation supplémentaire n'a été mis en place dans cette étude. De plus, cette méthode d'échantillonnage est très intéressante puisqu'elle permet d'analyser les échantillons bruts, soit en évitant qu'il y ait plusieurs étapes de préparation d'échantillons, hormis l'ajout d'une dilution 1 :9 (échantillon/Acétonitrile) et une filtration sur filtre 0,2 µm à l'aide d'une seringue. Ainsi, il y a moins de risque de contamination et de perte d'échantillon lors de l'analyse de ceux-ci. Étant une technique rapide, elle permet l'analyse de plusieurs échantillons simultanément. La stabilité du MDI dans le TBP quant à elle permet de conserver les échantillons environ 6 semaines avant l'analyse si ces derniers sont réfrigérés à 4°C (IRSST, 2019a).

2.1.4 Méthode d'analyse des échantillons d'air

La méthode analytique pour évaluer la contamination en MDI dans l'air ambiant utilise une chromatographie liquide couplée à un réseau de photodiode (PDA). L'appareil HPLC-PDA est un Agilent series 1290 (Puscasu et al., 2014). La chromatographie est réalisée en mode isocratique avec un mélange de 62% de phase A (acétonitrile) et 38% de la phase B (solution d'acétate de sodium à 152 mM dans l'eau à un pH de 6). La colonne HPLC utilisée est fabriquée par la compagnie Agilent une (Zorbax Bonus-RP, 4.6mm X 150mm, 3.5µm). Le temps de rétention moyen du MDI est entre 4 et 5 minutes. Le temps d'analyse est d'environ 8 minutes ce qui permet de faire plusieurs analyses d'échantillon en une journée. Cet aspect bonifie à l'efficacité de la méthode. Un balayage entre 200 à 400 nm est requis afin d'avoir une bonne analyse. Cependant, la longueur d'onde intéressante se situe à 250 nm puisqu'elle correspond à la longueur d'onde d'absorption de l'analyte. Une droite d'étalonnage a été complétée afin de quantifier les concentrations en MDI obtenues. Pour ce faire, l'élaboration d'une solution-mère était de mise. Cette solution était composée de 20 mg de MDI qui ont été dissous dans un volume de 100 mL de TBP afin d'obtenir une solution d'une concentration se rapprochant 78,8 µg/mL de MDI. Par la suite, cette solution-mère a été utilisée pour faire les 5 solutions de travail qui ont été utilisées pour faire la droite d'étalonnage. Les concentrations visées pour cette droite étaient de 0,079; 0,118; 0,197; 0,394 et 0,787 µg/mL. Pour obtenir ces concentrations, il a fallu

préparer des solutions intermédiaires à l'aide de la solution-mère. Ces solutions intermédiaires ont été préparées dans une matrice de TBP aux concentrations suivantes : 7,79; 11,8; 19,7; 39,4; 78,7 µg/mL. Par la suite, 10 µL de chaque solution intermédiaire ont été prélevés et transvidés dans 1000 µL d'une matrice de 0,5 mg/mL TBP-MOPIP/ACN+AA0,5% (1:9). Ainsi, le domaine de linéarité de la méthode s'étend de 0,079 à 0,787 µg/L (Puscasu et al., 2014). Dans ce mémoire, des exemples d'une droite d'étalonnage et de chromatogrammes du système sont rapportés (voir section 3.1).

2.2. Surveillance biologique

Afin de faire une surveillance biologique de l'exposition de la contamination en MDI dans les milieux de travail, des échantillons d'urine ont été prélevés. Ceux-ci sont d'environ 50 mL et ont été prélevés au début et à la fin du quart de travail. Les échantillons et les étalons ont été traités à l'aide de la méthode qui a été validée à l'aide de paramètre analytique par l'IRSST sur la surveillance biologique de la contamination en MDI en utilisant un biomarqueur de MDA (Lépine et al., 2018). Cette méthode consiste à faire une extraction liquide-liquide du MDA, avec l'utilisation du toluène, présent dans l'urine. Pour ce faire, une hydrolyse d'une durée d'une heure a été réalisée avec un aliquot de 200 µL d'urine en prélevant un volume de 25 µL d'acide sulfurique concentré (18 M) à haute température (100°C) afin d'obtenir du MDA libre. Par la suite, le milieu a été neutralisé à l'aide d'un volume de 150 µL d'une solution de NaOH concentré (10 M). Cette étape a été suivie par un ajout de 500 µL de toluène pour extraire de MDA libre de sa matrice aqueuse en effectuant une agitation de 20 minutes, suivi d'une centrifugation de 10 minutes à 14 500 rpm. Afin de faciliter le prélèvement de la phase organique sans contaminer la phase aqueuse, une étape de congélation des échantillons à -70°C a été ajoutée. Cette étape n'était pas obligatoire, mais aidait à éviter des dépôts dans le fond des vials lors de l'évaporation. De plus, cette étape empêchait aussi de remettre en suspension les échantillons dans le but d'obtenir deux phases très distinctes. Ensuite, 400 µL de la phase organique étaient prélevés avant d'effectuer une évaporation du toluène dans le but de retrouver seulement le MDA dans les vials. L'échantillon devait par la suite mis en solution dans un mélange d'eau et de méthanol (1 :1) avec 0,1% d'acide acétique (voir figure 2.4).

Cette méthode a été optimisée au paravent en appliquant quelques changements des méthodes précédentes.

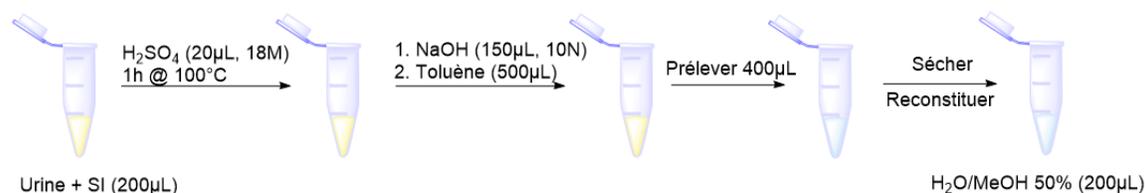


Figure 2.4 : Schématisation des différentes étapes afin d'extraire le MDA d'un échantillon d'urine

2.2.1 Technique d'analyse pour les échantillons biologiques

La méthode analytique utilisée pour évaluer la contamination en MDA dans l'urine comporte une chromatographie liquide couplée avec un spectromètre de masse en tandem (HPLC-MS/MS) par signaux MRM (multiple reaction monitoring) en mode d'ionisation positive avec nébulisation électrostatique (ESI+). Le système utilisé était un spectromètre de masse Xevo TQ triple quadripôle de la compagnie Waters. Les paramètres de la source étaient les suivants : la température de la source était ajustée à 150 °C, la tension du cône était de 35 V, la température de désolvatation était de 500°C et le débit du gaz d'azote, utilisé pour la désolvatation, était de 1000 L/h. Pour le traitement de données, le logiciel Masslynx 4.1 a été utilisé de la compagnie Waters. Le mode MRM était réglé comme suit : m/z 199,0 → 106,0 (ion de quantification) et m/z 199,0 → 79,0 (ion qualitatif) pour l'analyse du MDA et m/z 202,1 → 108,1 pour l'étalon interne avec une énergie de collision (CE) de 25 V (Lépine et al., 2018). La chromatographie s'est faite avec un gradient en suivant les différentes étapes du tableau 2.1. La colonne utilisée est une Waters (Acquity UPLC HSS T3, 1.8 µm, 2.1 x 50mm) maintenue à une température de 40°C. Le temps de rétention moyen du MDA et de son étalon interne est d'environ 1,25 minutes. Le temps d'analyse est estimé à 6 minutes ce qui permet de compléter plusieurs analyses d'échantillon en une journée et donc ajoute à l'efficacité de la méthode. Les transitions MRM qui ont été utilisées pour la quantification sont m/z 199,0 à 106,0 pour l'analyte et m/z 202,3 à 108,1 pour l'étalon interne (figure 2.5).

Tableau 2.1 : Tableaux des différentes concentrations en phase mobile afin de réaliser l'analyse par gradient dans un HPLC-MS/MS

Temps (min)	Débit (mL/min)	Eau 0.1% acide acétique (%)	MeOH 0.1% acide acétique (%)
0	0.6	95	5
0.5	0.6	95	5
3.0	0.6	10	90
4.0	0.6	10	90
4.01	0.6	95	5
6.0	0.6	95	5

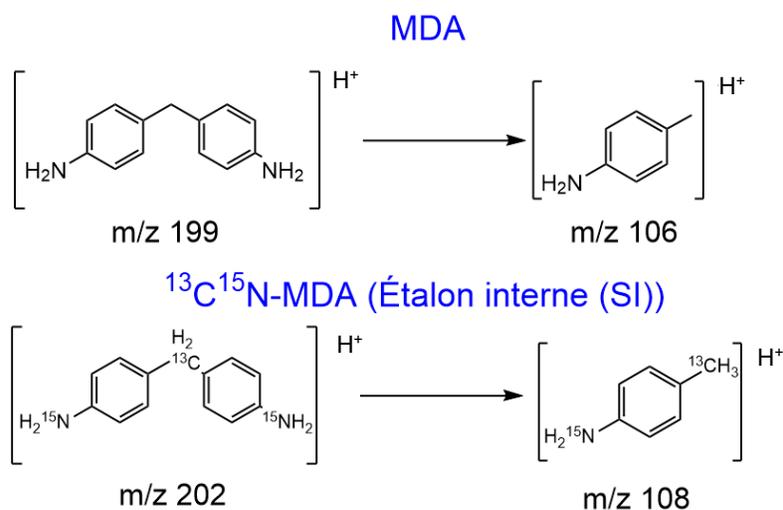


Figure 2.5 : Schéma de la fragmentation du MDA et de l'étalon interne à l'aide d'un MS en tandem, illustration des ions fragmentaires qui seront utilisés pour quantifier les concentrations en MDA dans les échantillons d'urine

Le domaine de linéarité de cette méthode s'étendait de 5 à 500 nM (Lépine et al., 2018). Afin d'effectuer une courbe de calibration, une solution mère de MDA a été faite à l'aide de 2,046 mg de 4,4'-MDA dissous dans un volume de 10 mL d'acétonitrile (ACN). Cette solution était de concentration d'environ 1 mM. Par la suite, une solution intermédiaire a été nécessaire afin d'avoir une solution d'environ 10 µM qui a été utilisée pour faire des solutions de travail. Les concentrations voulues des solutions de travail étaient respectivement de 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5 et 10 µM. Pour finir, un volume de 10 µL de chaque solution de travail a été pipeté et dilué dans une matrice d'urine vierge soit 200 µL. Les

concentrations des solutions finales des étalons étaient respectivement de 0, 5, 10, 25, 50, 100, 250 et 500 nM. Ainsi, il a été possible de bâtir une droite d'étalonnage contenant 7 étalons. De plus, chaque étalon avait une concentration de 50 nM d'étalon interne (SI). Afin d'obtenir ce résultat, une solution mère de SI a été faite à l'aide de 1 mg de 4,4'-MDA- $[^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}_2]$ dissout dans 10 mL d'eau de grade HPLC afin d'obtenir une solution d'environ 500 μM . Par la suite, une solution intermédiaire de 1 μM a été réalisée afin de pipetter 10 μL à ajouter à chaque échantillon d'urine de 200 μL (IRSST, 2019b). Chaque type d'analyse effectué avait une droite d'étalonnage différente. Dans ce mémoire, un exemple de droite d'étalonnage a été rapportée à titre d'exemple dans la section 3.2. ainsi que les chromatogrammes associés lors de l'analyse d'échantillon élaboré pour évaluer les différents aspects de contrôle (se référer à la section 2.2.1).

Évaluation d'une contamination externe

Étant une méthode récente, la méthode d'analyse par extraction liquide-liquide du MDA présent dans l'urine soulevait des questionnements sur lesquels il devenait intéressant de s'y pencher. En effet, cette technique a été établie en laboratoire en 2019, mais n'a jamais été testée sur un milieu de travail réel. La partie analytique de la méthode a été validée au laboratoire dans un milieu contrôlé qui incluait les paramètres analytiques tels que la LDM, la LQM, la précision, ainsi que la justesse. La méthode a été développée et validée en laboratoire, mais les facteurs externes pouvant contribuer à une contamination de l'échantillon n'ont pas été investigués. Il devenait donc intéressant d'évaluer les risques de contamination externe, soit la présence de PU dans les échantillons d'urine dus à un prélèvement mal effectué. Pour mettre en contexte, il faut imaginer que le travailleur, avant d'échantillonner, porte encore ses vêtements de protection souillés ou qu'il s'est mal lavé les mains. Ainsi, il y a des risques que des particules de polyuréthane se retrouvent dans les échantillons. Donc, il devenait intéressant d'évaluer les conséquences d'une telle contamination. Premièrement, l'observation de différents moyens de contrôler les échantillons d'urine a été évaluée. Ainsi, il a fallu regarder l'impact d'une centrifugation avant l'analyse sur des échantillons contaminés. Par la suite, il fallait comparer l'efficacité de la technique de centrifugation contre une technique de filtration. Finalement, nous avons regardé le comportement de désorption du polyuréthane présent dans l'urine.

En parallèle, une étude de la dégradation des particules de polyuréthane présentes dans les échantillons d'urine a été effectuée. En effet, une vérification de l'étape d'hydrolyse a été de mise afin de voir si cette étape dégradait les particules de polyuréthane. La question se posait puisque, comme vu précédemment, une hydrolyse a pour but de cliver des liaisons peptidiques entre une protéine et la substance d'intérêt. Ainsi, il n'est pas exclu que cette réaction ait lieu sur les particules de polymère présentes dans les échantillons contaminés afin de cliver les liens uréides du polyuréthane. En effet, cette coupure apporterait une source non voulue de MDA dans les échantillons puisque l'hydrolyse de ce polymère pourrait libérer la forme amine du polyuréthane. Pour ce faire, une comparaison entre un polyuréthane de type « PU A » brut, soit qui n'a subi aucun lavage à différent solvant, et un PU A qui a été soumis à plusieurs étapes de lavage, a été faite. En effet, un échantillon de polyuréthane de type « PU A » a été soumis à plusieurs solvants afin d'effectuer un lavage de celui-ci dans le but d'obtenir un échantillon de polyuréthane qui ne présentait aucune ou très peu de trace de MDA. De plus, une analyse des différents spectres infrarouges obtenus de ses PU a été complétée. Ce projet de recherche s'est terminé avec une comparaison des concentrations en MDA obtenues lors de l'exposition du PU A brut aux différentes variables d'une hydrolyse : la chaleur et le milieu acide ainsi que l'impact des deux variables ensemble.

Évaluation des méthodes de contrôle d'un échantillon contaminé

Afin de contrôler les échantillons qui seraient possiblement contaminés, une étape de préparation pourrait être ajoutée lors de l'échantillonnage. En effet, après avoir récoltés des échantillons, il serait intéressant d'ajouter une étape de préparation avant l'analyse suivant la procédure (se référer à la section 2.2.) afin de contrôler les concentrations de MDA dans les échantillons. Pour ce faire, selon la méthode, une étape de centrifugation a été effectuée après avoir volontairement contaminé des échantillons d'urine. Le but étant de voir l'impact d'une centrifugation sur les contaminations en PU dans l'urine. Par la suite, une comparaison entre deux techniques de purification a été effectuée, soit la centrifugation versus la filtration. Plusieurs facteurs ont été considérés afin d'établir une comparaison complète des deux techniques. Pour finir, une étude de la désorption du polyuréthane dans l'urine a été faite. Pour ce faire, des échantillons d'urine ont été

contaminés et agités pendant 24h afin de voir une évolution de la concentration en MDA en fonction du temps de contact avec le PU.

Évaluation de l'impact d'une centrifugation ...

... sur des contrôles

Dans le but d'éviter que les particules de polyuréthane qui pourraient contaminer l'échantillon aient un impact sur les concentrations de MDA rapportées par la méthode, il devenait intéressant d'ajouter une étape de centrifugation avant chaque analyse (se référer à la section 2.2.). En effet, l'effet de la centrifugation sur un échantillon contaminé a été évalué. Pour commencer, il fallait savoir si une quantité de MDA libre, soit qui ne provenait pas d'une contamination de polyuréthane, résistait à la centrifugation. Pour ce faire, deux séries de triplicata d'échantillons d'une solution de contrôle de MDA préparée à une concentration connue ont été mélangées à une urine vierge afin de voir si la centrifugation pouvait avoir un impact sur des concentrations de MDA déjà présent en solution dans l'urine. Ainsi, l'une des séries d'échantillons a été centrifugée avant l'analyse et l'autre n'a pas été centrifugée. Donc, en comparant les résultats, il sera possible de voir si la centrifugation diminue les concentrations de MDA présent en solution.

... sur des échantillons contaminés avec du polyuréthane

Afin d'évaluer l'impact d'une centrifugation sur des échantillons contaminés, plusieurs types de PU ont été testés. En effet, il y avait en tout 4 types de polyuréthanes qui ont été méticuleusement étudiés. Au préalable, les PU ont été broyés à l'aide d'un broyeur à hélices et de glace sèche. En effet, l'utilisation de glace sèche était importante afin d'obtenir un PU durci qui faciliterait le broyage. De plus, il fallait broyer les PU afin d'augmenter la surface de contact entre les particules de PU et l'urine, mais aussi pour simuler les petites particules qui pourraient contaminer les échantillons dus à des

vêtements souillés ou des mains sales. En complément, le fait d'avoir de petites particules de PU permettait aussi d'augmenter l'homogénéité des solutions d'urines qui ont été analysées. Ensuite, 13 aliquots de chaque échantillon des 4 types de PU différentes (A, B, C et D) ont été analysées. Chaque PU a une fonctionnalité différente (voir section 1.3.1). Ainsi, les PUs utilisés étaient de provenance inconnue et il était donc impossible de connaître la composition exacte de chaque PU, en contrepartie, il était certain que chaque PU contenait du MDA. Ainsi sur les 13 aliquots mentionnés précédemment, il n'y en avait 3 qui étaient centrifugés à 14 500 rpm pendant 10 minutes et 10 qui étaient non-centrifugés. Il a fallu un plus grand volume d'échantillons non-centrifugés à cause de la disparité de concentration des échantillons. En effet, lorsque les échantillons n'étaient pas centrifugés, ils présentaient des coefficients de variation très élevés (voir section 3.3.1), ce qui n'était pas idéal pour un résultat analytique. Ainsi, en augmentant la quantité de données prises, il fut possible de diminuer cet indice de disparité et d'augmenter le niveau de confiance des concentrations obtenues. Cette problématique était sûrement due au fait que les échantillons d'urine contaminés n'étaient pas des solutions homogènes et donc augmentaient le degré de difficulté à obtenir des concentrations semblables entre les aliquots. Pour l'analyse, des masses de PU ont été pesées en fonction du degré de contamination possible dans un échantillon réel. Ainsi, une masse de 100 mg a été mise en solution dans 50 mL d'urine. Étant donné que le PU est une matière difficile à peser, il est important d'utiliser une quantité suffisante et mesurable. Ces analyses ont été faites avec des échantillons agités pendant le prélèvement pour diminuer les différences entre les valeurs obtenues. Ainsi, 3 aliquots de 1 mL des différentes solutions de PU ont été centrifugés et 10 autres ne l'ont pas été. Suivant la centrifugation, un volume de 200 µL a été prélevé de chaque échantillon de 1 mL afin de procéder à l'analyse suivant la section 2.2. Cependant, lorsque les concentrations rapportées étaient plus grandes que la limite de supérieur de linéarité, il a fallu procéder à une dilution d'un facteur 10 ou d'un facteur 2. Tous les échantillons ont été vérifiés à l'aide du test de Grubbs qui est un test statistique pour éliminer les valeurs trop éloignées de la moyenne selon l'écart type obtenu.

Comparaison du procédé de centrifugation avec un procédé de filtration afin de décontaminer les échantillons d'urine

En vérifiant l'impact d'une centrifugation, une autre question a été soulevée. En effet, pour donner suite aux résultats observés (voir section 3.3.1) sur la centrifugation sur des échantillons contaminés, il devenait intéressant d'évaluer une autre technique de décontamination qui serait peut-être plus efficace. La technique de centrifugation a été comparée avec une technique de filtration. Plusieurs aspects ont été considérés afin d'évaluer laquelle des techniques était la plus intéressante pour le type d'analyse qui allait être effectuée. Pour ce faire, 2 aliquots de 1 mL ont été prélevés sur les échantillons élaborés à la section 2.2.1. L'un a été centrifugé pendant 10 minutes à 14 500 rpm et l'autre est passé dans une seringue avec un filtre en nylon de 0,45 μm . Par la suite, des volumes de 200 μL ont été prélevés en triplicata de chaque échantillon de 1 mL en triplicata. Ainsi, en comparant les concentrations obtenues il sera possible d'élire la technique de décontamination la plus optimale. Tous les échantillons obtenus ont été analysés suivant la méthode décrite à la section 2.2. Cette analyse a été faite en parallèle avec celle expliquée à la section 2.2.1.

Étude de la désorption des particules de PU dans les échantillons d'urine

Par la suite, suivant le comportement du PU dans l'urine, il devenait intéressant d'évaluer sur une échelle de temps les concentrations de MDA dans une urine contaminée pendant le transport. Ainsi, une simulation de temps de transport et d'entreposage a été faite. En effet pour simuler le tout, 2 échantillons de 50 mL d'urine ont été contaminés avec 10 mg de polyuréthane A (PU A) et deux autres avec le PU B. Le PU A et PU B ont été choisis car lors des précédentes expériences sur la centrifugation, il présentait la plus grande concentration de MDA avec un petit coefficient de variation (CV) ce qui indique une meilleure réplicabilité des résultats. Donc ses échantillons ont été agités pendant 24 h et 2 aliquotes de 1 mL (voir section 2.2.1) de ceux-ci ont été prélevés à temps 0, 1 h, 4 h et 24 h. Par la suite, 3 aliquotes de 200 μL de chacune ont été analysées afin d'avoir des

résultats en triplicatas. Tous les échantillons obtenus ont été analysés suivant la méthode décrite à la section 2.2.

Vérification de la possibilité d'avoir une dégradation observable du polyuréthane lors du procédé d'hydrolyse

Lors de l'observation des résultats en MDA dans les échantillons d'urine contaminés par du polyuréthane, les concentrations élevées obtenues a mené au raisonnement qu'il y aurait une possibilité que le PU se dégrade dans les aliquotes d'urine pendant l'hydrolyse qui est de mise dans la technique d'extraction des échantillons (voir section 2.2.). En effet, l'étape d'hydrolyse qui combine un milieu très acide avec un temps de chauffage extrême pourrait causer de la dégradation des particules de PU et donc augmenter grandement les concentrations obtenues en MDA des échantillons. L'hypothèse est que le PU lorsqu'il est soumis à des conditions extrêmement acides brise les liaisons qui lient le polymère pour créer des résidus d'alcool et d'amine en passant par un intermédiaire d'acide carbamique (Pellizzi, 2012). En effet, Pellizzi explique que lors d'une hydrolyse, il y aurait une réaction entre les liaisons uréthanes et les molécules d'eau qui formerait un acide carbamique accompagné d'un alcool primaire (voir figure 2.6). Cet acide n'est pas reconnu pour être stable et aura tendance à réagir grâce à la chaleur et de devenir une amine en dégageant du CO_2 (Tonnelier, 2018). Cette observation a été difficile à démontrer, car les échantillons restent des solutions non-homogènes ce qui rend difficile de faire une analyse quantitative des résultats.

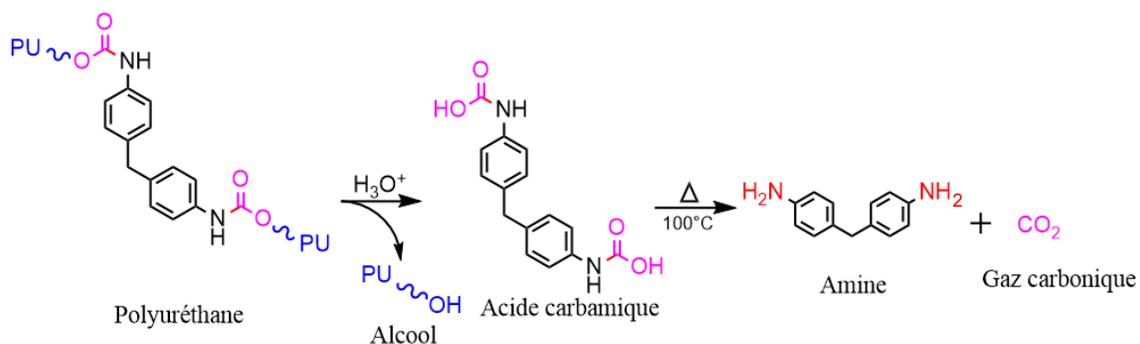


Figure 2.6 : Réaction probable de lorsque le polyuréthane est soumis à des conditions d'hydrolyse acide

La figure 2.6 montre il n'est pas impossible que combiner un milieu fortement acide avec du chauffage cause un clivage des liaisons uréthane accompagnée d'un dégagement de gaz carbonique. Cette réaction pourrait donc créer du MDA qui est la version amine du diisocyanate MDI. Ainsi, les particules non désirées de PU qui se retrouveraient dans les échantillons d'urine pourraient être dégradées et donc augmenter les concentrations en MDA obtenues.

Analyse du polyuréthane lavé

Afin de vérifier cette théorie de dégradation, la première idée a été de laver les polyuréthane, soit d'enlever toute trace de MDA dans les PU inspiré d'une technique d'extraction du MDA dans des sols contaminés (Brunet et al., 2019). Ainsi une quantité définie de PU A a été soumise à plusieurs reprises à différents solvants. Le premier solvant était une solution d'acide formique 2% dans un milieu aqueux. Pour poursuivre, le deuxième solvant était une solution d'ammoniac 5% dans le méthanol. Ces deux solvants ont été fortement inspirés par la méthode d'extraction du MDA dans des sols contaminés tirée d'une méthode développée par l'institut international des isocyanates (III) et qui utilisait ces deux solutions lors du procédé d'extraction sur phase solide (Brunet et al., 2019). Cette technique consiste à activer le MDA à l'aide d'une solution acide afin de

séparer le MDA de la solution initiale et ensuite à l'aide d'une solution à base d'ammoniac, le MDA est extrait de la colonnette pour être recueilli dans un vial et analysé. Étant donné que cette méthode fut utilisée pour extraire le MDA dans des sols contaminés, il devenait intéressant d'utiliser cette technique pour éliminer toute trace de MDA dans les particules de polyuréthane.

Analyse des deux types de PU A à l'aide de la méthode par extraction du MDA dans le sol par SPE

Une analyse du PU A a été faite à l'aide de la technique d'extraction du MDA dans les sols contaminés par SPE (extraction sur phase solide) (Brunet et al., 2019). Cette technique consiste à peser une petite quantité de polyuréthane qui sera mis en solution dans 10 mL de 0,1% (v/v) $\text{NH}_4\text{OH}/\text{MeOH}$ et agiter pendant 1 heure. Après ce temps d'attente, il a fallu filtrer l'échantillon à l'aide d'une seringue munie d'un filtre 10 μm . À ce filtrat, un ajout d'acide formique 99% a été fait afin de neutraliser le milieu acide. Par la suite, un aliquote de 1 mL a été versé dans une colonnette SPE (SPE Manifold with MCX 1cc cartridge (Waters)) et celui-ci a été lavé à l'aide de deux volumes de 1 mL d'une solution de 2% acide formique ainsi que deux volumes de 1 mL de méthanol. Pour finir, l'échantillon a été élué à l'aide de deux volumes de 500 μL d'une solution de 5% (v/v) $\text{NH}_4\text{OH}/\text{MeOH}$. Le volume final de 1 mL d'échantillon doit passer au travers d'une seringue munie d'un filtre 0,22 μm et un prélèvement de 500 μL de l'échantillon sera dilué dans 500 μL d'une solution d'acide formique 4%. Le domaine de linéarité de cette méthode est de 0,5 à 25 ng/mL. Il est important de neutraliser le milieu afin de faire l'analyse en LC-MS/MS.

Analyse des deux types de PU A dans des échantillons d'urine à l'aide de la méthode d'extraction liquide-liquide

Pour confirmer s'il y avait une présence de dégradation lors de l'utilisation de la méthode par extraction liquide-liquide, le PU qui a été précédemment lavé a été soumis à la méthode présentée à la section 2.2, ainsi qu'en comparaison avec le PU A brut. Ainsi, des masses de 20 mg de PU ont été mises en solution dans 10 mL d'urine dilués à un volume de 100 mL avec de l'eau. Cette dilution était de mise puisque les concentrations rapportées du PU A étaient trop élevées pour être fiables. Cependant, lors de la mise en solution dans l'urine des polyuréthanes, les concentrations de MDA étaient plus élevées lors de l'analyse des échantillons contaminés par le PU A lavé avec la technique présentée à la section 2.2.1 que les échantillons contaminés par le PU A brut. Ainsi, cette technique n'était pas concluante, il a donc fallu changer d'approche.

Analyse des spectres infrarouges

Puisque la dégradation est difficile à quantifier, une méthode plus qualitative a été utilisée. Ainsi, des spectres infrarouges (IR) ont été pris. Pour commencer, il fallait avoir un spectre référence expérimentale des molécules cibles, soit le MDA et le MDI. En effet, en ayant ces spectres, il sera possible de cibler les signaux importants qui seront révélateurs du PU. Par la suite, des spectres IR du polyuréthane A brut et lavée ont été pris. Afin de vérifier quelles variables de l'hydrolyse étaient la cause possible de la dégradation du PU, des spectres IR du PU A brut ont été faits lorsque celui-ci était exposé à une solution d'acide sulfurique concentrée, chauffé pendant 1h à 100 °C et une combinaison des deux techniques.

Analyse quantitative des différentes variables d'une hydrolyse (chaleur, milieu acide et combinaison des deux)

Une analyse des variables de l'hydrolyse a été faite de manière quantitative. Pour ce faire, des échantillons de polyuréthane A bruts ont été soumis aux 3 variables d'une méthode d'hydrolyse. Ainsi, le premier échantillon a été exposé à une solution d'acide sulfurique concentré pendant 1 heure. Le deuxième échantillon a été testé à une température de 100 °C pendant 1 heure et le dernier échantillon a subi les conditions d'hydrolyse complète soit la solution acide avec le chauffage pendant 1 heure. Ces échantillons possédaient une masse d'environ 50 mg chacun dans 1 mL de solution aqueuse. Ainsi pour la suite de l'expérience, après 1 heure en solution, les polyuréthanes ont été filtrées à l'aide d'une seringue de 3mL munis d'un filtre en nylon de 0,45 μm afin de récupérer le liquide d'extraction. Le PU qui est restée dans la seringue a été séché pendant 1 semaine pour ensuite être analysé par IR. Concernant le filtrat, des aliquots de 10 μL ont été dilués dans 1000 μL d'eau avant de prélever 3 fois 200 μL de la solution complétée précédemment afin de procéder à l'extraction suivant la méthode décrite à la section 2.2. (Lépine et al., 2018). Ainsi, cette expérience a été réalisée en triplicata afin de recueillir suffisamment de données statistiques.

CHAPITRE 3 :

RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. Calibration et vérification de la méthode d'analyse du MDI dans des échantillons d'air

Tableau 3.1 : Données récoltées lors de l'étalonnage de la méthode d'analyse du MDI dans des échantillons d'air à l'aide d'un HPLC-PDA

Échantillons	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Absorbance	Concentration calculée ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Pourcentage de déviation (%)
Blanc	0,0000	0	0	
Étalon 1	0,0794	30229,385274	0,072	-9,9
Étalon 2	0,1190	53312,955185	0,124	4,5
Étalon 3	0,1990	88136,709960	0,204	2,6
Étalon 4	0,3970	171086,885386	0,394	-0,7
Étalon 5	0,7940	345619,940249	0,794	0,01

En regardant le tableau 3.1, il est possible de voir que la droite utilisée pour cette analyse est juste puisque les pourcentages de déviation obtenus sont inférieurs à 15% d'écart avec la valeur calculée. Cette droite n'est qu'une des nombreuses droites effectuées lors de l'élaboration de cette analyse.

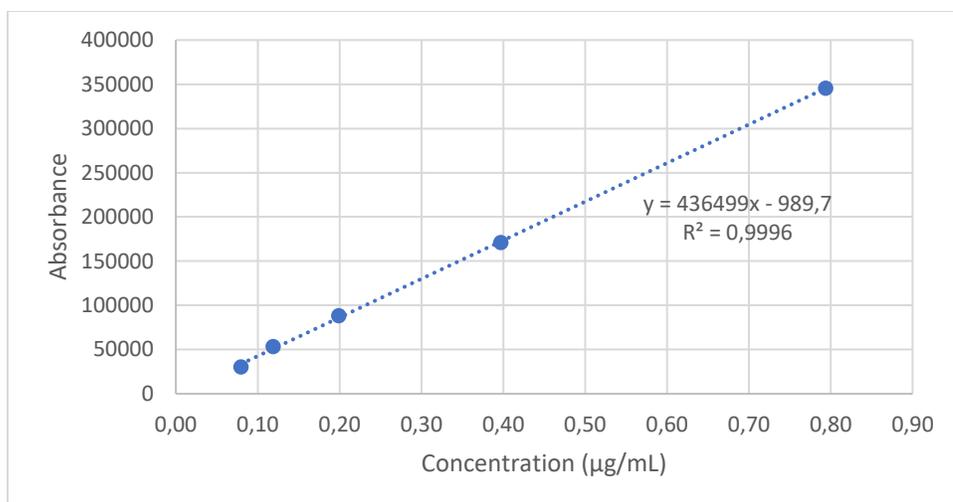


Figure 3.1 : Exemple de droite d'étalonnage obtenue lors de l'analyse des concentrations de MDI dans des échantillons d'air

En observant la figure 3.1, il est possible de conclure que la droite utilisée pour cette analyse est fiable puisqu'elle a un bon coefficient de détermination (r^2) > 0,999. Ainsi, cette droite peut être utilisée à des fins de quantification et cela confirme que la méthode d'analyse était adéquate pour déterminer les concentrations de MDI dans des échantillons d'air.

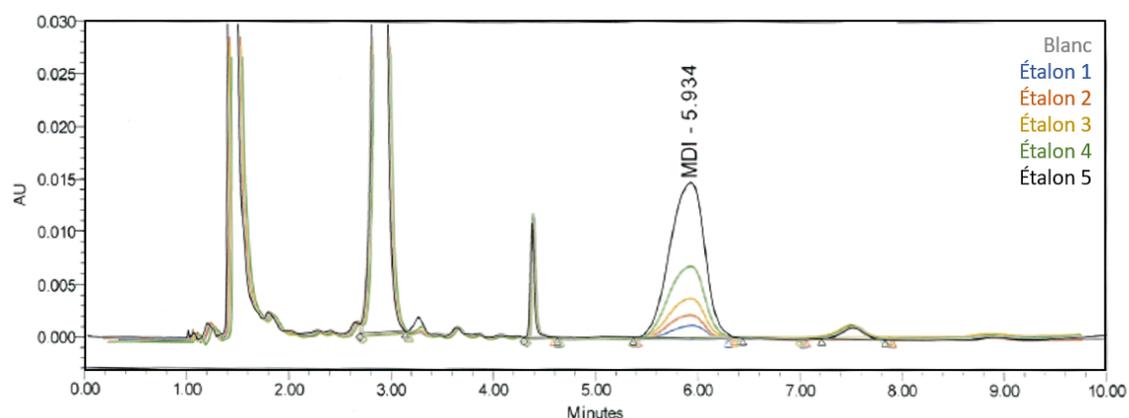


Figure 3.2 : Compilation des chromatogrammes de chaque étalon utilisé pour élaborer la droite d'étalonnage de la figure 19. La longueur d'onde d'analyse était de 250 nm

La figure 3.2 montre les différents chromatogrammes obtenus lors de l'élaboration d'une des droites d'étalonnage utilisée dans ce mémoire pour quantifier les concentrations de MDI dans des échantillons d'air. Ces chromatogrammes confirment que l'analyte d'intérêt

à un temps de rétention d'environ 6 minutes. De plus, en compilant les différents chromatogrammes, il est possible de voir que le signal lié à la présence du MDI augmente avec les concentrations croissantes de chaque étalon.

3.2. Étalonnage de la méthode d'analyse du MDA dans des échantillons d'urine

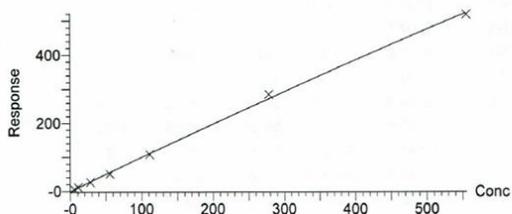
Tableau 3.2 : Compilation des données obtenues lors de l'élaboration d'une des nombreuses droites d'étalonnage utilisées pour ces expériences

Échantillons	Concentration (nM)	Air MDI	Air SI	Réponse	Concentration calculée (nM)	Pourcentage de déviation (%)
Blanc	0	376,149	8204,8	2,292	3,0	---
Étalon 1	5,5	919,922	9286,8	4,953	5,6	1,7
Étalon 2	11,1	2583,712	11178	11,557	12,2	9,5
Étalon 3	27,8	5209,082	9914,9	26,269	26,7	-4
Étalon 4	55,5	12434,635	12263,6	50,697	51,0	-8,2
Étalon 5	111	25474,672	11841,9	107,562	108	-2,7
Étalon 6	278	91269,453	16039,8	284,509	292	4,9
Étalon 7	555	124708,936	12052,4	517,361	549	-1,1

En voyant le tableau 3.2, il est possible de voir que la droite utilisée pour cette analyse est juste puisque les pourcentages de déviation obtenus sont inférieurs à 15% d'écart avec la valeur calculée. Cette droite n'est qu'une des nombreuses droites effectuées lors de l'élaboration de cette analyse.

Compound name: MDA
 Coefficient of Determination: $R^2 = 0.998506$
 Calibration curve: $-0.000133486 * x^2 + 1.01729 * x + -0.782736$
 Response type: Internal Std (Ref 2), Area * (IS Conc. / IS Area)
 Curve type: 2nd Order, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None

A



Compound name: 15N13C-MDA
 Response Factor: 235.936
 RRF SD: 43.5986, % Relative SD: 18.479
 Response type: External Std, Area
 Curve type: RF

B

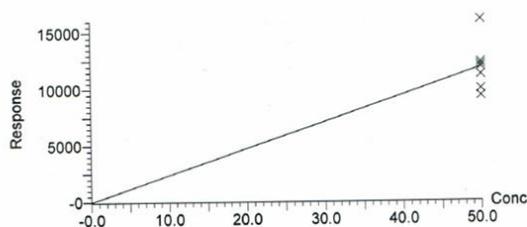


Figure 3.3 : Exemple de droite d'étalonnage obtenue lors de l'analyse des échantillons d'urine (voir section 2.2.1.1.1.2) afin de quantifier les concentrations en MDA. (A) droite d'étalonnage élaborée à l'aide des 7 étalons présents dans le tableau 4 (B) droite obtenue montrant la variation des signaux de l'étalon interne (SI)

La figure 3.3 illustre les droites obtenues lors de l'analyse des échantillons d'urine utilisés pour la section 2.2.1. En A, il est possible de visualiser la droite d'étalonnage utilisée à des fins de quantification des concentrations en MDA présent dans les échantillons d'urine. En B, il est possible de voir la droite des concentrations d'étalon interne présent dans chaque étalon. Ainsi, ces graphiques montrent une droite d'étalonnage avec un coefficient de détermination acceptable, soit plus grand que 0,995. Ainsi, la droite B donne un bon aperçu de la disparité des concentrations en étalon interne dans chaque étalon. En conclusion, l'analyse présentée en exemple dans ce paragraphe est fiable pour quantifier les concentrations en MDA. Malheureusement, il n'a pas été possible de montrer chaque droite d'étalonnage utilisée pour ce mémoire puisque chaque série d'analyse avait sa propre droite d'étalonnage.

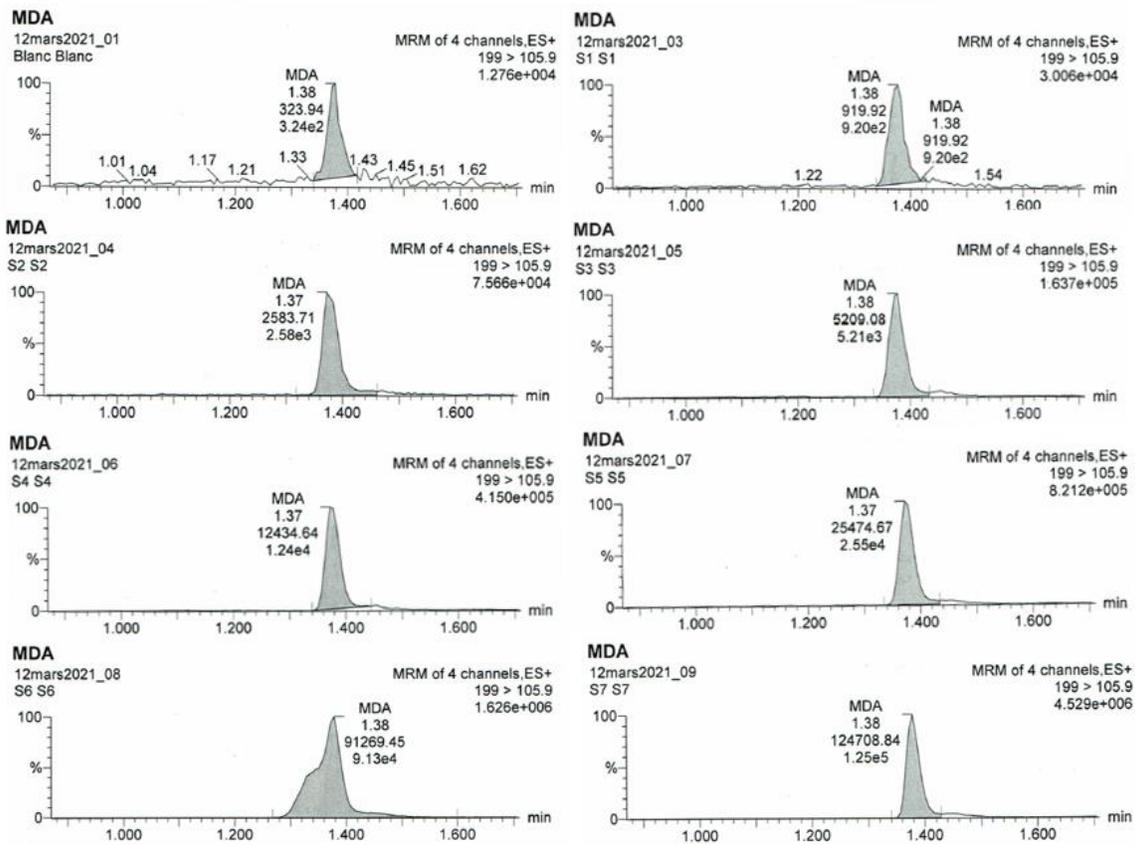


Figure 3.4 : Exemple de chromatogrammes utilisés pour élaborer la droite d'étalonnage présent dans la figure 21

En regardant la figure 3.4, il est possible de voir les signaux de MDA de chaque étalon utilisé pour élaborer la droite présente à la figure 21. Tous les signaux étaient corrects sauf un épaulement à l'étalon 6. Cependant, cette observation n'est pas assez significative pour déterminer que cet étalon ne sera pas utilisé pour la droite d'étalonnage puisque les concentrations obtenues ont des pourcentages de déviation acceptable, soit entre un intervalle de 15%.

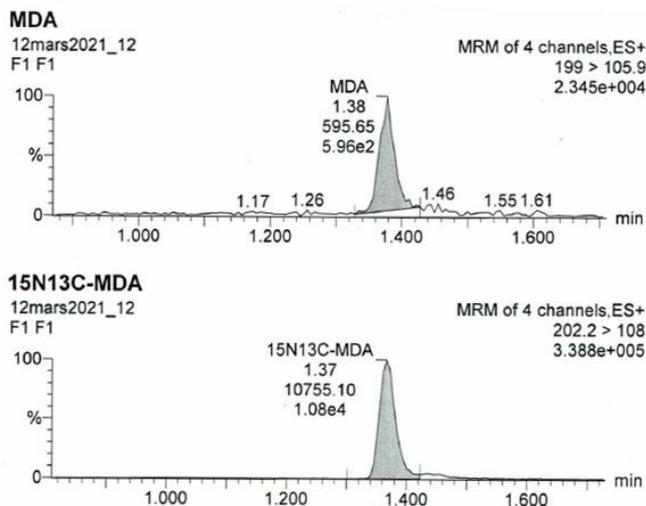


Figure 3.5 : Exemple de chromatogrammes (A) Échantillon réel provenant de l'analyse décrite à la section 2.2.1.1.1.2 (échantillon filtré à temps 0) (B) Exemple de signaux de l'étalon interne (SI) présent dans cet échantillon

La figure 3.5 présente un exemple de chromatogramme avec le signal d'un échantillon utilisé lors de l'observation de la différence en le procédé de filtration et de centrifugation ainsi que la désorption (voir section 2.2.1). Il est aussi possible de voir dans cette figure un exemple de chromatogramme lié à la présence de l'étalon interne (SI). Puisque le SI est présent dans chaque échantillon et étalon en concentration constante, il n'y a qu'un exemple de ce signal en revanche toutes les analyses ont montré des chromatogrammes semblables.

3.3. Aspect de contrôle des échantillons contaminés

3.3.1 Résultats des centrifugations

Sur les échantillons de contrôles

La préparation des échantillons suivant a été faite selon le protocole à la section 2.2.1. Pour ce faire, 6 échantillons d'urine de contrôle ont été analysés suivant la méthode décrite dans la sous-section 2.2., dont 3 centrifugés et 3 non-centrifugés. La concentration attendue du contrôle était de 46,62 nM. Ainsi, les contrôles ont démontré que centrifuger les échantillons n'avait pas d'impact significatif sur les concentrations de MDA libre présent dans l'urine. En regardant la figure 3.6, il est possible de remarquer qu'il n'y a que très peu de différence entre les concentrations moyennes obtenues pour les deux méthodes testées. De plus, en ayant un coefficient de variation proche de 2, ceci confirme la réplicabilité de la méthode.

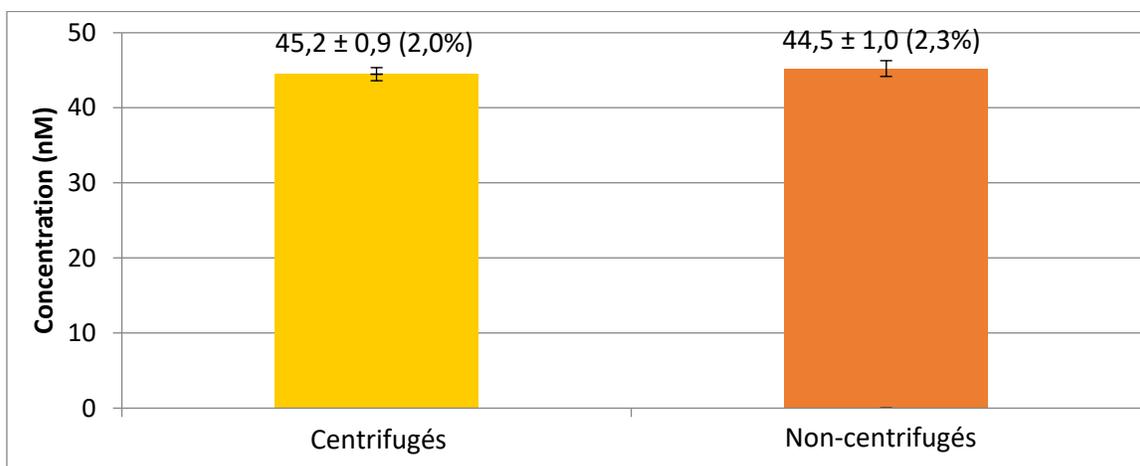


Figure 3.6 : Graphique qui montre l'impact d'une centrifugation sur des échantillons de contrôle à une concentration connue en MDA

Différents types de polyuréthane

La méthode de préparation de ces analyses a été décrite au paragraphe « 2.2.1 ».

PU A

La figure 3.7 présente les résultats des échantillons du polyuréthane A (PU A). Ce polyuréthane est utilisé en tant que vecteur pour fertilisant pour sol (voir section 1.3.1). Il est possible de voir qu'il y a une grosse différence de concentration en MDA entre le centrifugé et le non-centrifugé passant d'environ 1457 nM à environ 55,5 nM. Ayant une concentration rapportée supérieure à la limite de linéarité de la méthode, une dilution par un facteur 10 a été complétée pour l'échantillon non-centrifugé. Cette dilution a permis d'obtenir une concentration qui entrainait dans la courbe d'étalonnage établie, soit de 5 nM à 500 nM. Ainsi, une comparaison entre les valeurs des aliquots centrifugés et dilués non-centrifugés a permis de constater que le fait de centrifuger devenait la meilleure méthode pour diminuer les concentrations de MDA provenant du polyuréthane. De plus, il fut aussi possible d'observer qu'une petite quantité de PU pouvait être suffisante pour avoir un impact sur les concentrations rapportées.

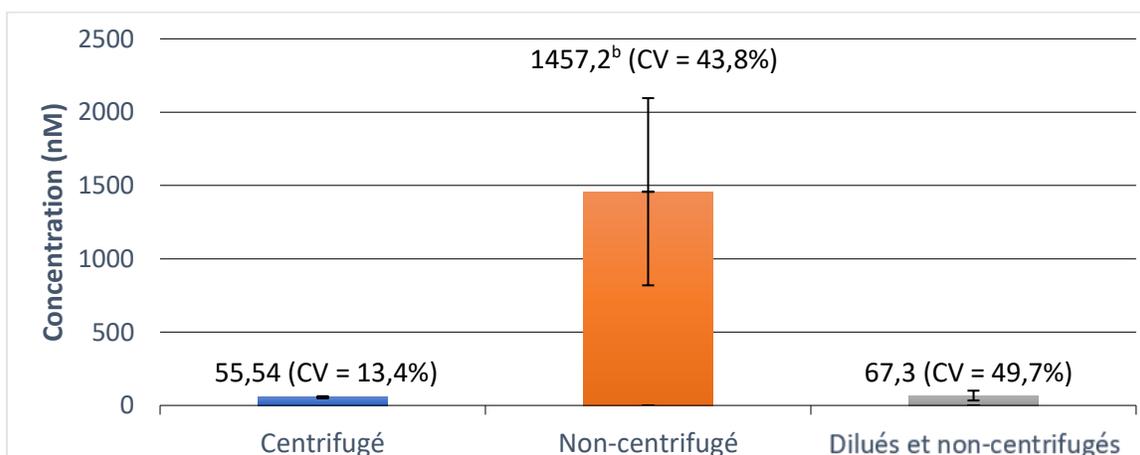


Figure 3.7 : Graphique à bande de l'analyse des échantillons d'urine contaminés par du PU A qui ont été soumis à une centrifugation, qui ont été non-centrifugés et qui ont été dilués et non-centrifugés

PU B

La figure 3.8 présente les résultats des échantillons du polyuréthane B (PU B). Ce polyuréthane est utilisé en tant que stabilisant pour sol (voir section 1.3.2). Il est possible de voir qu'il y a une grosse différence de concentration en MDA entre l'extrait centrifugé et non-centrifugé, passant de 590,9 nM à 2,3 nM. Ayant une concentration rapportée supérieure à la limite de linéarité de la méthode, une dilution par un facteur 10 a été complétée pour l'échantillon non-centrifugé. Cette dilution a permis d'obtenir une concentration qui entraine dans la courbe d'étalonnage établie. De plus, il fut possible de remarquer que la concentration rapportée de l'échantillon PU B centrifugé était plus petite que la limite de quantification de la méthode soit plus petite que 5 nM. Il fut donc possible de conclure que ce polymère, si l'échantillon est préalablement centrifugé, n'a pas une présence assez importante de MDA pour avoir un impact sur les concentrations réelles des échantillons récoltés.

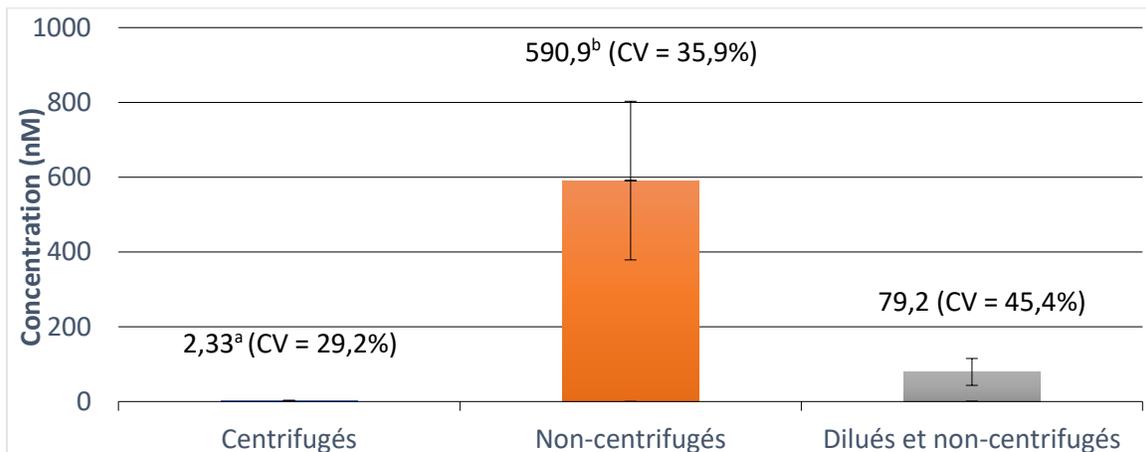


Figure 3.8 : Graphique à bande de l'analyse des échantillons d'urine contaminés par du PU B qui ont été soumis à une centrifugation, qui ont été non-centrifugés et qui ont été dilué et non-centrifugés

PU C

La figure 3.9 présente les résultats des échantillons de polyuréthane C (PU C). Il est possible de voir qu'il y a une grosse différence de concentration en MDA entre les extraits centrifugés et non-centrifugés passant de 454,3 nM à 3,4 nM. Ayant une concentration rapportée près de la limite de linéarité de la méthode, une dilution par un facteur 10 a été complétée pour l'échantillon non-centrifugé. Cette dilution a permis d'obtenir une concentration qui entrain dans le milieu de la courbe d'étalonnage établie. De plus, il fut possible de remarquer que la concentration rapportée de l'échantillon PU C centrifugé était plus petite que la limite de quantification de la méthode, soit < 5 nM. Il fut donc possible de conclure que le polymère lorsque l'échantillon est préalablement centrifugé, n'a pas une présence assez importante de MDA pour avoir un impact sur les concentrations réelles des échantillons récoltés.

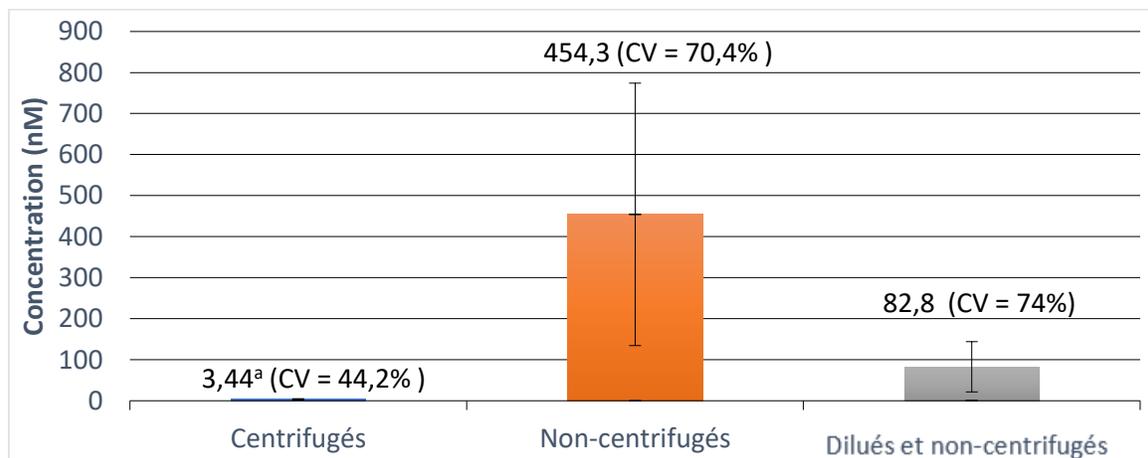


Figure 3.9 : Graphique à bande de l'analyse des échantillons d'urine contaminés par du PU C qui ont été soumis à une centrifugation, qui ont été non-centrifugés et qui ont été dilué et non-centrifugés

PU D

Finalement, la figure 3.10 présente les résultats des échantillons de polyuréthane D (PU D). Il est possible de voir qu'il y a une moins grosse différence de concentration en MDA entre les extraits centrifugés et le non-centrifugés lorsque ces derniers sont comparés aux autres polymères passant de 63,1 nM à 4,3 nM. En regardant la concentration moyenne obtenue pour l'échantillon non-centrifugé, une dilution n'était pas obligatoire. Cependant, il y a quand même eu une dilution par un facteur 2 de complété afin de diminuer la masse de PU présente dans l'échantillon d'urine. Celle-ci a permis d'avoir un échantillon plus représentatif de la réalité. La dilution a permis de voir que la concentration moyenne obtenue, suivant son coefficient de variation, était fiable. De plus, il fut possible de remarquer que la concentration rapportée de l'échantillon PU D centrifugé était plus petite que la limite de quantification de la méthode, soit < 5 nM. Il fut donc possible de conclure que ce polymère lorsque l'échantillon était préalablement centrifugé, n'avait pas une présence assez importante de MDA pour avoir un impact sur les concentrations réelles des échantillons récoltés. Il fut aussi possible de conclure que la PU D était le moins contaminé en MDA des 4 polymères analysés.

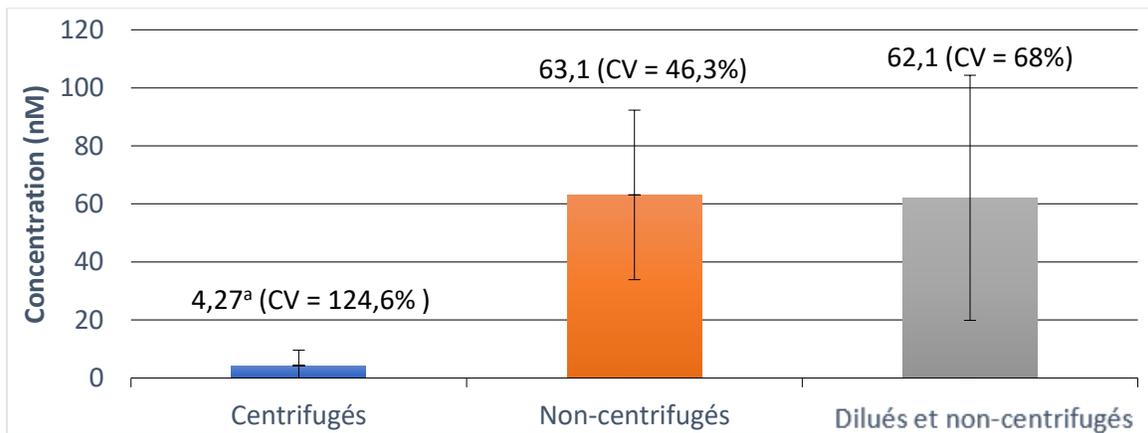


Figure 3.10 : Graphique à bande de l'analyse des échantillons d'urine contaminés par du PU D qui ont été soumis à une centrifugation, qui ont été non-centrifugés et qui ont été dilué et non-centrifugés

3.3.2 Centrifugation vs filtration

Le tableau 3.3 est un résumé des données récoltées et un suivi des graphiques de la cinétique de désorption de chaque polyuréthane (A et B). Afin de visualiser la méthode de préparation de ses échantillons voire la section 2.2.1. En parallèle, il a aussi été possible de voir que le type de décontamination, soit centrifugation ou filtration, n'a pas eu de réel impact sur les concentrations obtenues. Donc l'une est aussi efficace que l'autre. Cependant, les coefficients de variation obtenus étaient plus petits pour les échantillons qui ont été filtrés. Cette différence est fort probablement due au pipetage car, lors d'une centrifugation, les dépôts de polyuréthane dans le fond de l'échantillon peuvent se remettre en suspension dans le surnageant. Ceci peut augmenter drastiquement les concentrations en MDA dans l'urine, alors que la filtration enlève tout simplement les dépôts de PU, ce qui diminue grandement les chances de pipetter des particules de polyuréthane. En conclusion, si les échantillons sont malencontreusement contaminés par du polyuréthane, la meilleure solution est de compléter une filtration immédiatement après l'échantillonnage ou d'avoir un contenant pour récupérer l'urine qui offre une possibilité de filtrer directement l'échantillon. Ceci permettrait de diminuer grandement les risques qu'une contamination extérieure altère les résultats de MDA analysés. L'une des difficultés liées à l'utilisation de la filtration pour purifier l'urine de toute contamination extérieure est de diminuer les concentrations en créatinine. La créatine est un composé qui est présent dans l'urine et qui est utilisé afin de vérifier la qualité des urines à être utilisé à des fins de quantification. Ainsi la concentration en créatine ainsi que la densité de l'urine sont des aspects de contrôle pour vérifier la possibilité d'utiliser cette urine pour quantifier. Ainsi, un test de créatine a été effectué sur un échantillon d'urine non contaminé et un échantillon d'urine non contaminé qui a subi une filtration avec les filtres de nylon 0,45 μm . Le test a été concluant et a démontré que les concentrations en créatinine n'étaient pas altérées par la filtration.

Tableau 3.3 : Comparaison entre l'efficacité de la centrifugation et de la filtration en fonction du temps de contact (0, 1, 4, et 24 heures) des particules de polyuréthane dans l'urine

Type de PU	PU A				PU B			
Temps (h)	Filtré		Centrifugé		Filtré		Centrifugé	
	Concentration (nM)	CV (%)						
0	50,8	9,4	59,5*	13,9	3,7	5,7	4,7*	28,9
1	65,6	7,3	80,5	3,2	4,1	5,0	3,9	18,0
4	101,1	10,9	102,4	11,0	4,3	4,7	5,3	12,4
24	170,6	4,8	159,9*	0,9	5,4*	5,2	6,8	7,3

*Moyenne de 2 mesures, car la troisième était beaucoup trop éloignée selon le test de Grubbs

3.3.3 Désorption

En regardant la figure 3.11, il est possible de voir une augmentation constante de la concentration en MDA dans les urines indépendamment du type de PU. Ces échantillons ont été préparés selon la méthode décrite à la section 2.2.1. Ainsi, il est possible de conclure que le temps de contact du PU dans l'urine a un impact sur les concentrations en MDA dans l'urine. Donc il y a effectivement un phénomène de désorption qui est observable. Plus le PU est en contact longtemps dans l'urine, plus la contamination en MDA due au PU est grande. Ainsi, il devient important d'utiliser une technique de décontamination immédiate. En raison de l'efficacité de la filtration qui est semblable à celle de la centrifugation, la filtration peut être une technique plus intéressante vu l'importance de décontaminer les échantillons rapidement. En effet, si la centrifugation est la technique de prédilection, les échantillons bruts seront plus longtemps contaminés puisque l'étape de centrifugation est effectuée juste avant l'analyse. Toutefois, lorsque la filtration est utilisée, il est possible de filtrer directement les échantillons lors de l'échantillonnage, ce qui diminue le risque d'augmenter les concentrations en MDA présent du au phénomène de désorption du polyuréthane dans l'urine.

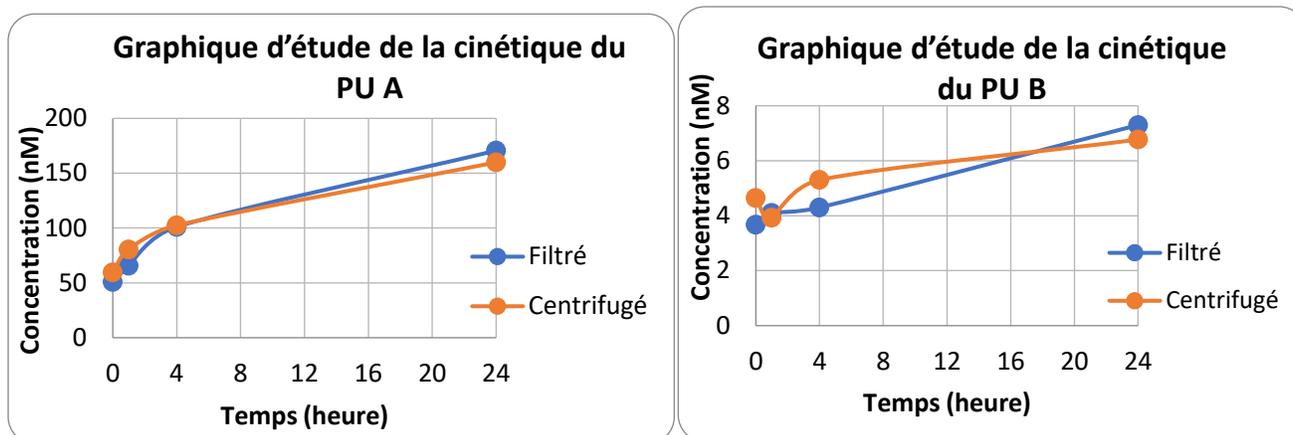


Figure 3.11 : Graphiques représentant la cinétique de désorption du polyuréthane A et du polyuréthane B dans une période d'analyse de 24h, ainsi que la comparaison graphique de l'efficacité de la filtration vs la centrifugation, ces essais ont été effectués en triplicata

3.4. Dégradation

3.4.1 Résultats de l'analyse des deux types de PU A par extraction SPE dans des sols contaminés

L'interprétation du tableau 3.4 permet d'observer que les concentrations en MDA sont beaucoup plus élevées pour le PU A brut que celui qui a subi un lavage. Ces échantillons ont été préparés suivant la section 2.2.1. En effet, les analyses montrent que le PU A brut présentait une concentration de 642 ng/mL soit environ 10 fois supérieure à celui du PU A lavé qui était de 38,6 ng/mL. De plus, les coefficients de variations sont assez petits pour considérer que la méthode est révélatrice et fiable. Ainsi, il est possible de voir que l'étape de lavage (voir section 2.2.1) diminue un peu la quantité de MDA qui peut être présente dans les particules de polyuréthane. Cependant, il ne faut pas oublier que cette technique utilise une grande quantité de PU A soit 200 mg et donc qu'il est risqué de comparer les résultats de cette méthode avec celle utilisée dans ce mémoire (voir section 2.2.). Fait à mentionner, cette étape a été ajoutée à des fins qualificatives pour voir si les concentrations en MDA étaient diminuées entre les deux types de PU A. De plus, l'indice de coefficient de variation petit démontre que cette méthode d'analyse est plus

reproductible. Il confirme aussi que la méthode par extraction liquide-liquide (voir section 2.2.) présente une étape qui augmente cette variable. Ainsi, la dégradation pourrait être la cause des indices de coefficient de variation élevé et de la difficulté à obtenir des résultats quantitatifs fiables.

Tableau 3.4 : Comparaison entre le polyuréthane A avant lavage (PU A) et après lavage par la méthode d'analyse du MDA par SPE

PU A	Brut n=2	Lavé n=4
Concentration en MDA moyenne (ng/mL)	642*	38,6*
Écart type (ng/mL)	101	4,4
%CV	15,9	11,3

*les données rapportées ne sont qu'à titre informatif car les concentrations obtenues dépassent la LL de la méthode SPE qui est de 25 ng/mL

3.4.2 Résultats de l'analyse des deux types de PU A par extraction liquide-liquide dans l'urine

Le tableau 3.5 est le résumé des résultats d'analyse d'une urine contaminée avec du PU A lavé et brut. Tous ces échantillons ont été réalisés suivant la méthode décrite à la section 2.2.1. Cette étape était de mise pour comparer les concentrations entre les deux méthodes (extraction par SPE et liquide-liquide) pour voir si un résultat explique la présence de dégradation. Comme indiqué précédemment, ces échantillons ont été grandement dilués pour obtenir des valeurs qui entraient dans le domaine de linéarité. Cependant, malgré ces efforts, les concentrations de PU A lavé ont dépassé la limite de linéarité. En effet, une concentration moyenne d'environ 770 nM a été rapporté pour le PU A lavé. Cette observation pousse vers l'hypothèse qu'une dégradation a lieu lors de l'extraction. L'étape qui pourrait causer cette dégradation est très probablement l'hydrolyse. De plus, le tableau 7 montre aussi des coefficients de variation beaucoup plus élevés que la méthode précédente, ce qui permet de valider l'idée que la dégradation joue sur la réplicabilité des résultats. En voyant la grande différence de concentration obtenue entre le PU A lavé et le brut, il est possible de croire que le lavage du PU A à peut-être extrait du MDA qui était présent de base sur les particules de PU. Cependant, il aurait

aussi fragilisé la structure polymérique et donc augmenter les risques de dégradation en MDA du PU A.

Tableau 3.5 : Comparaison entre le PU A lavé et brut lors d'une analyse d'échantillons d'urine contaminés par extraction liquide/liquide

Type de PU A	Brut	Lavé
Concentration en MDA moyenne (nM) n=10*	59	770
Écart type (nM)	19	667
%CV	33	87

*Analyse de 20 mg dans 10 mL d'urine dilués (volume final 100 mL)

3.4.3 Analyse qualitative des spectres IR du PU A

Lors de la réalisation de l'expérience sur les différentes variables d'une hydrolyse à l'aide d'échantillon de PU A brut, une récupération des PU a été faite afin de réaliser une analyse infrarouge. Ces échantillons ont été préparés suivant la méthode décrite à la section 2.2.1. Cette analyse avait pour but de cibler les signaux des spectres IR qui seraient caractéristiques, afin de focaliser sur les groupes fonctionnels du polyuréthane. Ainsi, cette analyse a permis de voir les différences entre un spectre de MDI, un spectre de MDA, un spectre du PU A brut, un spectre du PU A lavé et pour finir 3 spectres de PU A bruts soumis aux différentes variables d'une hydrolyse. Cette expérience qualitative visait à voir des changements de signaux qui pourraient confirmer l'hypothèse d'une dégradation du polyuréthane. Donc, une analyse approfondie de chaque spectre IR précédemment expliqué a été faite.

Diisocyanate de diphenylméthane (MDI)

Pour localiser sur le spectre IR les signaux caractéristiques (voir figure 3.12), il faut faire une analyse du spectre du MDI pure. Le signal le plus intéressant de ce spectre est la présence d'une énorme bande très intense à 2261 cm^{-1} . Ce signal est intéressant, car il

est associé à une liaison isocyanate plus particulièrement le lien N=C=O qui se trouve généralement à 2270 cm^{-1} (Lampman, 1979). De plus, la substitution en para de la molécule est confirmée par la présence d'un signal de grande intensité dans l'étendu de $850\text{ à }800\text{ cm}^{-1}$. Effectivement, l'analyse permet de remarquer un signal de forte intensité à 801 cm^{-1} , confirmant ainsi, la substitution moléculaire de type para.

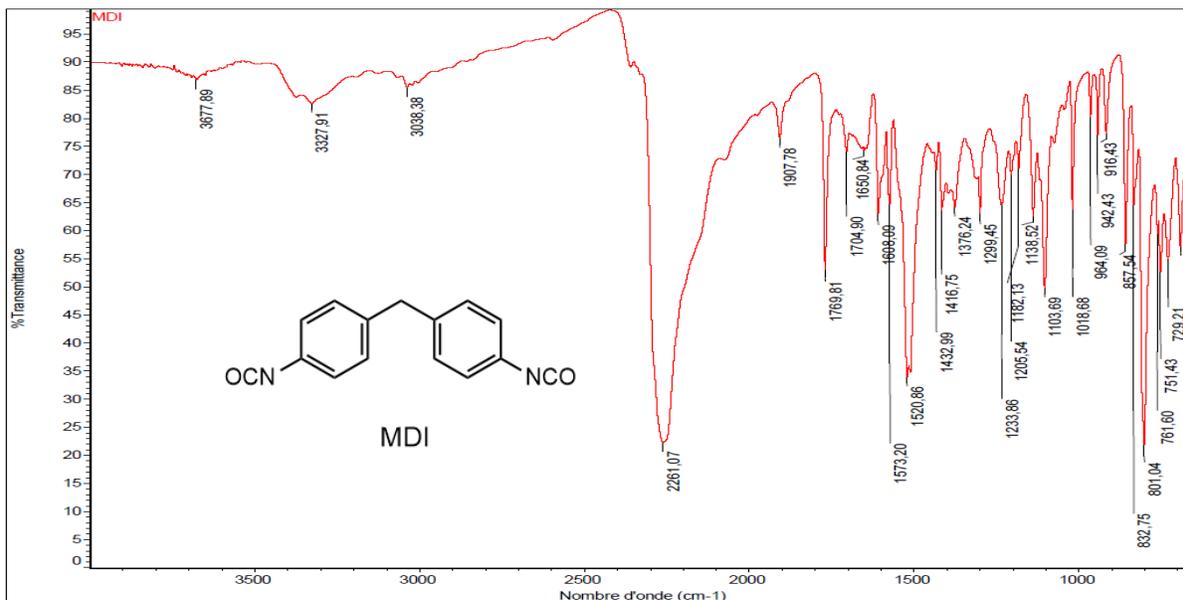


Figure 3.12 : Spectre IR du diisocyanate de diphenylmethane (MDI) ainsi que sa structure moléculaire

4,4'-diaminodiphénylméthane (MDA)

Le spectre IR de MDA (voir figure 3.13) est beaucoup plus intéressant à analyser puisque les signaux clés de ce spectre seront utilisés pour l'analyse des autres spectres afin de déterminer s'il y a encore une présence de MDA dans les échantillons de polyuréthane qui seront analysés. Pour commencer, la zone des fréquences à $3500\text{ à }3300\text{ cm}^{-1}$ est très caractéristique. En théorie, les amines primaires présentent 2 signaux près du 3400 et 3300 cm^{-1} . Ainsi, les signaux à 3411 et 3333 cm^{-1} peuvent être étroitement liés à la présence d'amine primaire dans la molécule. Plus particulièrement le signal à 3411 cm^{-1} serait dû au mouvement asymétrique du lien N-H et celui à 3333 cm^{-1} serait plutôt dû au mouvement symétrique de la liaison N-H. De plus, le signal à 3206 cm^{-1} serait une harmonique du signal se situant près de 1600 cm^{-1} . Une harmonique est un signal lié à

un autre signal beaucoup plus intense. Dans ce cas-ci, il est possible d'observer que le signal à 1625 cm^{-1} est très intense et donc a pu créer une harmonique à 3200 cm^{-1} . L'intensité de ce signal est aussi grandement facilitée par la présence de liens C=C qui sont présents dans les anneaux aromatiques de la molécule. En effet, le signal associé à la présence du lien C=C est visible dans les environs de 1600 cm^{-1} . Il est donc possible d'affirmer que ce signal est attribué aux liens C=C de l'aromatique. Cependant, la présence de l'harmonique à 3200 cm^{-1} dû à la présence d'une liaison N-H peut donner une indication qu'il y a bien une partie de l'intensité du signal qui est lié à la présence d'un amine primaire. De plus, le déplacement du signal à 1625 cm^{-1} au lieu de 1600 cm^{-1} serait une autre indication qu'il y aurait présence d'amines primaires (Alpert et al., 1964). Pour ce qui est de la liaison C-N, elle devrait se trouver dans la gamme de signaux 1350 à 1250 cm^{-1} . L'analyse du spectre montre un signal plus intense à 1271 cm^{-1} . Ce signal est probablement lié à la présence d'un lien C-N dans la molécule d'intérêt. De plus, cette gamme de signaux est liée plus précisément aux amines aromatiques, alors que pour les amines aliphatiques les absorbances sont plutôt entre 1250 à 1000 cm^{-1} . Ainsi, ces observations confirment que le MDA possède bien des amines aromatiques. Pour finir, le signal visible sur le spectre du MDI à 801 cm^{-1} est encore présent dans le spectre de MDA à 808 cm^{-1} . Cette observation confirme que le signal doit probablement être lié au fait que la molécule est de substitution para. Cependant, ce signal est non spécifique et ne peut être utilisé pour différencier les deux molécules. De plus, étant donné que ce signal est lié à la substitution para de la molécule, il sera probablement présent dans tous les spectres qui seront analysés (Lampman, 1979).

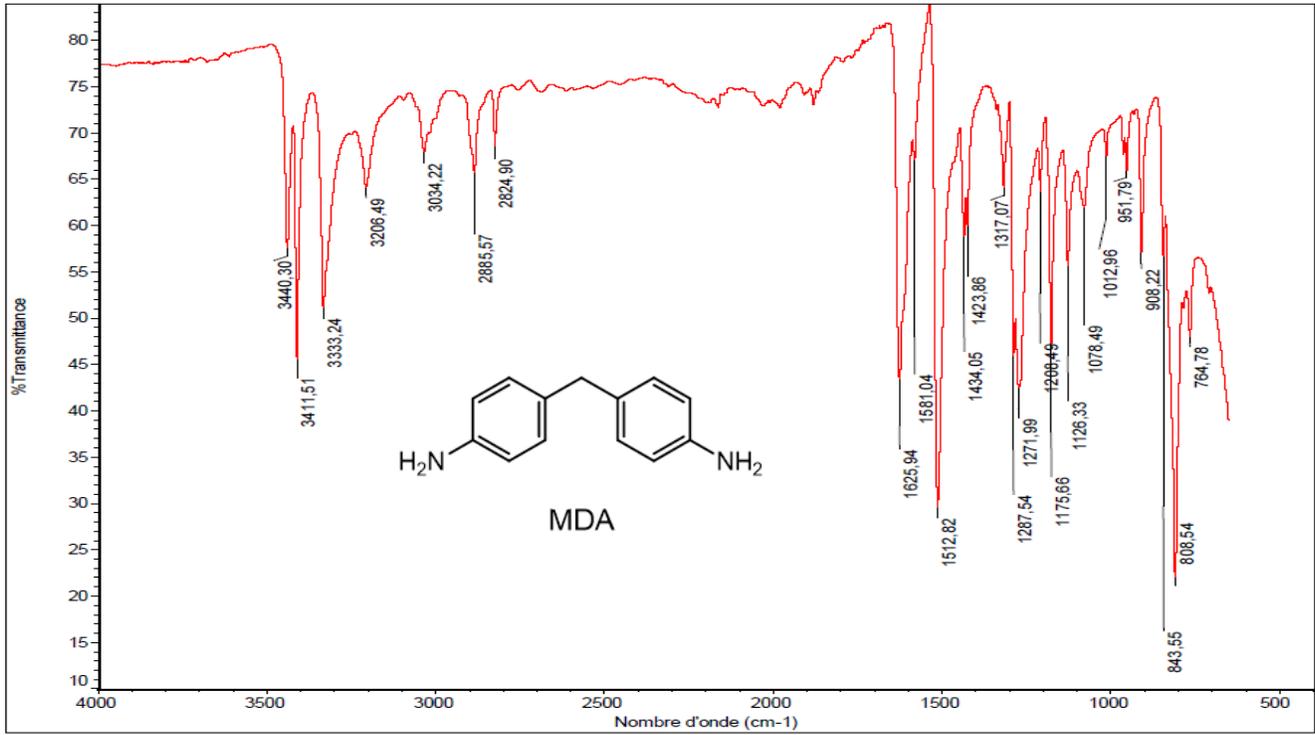


Figure 3.13 : Spectre IR du 4,4'-diaminodiphénylméthane (MDA) ainsi que sa structure moléculaire

Polyuréthane type A (PU A brut)

Les spectres IR des molécules monomériques MDA et MDI d'intérêt ayant été méticuleusement analysés, la recherche des signaux caractéristiques correspondants sur le polyuréthane a été entreprise. Dans cette section, il n'y aura que l'analyse du PU A qui sera faite. Le spectre du PU A brut (voir figure 3.14), soit celui qui n'a jamais été mis en contact avec aucun liquide, montre deux signaux distincts à 3358 et 3217 cm⁻¹. Ces signaux seraient fortement liés à la présence d'amine dans le polyuréthane. De plus, le signal à 3217 cm⁻¹ appartiendrait à l'harmonique associée aux liens N-H qui sont attribuables au signal à 1593 cm⁻¹. Étant donné que ce signal est aussi fortement lié à la présence de liens C=C aromatiques de la molécule, il est possible de conclure que l'intensité de ce signal serait due à la superposition des signaux des liens C=C et N-H. Pour ce qui est du polyuréthane, les signaux à 2919 cm⁻¹ et 2850 cm⁻¹ seraient fort probablement dus aux réactifs autres que les isocyanates monomères qui ont été utilisés dans la synthèse de celui-ci. Ainsi, ce serait une indication de la présence de chaînes de

carbones aliphatiques. Cependant, il est impossible de savoir exactement les fonctionnalités chimiques présentes sur cette chaîne puisque la structure moléculaire du polyuréthane est en partie inconnue. Ce qui est connu de ce polyuréthane est qu'il a été formé à l'aide du monomère de MDI et qu'il y a des fonctions polyesters et polyéthers. La présence de l'alcool complémentaire et de potentiels copolymères qui auraient été utilisés pour la synthèse du PU A ajoute de la difficulté à l'analyse des spectres. Cependant, le fait de comparer les spectres de PU A qui ont subi différents traitements permet de visualiser la transformation du polyuréthane après avoir été en contact avec un solvant. Les 4 signaux qui se trouvent dans la gamme de bandes de 1700-1500 cm^{-1} seraient tous des signaux liés à la présence des amides (Alpert et al., 1964). Ainsi, les signaux 1679 cm^{-1} , 1651 cm^{-1} , 1593 cm^{-1} et 1511 cm^{-1} seraient fortement liés à la présence de liens amide dans le polymère analysé. De plus, l'intensité du signal à 1593 cm^{-1} pourrait être augmenté par la présence de liens C=C des cycles aromatiques qui se trouvent dans la même gamme de signaux. Les signaux à 1217 cm^{-1} et 1159 cm^{-1} seraient quant à eux associés à la présence de polyéther et de polyester dans le PU. Cependant, le signal à 1045 cm^{-1} serait lié à la présence d'alcool primaire dans le PU puisque le signal se trouve près de 1040 cm^{-1} qui est le signal typique d'un alcool primaire (Bellamy, 1954). Il reste difficile de confirmer la disparition de signaux liés à la présence de MDA ou MDI puisqu'il y a beaucoup d'autres fonctions qui masquent le signal.

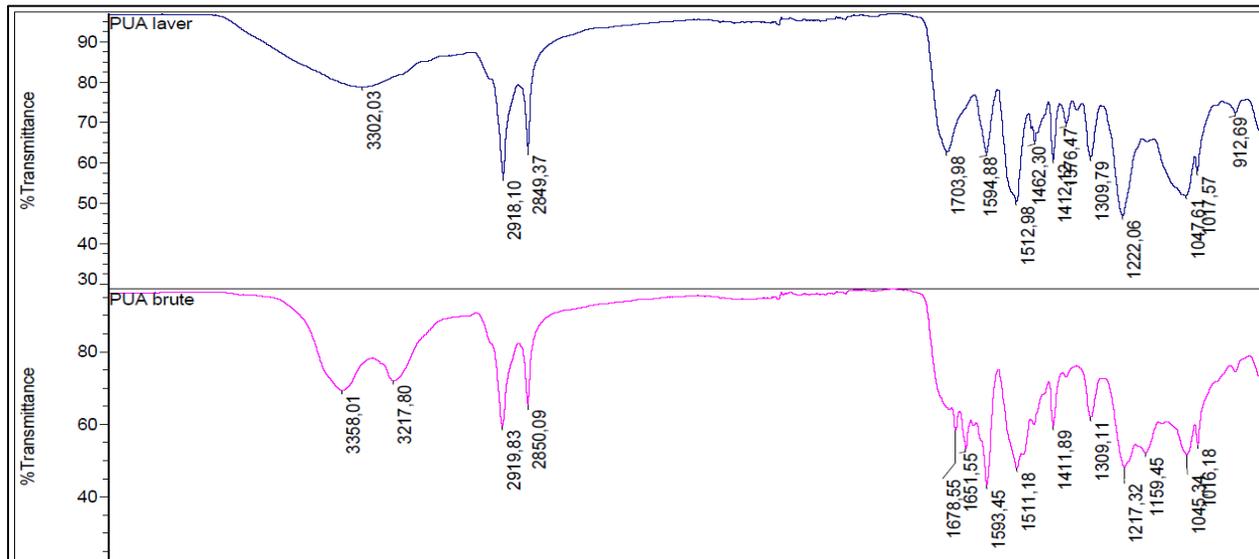


Figure 3.14 : Spectre IR du polyuréthane de type A après avoir subi une étape de lavage (voir section 2.2.1 pour voir les étapes de préparation) (PU A lavé) et celui brut (PU A brut)

Polyuréthane type A soumis à un lavage (PU A lavé)

Le spectre IR du PU A lavé (voir figure 3.14) suivant la méthode présentée à la section 2.2.1 montre l'absence des deux signaux présents dans l'intervalle de 3000 cm^{-1} et la présence d'une seule bande de faible intensité à 3302 cm^{-1} . Ainsi, il est possible de voir une modification majeure de ce signal entre le PU A brut et celui qui a subi des étapes de lavage. Le signal à 3302 cm^{-1} serait fortement lié à la présence d'alcool dans le polymère. La disparition des signaux 1678 et 1652 cm^{-1} , présent dans le spectre du PU A brut, pour faire place au signal à 1704 cm^{-1} montre que l'amide qui était prépondérant dans le spectre du PU A brut aurait été remplacé par un acide carboxylique qui a généralement un signal entre 1710 et 1705 cm^{-1} (Bellamy, 1954). Il est également possible de remarquer une forte diminution du signal à 1595 cm^{-1} qui était dû à la présence de liens C=C aromatique. Par conséquent, la présence des cycles aromatiques a certainement été diminuée à cause des étapes de lavage effectuées. Cette observation confirme l'hypothèse que le lavage du polyuréthane aurait éliminé grandement la présence de MDA dans le PU de départ. Cependant, malgré les différences observées, il reste des similitudes entre les deux spectres qui permettent de croire que les deux polymères sont similaires. En effet, la présence des signaux à 2918 et 2849 cm^{-1} à des intensités similaires au spectre de PU A brut permet de valider que le squelette structurel des deux polymères est le même, mais qu'il a subi quelques modifications au niveau des groupes fonctionnels.

Comparaison des spectres du polyuréthane type A soumis aux différents aspects d'une hydrolyse

Après avoir vu les différents spectres IR du PU A lavé et brut (voir figure 3.14). L'étude s'est orientée vers le PU A qui avait subi les trois différentes variables d'une hydrolyse : le chauffage à 100°C pendant 1 heure, l'ajout d'acide sulfurique concentré dans le milieu réactionnel (sans chauffage avec agitation pendant 1 heure) et finalement la combinaison des deux variables précédentes, soit le chauffage et l'acide, avec une agitation de 1 heure (voir section 2.2.1). L'analyse de ces spectres a été effectuée de manière comparative

afin de voir les différences entre eux (voir figure 3.15). La première observation a permis de constater la similitude entre les trois spectres. Cependant, lorsque le signal à 1040 cm^{-1} est superposé, une différence d'intensité entre les signaux est observée. En effet, cette compilation de spectre semble appuyer l'hypothèse que l'hydrolyse augmente la formation d'alcools primaires dans l'échantillon. Par conséquent, si la formation d'alcools primaires est augmentée, cela se produit au dépend d'une scission de la fonction uréthane du polymère. Ainsi, en analysant le filtrat résultant de cette expérience, il y a eu confirmation qu'il y avait bien du MDA qui a été créé dû à l'hydrolyse (se référer à la section 2.2.1). De plus, la diminution du signal à environ 1600 cm^{-1} serait une indication qu'il y a beaucoup moins de cycles aromatiques présents dans ce polymère que dans celui du brut. Ceci est une autre indication que du MDA aurait été formée puisque la diminution du signal associé à l'aromaticité indique qu'il aurait moins de cycles aromatiques présents dans le polyuréthane résultant. De plus, en comparant les trois spectres, il est possible de voir une évolution au niveau du signal lié à la présence d'alcools primaires. En effet, le trait bleu représentant le PU A soumis au chauffage en même temps d'être dans un milieu réactionnel acide, présente une intensité augmentée du signal à 1040 cm^{-1} ce qui indiquerait qu'une hydrolyse plus poussée augmente les risques d'avoir des alcools primaires dans le milieu. En conclusion, le changement d'apparence des spectres entre le PU A brut et ceux résultants des PU A soumis à différents traitements, supporte une dégradation du polyuréthane lors de l'hydrolyse.

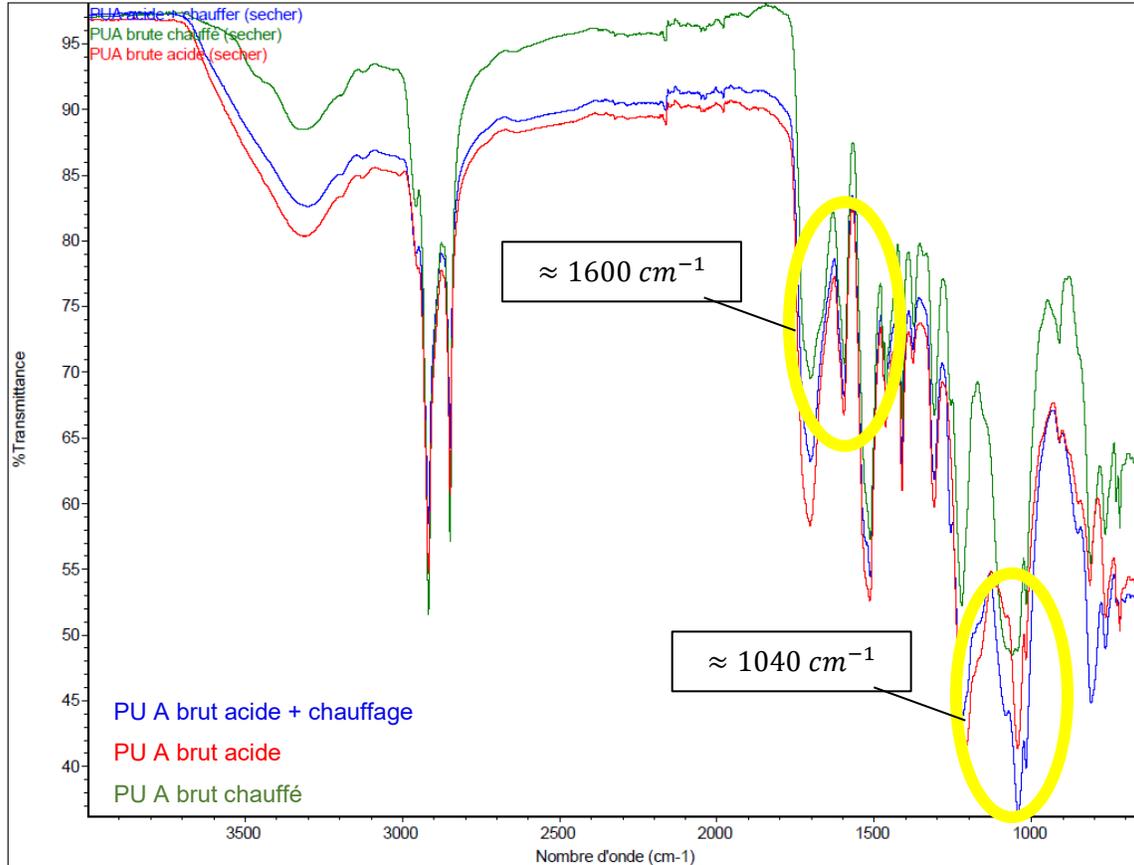


Figure 3.15 : Compilation des spectres IR du polyuréthane type A (PU A brut) soumis aux différents aspects d'une hydrolyse (chauffage à 100°C pendant 1 heure, milieu réactionnel acide avec agitation pendant 1 heure et finalement un mélange des deux)

Analyse comparative des spectres concernant une hydrolyse complète du PU A brut et le PU A brut soumis à aucun solvant

Afin d'avoir une appréciation visuelle, une compilation du spectre du PU A brut ainsi que le PU A résultant de l'expérience sur les différents aspects d'une hydrolyse est présentée à la figure 3.16 Il est possible de remarquer, comme dans le cas du PU A lavé (voir section 2.2.1), que les signaux dans la plage de 1700 à 1500 cm^{-1} ont disparu pour laisser place à un signal à 1705 cm^{-1} qui est lié à la présence du carbonyle d'un acide carboxylique. De plus, la superposition des signaux dans la gamme des 3300 cm^{-1} en un seul signal pourrait être expliquée par la disparition de la présence d'amines dans le PU A acide + chauffage. Cependant, les deux signaux concluants restent ceux à 1600 et 1040 cm^{-1} . En effet,

lorsqu'une comparaison est complétée des intensités de ses signaux, il est possible de voir une diminution du signal à 1600 cm^{-1} lié à la présence de liens C=C aromatiques. De plus, une grande augmentation de l'intensité du signal à 1040 cm^{-1} pour le spectre du PU A acide + chauffage, pourrait supposer une dégradation partielle des liens uréthane en alcool primaire (Bellamy, 1968).

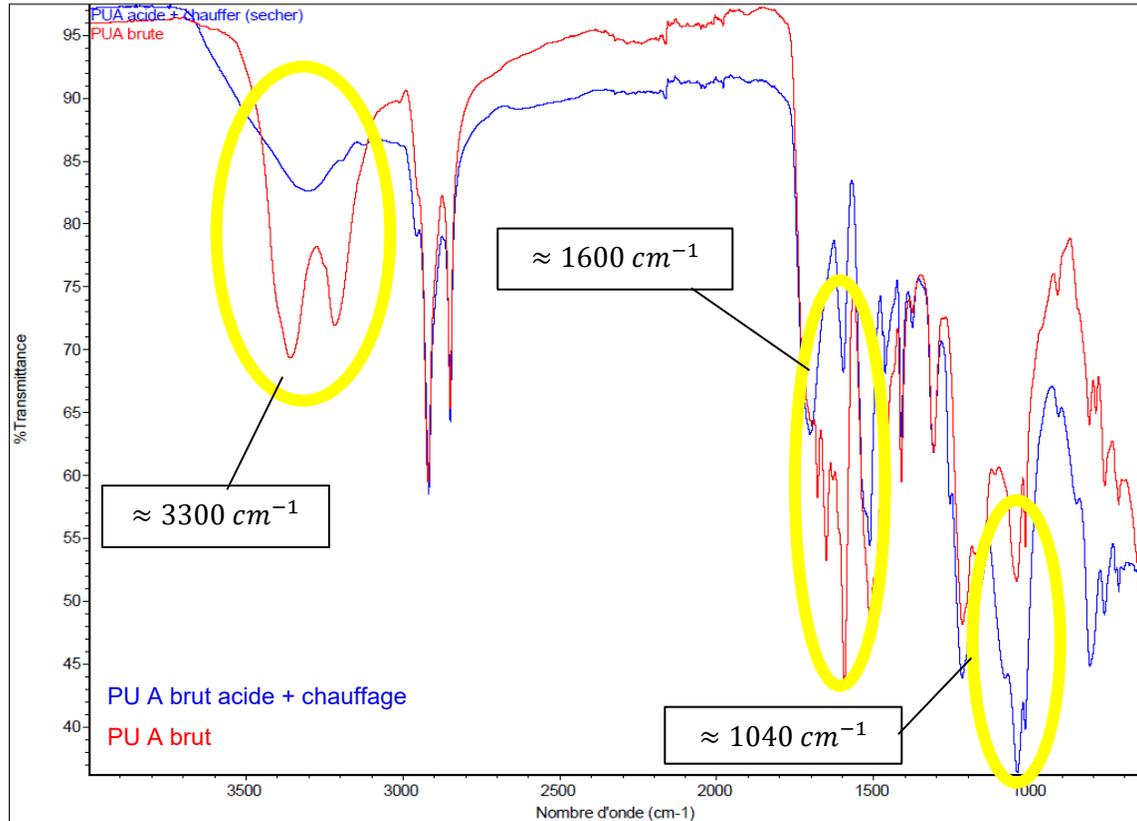


Figure 3.16 : Compilation des spectres IR du PU A brut (en rouge) ainsi que le PU A brut soumis à un milieu réactionnel acide et un chauffage à 100°C pendant 1 heure (en bleu)

3.4.4 Résultats de l'analyse quantitative des variables de l'hydrolyse impactant

En parallèle à l'analyse qualitative des spectre IR, une analyse des filtrats obtenus a été faite afin d'avoir des résultats quantitatifs qui corroborent les observations spectrales. Effectivement, à l'aide de la méthode d'extraction liquide-liquide décrite dans ce mémoire (voir section 2.2.1 pour la méthode de préparation), une analyse en triplicatas des filtrats dilués a été effectuée. Les résultats ont effectivement confirmé les hypothèses qu'il y avait de la dégradation due à l'hydrolyse. Le tableau 3.6 montre les concentrations obtenues lors de l'analyse quantitative des filtrats de l'expérience sur la dégradation. Ces résultats ont par la suite été ramenés à une concentration initiale représentant en nM les concentrations en MDA qu'il y avait dans les filtrats résultants de la filtration du PU A soit le 1 mL du milieu réactionnel. Finalement, à des fins de comparaison, les résultats ont été transformés en pourcentage massique à l'aide des masses de PU A initialement utilisées pour cette expérience. Dans le tableau 3.6, il est possible de voir que le chauffage de la solution à 100°C pendant 1 heure serait le paramètre qui causerait le plus de dégradation. Bien évidemment, c'est tout de même le mélange entre un milieu réactionnel, chauffage et acide qui causerait le plus de dégradation. Cette observation a aussi été visible au niveau des spectres IR. De plus, il est possible de voir que malgré la dilution effectuée lors l'analyse, les résultats obtenus pour le PU A acide et chauffage présentent une concentration supérieure à la limite de linéarité de la méthode, soit 500 nM (Lépine et al., 2018). Aussi, il est possible de voir que le milieu acide sans chauffage présente très peu de dégradation avec une concentration moyenne de 4,64 nM. Finalement, un pourcentage massique plus élevé a été remarqué lorsque l'échantillon de PU A brut a subis une hydrolyse complète. Avec ces résultats il est possible de conclure qu'il y a effectivement eu une dégradation des particules de polyuréthane lors d'une hydrolyse due au mélange des deux variables d'une hydrolyse. Sur la base des observations précises des concentrations en pourcentage massique déterminées, il est possible de conclure qu'une hydrolyse cause une dégradation qui augmente d'un facteur d'environ 30% de la valeur lorsque seulement le chauffage est utilisé. Il est aussi possible de voir qu'un milieu acide ne cause que très peu de dégradation puisqu'un pourcentage massique de 0,004% a été observé. Cette concentration reste très faible lorsqu'elle est comparée aux autres concentrations obtenues.

Tableau 3.6 : Compilation des résultats quantitatifs de l'analyse des filtrats lors de l'observation de l'impact des différents aspects d'une hydrolyse

Variable de l'hydrolyse	Milieu acide (H ₂ SO ₄) n=3	Chaleur (100°C) n=3	Milieu acide + chaleur n=3
Concentration de MDA moyenne obtenue (nM)	4,6	16,0	532,9
Écart type (nM)	1,6	6,5	11,3
CV (%)	33,5	40,8	2,1
Concentration de MDA moyenne initiale (dans le 1mL du milieu réactionnel), (nM)	9280	32 040	1 065 820
Pourcentage massique (%)	0,004	0,013	0,411

CHAPITRE 4 :

CONCLUSION

En conclusion, les expériences réalisées dans le cadre de ce mémoire avaient pour but d'évaluer l'importance de facteurs externes pouvant affecter le résultat d'analyse. En effet, lors du développement de la méthode d'analyse des concentrations de MDA dans de l'urine faite par IRSST, l'aspect analytique a été complété. Cependant, cette méthode n'avait jamais été testée sur le terrain et donc il devenait intéressant de considérer des aspects externes d'une analyse de terrain. Ainsi, une étape supplémentaire d'analyse d'échantillon était de mise afin de contrôler la possibilité que les échantillons soient contaminés. De plus, une étude de la dégradation des particules de polyuréthane pendant l'étape d'hydrolyse a été effectuée.

Pour vérifier l'aspect contrôle des échantillons contaminés, une évaluation de l'impact d'une centrifugation sur des échantillons d'urine contaminée a été effectuée. Cette étude a montré qu'une centrifugation n'avait pas d'impact sur le MDA libre présent de base dans l'urine, mais que cette technique limitait l'impact des particules de polyuréthane présentes sur les concentrations de MDA observé. De plus, il a aussi été observé que la concentration de MDA qui se retrouve dans les échantillons contaminés dépendait du temps de désorption. En effet, plus l'urine était en contact longtemps avec les particules de MDA, plus les concentrations en MDA augmentaient. Il a été possible de voir que les concentrations augmentaient de manière exponentielle en fonction du temps d'exposition. Ainsi, si les échantillons sont stockés longtemps dans un endroit avant l'analyse ou s'il y a beaucoup de perturbation des échantillons pendant le transport, ceci augmente la désorption du polyuréthane dans l'urine et donc augmente l'impact de la contamination. Pour finir, une évaluation d'une méthode de filtration a été comparée à la méthode de centrifugation. Cette comparaison a montré que les deux techniques étaient efficaces pour contrôler la contamination des échantillons. Cependant, la filtration serait une meilleure technique, car elle peut être faite plus rapidement sur les échantillons afin de limiter

l'impact d'une désorption. De plus, la filtration ne peut augmenter les concentrations de MDA après son exploitation, car les particules de polyuréthane ne sont plus présentes. Pour la centrifugation, les particules de polyuréthane sont entassées dans le fond de l'échantillon, mais des perturbations peuvent suspendre de nouveau les particules dans les échantillons et les contaminer. Ceci a été observable en comparant les pourcentages de coefficient de variation des résultats. D'autre part, l'inquiétude que les concentrations en créatinine soient perturbées par une filtration a été réfutée. En effet, les expériences ont montré que la créatine n'était pas affectée par la filtration. Ainsi, il a été conclu qu'il faudrait instaurer une étape de filtration pendant l'échantillonnage afin de contrôler les échantillons contre la contamination externe.

Afin de vérifier la dégradation des particules de polyuréthane en MDA pendant l'hydrolyse, différentes analyses ont été effectuées. Premièrement, une méthode d'analyse a été utilisée afin de nettoyer le polyuréthane de la présence du MDA. Cette étape avait pour but d'obtenir un polyuréthane type A avec une présence diminuée de MDA. Ainsi, après avoir été soumis à plusieurs solvants, les deux types de PU A ont été analysés par méthode SPE d'extraction solide dans les sols contaminés (Brunet et al., 2019). Les résultats ont montré que les concentrations en MDA du PU A lavé était plus petite que celle du brut. Par la suite, des échantillons d'urine ont été contaminés par ses deux types de PU. Ces échantillons ont été analysés suivant la méthode de l'IRSST et il a été possible de voir que les concentrations en MDA avaient grandement augmenté. De plus, les concentrations en MDA pour le PU A lavé était beaucoup plus élevées que les concentrations en MDA du PU A brut. Cette analyse montrait des concentrations révélatrices d'une possibilité de dégradation des particules de polyuréthane pendant l'analyse. De plus, il a été possible de conclure que les méthodes de lavage utilisées sur le polyuréthane auraient fragilisé les liens du polyuréthane afin d'augmenter la dégradation de celui-ci. Suivant cette analyse, une expérience a été effectuée afin de comparer 3 variables de l'hydrolyse. L'une était un échantillon de PU A dans un milieu réactionnel acide à l'aide d'acide sulfurique concentré, mais sans chauffage et agiter pendant 1 heure, l'autre était un échantillon de PU A dans une solution aqueuse chauffée pendant 1 heure à 100°C avec agitation et finalement le dernier était le mélange des deux paramètres. Une approche qualitative de cette expérience a été réalisée ainsi qu'une approche quantitative. L'approche qualitative a été effectuée à l'aide de spectre infrarouge. Il y a eu l'analyse du spectre IR du MDI, du MDA, du PU A brut, du PU A lavé et des 3 PU A obtenu lors de l'expérience précédant de l'hydrolyse. Ces spectres ont

révélé des aspects intéressants permettant de valider la présence d'une dégradation du polyuréthane pendant l'hydrolyse. Cette analyse s'est basée sur la diminution du signal lié à l'aromaticité de la molécule (1600 cm^{-1}) et l'augmentation de l'intensité du signal à 1040 cm^{-1} lié à la présence d'alcools primaires (Alpert et al., 1964; Bellamy, 1954; Kendall, 1966). Il a donc été possible de conclure que de la dégradation était observable pendant l'hydrolyse. En parallèle, une étude quantitative des filtrats obtenus a été effectuée. Cette analyse a permis de voir de manière quantitative l'augmentation des concentrations en MDA des différentes variables d'une hydrolyse. La conclusion résultante fut qu'une hydrolyse comportant de la chaleur et un milieu réactionnel acide causait une augmentation considérable de la quantité de MDA observée. En conclusion, cette étude a permis de confirmer que l'étape de l'hydrolyse causait effectivement une dégradation des particules de PU qui pourraient contaminer les échantillons d'urine. Afin d'en savoir davantage sur la dégradation du polyuréthane lors d'une hydrolyse, il serait intéressant de faire des analyses plus approfondies. En effet, faire une analyse par LC-MS non ciblé pourrait permettre de mieux suivre les produits de dégradation causés par l'étape d'hydrolyse présente dans la méthode de Maggy (Lépine et al., 2018). De plus, une analyse par RMN 1H pourrait aussi donner plus de détails sur les produits de dégradation obtenus. Cependant, cette analyse reste difficile à réaliser puisqu'il est presque impossible de dissoudre le PU dans un solvant aprotique. En effet le polyuréthane est un composé solide qui est difficile à dissoudre sans altérer les liaisons uréthanes du polymère.

CHAPITRE 5 :

LIMITATIONS DE L'ÉTUDE

L'étude de la corrélation entre la technique d'analyse du MDI dans l'aire versus la présence du MDA dans l'urine n'a malheureusement pas pu être effectuée. En effet, des difficultés reliées à la COVID-19 ont repoussé l'étape d'échantillonnage jusqu'à échéance. Ainsi, il a été impossible dans le cadre de ce projet d'obtenir des échantillons de terrain. Effectivement, la COVID-19 a causé des difficultés de collaboration avec des entreprises de construction afin d'avoir des participants pour cette étude. Cependant, une étude effectuée par le groupe de recherche de Bello *et al.* a déjà étudié la question (Bello et al., 2019). En effet, au cours des années 2015 et 2016 ce groupe de recherche a complété plus de 14 visites sur 12 sites d'isolation SPF (« *spray polyurethane foam* ») en Nouvelle-Angleterre. Ces visites avaient pour but de récolter des échantillons qui auraient permis d'évaluer l'exposition par voie aérienne et cutanée, avec une biosurveillance urinaire concomitante avant et après le quart de travail. La technique qui a été utilisée pour récolter les échantillons d'air est semblable à celle utilisée dans ce mémoire puisque les auteurs ont utilisé un CIP10-M (voir section 2.1). Cependant, leur solvant pour la récolte était plutôt du benzoate de butyle au lieu du tributyle phosphate (TBP) et le dérivatif MAP au lieu du MOPIP. En tout, il y a eu 31 échantillons de récoltés pour une médiane de temps de 70 minutes par travailleur avec un intervalle de 10 à 231 minutes de travail. Ces échantillonnages ont été faits sur le pulvérisateur ainsi que l'aide qui l'accompagne. De plus, le groupe de recherche a récolté des échantillons de l'air dans la zone de travail à l'aide d'un montage spécial de train d'échantillonnage comprenant des filtres dans une cassette Delrin, un impacteur et une pompe sur trépied correspondant à la hauteur de l'inhalation des travailleurs (environ 1,7 m du niveau du sol). En tout, 15 échantillons ont été récupérés de cette manière plus 5 échantillons à différents points à l'extérieur de la salle où avait lieu la pulvérisation. Ces échantillonnages avaient une durée médiane de 114 minutes avec une gamme de 36 à 247 minutes. En ajout, ils ont fait des

échantillonnages cutanés à l'aide de gant de coton imprégné de dérivatif MAP sur des gants fins en nitrile. Ces gants étaient portés sur les deux mains par le pulvérisateur pendant qu'il effectuait sa tâche. Après leur pulvérisation, les gants de coton ont été récupérés et analysés. Un total de 37 personnes ont été volontaires et la durée d'exposition avait une médiane de 40 minutes dans un intervalle de 8 à 123 minutes. Pour finir, les derniers échantillons qui ont été récupérés étaient des échantillons d'urinaires. Un prélèvement d'urine avait lieu au début et la fin de quart de travail de la personne. En tout, 45 échantillons ont été prélevés avant et 47 après les quarts de travail. L'intervalle entre les deux types d'échantillons (avant/après) était d'une moyenne de 190 minutes sur une plage de 70 à 330 minutes. Tous les échantillons d'air, soit prélevés sur les travailleurs ou dans la zone, ont été préparé d'une manière particulière pour être finalement analysés par LC-ESI-MS/MS. Les échantillons de gants ont aussi suivi une préparation particulière pour ensuite être analysés par LC-ESI-MS/MS par signaux MRM. Finalement, les échantillons d'urine ont suivi une préparation particulière pour ensuite être analysés par LC-ESI-MS /MS. À de toutes ses analyses, le groupe de Bello en est venu à la conclusion que les respirateurs à adduction d'air était le meilleur moyen de protection contre les aérosols de MDI. Il recommande aussi d'utiliser des gants en nitrile épais au lieu de fins puisque les fins ont tendance à plus souvent se déchirer et donc exposer la peau des travailleurs au produit de pulvérisation. Leurs études ont montré que l'exposition par inhalation avait diminué comparativement aux études antérieures ce qui suggère une tendance historique à la réduction de l'exposition pendant l'application du polyuréthane. Les auteurs expliquent que cette amélioration serait probablement dû à l'augmentation de la vitesse de durcissement lors de l'application, des améliorations des système de dosage par pulvérisation et de meilleur contrôle d'exposition qui diminue les aérosols. Ils ont aussi montré que les coéquipiers présents dans la pièce où avait lieu la pulvérisation étaient à risque et fortement exposés. De plus, les concentrations de créatinine de leur échantillon d'urine étaient deux fois plus élevées après le quart de travail. Ils ont supposé que ce pourrait être causé par le manque d'hydratation et des hautes températures et de l'exposition au produit toxique. Cet indice montre une néphrotoxicité possible ou une diminution du flux sanguin vers les reins.

Ainsi, l'étude de Bello a permis de vérifier plusieurs manières pour un travailleur d'être exposé au MDI mais, elle n'a pas présenté de réelle corrélation entre les différents types d'échantillons. Par exemple, il n'y avait pas de comparaison mettant en relation les résultats obtenus lors de l'échantillonnage d'air versus la présence du biomarqueur MDA

dans leur échantillon d'urine. En espérant que ce mémoire saura inspirer d'autres chercheurs à continuer dans cette direction sans les inconvénients vécus à cause de la covid-19.

RÉFÉRENCES

- Abe, E., Delyle, S. G., & Alvarez, J. C. (2010). Extraction liquide-liquide: théorie, applications, difficultés. *Annales de toxicologie analytique*.
- Alex, S. (2017). *L'osomose directe, ou quand l'osmose inverse change de sens*.
- Alpert, N. L., Keiser, W. E., & Szymanski, H. A. (1964). *IR : Theory and Practice of Infrared Spectroscopy* (Second edition ed.).
- Aquaportail. (2010, 26/11/2010). Hydrolyse : définition, explication. <https://www.aquaportail.com/definition-8406-hydrolyse.html>
- Arelco. (2003). *CIP 10-M capteur individuel de polluants microbiologiques*.
- Bellamy, L. J. (1954). *The Infra-red Spectra of Complex Molecules*.
- Bellamy, L. J. (1968). *The infrared spectra of complex molecules* (Second edition ed., Vol. 2).
- Bello, A., Xue, Y., Gore, R., Woskie, S., & Bello, D. (2019). Assessment and control of exposures to polymeric methylene diphenyl diisocyanate (pMDI) in spray polyurethane foam applicators. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*(222), 804-815.
- Bhandari, D., Ruhl, J., Murphy, A., McGahee, E., Chambers, D., & Blount, B. C. (2016). Isotope Dilution UPLC-APCI-MS/MS Method for the Quantitative Measurement of Aromatic Diamines in Human Urine: Biomarkers of Diisocyanate Exposure. *Anal Chem*, 88(21), 10687-10692. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b03191>
- Bolognesi, C., Baur, X., Marczyński, B., Norppa, H., Sepai, O., & Sabbioni, G. (2001). Carcinogenic risk of toluene diisocyanate and 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate: epidemiological and experimental evidence [Review]. *Crit Rev Toxicol*, 31(6), 737-772. <https://doi.org/10.1080/20014091111974>
- Boutin, M. (2004). *Identification et quantification des isocyanates générés lors de la dégradation thermique d'une peinture automobile à base de polyuréthane* [Université de Montréal]. Montréal, QC.
- Brunet, C., Aubin, S., Gagné, S., West, R., & Lesage, J. (2019). Development of a method for extraction and determination of 4,4'-methylenedianiline in soils by solid-phase extraction and UPLC-MS-MS. *Journal of liquid chromatography and related technologies*. <https://doi.org/10.1080/10826076.2018.1539673>
- CNESST. (2022). *Propriétés toxicologiques*. Retrieved from https://reptox.cnesst.gouv.qc.ca/pages/fiche-complete.aspx?no_produit=3970
- Cocker, J. (2007). Biological monitoring for isocyanates. *Occupational Medicine*, 57, 391-396. <https://doi.org/10.1093/occmed/kql148>
- Cocker, J., Gristwood, W., & Wilson, H. K. (1986). Assessment of occupational exposure to 4,4'-diaminophenylmethane (methylene dianiline) by gas chromatography-mass spectrometry analysis of urine. *British Journal of Industrial Medicine*, 43(9), 620-625.
- Cottreau, M.-C., & Saint-Denis, C. (2017). *Le Polyuréthane PU*. <https://ramenetessciences.wordpress.com/2017/05/05/le-polyurethane-pu/>
- CSST, N., OSHA. (2000). *Info isocyanates*.
- Delphine. (2020). *Historique du polyuréthane projeté*. <https://www.isolation-energie-france.com/histoire-du-polyurethane-projete/#:~:text=Le%20polyur%C3%A9thane%20a%20%C3%A9t%C3%A9%20>

- [%C3%A9velopp%C3%A9.chaussures%20ou%20comme%20mousses%20isolantes.](#)
- DFG. (2015). *4,4'-Methylene diphenyl diisocyanate (MDI) [101-68-8] and "polymeric" MDI (PMDI) [9016-87-9] [MAK Value Documentation, 2008]*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb10168stae4515>
- European Commission. (2005). *Methylenediphenyl diisocyanate (MDI)*.
- Exo. (2019). *Mieux comprendre les impacts du dégel sur nos infrastructures.* <https://exo.quebec/fr/actualites/impacts-degel-infrastructures>
- Gledhill, A., Wake, A., Hext, P., Leibold, E., & Shiotsuka, R. (2005). Absorption, distribution, metabolism and excretion of an inhalation dose of [¹⁴C] 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate in the male rat [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Xenobiotica*, 35(3), 273-292. <https://doi.org/10.1080/00498250500057591>
- IRSST. (2015). *Facteur de protection caractéristique Choisir une protection respiratoire contre les bioaérosols* Retrieved from <https://www.irsst.qc.ca/bioaerosol/facteur-protection.aspx#:~:text=Le%20FPC%20correspond%20au%20rapport,'int%C3%A9rieur%20de%20l'APR>.
- IRSST. (2019a). *Délais de conversation.*
- IRSST. (2019b). *Dosage du 4,4'-méthylènedianiline (MDA) urinaire par UPLC-MS.*
- IRSST. (2022). *Diisocyanate-4,4' de diphénylméthane (MDI)*. Retrieved from <https://www.irsst.qc.ca/laboratoires/analyses/contaminants-air/substance/i/30>
- Isotrie. (2021). *Avantages isolation mousse polyuréthane projetée.* <https://www.isotrie.fr/avantages-mousse-polyurethane-projetee/>
- J. Greg Slatter, M. S. R., Paul G. Pearson, Deog-Hwa Han and Thomas A. Baillie. (1991). Biotransformation of Methyl Isocyanate in the Rat. *American Chemical Society*.
- Kendall, D. N. (1966). *Applied Infrared Spectroscopy*. Reinhold publishing corporation.
- Lampman, P. a. K. (1979). *Introduction to spectroscopy*.
- Lépine, M. (2019). *Quantification des biomarqueurs d'exposition au isocyanates dans l'urine humaine par LC-MS/MS UQAM*. Montréal.
- Lépine, M., Sleno, L., Lesage, J., & Gagné, S. (2018). A validated liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for 4,4'-methylenedianiline quantification in human urine as a measure of 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate exposure. *Rapid Commun Mass Spectrom*(33), 600-606. <https://doi.org/10.1002/rcm.8380>
- Marand, A., Karlsson, D., Dalene, M., & Skarping, G. (2004). Determination of amines as pentafluoropropionic acid anhydride derivatives in biological samples using liquid chromatography and tandem mass spectrometry [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Analyst*, 129(6), 522-528. <https://doi.org/10.1039/b403439b>
- MFC. (2021). *Quest-ce que la mousse de polyuréthane.* Memory foam comfort. <https://fr.memoryfoamcomfort.ca/pages/quest-ce-que-la-mousse-de-polyurethane>
- Nancy-metz. (2021). *Les acides carboxyliques et leurs dérivés.* https://www4.ac-nancy-metz.fr/physique/ancien_site/CHIM/Jumber/Acides/les_acides_fichiers/acides.htm
- Nutri-lawn. (2021). *Fertilizer services: controlled release fertilizer.* <https://www.nutrilawn.com/polygon>
- Pauluhn, J., Brown, W. E., Hext, P., Leibold, E., & Leng, G. (2006). Analysis of biomarkers in rats and dogs exposed to polymeric methylenediphenyl diisocyanate (pMDI) and its glutathione adduct. *Toxicology*, 222(3), 202-212. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.02.014>
- Pellizzi, E. (2012). *Étude du vieillissement des mousses de polyuréthane ester et consolidation par les aminoalkylalkoxysilanes* Université d'Évry Val D'essonne].

- Pichette, L. (2019). *Utilisation sécuritaire des isocyanates : nouveau guide axé sur la pratique*. Prévention au travail. <https://www.preventionautravail.com/recherche/93-utilisation-securitaire-des-isocyanates-un-nouveau-guide-axe-sur-la-pratique.html>
- Poliuretanos. (2021). *Commercial Isocyanates*. Retrieved septembre 14 from <https://poliuretanos.com.br/Ingles/Chapter1/132comercial.htm>
- Pubchem. (2021a). *Toluene*. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1140>
- Pubchem. (2021b). *Water*. National Library of Medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/962>
- Puscasu, S. (2015). *Développement d'un dispositif d'échantillonnage afin de prélever de façon efficace et conviviale les aérosols de MDI UQAM*].
- Puscasu, S., Aubin, S., Cloutier, Y., Sarazin, P., Van Tra, H., & Gagné, S. (2014). CIP10 Optimization for 4,4-methylene diphenyl diisocyanate aerosol sampling and field comparison with impinger method. *BOHS*, 59(3), 347-357. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meu100>
- Puscasu, S., Aubin, S., Cloutier, Y., Sarazin, P., Van Tra, H., & Gagné, S. (2015). Comparison between the ASSET EZ4 NCO and impinger sampling devices for aerosol sampling of 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate in spray foam application. *BOHS*, 1-10. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mev025>
- Reisser, M., Schmidt, B. F., & Brown, W. E. (2002). Synthesis, Characterization, and Solvolysis of Mono- and Bis-S-(glutathionyl) Adducts of Methylene-bis-(phenylisocyanate) (MDI). *Chem. Res. Toxicol.*, 15(10), 1235-1241.
- Roberge, B., Aubin, S., Ostiguy, C., & Lesage, J. (2013). *Guide de prévention pour une utilisation sécuritaire des isocyanates (RG-764)*.
- Roberge, B., Gravel, R., & Drolet, D. (2009). *Diisocyanate-4,4' de diphénylméthane (MDI), pratiques de sécurité et concentration lors de pulvérisation de mousse polyuréthane (R-606)*.
- Sabbioni, G., Dongari, N., & Kumar, A. (2010). Determination of a new biomarker in subjects exposed to 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Biomarkers*, 15(6), 508-515. <https://doi.org/10.3109/1354750X.2010.490880>
- Sakai, T., Morita, Y., Kim, Y., & Tao, Y. X. (2002). LC-MS determination of urinary toluenediamine in workers exposed to toluene diisocyanate *Toxicology letters*, 134(1-3), 259-264.
- Samson, B. (2020). *Levage de dalle de béton*. <https://www.betonsamson.com/levage-de-dalle-de-beton/>
- Sennbro, C. J., Lindh, C. H., Mattsson, C., Jonsson, B. A., & Tinnerberg, H. (2006). Biological monitoring of exposure to 1,5-naphthalene diisocyanate and 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Int Arch Occup Environ Health*, 79(8), 647-653. <https://doi.org/10.1007/s00420-006-0096-5>
- Sepai, O., Henschler, D., & Sabbioni, G. (1995). Albumin adducts, hemoglobin adducts and urinary metabolites in workers exposed to 4,4'-methylenediphenyl diisocyanate [Research Support, Non-U.S. Gov't]. *Carcinogenesis*, 16(10), 2583-2587. <https://doi.org/10.1093/carcin/16.10.2583>
- SIKA. (2015). Béton : technologies sika pour l'industrie minière. In S. C. INC. (Ed.).
- Skarping, G., Delene, M., & Brunmark, P. (1994). Liquid Chromatography and Mass Spectrometry Determination of Aromatic Amines in Hydrolysed Urine from Workers Exposed to Thermal Degradation Products of Polyurethane. *Department of Occupational and Environmental Medicine*, 39, 619-623.

- Sun, Z., Jin, Q., Yu, Y., Cheng, J., Ji, Z., Li, G., & You, J. (2019). A highly sensitive and selective method for analysis of biomarkers of diisocyanate exposure in human urine by high-performance liquid chromatography with intramolecular excimer-forming fluorescence derivatization. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 41(17-18), 982-991.
<https://doi.org/10.1080/10826076.2018.1549068>
- Tonnelier, A. (2018). *Elaboration de réseaux polyuréthanes hybrides réparants et thermoformables* [Université de Sorbonne].