

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

DÉVELOPPEMENT D'UNE NOUVELLE MÉTHODE D'EXTRACTION ET DE  
QUANTIFICATION DU TOLUÈNE DIAMINE A PARTIR D'UNE MATRICE DE TISSUS

MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN CHIMIE

PAR  
ASMA DAOUD

JUILLET 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

Avant tout développement sur ce travail, je remercie ceux qui m'ont beaucoup appris au cours de ce projet, et même pour ceux qui ont eu la gentillesse de faire de ce travail un moment très profitable.

Je voudrais au préalable exprimer ma plus profonde gratitude à mon directeur de recherche, le professeur associé à l'Université du Québec à Montréal, M. Jacques Lesage, pour m'avoir présentée cette immense opportunité de prendre part à ce projet. Ses compétences scientifiques, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils m'ont permis de mener bien ce travail. Je remercie également mon co-directeur à l'université du Québec à Montréal, le professeur M. Livain Breau pour m'avoir aidé et répondu à mes questions quand j'étais dans le besoin. Merci aussi pour les corrections de mémoire et l'anglais de l'article.

Je suis reconnaissante à mon superviseur, M. Pierre-Luc Cloutier, professionnel à Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST), qui m'a fourni tout l'encadrement et le soutien nécessaires pour mettre ce travail dans un meilleur cadre.

Mes remerciements s'adressent aussi à toute l'équipe de l'IRSST qui m'a permis de réaliser ce projet malgré la situation difficile rencontrée avec la Covid-19. Je remercie également M. Bruno Ponsard, directeur des laboratoires de l'IRSST, pour m'avoir accueilli au sein de l'institut et de m'avoir permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions. Je remercie aussi, M. Sébastien Gagné, professionnel scientifique de l'IRSST, pour m'avoir consacré du temps à discuter de mon projet et pour faire partie des auteurs de mon article. Son expertise et ses corrections m'ont fait avancer mon projet à grands pas. Ma gratitude va aussi aux techniciens du laboratoire, Mme Catherine Choinière et M. Philippe Juteau pour leur aide tout au long de mon séjour à l'institut, leurs compétences scientifiques et leur bonne humeur.

Mes remerciements se poursuivent envers International Isocyanates Institute Inc (III), pour le financement du projet et les réunions de suivi.

J'aimerais remercier vivement tous les membres du jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait d'avoir accepté d'évaluer mon travail.

Finalement, je voudrais dire un gros merci à mes chers parents et mes deux sœurs pour leur amour, leur confiance, leurs conseils ainsi que leur soutien inconditionnel qui m'a permis de réaliser ce mémoire.

## DÉDICACE

Je dédie plus particulièrement ce mémoire à mon cher conjoint Khaled pour tout l'encouragement, le respect l'amour qu'il m'a offert. Ce travail n'aurait pas pu être achevé sans ton éternel soutien et optimisme.

## TABLE DES MATIÈRES

|                                                                                                                                                           |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| LISTE DES FIGURES .....                                                                                                                                   | vi   |
| LISTE DES TABLEAUX .....                                                                                                                                  | vii  |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES .....                                                                                                 | viii |
| LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS.....                                                                                                                     | xi   |
| RÉSUMÉ.....                                                                                                                                               | xii  |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                            | i    |
| CHAPITRE 1 INTRODUCTION GÉNÉRALE.....                                                                                                                     | 1    |
| 1.1 Les isocyanates et leurs classes .....                                                                                                                | 1    |
| 1.2 Fabrication des polyuréthanes .....                                                                                                                   | 3    |
| 1.3 Métabolisme et mécanisme d'actions des isocyanates .....                                                                                              | 5    |
| 1.4 Le toluène di-isocyanate (TDI) et ses amines correspondantes .....                                                                                    | 6    |
| 1.4.1 La chimie et métabolisme du TDI.....                                                                                                                | 7    |
| 1.4.2 Toxicité du TDI et TDA.....                                                                                                                         | 8    |
| 1.4.2.1 Asthme professionnel.....                                                                                                                         | 9    |
| 1.4.2.2 Risque cancérigène .....                                                                                                                          | 10   |
| 1.4.2.3 Toxicité cutanée : sensibilisation et irritation.....                                                                                             | 12   |
| 1.4.2.3.1 Irritation .....                                                                                                                                | 12   |
| 1.4.2.3.2 Sensibilisation .....                                                                                                                           | 12   |
| 1.5 Les méthodes disponibles pour l'analyse du TDI/TDA selon des études antérieures et leurs limites.....                                                 | 13   |
| 1.6 Validation de méthodes analytiques développées.....                                                                                                   | 16   |
| 1.6.1 L'échantillonnage.....                                                                                                                              | 17   |
| 1.6.2 La préparation de l'échantillon (SPE).....                                                                                                          | 17   |
| 1.6.3 L'analyse instrumentale (UPLC-MS/MS).....                                                                                                           | 18   |
| 1.6.4 Validation d'une méthode analytique .....                                                                                                           | 22   |
| 1.7 Objectifs.....                                                                                                                                        | 23   |
| CHAPITRE 2 ARTICLE SCIENTIFIQUE: DEVELOPMENT OF A NEW SPE UPLC-MS/MS METHOD FOR EXTRACTION AND QUANTITATION OF TDA ON GLOVES FOLLOWING TDI EXPOSURE ..... | 24   |
| 2.1 ABSTRACT .....                                                                                                                                        | 29   |
| 2.2 INTRODUCTION .....                                                                                                                                    | 30   |
| 2.3 EXPERIMENTAL .....                                                                                                                                    | 31   |
| 2.4 Chemicals .....                                                                                                                                       | 31   |
| 2.5 Glove material.....                                                                                                                                   | 32   |

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6 Instruments and analytical conditions.....                                                                | 32 |
| 2.6.1 Calibration curve solutions.....                                                                        | 32 |
| 2.6.2 Sample glove preparation.....                                                                           | 33 |
| 2.6.3 UPLC-MS/MS analysis.....                                                                                | 33 |
| 2.6.4 Solid phase extraction (SPE).....                                                                       | 34 |
| 2.6.5 TDI/TDA conversion.....                                                                                 | 35 |
| 2.6.6 Recovery and Matrix effect.....                                                                         | 35 |
| 2.6.7 Analytical performance.....                                                                             | 36 |
| 2.6.8 RESULTS AND DISCUSSION.....                                                                             | 36 |
| 2.6.9 UPLC-MS/MS method development.....                                                                      | 36 |
| 2.6.10 Solid phase extraction (SPE).....                                                                      | 36 |
| 2.6.11 TDI/TDA conversion.....                                                                                | 37 |
| 2.6.12 Recovery and Matrix effect (Reaction of the surrogate with the glove material).....                    | 38 |
| 2.6.13 Analytical parameter validation.....                                                                   | 39 |
| 2.6.14 CONCLUSIONS.....                                                                                       | 39 |
| 2.6.15 REFERENCES.....                                                                                        | 40 |
| CHAPITRE 3 DISCUSSION.....                                                                                    | 45 |
| 3.1 Méthode d'analyse du TDA sur des matrices de tissus.....                                                  | 45 |
| 3.2 Préparation des échantillons.....                                                                         | 45 |
| 3.3 Dérivation par acétylation.....                                                                           | 45 |
| 3.4 Conversion du TDI en TDA.....                                                                             | 48 |
| 3.5 Extraction en phase solide (SPE).....                                                                     | 49 |
| 3.6 Choix du standard interne et du surrogate.....                                                            | 51 |
| 3.7 Développement de méthode sur l'UPLC-MS/MS.....                                                            | 52 |
| 3.8 Validation de méthode.....                                                                                | 54 |
| 3.9 Étude pilote : Application de la nouvelle méthode développée sur des échantillons de gants réels.....     | 57 |
| 3.10 Échantillonnage des matériaux des gants.....                                                             | 57 |
| 3.10.1 Résultats et discussion.....                                                                           | 60 |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....                                                                               | 67 |
| ANNEXE A RÉSULTATS DE L'INFUSION DE LA SOLUTION CONTENANT LE 2,6-TDA-DI-ACÉTYLÉ ET LE 2,4-TDA-DI-ACÉTYLÉ..... | 69 |
| RÉFÉRENCES.....                                                                                               | 76 |

## LISTE DES FIGURES

|                                                                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figure 1.1: Les structures de résonance possibles de la fonction NCO des isocyanates.....                                                                                                       | 1  |
| Figure 1.2: Réaction entre une fonction amine et un phosgène pour la formation de fonction isocyanate (Włoch & Datta, 2017).....                                                                | 2  |
| Figure 1.3: Structure des di-isocyanates les plus réglementés au Québec (Boutin, 2003).....                                                                                                     | 3  |
| Figure 1.4: Réaction d'addition entre un isocyanate (NCO) et un groupe hydroxyle (OH) pour donner une liaison uréthane (ADDITION REACTIONS OF ISOCYANATES, 2022).....                           | 4  |
| Figure 1.5: Métabolisme et produits de réaction possibles du TDI (Sabbioni et al., 2012) .....                                                                                                  | 8  |
| Figure 1.6: Critères et procédures de validation d'une méthode d'analyse (Feinberg, 1996) .....                                                                                                 | 17 |
| Figure 1.7: Schéma général d'un spectromètre de masse .....                                                                                                                                     | 20 |
| Figure 1.8: illustre un schéma d'une source d'ionisation électrospray (Rouessac, 2004).....                                                                                                     | 21 |
| Figure 1.9: Principe de la détection de réaction sélectionné MRM en spectrométrie de masse. (Boja et al., 2010) .....                                                                           | 21 |
| Figure 2.1 : Les étapes du processus de l'extraction du TDA sur les gants développés par René Kaboré.....                                                                                       | 27 |
| Figure 2.2: (A)% Recovery of 2,6TDA, 2,4TDA and the surrogate from gloves spiked with TDA solution, (B) Recovery of 2,6TDA, 2,4TDA and the surrogate from gloves spiked with TDI solution ..... | 39 |
| Figure 3.1: Réaction d'acétylation du 2,4TDA en employant l'anhydride acétique .....                                                                                                            | 47 |
| Figure 3.2: Exemple de chromatogramme de la séparation des isomères du TDA doublement acétylés pour une concentration de 100 (ng/mL) .....                                                      | 47 |
| Figure 3.3: Graphique de % récupération de SPE de chaque isomère de TDA pour les 4 répliques .....                                                                                              | 50 |
| Figure 3.4: Spectre MS / MS du 2,4-TDA-di-acétylé (a) et 2,6-TDA-di-acétylé (b)montrant la fragmentation ionique la plus intense choisie pour la transition MRM .....                           | 53 |
| Figure 3.5: Exemple de courbe d'étalonnage du 2,6 TDA obtenue lors de l'analyse des concentrations de TDA dans des échantillons de gants.....                                                   | 56 |
| Figure 3.6: Exemple de courbe d'étalonnage du 2,4TDA obtenue lors de l'analyse des concentrations de TDA dans des échantillons de gants.....                                                    | 57 |
| Figure 3.7: Exemple de gant échantillonné. Les lignes pointillées indiquent les zones de découpe pour les parties de gants soumises à l'analyse. ....                                           | 59 |



## LISTE DES TABLEAUX

|                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tableau 2.1: Structures of analytes and internal standards with ions transitions.....                                                    | 34 |
| Tableau 2.2: % Conversion of TDI to TDA in 1% acetic acid .....                                                                          | 37 |
| Tableau 3.1: Résultats de la reproductibilité de la dérivation pour une solution de standard de concentration 800 ng/mL .....            | 48 |
| Tableau 3.2: Sommaire du % de récupération des deux isomères de TDA suite à la SPE pour les 4 répliques .....                            | 50 |
| Tableau 3.3: Gradient utilisé pour la séparation chromatographique des isomères de TDA en UPLC.....                                      | 53 |
| Tableau 3.4: Détermination de la LOD et LOQ pour le 2,6-TDA .....                                                                        | 54 |
| Tableau 3.5: Détermination de la LOD et LOQ pour le 2,4-TDA .....                                                                        | 55 |
| Tableau 3.6: Valeurs de précision (%) et CV (%) de chaque étalon mesuré dans trois courbes d'étalonnage différentes pour le 2,6-TDA..... | 55 |
| Tableau 3.7: Valeurs de précision (%) et CV (%) de chaque étalon mesuré dans trois courbes d'étalonnage différentes pour le 2,4-TDA..... | 56 |
| Tableau 3.8: Les caractéristiques chimiques et physiques de chaque gant utilisé dans l'échantillonnage sur le terrain .....              | 58 |
| Tableau 3.9: Résultats terrain bruts pour les gants PU noirs testés et les gants nitrile correspondants.....                             | 60 |
| Tableau 3.10: Résultats terrain bruts pour les gants PU gris testés et les gants nitrile correspondants.....                             | 62 |
| Tableau 3.11: Perméation des isomères de TDA sur les gants PU noirs ou gris .....                                                        | 65 |

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES**

|        |                                                                                |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------|
| ACGIH  | American Conference of Governmental Industrial Hygienists                      |
| ACN    | Acétonitrile                                                                   |
| CAS    | Chemical Abstract Service                                                      |
| CNESST | Commission des normes de de l'équité, de la santé et de la sécurité du travail |
| CV     | Coefficient de variation                                                       |
| DBA    | dibutylamine                                                                   |
| EPA    | Environemental Protection Agency                                               |
| EPI    | Équipement de protection individuel                                            |
| ESI    | Ionisation par Électronébulisation (Electrospray Ionisaion)                    |
| GC-MS  | Chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse             |
| HDA    | Hexane diamine                                                                 |
| HDI    | Hexaméthylène diisocyanate                                                     |
| HHS    | Health and Human Services (United States)                                      |
| HRB    | Hyper Réactivité Bronchique                                                    |
| IARC   | International Agency for research on cancer (CIRC)                             |
| IRSST  | Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail             |

|       |                                                                    |
|-------|--------------------------------------------------------------------|
| IPDI  | Isophorone diisocyanate                                            |
| LC-MS | Chromatographie en phase liquide couplé à un spectromètre de masse |
| LLE   | Extraction liquid-liquide                                          |
| LOD   | Limite of detection                                                |
| LOQ   | Limite of quantification                                           |
| MAMA  | 9-(N-méthylaminométhyl)-anthracène                                 |
| MOPIP | 1-(2-méthoxyphényl)pipérazine                                      |
| MDA   | 4,4'-méthylènedianiline                                            |
| MDI   | 4,4'-diphénylméthane diisocyanate                                  |
| MRM   | Multiple Reactions Monitoring                                      |
| MS    | Mass Spectrometry                                                  |
| MS/MS | Spectrométrie de masse en tandem (MS/MS)                           |
| NIOSH | National Institute for Occupational Safety & Health                |
| NTP   | National Toxicology Program                                        |
| PU    | Polyuréthane                                                       |
| SPE   | Extraction sur phase solide (Solid Phase Extraction)               |
| SRM   | Selected Reaction Monitoring                                       |

|                         |                                                                                     |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| UPLC                    | Chromatographie Liquide Ultra Performance (Ultra Performance Liquid Chromatography) |
| UHPLC-UV-MS/MS          | Chromatographie Liquide Ultra Performance (Ultra Performance Liquid Chromatography) |
| TDA                     | Toluène diamine                                                                     |
| TDI                     | Toluène di-isocyanate                                                               |
| 2,4-d <sub>3</sub> -TDA | 2,4-Diaminotoluene- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d <sub>3</sub>                          |
| 2,6-d <sub>3</sub> -TDA | 2,6-Diaminotoluene- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d <sub>3</sub>                          |
| UQAM                    | Université du Québec À Montréal                                                     |
| VMR                     | Valeur minimale rapportée                                                           |

## LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

|     |                     |
|-----|---------------------|
| mL  | millilitre          |
| L   | litre               |
| μL  | microlitre          |
| kg  | kilogramme          |
| μg  | microgramme         |
| ng  | nanogramme          |
| °C  | degré celsius       |
| %   | pourcent            |
| m/z | masse sur charge    |
| ppb | partie par milliard |
| ppm | partie par million  |

## RÉSUMÉ

Des méthodes d'extraction en phase solide (SPE) et de quantification ont été développées et optimisées afin de permettre l'évaluation de la présence du toluène diamine (TDA) dans des matrices de tissus. Le TDA est une amine marquante suite à une exposition à l'isocyanate très répandu dans l'industrie de fabrication de la mousse en polyuréthane flexible : le toluène di-isocyanate (TDI). Ce dernier est un réactif dans la fabrication de polyuréthanes, colorants, pigments et adhésifs. La production de mousse flexible de polyuréthane résulte de la polymérisation du toluène di-isocyanate (TDI) et d'un copolymère. Le produit résultant de cette polymérisation est une mousse flexible de polyuréthane (PU) utilisée pour le rembourrage, les sièges d'automobile, la production de matelas, etc. Le TDI est une substance très réactive et toxique due à la présence de ses deux fonctions isocyanates NCO. Il est reconnu comme un puissant irritant et sensibilisant respiratoire dont la manifestation la plus sévère est l'asthme professionnelle. Une exposition cutanée est également possible par contact cutané dans les lieux de travail qui produisent ou utilisent du TDI, et une sensibilité cutanée a été démontrée chez l'homme. L'objectif de cette étude est de développer une nouvelle approche analytique pour l'extraction et la quantification des isomères de TDA à partir d'une matrice de tissus afin de déterminer l'efficacité de ces gants et dans quelle mesure ils protègent les travailleurs de l'exposition cutanée au TDI/TDA. Les isomères de TDI et TDA sont les composés cibles qui ont été évalués en ce qui concerne les risques d'exposition aux opérateurs lorsqu'ils portent les différents types de gants. En milieu aqueux, le TDI qui est très réactif se transforme en TDA. Cette amine subira par la suite une extraction en phase solide dans le but de concentrer et purifier le composé. 2,4-TDA, 2,6-TDA sont des molécules très polaires, ce qui rend leurs analyses par UPLC en phase inverse difficile. Afin d'améliorer la sensibilité de détection, une acétylation a été effectuée en employant l'anhydride acétique en milieux aqueux basique. L'analyse moyennant UPLC-MS/MS a été optimisée afin d'obtenir une méthode simple, rapide et efficace. La LOD de la méthode est de 6,86 et 2,83 ng/mL (0,03 et 0,01 µg) respectivement pour 2,6-TDA et 2,4-TDA. La LOQ est de 22,85 et 9,42 ng/mL (0,11 et 0,05 µg) pour 2,6-TDA et 2,4-TDA respectivement. Un domaine dynamique allant de 20 à 800 ng/mL a été établi. Une excellente récupération (%) pour le 2,6-TDA et le 2,4-TDA a été obtenue et a été respectivement 98,06±0,52 et 99,8±1,9.

Mots clés : Toluène di-isocyanate, Toluène diamine, SPE, UPLC-MS/MS.

## ABSTRACT

Solid phase extraction (SPE) and quantification methods have been developed and optimized to allow the evaluation of the presence of toluene diamine (TDA) in tissue matrix. TDA is a prominent amine resulting from exposure to an isocyanate which is highly utilized in the flexible polyurethane foam manufacturing industry: toluene di-isocyanate (TDI). The latter is a reagent in the production of polyurethanes, dyes, pigments and adhesives. The production of flexible polyurethane foam results from the polymerization of toluene di-isocyanate (TDI) and a copolymer. The product resulting from this polymerization is a flexible foam used for padding, car seats, mattress production, etc. TDI is a very reactive and toxic substance due to the presence of its two isocyanate functions NCO. It is known to be a significant respiratory irritant and sensitizer with the most severe manifestation being occupational asthma. Dermal exposure is also possible through skin contact in workplaces that produce or use TDI, and dermal sensitivity has been demonstrated in humans. The aim of this study is to develop a new analytical approach for the extraction and quantification of TDA isomers from a tissue matrix in order to determine the effectiveness of these gloves and how well they protect workers from dermal exposure to TDI/TDA. The isomers of TDI and TDA are the target compounds that have been evaluated for potential exposure to workers when wearing the different types of gloves. In aqueous medium, the TDI which is very reactive is transformed into TDA. This amine will then be subject to a solid phase extraction in order to concentrate and purify the compound. 2,4-TDA, 2,6-TDA are very polar molecules, which makes their analysis by UPLC in reverse phase difficult. In order to improve the sensitivity of detection, an acetylation was carried out using acetic anhydride in basic aqueous media. The analysis by UPLC-MS/MS has been optimized to provide a simple, fast and efficient method. The LOD of the method was 6.86 and 2.83 ng/mL (0.03 and 0.01  $\mu$ g) for 2,6-TDA and 2,4-TDA respectively. The LOQ was 22.85 and 9.42 ng/mL (0.11 and 0.05  $\mu$ g) for 2,6-TDA and 2,4-TDA respectively. A dynamic range from 20 to 800 ng/mL was established. Excellent recoveries (%) for 2,6-TDA and 2,4-TDA were obtained and was  $98.06 \pm 0.52$  and  $99.8 \pm 1.9$ , respectively.

Key words: Toluene di-isocyanate, Toluene diamine, SPE, UPLC-MS/MS.

## CHAPITRE 1

### INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les sujets de recherche en chimie qui traitent la toxicité de certaines substances chimiques pour l'environnement et pour les humains sont de plus en plus nombreux depuis plusieurs décennies. L'évaluation de l'exposition aux isocyanates demeure aujourd'hui encore un grand défi pour la diversité des substances chimiques utilisées d'une part, et pour le risque d'exposition associé à la dégradation thermique de ces polymères et aux quantités résiduelles non réagis dans les produits finis d'autre part.

C'est dans cette optique que vient ce chapitre pour évaluer le risque pour la santé et la sécurité des travailleurs qui manipulent les isocyanates. Dans cette partie, l'accent sera mis sur les étapes théoriques du développement d'une méthode d'extraction et d'analyse qui va permettre la quantification de contaminant contenu dans des matrices de tissus.

#### 1.1 Les isocyanates et leurs classes

Les isocyanates, produits industriellement depuis 1937, sont omniprésents dans notre vie quotidienne. Ils sont des molécules avec une ou plusieurs fonctions (-N=C=O). Ces dernières sont hautement réactives et ont permis de doter les isocyanates de propriétés industrielles exceptionnelles d'où leur large mise en œuvre (Mapp, 1999). La chimie du groupe -N=C=O est liée au caractère électrophile spécifique de l'atome C qui peut être exprimé par les deux structures de résonance présentées par la figure ci-dessous (Brochhagen, 1991a).

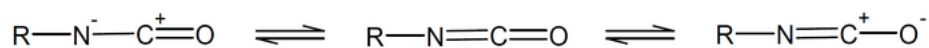


Figure 1.1: Les structures de résonance possibles de la fonction NCO des isocyanates

Ces structures expliquent pourquoi les isocyanates participent à la formation de composés cycliques après avoir subi de multiples réactions d'addition. D'ailleurs, les méthodes de production des isocyanates et leur comportement réactionnel ont fait l'objet de diverses monographies et



revues (Saunders & Slocombe, 1948; Ulrich H, 1967). Plusieurs méthodes aboutissent à la formation des isocyanates mais la méthode de fabrication la plus importante et la plus élégante est la réaction d'amines primaires ou de leurs sels avec le phosgène. La Figure suivante décrit cette réaction.

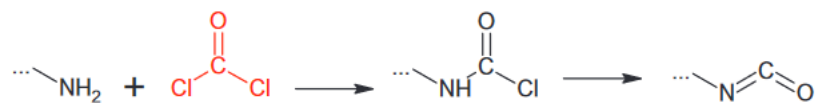


Figure 1.2: Réaction entre une fonction amine et un phosgène pour la formation de fonction isocyanate (Włoch & Datta, 2017)

Les isocyanates sont divisés en trois classes selon le nombre de (-N=C=O) qu'ils possèdent : mono-isocyanate, di-isocyanate ou poly-isocyanate. Le mono-isocyanate ou l'isocyanate de méthyl a été utilisé comme intermédiaire dans la synthèse chimique de la fabrication des pesticides. Des traces peuvent être décelés lors de la dégradation thermique de PU(Karlsson et al., 2002).

Les di-isocyanates, produits chimiques de faible poids moléculaire, présentent la classe la plus utilisée dans l'industrie partout dans le monde et plus spécifiquement au Québec. Ils sont largement utilisés dans l'industrie de production de mousses en polyuréthane, de vernis, de peinture et de matériaux d'isolation (Wisnewski & Redlich, 2001) (Bello et al., 2007). Ce sont des monomères à la base de la fabrication des poly-isocyanates.

Les di-isocyanates les plus réglementés au Québec ((RSST), 2021) sont le di-isocyanate de toluène (TDI) avec ses deux isomères, le 4,4'-méthylène bis (phényl-isocyanate) (MDI) et le di-isocyanate du 1,6-hexaméthylène (HDI). Ces derniers sont présentés par la figure 1.3 (Boutin, 2003). Plus de 95% de la production totale en di-isocyanates est basée sur le TDI et MDI (Allport, 1997). Ils sont commercialisés en tant que produits chimiques de base.

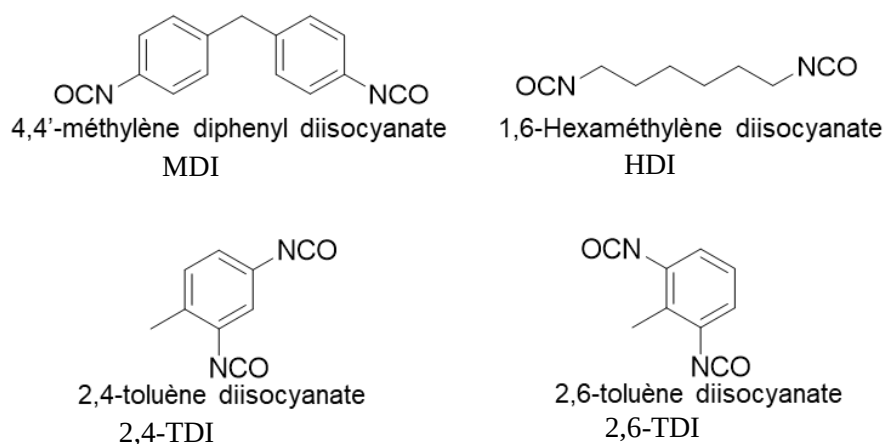


Figure 1.3: Structure des di-isocyanates les plus réglementés au Québec (Boutin, 2003)

La fabrication de mousses flexibles pour le rembourrage dans les industries du meuble et de l'automobile représente la principale application de TDI. Il a été progressivement remplacé par le MDI. Ce dernier est largement utilisé dans la production de mousses rigides, de liants, d'élastomères de produits d'isolation thermique et acoustique, de matériaux d'emballage et de revêtements. Le HDI est presque exclusivement appliqué dans la formulation de peintures et de revêtements car la présence de la chaîne aliphatique confère une excellente résistance à la lumière dans le produit final polyuréthane (Vandenplas et al., 1993b).

Les di-isocyanates sont connus être de puissants sensibilisateurs et sont capables de se lier à l'albumine, la tubuline, la kératine et le glutathion dans la peau ou les surfaces muqueuses (Bello et al., 2007) (Kimber, 1996). Grâce à leurs deux fonctions ( $-N=C=O$ ), ils peuvent réagir avec les groupes  $-OH$ ,  $-SH$  et  $-NH_2$  des protéines endogènes (Vandenplas et al., 1993a).

## 1.2 Fabrication des polyuréthanes

Les applications des matériaux en polyuréthane ont considérablement augmenté par rapport à certains autres matériaux polymères thermodurcissables (Figovsky & Shapovalov, 2001). L'histoire des polyuréthanes (PU) a commencé dans les années 1930, quand Otto Bayer a décrit la polyaddition d'isocyanates et de polyols (Włoch & Datta, 2017). Les polyuréthanes (PU) sont produits par poly additions entre des di- ou des poly-isocyanates et des polyols (polyéthers, polyester) auxquels sont ajoutés des catalyseurs, tensioactifs, agents d'expansion, pigments, solvants...

Les polyuréthanes ont trouvé leur place dans de nombreuses applications industrielles :

- Dans la production de mousses flexibles (Kraw & Tarlo, 1999) ou rigides toujours en développement, pour l'isolation des bâtiments (Crespo & Galán, 1999), la consolidation de roche dans des tunnels... ;
- Dans la production de colles, adhésifs, fibres synthétiques (Lycra®) et moules de fonderie.
- Dans la réparation automobile (Williams et al., 1999).

Ces polymères sont caractérisés par une importante résistance aux agents chimiques et biologiques (faible corrosion), une grande résistance mécanique et une faible conductivité (Maître & Perdrix, 2004). La figure ci-dessous décrit la formation des polyuréthanes.

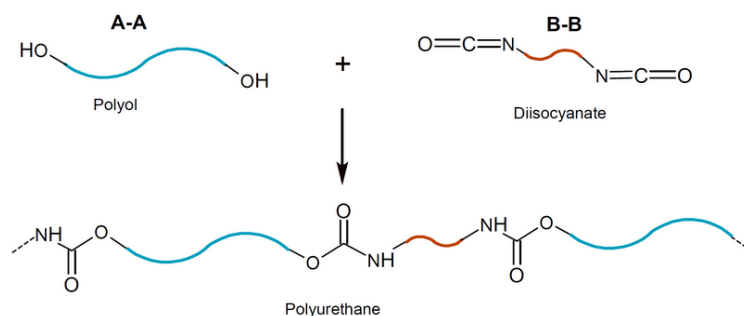


Figure 1.4: Réaction d'addition entre un isocyanate (NCO) et un groupe hydroxyle (OH) pour donner une liaison uréthane (ADDITION REACTIONS OF ISOCYANATES, 2022)

Les polyuréthanes sont généralement constitués de longs blocs polyester ou polyéther liés par de courts blocs uréthane. De fortes liaisons hydrogène intermoléculaires entre l'hydrogène du groupe amine secondaire et l'oxygène carbonyle sont formées par les groupes uréthane (-NH-C(=O)-O-). La partie diol aliphatique ne forme que des liaisons faibles de type Van-der-Waals. Les propriétés d'un polyuréthane dépendent dans une large mesure du type, du poids moléculaire et de l'indice d'hydroxyle du polyol.

L'exposition aux isocyanates pendant la dégradation thermique des PU, n'est pas négligeable (Karlsson et al., 2002) ; (Boutin, 2003). Dans un premier temps, 11 types d'isocyanates, trois d'amines et cinq d'amino-isocyanates sous forme gazeuse et particulaire ont été mis en évidence lors de la soudure de PU. Dans un deuxième temps, il a été démontré que dans les fonderies qui utilisent des noyaux à base de résines PU dérivées du MDI, du phényl-isocyanate et de l'aniline,

en plus grande quantité que du MDI ou de la méthylène di-aniline (MDA), ont été libérés pendant la coulée du métal liquide dans les moules.

Le remplacement des di-isocyanates d'une manière respectueuse de l'environnement et de l'économie représente un défi important. Cependant, deux groupes de recherche (Javni et al., 2008) (Figovsky & Shapovalov, 2015) ont signalé l'existence d'une nouvelle classe de polyuréthanes sans précurseurs di-isocyanate offrant ainsi des alternatives potentiellement plus sûres aux polyuréthanes conventionnels.

### 1.3 Métabolisme et mécanisme d'actions des isocyanates

L'exposition aux isocyanates peut résulter de l'inhalation de vapeurs générées par le TDI et le HDI à température ambiante et par le MDI lorsqu'il est chauffé (Hardy & Devine, 1979). Une source considérable d'exposition aux isocyanates non volatils (MDI et prépolymères) provient des aérosols générés lors des procédés de pulvérisation (Tornling et al., 1990). L'exposition peut résulter moins souvent de la décomposition thermique des polyuréthanes, par exemple lors du soudage sur des surfaces revêtues d'un polyuréthane.

De nombreux facteurs peuvent influencer l'exposition aux isocyanates : La composition du produit (stade de formulation, polymérisation), les protections individuelles et collectives ainsi que la température d'utilisation. Mapp et al (1999) ont fait un rappel sur la différence entre HDI et TDI qui sont volatils à température ambiante (Mapp, 1999). En cas d'élévation thermique supérieure à 60 °C, le MDI passe à l'état gazeux et les poly-isocyanates restent toujours sous forme d'aérosols. La voie respiratoire est dominante pour les gaz et les aérosols. Manso et al (2000) ont décrit une rétention d'HDI de 61 à 90 % dans les voies aériennes et le parenchyme pulmonaire (Monso et al., 2000). Le CO<sub>2</sub> et les bicarbonates favorisent son passage bronchique par hydrolyse de l'HDI en hexane diamine (HDA) (Berode et al., 1991).

Jusqu'à présent, la recherche, la surveillance de l'exposition et les efforts de prévention se sont concentrés en grande partie sur l'exposition par inhalation aux di-isocyanates, étant donné que l'asthme aux isocyanates est le principal problème de santé. Néanmoins, il est probable que l'exposition cutanée soit également une voie de sensibilisation très efficace et augmente le risque d'asthme aux isocyanates ((Bello et al., 2007); (Redlich, 2010)).

La forme cutanée présente une autre voie de pénétration des di-isocyanates sous forme directe ou après hydrolyse en amines (Marzulli et al., 1981). L'exposition humaine au di-isocyanate de toluène (TDI) se produit principalement par inhalation de vapeurs dans les milieux de travail où le TDI est produit ou utilisé, mais l'exposition cutanée au TDI est également possible au cours de certaines opérations. Dans une étude épidémiologique récemment publiée sur des travailleurs de l'industrie de la mousse de polyuréthane, Pinkerton et al., ont émis l'hypothèse que l'exposition cutanée, mais non par inhalation, au TDI pourrait être associée à un risque accru de cancer du poumon (Pinkerton et al., 2016). Dans une autre étude et suite à une application cutanée de TDI chez le cobaye, une hyper réactivité bronchique (HRB) et une augmentation des immunoglobulines E (IgE) sériques sont décrites (Karol et al., 1981). De même, chez les rats badigeonnés par du 2,4-TDI, la 2,4-toluène diamine (TDA) a été retrouvée dans leurs urines (Rosenberg & Savolainen, 1986). La voie de passage cutanée est donc une donnée importante dont il faut prendre au sérieux pour assurer la protection en milieu de travail.

Il est primordial de bien établir les différentes réactions engendrées dans le corps humain suite à l'introduction d'une molécule étrangère dans l'organisme afin de comprendre le métabolisme des isocyanates. Les amines formées suite à l'hydrolyse des isocyanates, sont acétylées au niveau hépatique par la N-acétyl-transférase. Le polymorphisme génétique peut expliquer les différences de vitesse d'acétylation existantes. Pour le TDI, l'élimination de la TDA est biphasique : première phase entre 1 h30 et 2 h, seconde phase vers 5 heures. Le dosage urinaire de ces dérivés aminés est proposé comme indicateur biologique d'exposition aux di-isocyanates (Maître et al., 1996); (Lépine, 2019).

Durant leur métabolisme, les nombreuses modifications immunologiques sont liées à la fonction hépatique des isocyanates: IgE et IgG spécifiques, espèces réactives de l'oxygène, adduits sur l'acide désoxyribonucléique (ADN) de MDI ou de MDA. Ces modifications sont plus précisément étudiées dans l'asthme (Raulf-Heimsoth & Baur, 1998). Une action d'inhibition de l'activité anticholinestérasique est retenue, ainsi que des actions mutagènes et cancérogènes potentielles.

#### 1.4 Le toluène di-isocyanate (TDI) et ses amines correspondantes

Le toluène diisocyanate (TDI) (Brochhagen 1991) est le plus important isocyanate produit après le méthylène diphényl diisocyanate (MDI) dans l'industrie. Le diisocyanate de toluène (TDI) est un composé hautement réactif utilisé comme intermédiaire dans la production de mousses de polyuréthane et d'autres produits industriels, tels que les élastomères, les revêtements et les

adhésifs (Allport et al., 2003 ; Collins, 2002 ; IARC, 1999 ; NTP, 2016). Les deux isomères de TDI les plus couramment utilisés sont le 2,4-TDI et le 2,6-TDI, et le principal produit commercial du TDI est un mélange de 80 % de 2,4-TDI et de 20 % de 2,6-TDI (connu sous le nom de 80/20TDI) (D.C. Allport, 2003) (Michael A. Collins, 2002) .

#### 1.4.1 La chimie et métabolisme du TDI

Le TDI est sous forme liquide à température ambiante et l'exposition humaine se produit principalement par inhalation de vapeurs ou d'aérosols sur les lieux de travail où le TDI est produit ou utilisé. L'exposition cutanée au TDI est également possible via le TDI liquide entrant en contact avec la peau lors de certaines opérations, lors de déversements accidentels ou d'éclaboussures, ou lors de la manipulation directe de mousse de polyuréthane fraîchement polymérisée (Prueitt et al., 2017) .

L'une des amines aromatiques correspondantes du TDI, la 2,4-toluènediamine (2,4-TDA), est cancérigène selon des expériences faites sur des animaux (IARC, 1978). Le TDI de qualité commerciale a été classé par le Centre international de recherche sur le cancer (IARC) comme cancérigène chez les animaux, avec des « preuves suffisantes » et comme cancérigène professionnel potentiel pour les humains (IARC, 1999). Pour améliorer l'évaluation des risques pour les travailleurs exposés au TDI, il est important de développer des dosimètres pour établir si l'intermédiaire réactif toxique est le TDI ou un métabolite du TDA (Figure 1.5). La détermination des adduits aux protéines sanguines (Skipper & Tannenbaum, 1990), (Sabbioni & Jones, 2002) représente une méthode établie de surveillance biologique des personnes exposées. Les adduits spécifiques de l'arylamine avec la cystéine de l'hémoglobine sont du type amide d'acide sulfinique (Green et al., 1984). L'amine aromatique parente est libérée grâce à une hydrolyse basique légère de ces adduits (Skipper et al., 2010) . Des adduits à l'hémoglobine du TDA ont été trouvés chez des animaux (Wilson et al., 1996) et chez des humains (Jones et al., 2005) . Le 2,4-TDA se lie de manière covalente à l'ADN (Wilson et al., 1996). Le TDI se lie à l'ADN (Jeong, Park et Kim 1998) mais la structure chimique n'a pas été identifiée. La figure 1.5 ci-dessous représente le métabolisme du TDI et les produits de réaction possibles.

La distribution du TDI après administration orale ou inhalation a été étudiée chez des rats avec du TDI radiomarké (Timchalk, Smith et Bartels 1994 ; Kennedy et al. 1994). Day et al. (Day, Jin et Karol 1996) ont trouvé des produits de carbamylation du TDI avec l'hémoglobine chez des cobayes exposés au 2,4-TDI.

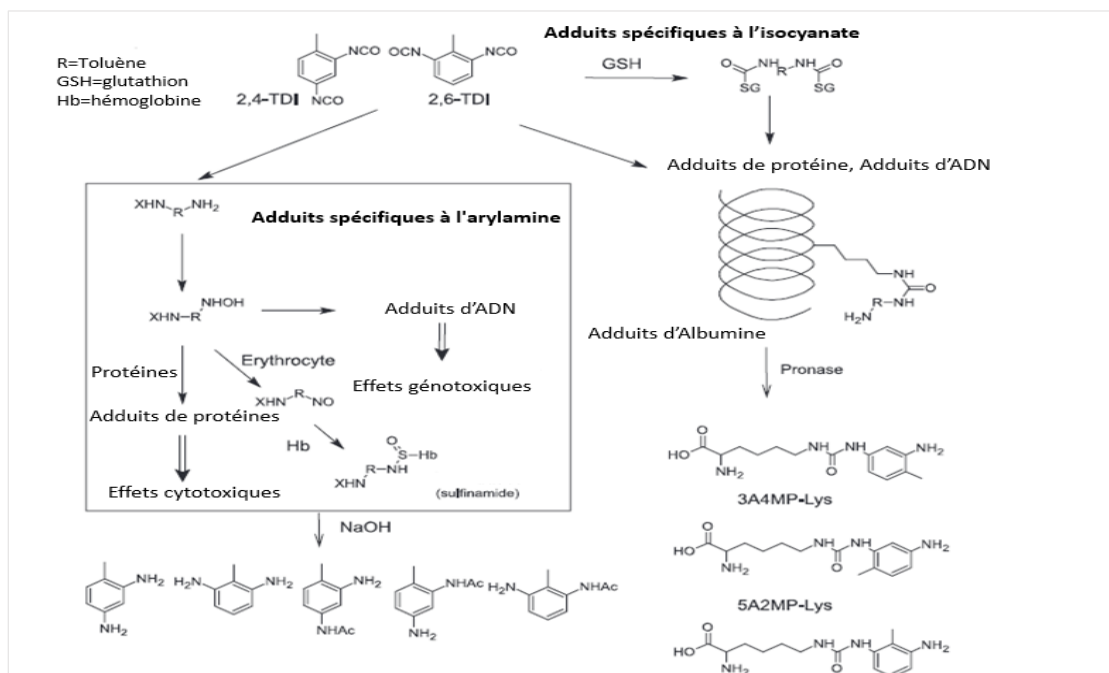


Figure 1.5: Métabolisme et produits de réaction possibles du TDI (Sabbioni et al., 2012)

#### 1.4.2 Toxicité du TDI et TDA

La plupart des isocyanates peuvent être absorbés par l'organisme par inhalation, ingestion et par la peau, bien que la principale voie d'exposition soit l'inhalation de vapeurs ou d'aérosols d'isocyanate (Hulst et al., 2015). Nombreux sont les effets sanitaires des isocyanates comme le TDI et ces amines correspondantes.

Le TDI présente l'une des causes les plus fréquemment signalées d'asthme professionnel et près de 5 à 15 % des travailleurs exposés aux di-isocyanates sur le lieu de travail développent des maladies cliniques des voies respiratoires (Sharifi et al., 2013). D'autre part, dans une étude épidémiologique récemment publiée sur les travailleurs de l'industrie de la mousse de polyuréthane, les auteurs ont émis l'hypothèse que l'exposition cutanée, mais pas par inhalation, au TDI pouvait être associée à un risque accru de cancer du poumon (Pinkerton et al., 2016).

L'incidence du cancer et de mortalité ont également été étudiés dans une cohorte de 4154 travailleurs fabriquant de la mousse de polyuréthane dans 9 usines suédoises (Hagmar et al., 1993). Dans cette étude, les travailleurs exposés au TDI présentaient un risque légèrement mais significativement accru de cancer du rectum.

Aux Etats-Unis, dans une étude comprenant 4611 sujets exposés au TDI dans des usines de mousse de polyuréthane, aucune augmentation du risque de maladies obstructives bronchiques n'a été reportée. Cependant, le lymphome non hodgkinien et la maladie de Hodgkin ont montré une relation possible avec le temps écoulé depuis le premier emploi dans cette étude (Schnorr et al., 1996).

#### 1.4.2.1 Asthme professionnel

Au cours de ces 10 dernières années (1988-1997), le Comité des maladies Professionnelles pulmonaires au Québec, diagnostique annuellement près de 200 maladies professionnelles. La deuxième place est attribuée à l'asthme professionnel, avec en moyenne près de 60 nouveaux cas par année, (entre 40 et 79 cas). Selon les statistiques de la CNESST (Commission de la santé et de la sécurité du travail) entre 1988-1996, sur un total de 531 cas d'asthme, 27 % étaient causés par les isocyanates.

Les isocyanates les plus couramment utilisés, dont le TDI, MDI, HDI l'isophorone di-isocyanate (IPDI) provoquent l'asthme dans divers contextes professionnels et même non professionnels (Peters & Murphy, 1971). L'asthme professionnel a généralement été attribué aux monomères de ces di-isocyanates en raison de la réglementation.

L'asthme professionnel se manifeste en une limitation variable du débit d'air, liée à l'exposition à des niveaux non irritants d'isocyanates. De nombreuses études cliniques et épidémiologiques ont été menées depuis 1950 afin d'évaluer le risque de développer un asthme professionnel. Fuchs et Valade (1951), ont constaté chez sept travailleurs exposés au TDI des symptômes semblables à ceux de l'asthme ("Toluene Di-Isocyanate (TDI) Toxicity," 1963). Ils ont suggéré pour la première fois que le contact avec les di-isocyanates pourrait conduire au développement d'une hypersensibilité plutôt que d'une toxicité directe. Des études récentes ont montré une tendance à la baisse des incidences mondiales et régionales de l'asthme professionnel en général et de l'asthme lié à l'isocyanate en particulier depuis les années 1990 (Buyantseva et al., 2011) (Paris et al., 2012) (Vandenplas et al., 2011).



Entre 1984 et 1988, durant une vaste étude canadienne de 223 entreprises utilisant des di-isocyanates (Tarlo et al., 1997), l'incidence annuelle globale calculée de l'asthme professionnel était plus élevée (0,7 %) pour les entreprises ayant au moins un cas d'asthme professionnel et des concentrations moyennes pondérées dans le temps > 5 ppb que pour tous les employés potentiellement exposés (0,2%) des entreprises étudiées (Ott et al., 2003).

Une sensibilisation des milieux de travail aux risques potentiels des di-isocyanates s'avèrent essentielles afin de minimiser l'apparition de nouveaux cas d'asthme professionnelle. Lorsque la maîtrise à la source n'est pas possible, un meilleur contrôle de l'environnement, de la formulation de certains produits commerciaux (par exemple, les revêtements contenant moins de monomères volatils) et du port d'appareils de protection respiratoire (APR) et cutané peuvent être d'une grande utilité.

#### 1.4.2.2 Risque cancérigène

Le Centre international de recherche sur le cancer (IARC, 1999) a classé le TDI comme étant un cancérigène du groupe 2B (peut-être pour l'homme). De même, il a été classé par la Commission européenne (1998) comme cancérigène de catégorie 2 (suspecté comme cancérigène pour l'homme). Le TDI a été aussi classé comme cancérigène pour l'homme par le National Toxicology Program des États-Unis (NTP, 2011) et comme cancérigène A4 (non classable comme cancérigène pour l'homme) par l'American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH, 2010), (Scott M Arnold et al., 2012). Ces classifications sont basées sur l'augmentation de l'incidence des tumeurs observée par le (NTP, 1986) suite à l'administration directe du TDI présent dans l'huile de maïs dans l'estomac des rongeurs par gavage oral.

Le 2,4-TDI, le 2,6-TDI et le mélange des deux isomères (mélange 80:20 de 2,4-et 2,6-TDI) ont tous été testés pour la mutagénicité dans diverses souches de *Salmonella typhimurium* (Anderson et Styles 1978; Anderson et al. 1980; NTP 1986; Seel et al. 1999; Zeiger et al. 1987). Tous les résultats de ces études ont été négatifs en l'absence d'activation métabolique.

Un excès de cancer du poumon a été observé chez certains travailleurs d'une usine de fabrication de mousse de polyuréthane. Cependant, on ne sait pas si l'exposition au TDI en était la cause. Une étude chez des animaux exposés par gavage au TDI a signalé une augmentation des tumeurs dans le pancréas, la glande mammaire et le foie. Le département de la Santé et des Services sociaux des États-Unis (HHS) considère que le TDI est raisonnablement susceptible

d'être cancérigène pour l'homme ((HHS), 2015) et le Centre international de recherche sur le cancer a classé le TDI comme potentiellement cancérigène pour l'homme. Environmental Protection Agency (EPA) n'a pas classé la cancérogénicité du TDI.

Austin (2007) a montré dans son étude que les isocyanates sont hydrolysés en dérivés d'isocyanate amines et finalement excrétées par l'urine peu de temps après l'exposition. Par exemple, le TDI est transformé en toluène-2,6-diamine (TDA), un cancérigène potentiel ((Austin, 2007); (Cocker, 2011); (Prevention, 2015a)).

Les isomères du TDI peuvent être convertis en isomères correspondants de la toluène diamine (TDA) au contact de l'eau (Ito et al., 1969) (Ulrich 1983) a signalé pour la première fois la cancérogénicité du 2,4-TDA.

Dieter et al., (1990) ont admis que l'hydrolyse du TDI en TDA pourrait expliquer les effets cancérigènes constatés avec le TDI (Dieter et al., 1990). Ceci peut être expliqué en tenant compte de la similitude qualitative entre les réponses cancérigènes observées chez les rongeurs exposés au TDI et au TDA (NCI, 1979) . Deux études ont été le support quantitatif de cette conclusion. La première étude est celle de Tim-chalk et al. en 1994 où les rats ont été gavés avec soit 60 mg/kg d'huile de maïs TDI ou 3 mg/kg de TDA (Timchalk et al., 1994). Des profils métaboliques comparables de TDA libre, de TDA N-acétylé et de conjugués TDI/TDA ont été obtenu suite à des analyses urinaires. La deuxième étude de Sielken et al., ont été basé sur une comparaison statistique des réponses cancérigènes observées avec le TDI (NTP, 1986) et le TDA (NCI, 1979). Cette comparaison appuie la conclusion que les réponses cancérigènes au TDI sont cohérentes avec 5 % du TDI gavé étant transformé en TDA avant et/ou après exposition (Sielken et al., 2012).

Les résultats des études d'exposition par inhalation et d'application du TDI par gavage ont été discutés par le groupe de travail sur l'évaluation du risque cancérigène des produits chimiques pour l'homme de l'IARC qui est un organe de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), en juin 1985. Ils ont conclu donc qu'il est évident que le TDI est cancérigène pour les animaux de laboratoire et pour l'homme (IARC, 1986).

### 1.4.2.3 Toxicité cutanée : sensibilisation et irritation

#### 1.4.2.3.1 Irritation

De nombreuses études chez l'animal ont démontré que le TDI est irritant à la fois pour la peau et les yeux (R. Woolhiser Benjamin B. Hayes B. Jean Meade, 1998). Il existe plus que suffisamment d'informations provenant des études sur l'homme pour le confirmer. Duprat et al (1976) ont rapporté que le TDI produit une irritation cutanée modérée lorsqu'il est appliqué sur une peau intacte ou abrasée chez le lapin (Duprat et al., 1976). D'autres études sur le lapin et la souris ont rapporté des résultats variables allant d'une légère irritation (Wazeter, 1964) à la corrosion (étude non publiée par Suberg et al., 1984). Daftarian et al., (2002 ) ont rapporté des effets cutanés associés à des expositions professionnelles au TDI chez l'homme (Daftarian et al., 2002). Ces auteurs ont suggéré que la dermatite irritante est plus fréquente que la dermatite de contact allergique malgré qu'il ne soit souvent pas clair si les effets cutanés sont attribuables à une irritation ou à une sensibilisation primaire. Il a été démontré que chez les sujets atteints d'une maladie professionnelle de la peau, environ 2 % des 360 patients étudiés ont montré des signes d'irritation cutanée lorsque 15 mg d'une solution de TDI à 1,5 % ou 2 % ont été appliqués sur la peau pendant deux jours (Kanerva et al., 1999) .

#### 1.4.2.3.2 Sensibilisation

Il a été démontré que le TDI est un sensibilisant cutané dans une variété de protocoles animaux, y compris le test de maximisation du cobaye, le test de Buehler, le test des ganglions lymphatiques locaux de souris, et le test de gonflement des oreilles de souris (Michael A. Collins, 2002). La sensibilité de contact a également été démontrée chez l'homme. Les complexités des seuils de sensibilisation cutanée ne sont pas bien comprises. Ceci explique la complexité de l'évaluation de la pertinence des seuils comparativement bas pour le TDI observés chez les animaux par rapport aux seuils apparemment élevés prédits par l'expérience humaine.

Chez les animaux, le TDI est un sensibilisant cutané bien connu ((van Och et al., 2000); (Meade, 2008)). Auletta (1984) a réalisé une étude de sensibilisation dose-réponse chez des cobayes. L'application d'une solution de TDI dans l'huile d'olive sur la peau du cobaye induit une sensibilité de contact après une semaine; la sensibilité des voies respiratoires résultante a été confirmée après 2 semaines par provocation bronchique avec du TDI et des conjugués TDI-protéine et par des tests sérologiques (Karol & Magreni, 1982).

Chez l'homme, Huang et al (1991) ont considéré que la dermatite de contact allergique due au TDI est considérée comme rare et a été associée à une mauvaise hygiène du travail. D'après Daftarian et al (2002), dans une usine de mousse flexible, 26 travailleurs exposés au TDI signalant des symptômes cutanés ont subi des tests épicutanés avec une solution à 2% de TDI, aucun n'a développé de réaction à l'antigène TDI (Scott M. Arnold et al., 2012).

Tous les effets sanitaires observés précédemment laissent à affirmer qu'il serait donc primordial d'effectuer des études afin de minimiser ou même éliminer les problèmes sanitaires liés à l'exposition et la manipulation de ces substances. Durant ce projet, les substances d'intérêt sont les 2,4-TDI, 2,6-TDI et leurs amines correspondantes. Il existe très peu de méthodes pour l'analyse du TDI-TDA sur des équipements de protection et plus précisément sur les gants.

### 1.5 Les méthodes disponibles pour l'analyse du TDI/TDA selon des études antérieures et leurs limites

Différentes approches analytiques ont été élaborées au cours de ces dernières années afin d'évaluer l'exposition professionnelles à des molécules toxiques tel que les isocyanates et leurs amines correspondantes. Ces méthodes ne sont pas aussi bien développées et pas aussi largement disponibles pour des expositions cutanées que pour les méthodes d'exposition atmosphériques ou biologique.

Le chemin le plus courant pour surveiller l'exposition consiste à mesurer les isocyanates dans l'air, et la production de mousse flexible dans des usines de moussage en continu a été l'un des premiers environnements de travail qui ont été étudiés concernant l'exposition professionnelle au TDI (Peters et al., 1970). Et depuis, des niveaux atmosphériques de TDI dans les usines de fabrication de mousses souples en continu ont été rapporté dans plusieurs publications (Rando et al., 1987 ; Jones et al., 1992 ; Cummings et Booth, 2002) (14,15,16) et ont montré que l'exposition au TDI peut être élevée. Des biomarqueurs d'exposition ont également été utilisés (Tinnerberg et al., 1997). Les biomarqueurs dans l'urine ont une courte demi-vie, environ 2 à 8 h (Lind et al., 1997) (19) reflétant l'exposition au cours de la journée d'échantillonnage. Dans le plasma, la demi-vie est de 20 jours (Lind et al., 1996) (18) et reflète l'exposition au cours du dernier mois. Les biomarqueurs présentent un intérêt particulier dans cet environnement car les travailleurs utilisent régulièrement des équipements de protection individuelle (EPI) pendant au moins une partie du processus de mise en œuvre du procédé et le prélèvement d'échantillon d'air est très difficile à effectuer sous un EPI respiratoire.

De nombreuses méthodes ont été proposées pour la détermination quantitative des dérivés obtenus lors de l'échantillonnage et pour présenter les résultats en termes de concentration en isocyanate en ppm ou mg/m<sup>3</sup>. Ils peuvent être classés comme des procédures photométriques ou chromatographiques. Le même principe de base est commun à toutes les méthodes photométriques (colorimétriques) : le di-isocyanate est hydrolysé en l'amine respective avec de l'acide : l'amine est di-azotée et couplée à un réactif approprié principalement de la N-(1-naphtyl)éthylènediamine - formant ainsi un colorant azoïque qui peut être déterminé par photométrie (Brochhagen, 1991a).

Diverses méthodes chromatographiques ont été proposées pour la détermination du TDI en suspension dans l'air. La chromatographie liquide à haute performance a acquis la plus grande importance. La chromatographie en phase gazeuse (GC) a été principalement recommandée pour le TDI non dérivé après piégeage dans un tube froid contenant un solvant ; l'injection directe d'air a également été décrite (Brochhagen, 1991b). Certaines méthodes incluent une étape de dérivation. Une méthode qui se base sur la fragmentation de masse a été proposée pour le dosage de la toluène diamine (TDA) formée par hydrolyse du TDI après prélèvement en milieu acide (De Pascale et al., 1983). Sakai et al. (2002) ont développé une méthode afin évaluer les isomères de TDA dans l'urine de travailleur sans avoir recours à la dérivation (Sakai et al., 2002). Cette méthode comporte une hydrolyse acide pour former les biomarqueurs suivis d'une extraction liquide-liquide au moyen du dichlorométhane. Les échantillons sont ensuite analysés par LC-MS.

Au cours de la dernière décennie, plusieurs méthodes ont été développées pour la surveillance biologique des travailleurs exposés au TDI basées sur la détermination des amines correspondantes, 2,6-TDA et 2,4-TDA dans l'urine ou le plasma hydrolysés. Dans une étude récente, deux méthodes robustes et efficaces ont été développés pour la surveillance biologique. Ces méthodes reposent sur la quantification des biomarqueurs urinaires de l'exposition au MDI, au TDI (2,4- et 2,6-) et à l'HDI, correspondant respectivement au MDA, au (2,4- et 2,6-) TDA et à l'HDA, permettant d'évaluer toutes les voies d'absorption possible dans le corps humain (Lépine et al., 2020). L'analyse a été faite sur LC-MS/MS accompagnée d'une extraction en phase solide (SPE).

Une surveillance environnementale dans l'air et une surveillance biologique peuvent constituer deux approches complémentaires. En 2015, Tom et al., un groupe de recherche provenant du

Provikmo Occupational Health Services en Belgique, ont étudié l'évaluation de l'exposition atmosphérique du TDI et la surveillance biologique du TDA dans l'urine chez les travailleurs de l'industrie de la mousse de polyuréthane. Pour ce faire, les échantillons d'air ont été analysés pour les isomères 2,4- et 2,6-TDI, par chromatographie liquide à haute performance avec un détecteur UV à barrette de diodes. Quant aux amines correspondantes, les échantillons urinaires ont été hydrolysés dans 0,5 M d'hydroxyde de sodium pour libérer les diamines 2,4- et 2,6-TDA liées au TDI. Les diamines ont été extraites avec du toluène, et après dérivées avec de l'anhydride heptafluorobutyrique. Enfin, les dérivés ont été quantifiés par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS).

Les méthodes d'évaluation de l'exposition cutanée sont actuellement limitées et reposent généralement sur des techniques d'élimination sujettes à sous-estimation. Harari et al, en 2016, ont développé une méthode analytique basée sur la chromatographie liquide ultra-haute performance-UV-spectrométrie de masse en tandem (UHPLC-UV-MS/MS) afin d'analyser les isomères de MDI sur des échantillons de gants. Cette étude requière une dérivation avec 1-(9-anthracényméthyl) pipérazine (MAP). Cette nouvelle technique d'interception surmonte les limites inhérentes aux techniques d'élimination pour mesurer l'exposition cutanée à l'isocyanate et peut être utile dans la surveillance de l'exposition et les recherches futures sur les risques pour la santé de l'isocyanate.

L'évaluation de l'exposition cutanée aux isocyanates est encore compliquée par des facteurs tels l'incertitude concernant l'absorption cutanée, l'efficacité inconnue des vêtements de protection, les expositions mixtes et le défi de séparer les risques d'exposition cutanée par rapport aux expositions par inhalation.

Diana Ceballos, dans le cadre de son doctorat à l'université de Washington en 2009, a étudié l'évaluation des gants de protection utilisés dans l'industrie de la réparation automobile après collision. Pour cet effet, elle a développé un nouveau dispositif de terrain pour tester l'efficacité des gants de protection contre les revêtements de peinture pulvérisés à base d'isocyanate HDI (Ceballos, 2009).

Afin d'étudier l'efficacité de la protection des gants et des vêtements contre le (MDI), Henriks-Eckerman et al., ont développé et validé une nouvelle méthode de pénétration qui peut être utilisée pour détecter de petites quantités de MDI à partir de formulations PMDI-polyol. Les dérivés

d'urée formés du 2,4'-MDI et du 4,4'-MDI en utilisant le réactif de dérivation 1-(2-méthoxyphényl) pipérazine (MOPIP) ont été analysés par chromatographie liquide avec détection UV et spectrométrie de masse.

En 2013, Diana et al., ont testé l'efficacité des gants contre les revêtements d'isocyanate pulvérisés à l'aide d'un panneau de perméation à mouvement alternatif. Les isocyanates les plus courants dans les revêtements transparents sont le (HDI) et (IPDI). Les matériaux de gants en latex et en nitrile ont été utilisés pour ces tests et ont été préparés selon la méthode de Ceballos et al. (2011a). Le matériau a été découpé dans la paume du gant et l'épaisseur a été mesurée. Tout résidu de poudre dans le matériau des gants a été lavé à l'eau chaude avant le test. La perméation de l'isocyanate a été mesurée à l'aide de filtres en fibre de verre recouverts de 1-(2-pyridyl)-pipérazine, analysée par une version modifiée des méthodes OSHA 42/PV2034.

Le rôle de l'exposition cutanée aux isocyanates dans le développement de l'asthme et sur la manière de prévenir a été également discuté dans la littérature (Bello et al., 2007). Cependant, on ne sait pas si l'exposition cutanée aux isocyanates peut être observée avec une augmentation du niveau de biomarqueurs, mais cela est indiqué dans certaines études (Creely et al., 2006 ; Robert et al., 2007).

## 1.6 Validation de méthodes analytiques développées

Une méthode est l'application d'une technique à un analyte spécifique dans une matrice spécifique. La validation d'une méthode consiste en une série d'études systématiques en laboratoire où les caractéristiques de performance des procédures analytiques sont établies afin répondre aux exigences des applications analytiques prévues. Peu importe la matrice utilisée, la validation des méthodes est constituée par les mêmes grandes étapes. Les critères et procédures de validation d'une méthode d'analyse sont décrits dans la figure suivante.

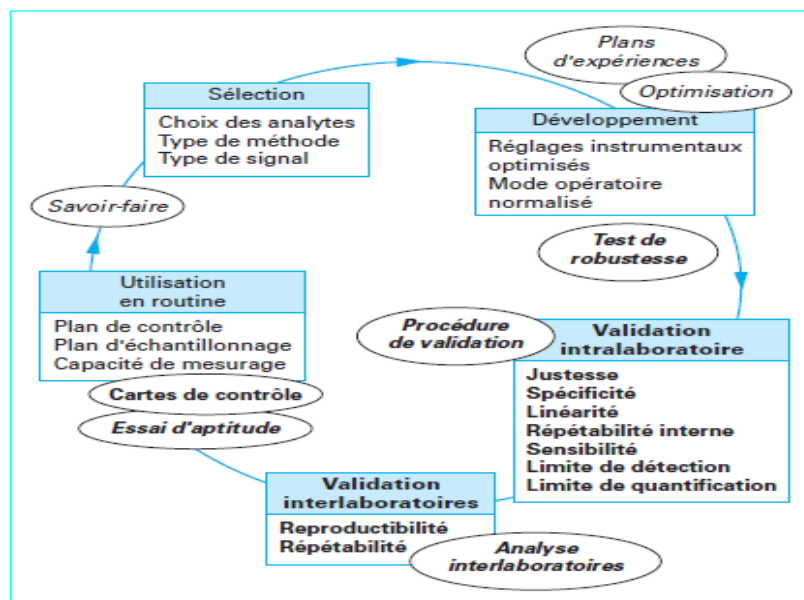


Figure 1.6: Critères et procédures de validation d'une méthode d'analyse (Feinberg, 1996)

Dans ce projet, les éléments d'intérêts sont le TDI ainsi que son amine correspondante, le TDA. La procédure analytique pour la quantification de cette amine comporte quatre grandes étapes à savoir : l'échantillonnage, la préparation de l'échantillon, l'analyse instrumentale et la validation de la méthode analytique. Chaque étape a été bien décrite dans ce qui suit.

### 1.6.1 L'échantillonnage

Dans une méthode analytique robuste, l'échantillonnage est une étape primordiale. Il diffère selon la matrice utilisée et le composé d'intérêt à analyser. La qualité de l'échantillonnage peut avoir une influence sur le résultat. Une sous-évaluation ou surévaluation de la concentration du composé dans l'échantillon pourrait avoir lieu si l'échantillonnage n'a pas eu lieu adéquatement. Dans le cadre de ce projet, les substances d'intérêt sont les 2,4-TDI, 2,6-TDI et leurs amines correspondantes. On peut trouver ces derniers dans les industries de fabrications des isocyanates ou ceux qui les manipulent pour la synthèse d'autres produits (mousses en polyuréthane, matelas, sièges auto...).

### 1.6.2 La préparation de l'échantillon (SPE)

La préparation des échantillons est une étape importante et délicate du processus analytique (Altun, 2005). Dans les cas où les analytes d'intérêt sont présents dans des matrices complexes,



l'échantillon n'est généralement pas adapté à une introduction directe dans les instruments d'analyse. Dans ce cas, une série d'étapes est nécessaire pour transformer un échantillon en une forme adaptée à l'analyse. Cette procédure doit être hautement reproductible et sans perte appréciable des analytes. Idéalement, une méthode de préparation d'échantillons doit impliquer un nombre minimum d'étapes de travail, être facile à apprendre, être respectueuse de l'environnement et être économique (Abdel-Rehim, 2004).

Parmi les méthodes de préparation d'échantillons les plus couramment utilisées, l'extraction en phase solide (SPE) a été privilégiée durant cette étude par rapport à l'extraction liquide-liquide (LLE). Cette dernière a été utilisée pour l'extraction du TDI dans les équipements de protection dans une récente étude (Kabore, 2021a). Mais cette technique demande beaucoup de travail et consomme des volumes relativement importants de solvants de haute pureté (Henion et al., 1998). La SPE implique moins d'étapes et offre de meilleures récupérations des analytes par rapport à l'approche LLE.

Plusieurs types de cartouches SPE étaient disponibles, mais des cartouches d'échange cationique en mode mixte (MCX) Oasis ont été utilisées dans ce travail. La cartouche MCX est la plus adaptée à l'analyse des bases qui ont des pKa (2-10) ce qui est le cas du 2,4-TDA et du 2,6-TDA avec des pKa de 5,35 et 4,69 respectivement. La SPE implique quatre étapes de traitement. Dans une première étape, le sorbant est conditionné avec du MeOH et équilibrée avec H<sub>2</sub>O pour éliminer les impuretés et assurer une rétention reproductible des analytes. La deuxième étape est l'application de la solution d'échantillon (pH basique) contenant le TDA à travers le dispositif d'extraction. Cette étape est suivie d'un nettoyage du sorbant des interférences sans perdre les analytes. Pour ce faire, une solution acide ou basique ou un mélange de solvants, en fonction du type d'échantillon, a été appliquée. Enfin, pour éluer les analytes d'intérêt, une solution ayant un pH qui neutralise le groupe fonctionnel du sorbant ou neutralise les analytes chargés est utilisée.

### 1.6.3 L'analyse instrumentale (UPLC-MS/MS)

La chromatographie liquide à ultra performance (UPLC) est utilisée depuis plusieurs années afin d'étudier les amines dans des matrices complexes. Cette technologie a été introduite par la compagnie waters en 2004 en raison des pressions élevées qui sont atteintes dans des systèmes HPLC. L'UPLC a connu un essor important durant les dernières années pour ses gains en résolution et en vitesse d'analyse, ce qui en explique l'engouement présentement en chimie analytique.

En UPLC, un mélange est entraîné à de fortes pressions par une phase mobile liquide à travers une colonne remplie de phase stationnaire solide (particules sphériques ou irrégulières). Le volume injecté et la taille des particules de la phase stationnaire de la colonne sont plus petits que ceux en HPLC. Les éluants peuvent être entraînés par deux modes : en mode isocratique, lorsque la composition en solvants de la phase mobile demeure constante, ou en mode gradient, c'est-à-dire que la composition de la phase mobile varie durant l'analyse.

Durant cette étude, le travail a été effectué en utilisant l'UPLC en mode phase inversée et avec un gradient. On commence la séparation avec un mélange de solvants polaire (à plus grande teneur en phase aqueuse) ce qui permet aux analytes de demeurer retenus sur la colonne chromatographique. On augmente ensuite graduellement la proportion de la phase organique.

Les colonnes UPLC sont aussi plus petites que les colonnes HPLC et peuvent également résister à de plus haute pression. Elles permettent d'ailleurs de séparer certains composés à de plus basses température sans affecter la séparation. Dans ce cas, le temps de rétention de chaque composé est réduit tout en ayant une meilleure résolution de différentes substances.

Il est possible de coupler un spectromètre de masse à la sortie d'un chromatographe liquide. La chromatographie liquide à ultra performance avec spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS-MS) est une approche analytique puissante associant le pouvoir de séparation de la chromatographie en phase liquide à la capacité d'analyse de masse hautement sensible et sélective de la spectrométrie de masse à triple quadripôle.

De façon générale, le spectromètre de masse va convertir les analytes en molécules chargées positivement ou négativement. L'analyse des ions formés ainsi que des fragments des ions produits lors du processus d'ionisation vont permettre la séparation tous les ions présents en fonction de leur rapport masse sur charge (Pitt, 2009). L'échantillon est tout d'abord introduit dans le système par chromatographie liquide en se dirigeant vers une source d'ionisation. Cette dernière qui va générer des molécules chargées. Par la suite, l'analyseur qui détermine le rapport masse sur charge des ions qui ont été formés et enfin le détecteur qui transforme les ions en un signal électrique. La figure 1.7 représente le schéma général d'un spectromètre de masse.

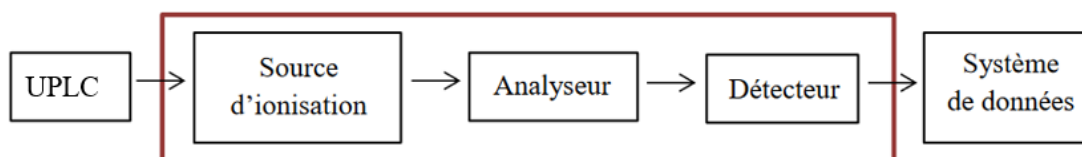


Figure 1.7: Schéma général d'un spectromètre de masse

En spectrométrie de masse, le système d'introduction de l'échantillon est lié au type d'échantillon et au mode d'ionisation. Pour des échantillons non-volatils et polaire, c'est plus pratique d'utiliser une source d'ionisation qui fonctionne à pression atmosphérique et d'introduire les espèces chargées dans le vide du MS. Le Choix de la source dépend de la nature de l'échantillon (petite molécule, métal, macromolécule biologique, ...) et de son état (gaz, liquide, solide). La source d'ionisation ESI (Electrospray ionisation) à pression atmosphérique (API) est l'une des sources qui se coordonnent le mieux avec l'UPLC. Ces deux techniques ont permis d'augmenter la sensibilité de la chromatographie liquide. L'ESI permet à l'analyte liquide de passer à travers un capillaire sous tension progressive et de s'entourer de charges et par conséquent former des ions sous formes de gouttelettes. Ces dernières peuvent être chargées positivement ou négativement en fonction du mode choisi. L'évaporation du solvant des gouttelettes va avoir lieu grâce au flux de gaz  $N_2$  présent à la sortie du capillaire. Les ions sous forme gazeuse sont alors dirigés vers l'analyseur. Pour toutes les raisons mentionnées ci-haut, une source API opérant en mode ESI a été appliquée dans le cadre de ce projet. En se basant sur des études antérieures, ESI est le mode d'ionisation qui a été appliqué à de nombreuses classes d'amines. Ces dernières ont montré une excellente efficacité d'ionisation et une meilleure détection par cette technique. Le composé d'intérêt dans cette étude est le toluène diamine qui est un composé basique. Les molécules possédant des groupements  $NH_2$  vont avoir tendance à capter un proton pour devenir  $NH_3^+$ . La masse de l'ion formé sera donc  $M+H$ . L'utilisation de l'acide formique dans la phase mobile favorise la génération des ions positifs suite à l'ionisation du toluène diamine dans la source. La figure 1.8 illustre un schéma d'une source d'ionisation électrospray.

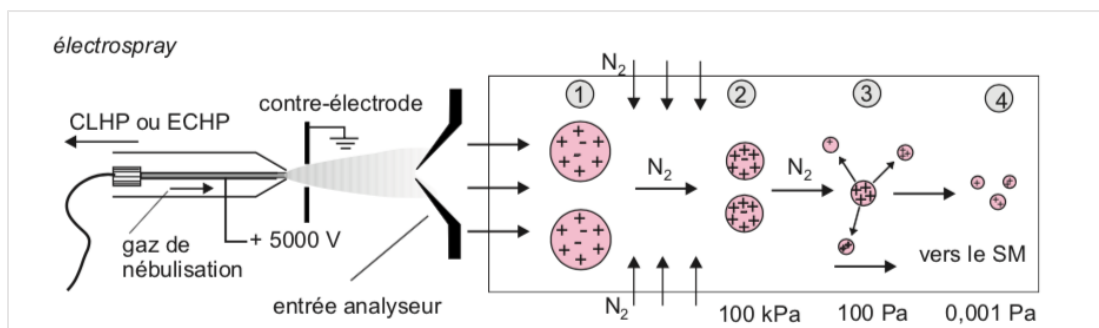


Figure 1.8: illustre un schéma d'une source d'ionisation électrospray (Rouessac, 2004)

Afin d'appliquer la spectrométrie de masse en tandem (MS-MS), un analyseur de masse de type triple quadripôle est utilisé dans ce projet. Ce dernier est constitué de trois quadripôles (Q1), (Q2) et (Q3). Ce type d'analyseur peut fonctionner sur des modes différents SRM (Selected Reaction Monitoring), MRM (multiple reaction monitoring), scan, etc. Dans cette étude, le mode d'acquisition par détection de réaction sélectionné MRM est utilisé, permettant ainsi une analyse sélective et sensible pour la quantification des molécules. Dans le premier quadripôle (Q1), le précurseur (M) protoné ou déprotoné est sélectionné suite à l'ionisation. Par la suite, il est fragmenté dans le quadripôle Q2 sous l'effet de l'énergie de collision. Plusieurs ions formés suite à cette fragmentation entrent dans le troisième quadripôle (Q3). Un balayage est ainsi effectué afin de sélectionner l'ion produit qui sera ensuite analysé dans le détecteur. Le mode d'acquisition MRM est décrit par la figure 1.9.

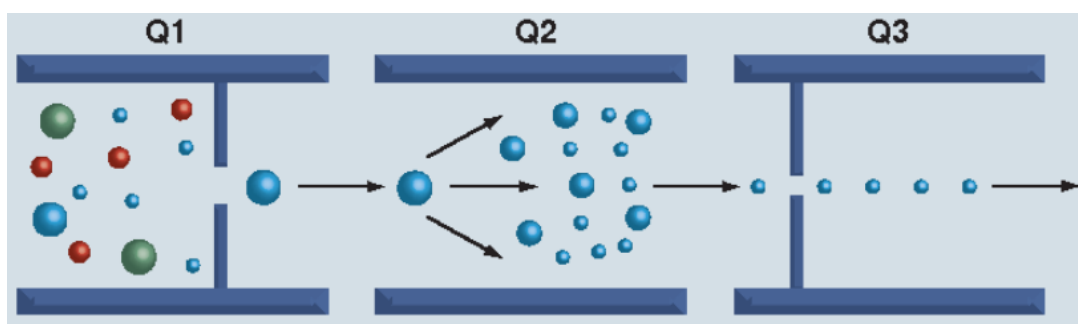


Figure 1.9: Principe de la détection de réaction sélectionnée MRM en spectrométrie de masse. (Boja et al., 2010)

#### 1.6.4 Validation d'une méthode analytique

Une validation de méthode est une étape primordiale afin de garantir la fiabilité et la robustesse d'une méthode d'analyse. L'évaluation des performances analytiques pour ce projet a été réalisée conformément à la validation de la méthode DR-12-VMC (CEAEQ., 2015). Les matrices utilisées pour effectuer la validation sont les gants en nitriles. Pour se faire, 6 paramètres analytiques sont évalués. Ces paramètres correspondent à la limite de détection (LOD), la limite de quantification (LOQ), la réplicabilité, la répétabilité, la justesse (exactitude) et finalement la désorption ou récupération.

La limite de détection permet de déterminer la limite en dessous de laquelle l'analyte est considéré comme non détecté tout en ayant suivi toutes les étapes de la méthode. Quant à la limite de quantification, elle représente plutôt la concentration la plus basse de l'analyte pouvant être quantifiée à l'aide d'une méthode d'analyse avec une fiabilité définie. Ces deux limites sont déterminées suite à l'analyse de 10 répliques du standard le moins concentré. Quant à LOQ, l'écart-type est multiplié par un facteur de 10. Un ratio de conformité R représente le ratio de la moyenne des concentrations sur la LOD. Ce dernier doit être compris entre 4 et 10 pour juger que la limite de détection est acceptable.

Afin d'étudier la précision de la méthode, la répétabilité et la réplicabilité doivent être déterminées. Ces deux paramètres sont calculés par l'écart entre des échantillons de 4 différentes concentrations pour 6 répliques. Pour la réplicabilité de la méthode, les échantillons doivent être préparés et analysés par la même personne, la même journée et moyennant le même instrument alors que pour la répétabilité il faut varier un des paramètres (la journée, l'analyste ou l'instrument d'analyse).

Ensuite, la justesse qui correspond à l'écart entre la valeur attendue et la valeur obtenue est déterminée. La valeur absolue de la moyenne de l'écart relatif d'un certain nombre d'échantillons soustraite à 100%, indiquera donc l'exactitude de la méthode d'analyse.

Et pour finir, le dernier paramètre déterminé par la validation d'une méthode consiste à l'évaluation du pourcentage de récupération. Ce dernier permet de définir le comportement de l'analyte avec la matrice dans laquelle il se trouve et de détecter la présence ou non des interférences potentielles lors de l'analyse. Dans ce projet, l'étude de désorption est faite avec ou sans gants de protection (gants en nitrile) afin de déterminer la récupération du TDA sur ces matériaux.

## 1.7 Objectifs

Selon les recherches dans la littérature, aucune méthode actuelle ne propose une méthode d'extraction et de quantification du TDA sur des matrices de tissus. C'est donc dans le but de comprendre le comportement du TDA dans une matrice de tissus (gants de protection), les objectifs de ce projet sont :

- Déterminer les conditions permettant une meilleure conversion du TDI en amine libre TDA.
- Optimiser la préparation d'échantillons pour avoir une extraction adéquate des isomères du TDA dans les gants.
- Optimiser la séparation chromatographique des isomères du TDA et Développer une méthode d'analyse par MRM moyennant l'UPLC-MS/MS.
- Validation complète de la nouvelle approche analytique selon la méthode du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec.
- Évaluation de la perméation de deux types de gants portés par les travailleurs dans l'industrie de la fabrication de mousse en polyuréthane flexible.

## CHAPITRE 2

### ARTICLE SCIENTIFIQUE: DEVELOPMENT OF A NEW SPE UPLC-MS/MS METHOD FOR EXTRACTION AND QUANTITATION OF TDA ON GLOVES FOLLOWING TDI EXPOSURE

Asma Daoud<sup>1,2</sup>, Pierre-Luc Cloutier<sup>2</sup>, Sébastien Gagné<sup>2\*</sup>, Livain Breau<sup>1</sup>, and Jacques Lesage<sup>1</sup>

- 1) Université du Québec à Montréal, Chemistry department, PO Box 8888 Downtown Station, Montreal, H3C 3P8, Canada
- 2) Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail, 505 boul. De Maisonneuve Ouest, Montréal, Québec, H3A 3C2, Canada, (514) 288-1551, [sebastien.gagne@irsst.qc.ca](mailto:sebastien.gagne@irsst.qc.ca)

\*Corresponding author

Article accepted and published in: Journal of Rapid Communications in Mass Spectrometry (RCM)

<http://doi.org/10.1002/rcm.9340>

## CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

Auteur principal : Asma Daoud

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

Co-auteurs :

- 1) Pierre-Luc Cloutier : Encadrements à la production des résultats et de la production de l'article
- 2) Sébastien Gagné : Encadrements à la production des résultats et de la production de l'article
- 3) Livain Breau: Encadrements à la production des résultats, et de la production de l'article
- 4) Jacques Lesage : Encadrements à la production des résultats et de la production de l'article



Ce chapitre traite sur le développement d'une nouvelle méthode d'extraction et de quantification des isomères du TDA sur une matrice de tissus.

Selon nos connaissances de la littérature, aucune méthode actuelle ne propose une méthode efficace et robuste pour l'extraction et la quantification de la TDA sur des matrices de tissus. Une évaluation de la protection des gants par la mesure analytique de la migration des isocyanates et des amines sur les matériaux de gants a été faite au sein de l'université du Québec à Montréal par René Kaboré durant la période de 2017-2019 (Kabore, 2021a). L'étude a été basée sur deux grandes étapes, une extraction liquide-liquide suivie d'une analyse par chromatographie liquide à haute performance (UPLC). La récupération du TDA comptait 11 étapes jusqu'à l'analyse instrumentale. Ceci a été jugé long car plus on a des étapes de manipulations plus on augmente le pourcentage d'erreurs. Le plus important aussi c'est que le pourcentage de recouvrement était très faible.

Ce projet a porté sur trois modèles de gant à savoir : des gants en coton enduits d'un revêtement d'uréthane dans la paume, des gants en nylon enduits d'un revêtement de nitrile et des gants en nitrile. Les conditions d'échantillonnage et d'extraction sont décrites par René Kaboré (Kabore, 2021a) qui s'est basé sur la méthode développée par Vangronsveld et al. afin d'étudier l'efficacité des gants contre l'exposition aux MDA et le MDI (Vangronsveld E. et al., 2015).

Au début de cette étude, les standards et standards internes utilisés (2,4-bis-N, N-Ac-TDA, 2,6-bis-N, N-Ac-TDA, 2,4-bis-N, N-Ac-TDA  $d_3$ , 2,4-bis-N, N-pentafluoropropanamide toluène et 2,6-bis-N, N-pentafluoropropanamide toluène) ont été synthétisés dans un laboratoire de chimie de l'université du Québec à Montréal (UQAM). Une dérivation avec l'anhydride acétique ou l'anhydride pentafluoropropanoïque a été par la suite appliquée sur le TDA. Les produits obtenus après dérivation ont été caractérisés par la résonance magnétique (RMN). Tous les détails ont été bien décrits dans le mémoire de René Kaboré (Kabore, 2021a).

Dans un autre temps, les conditions d'extraction des isomères du toluène diamine ont été déterminées. La figure ci-dessous résume les différentes étapes du processus de l'extraction du TDA sur les gants.

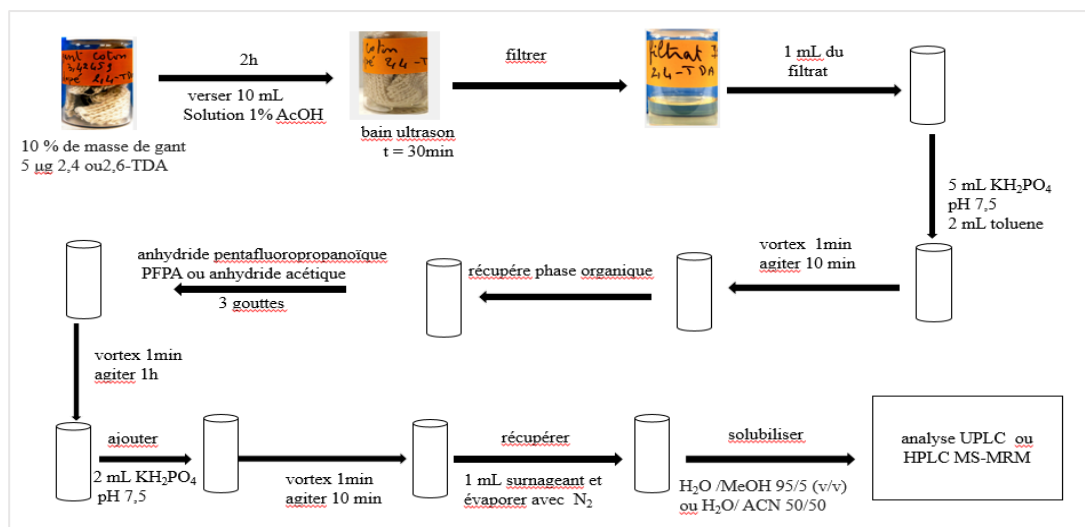


Figure 2.1 : Les étapes du processus de l'extraction du TDA sur les gants développés par René Kaboré

Afin de quantifier les isomères du TDA sur les matériaux des gants, une première méthode analytique moyennant une HPLC-MS/MRM a été développée. Dans ce cas, des conditions optimales ont été fixées : un gradient composé d'une phase mobile A (H<sub>2</sub>O + 1% d'acide acétique) et une phase mobile B (MeOH+ 1% d'acide acétique). Une description détaillée a été faite par René Kaboré. Par la suite, une deuxième méthode moyennant une UPLC-UV a été considérée. L'élution des dérivés acétylés a été faite en appliquant une phase mobile A (tampon d'acétate d'ammonium 10,4 mM à pH 6) et une phase mobile B (MeOH) en mode isocratique (A : B) (95 :5) en volume. La longueur d'onde qui a permis une meilleure détection a été fixée à 216 nm. L'élution des dérivés perfluorés a été faite en appliquant une phase mobile A (H<sub>2</sub>O) et une phase mobile B (ACN) en mode isocratique (A : B) (50 :50) en volume. La longueur d'onde qui a permis une meilleure détection a été fixée à 230 nm. L'analyse du TDA par UPLC a abouti à des taux de recouvrement inférieurs à 20%.

C'est pourquoi il est essentiel de développer une méthode d'extraction et de dosage de la TDA dans une matrice de gant plus performante et précise. Notre défi est donc de développer une nouvelle approche analytique permettant la récupération des isomères de TDI / TDA sur des matrices de gants utilisés par les travailleurs de l'industrie de polyuréthane tout en conservant comme objectif de diminuer le nombre d'étapes et surtout l'obtention d'un pourcentage de récupération supérieur ou égale à 80%.

Pour la nouvelle méthode d'extraction, un protocole employant la SPE a été mis en place et optimisé. Puis, une méthode de dosage a été développée en optimisant les paramètres chromatographiques et les paramètres de la spectrométrie de masse. Après avoir optimisé tous ces paramètres, la validation de la méthode a été réalisée en conformité avec l'approche utilisée par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ., 2015). La validation de la méthode permet d'établir la robustesse de la méthode en évaluant la performance analytique de celle-ci.

## 2.1 ABSTRACT

### **Rationale:**

Toluene diisocyanate (TDI) is a highly reactive isocyanate commonly used as a mixture of 2,4- and 2,6- isomers in the production of flexible foams. Exposure to TDI occurs primarily through vapor inhalation in workplaces where TDI is produced or used, but dermal exposure is also possible during some tasks. To ensure workplace safety, accurate monitoring of TDI and toluene diamine (TDA) levels is required. Methods of quantifying field effectiveness of gloves in preventing dermal exposure have not been established. Therefore, there is a need to develop a new practical method for assessing glove effectiveness for TDI/TDA.

### **Method:**

A new offline SPE UPLC-MS/MS method for the quantitation of TDA isomers coming from TDI exposed gloves has been developed. Gloves were dipped in a solution of 1% acetic acid leading to a full conversion to TDA. TDA free amine compounds were derivatized with acetic anhydride to increase chromatographic retention and signal intensity.

### **Results:**

2,4-diaminotoluene- $\alpha$ ,  $\alpha$ ,  $\alpha$ -d<sub>3</sub> (2,4-d<sub>3</sub>-TDA) was selected as surrogate standard to minimize the variability in sample preparation and instrumental sensitivity. The choice of UPLC-MS/MS operated in multiple reaction monitoring (MRM) mode allowed to reach much lower limits of detection (LOD). The LOD of the method was 6.86 and 2.83 ng/mL (0.03 and 0.01  $\mu$ g) for 2,6-TDA and 2,4-TDA respectively. The limit of quantitation (LOQ) was 22.85 and 9.42 ng/mL (0.11 and 0.05  $\mu$ g) for 2,6-TDA and 2,4-TDA respectively.

### **Conclusion:**

A new UPLC-MS/MS analytical method has been developed to determine field effectiveness of gloves for preventing dermal exposure to TDI/TDA. The new technique overcomes some limitations for measuring putative dermal exposure to isocyanates and may be useful in exposure monitoring and future research on isocyanate health risks.

**Keywords:** Toluene diisocyanate, Toluene diamine, UPLC-MS/MS, glove, quantitative analysis.

## 2.2 INTRODUCTION

Isocyanates are used in the production of polyurethane materials. For instance, toluene diisocyanate (TDI) is commonly used as a mixture of 2,4- and 2,6- isomers in the production of flexible foams, elastomers, coatings, hardeners, adhesives and finishes(Allport et al., 2003; Michael A. Collins, 2002; IARC, 1999; NTP, 1986). During the industrial process, it is well recognised that workers can be exposed to isocyanates through inhalation(Hulst et al., 2015; Monso et al., 2000) and dermal contact(Karol et al., 1981; Marzulli et al., 1981; Rosenberg & Savolainen, 1986). The exposure can lead to adverse effects with occupational asthma being one of the most severe manifestations that could occur(Peters & Murphy, 1971; Plehiers et al., 2020a, 2020b; Redlich & Karol, 2002). Indeed, isocyanates are respiratory and cutaneous irritants, known sensitizers (M. A. Collins, 2002; Michael A. Collins, 2002; Daftarian et al., 2002; Duprat et al., 1976; Kanerva et al., 1999; van Och et al., 2000) and TDI in particular may cause cancer in animals with unknown relevance to humans(ACGIH, 2021; Austin, 2007; Dieter et al., 1990; IARC, 1978). In addition, TDI could be converted, due to the industrial process or its intrinsic reactivity, to its corresponding amine, toluene diamine (TDA); occupational exposure to TDA should also be monitored since it is also a substance with adverse health effects.

In order to control the exposure to isocyanates, countries have established occupational exposure limits (OEL), which are intended to promote the safe use of isocyanates with time weighted average values as low as 1ppb for TDI monomer isomers in some cases(American Conference on Government Industrial Hygienists, 2021; Health and Safety Laboratory, 2014; Occupational Safety & Health Administration, 1992; Quebec (Province), 2014; Swedish National Board of Occupational Safety and Health, 2000). These OEL focus on inhalation exposure, but do not take into account dermal contact. Biological monitoring(Austin, 2007; Cocker, 2007; Cocker, 2011; Cocker et al., 2017; Lépine et al., 2020; Scholten et al., 2020) is a complementary tool to evaluate the exposure, but it reflects the total systemic dose absorbed (sum of inhalation, oral and dermal) and cannot assess specifically what is absorbed through dermal contact. Prevention of dermal contact is also an important aspect of exposure control since dermal contact has also been implicated in the induction of sensitization in animal models (Bello et al., 2007). Therefore, there is a need to evaluate selectively the amount of isocyanate and corresponding diamine that may come in contact with the skin as well measuring the exposure reduction afforded by wearing various types of gloves.

Some attempts have already been made to evaluate the amount of isocyanate in contact with the skin. These strategies employed either impregnated patches(Blake et al., 2012; Thomasen et al., 2011), removal techniques(Bello et al., 2008; Fent et al., 2009) or interception glove samplers(Bello et al., 2007; Ceballos, 2009; Ceballos et al., 2015; Harari et al., 2016; Mäkelä et al., 2014) in order to evaluate the amount of isocyanates getting skin contact. However, these strategies were focused on 1,6-hexamethylene diisocyanate (HDI) or 4,4'-diphenylmethane diisocyanate (MDI) and did not consider the evaluation of TDI or TDA. Also, there is a need to measure the dermal exposure reduction provided by various gloves during field use.

Glove extracts are commonly accompanied by complex matrices. The analytical technique of choice to analyse the sample is ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Actually, the selectivity offered by this analytical technique is unique and allows the determination of targeted analytes without major interferences. In addition, this technique can be combined with the use of an internal standard (IS) and surrogate to minimize the matrix effect due to sample preparation and ionisation variations. This work used UPLC-MS/MS in order to evaluate the effectiveness of multi-layered polyurethane coated gloves, employed as a personal protective equipment in an industrial setting where TDI was used. The measurements were done to estimate the reduction of dermal contact with TDI and its corresponding amine, TDA, provided by the gloves.

## 2.3 EXPERIMENTAL

### 2.4 Chemicals

2,4 toluene diisocyanate (2,4 TDI) ( $\geq 98\%$  purity), 2,4-toluenediamine (2,4-TDA) (98% purity), 2,6-toluenediamine (2,6-TDA) (97% purity), Sodium hydroxide (NaOH) and sodium tetraborate decahydrate ( $\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) (ACS) ( $\geq 99.5\%$  purity) were obtained from Sigma-Aldrich (Milwaukee, USA). The surrogate 2,4-diaminotoluene- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d<sub>3</sub>(2,4-d<sub>3</sub>-TDA) (99.8% purity) and the internal standard (IS) 2,6-diaminotoluene- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d<sub>3</sub> (2,6-d<sub>3</sub>-TDA) (97.5% purity) were purchased from C/D/N isotopes (Pointe-Claire, Canada). 2,6 toluene diisocyanate (2,6 TDI) (97% purity) was purchased from Alfa Aesar (Tewksbury, USA). Acetonitrile (ACN), methanol (MeOH) and water were all LC-MS grade were purchased from Fisher Scientific (Hampton, New Hampshire, USA) with ammonium hydroxide ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) (trace metal grade) and formic acid (Optima LC/MS grade). The glacial acetic acid ( $\geq 99.7\%$  purity) was from J.T. Baker company (Georgetown,

Ontario, Canada). Finally, acetic anhydride (ACS) (99.7% purity) was from VWR International (Radnor, Pennsylvania, USA).

## 2.5 Glove material

The study is based on three models of gloves worn in industrial workplaces: cotton gloves covered with urethane on the palm made by Health and Safety (SPI, Blainville, Qc, Canada), nylon gloves coated with nitrile manufactured by AKKA Grainger (St-Laurent, Qc, Canada) and nitrile gloves purchased from Sigma Aldrich (Milwaukee, Wi, USA).

## 2.6 Instruments and analytical conditions

The ultra-performance liquid chromatography (UPLC) was a Waters ACQUITY I-class (Brossard, QC, Canada). The UPLC was coupled with a Xevo™ TQD triple quadrupole mass spectrometer (UPLC-MS/MS) from Waters (Milford, MA, USA) where analytes were ionized by electrospray in positive ionization mode. The column used for analysis was an Acquity UPLC HSS T3 1.8 µm, 2.1 x 50 mm (Waters, Dublin, Ireland). A pre-column Vanguard™ Acquity UPLC BEH C18 1.7 µm (2.1 X 5 mm) from Waters (Brossard, QC, Canada) was also used to protect the analytical column. A Multi-Tube Vortexer from American Scientific Products (McGaw Park, IL) was used to shake the solutions.

### 2.6.1 Calibration curve solutions

A stock solution containing 1mg/mL of each 2,4-TDA and 2,6-TDA was prepared in acetonitrile. An intermediate solution containing 5µg/mL of each TDA isomer was made by dilution with acetonitrile. Seven working standard solutions were accordingly prepared from the intermediate solution by dilution into acetonitrile. Final concentrations of each TDA isomer were: 25, 50, 200, 400, 800 and 1600 ng/mL. A mixture of 2,4-d<sub>3</sub>-TDA (Surrogate) and 2,6-d<sub>3</sub>-TDA was made at 1000 ng/mL in acetonitrile. Calibration samples were prepared by adding 100 µL of standard working solution and 100 µL of IS working solution in 800 µL of Acetic acid 1% in water. The mixture was then evaporated to dryness under a stream of nitrogen at 60°C with a TurboVap LV evaporation system and reconstituted with 200 µL of borate buffer (50 mM, pH 8.5). After that, the solution was derivatized with 20 µL of pure acetic anhydride and finally 20 µL of acetonitrile was added. Final concentrations of 2,4-TDA-Ac and 2,6-TDA-Ac were approximately 12.5, 25, 100, 200, 400 and 800 ng/mL while the final concentration of IS was 500 ng/mL.

### 2.6.2 Sample glove preparation

Glove material was cut into four parts: thumb, middle, index and palm. Each selected part corresponds to the areas most exposed to contaminants, approximately 10% of the glove's total weight and was placed into 10mL of extraction solution in a 20 mL amber glass vial. The solutions containing the gloves were mixed vigorously using the Multi-Tube Vortexer for 2h. One mL of sample solution was filtered, using disposable syringe filter (0,45  $\mu\text{m}$ ) followed by the addition of 200  $\mu\text{L}$  of 5 N NaOH. The mixture was stirred for few seconds and ready to be extracted. One mL was filtered with a 3 mL syringe fitted with a PDVF filter (hydrophilic polyvinylidene difluoride). Filter porosity was 0.22  $\mu\text{m}$ .

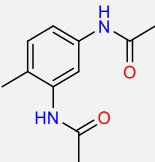
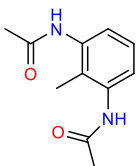
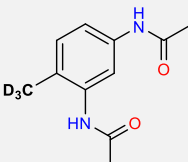
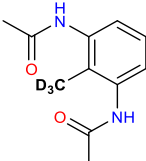
### 2.6.3 UPLC-MS/MS analysis

Chemical analysis was conducted by (UPLC–MS/MS). The injection volume was 1  $\mu\text{L}$ . The temperature for elution was performed at 40°C with a flow rate of 0.6 mL/min. For this, a gradient of acetonitrile (A) and water (B), both containing 0.1% formic acid was used. The gradient started at 2% A for 1 min, increased first to 10% in 0.2 min, to 17% in 0.2 min, to 20 in 1.6 min and to 90% in 0.5 min and held for 1 min.

The UPLC-MS/MS was operated in ESI positive mode. The multiple reaction monitoring (MRM) channels for each compound are listed in Table 2.1 below. The first ion channel was used as quantitation ion and the second as qualifier ion. Source ionization parameters were as follows: source temperature of 150°C, desolvation temperature of 500°C, desolvation flow of nitrogen gas at 1000 L·hr<sup>-1</sup> and cone voltage of 35 V. Automatic peak integration on MassLynx™ software (Waters) was used to quantify all the results. Curve calibration used a linear equation ( $R^2 \geq 0.995$ ).



Tableau 2.1: Structures of analytes and internal standards with ions transitions

| Analytes                                             | Structure                                                                           | Ions transitions, m/z<br>(Collision energy, eV)        |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 2,4-TDA-di-Ac                                        |    | m/z 207.1 → 123.2<br>(25)<br>m/z 207.1 → 165.2<br>(15) |
| 2,6-TDA-di-Ac                                        |    | m/z 207.1 → 123.2<br>(25)<br>m/z 207.1 → 165.2<br>(15) |
| 2,4-d <sub>3</sub> -TDA-di-Ac<br>(Surrogate)         |   | m/z 210.1 → 126.2<br>(25)<br>m/z 210.1 → 168.2<br>(15) |
| 2,6-d <sub>3</sub> -TDA-di-Ac<br>(Internal standard) |  | m/z 210.1 → 126.2<br>(25)<br>m/z 210.1 → 168.2<br>(15) |

#### 2.6.4 Solid phase extraction (SPE)

Oasis MCX cartridges were used to provide the cleanest extracts. The Oasis MCX (1 cc, 30 mg, 1 mL) was purchased from Waters (Waters Corp. Brossard, QC, Canada). At the beginning, SPE cartridges were conditioned with 1 mL of methanol followed by equilibration with 1 mL of water. Thereafter, 1mL of sample solution was then loaded on the cartridge. The washing step was done in passing 1 mL of 2% Formic Acid in water (FA 2%) followed by 1 mL of methanol in the cartridge. Sample elution was accomplished using 500 µL of 5% NH<sub>4</sub>OH in 83% methanol and 2 x 500 µL

of 15% NH<sub>4</sub>OH in 50% methanol. Eluents were then evaporated to dryness under nitrogen at 60°C with a TurboVap LV evaporation system from Zymark. Extracts were reconstituted with 200 µL of borate buffer (50 mM, pH 8.5) and derivatized with 20 µL of undiluted acetic anhydride. Finally, 20 µL of acetonitrile was added and the mixture was stirred for a few seconds and then transferred to HPLC vials for analysis.

#### 2.6.5 TDI/TDA conversion

Two working solutions of 2,4-TDI and 2,6-TDI (C=1150 ng/mL) were prepared separately in acetonitrile from stock solutions (C= 2 mg/mL). Two replicates of working samples solutions for each compound were prepared. Each of the two replicate sets had 5 concentrations. An IS working solution containing a mixture of 2,4-d<sub>3</sub>-TDA (Surrogate) and 2,6-d<sub>3</sub>-TDA (IS) was made at 1000 ng/mL. Final solutions were prepared by adding 100 µL of working solution and 100 µL of IS working solution in 800 µL of Acetic acid 1% in water. The mixture was then evaporated to dryness under a stream of nitrogen at 60°C with a TurboVap LV evaporation system and reconstituted with 200 µL of borate buffer (50 mM, pH 8.5). After that, the solution was derivatized with 20 µL of undiluted acetic anhydride and finally 20 µL of acetonitrile was added. Final concentrations of 2,4-TDA and 2,6-TDA were approximately 403 ng/mL. Sample concentration solutions of TDI were multiplied by ((Molar weight of TDA/ Molar weight of TDI) = (122.17 g/mol/174.16 g/mol)) to obtain final sample concentration solutions of TDA. Finally, solutions were transferred to HPLC vials for analysis.

#### 2.6.6 Recovery and Matrix effect

Three types of control gloves were tested: Nitrile, Nylon and Cotton gloves. Gloves samples have been processed according to the description in the sample glove preparation above. Each glove piece of each type (about 10% of the glove total weight) was immersed in 10 mL of extraction solution (1% acetic acid in water) and then spiked with 300 µL of TDA solution (C=5000 ng/mL) and 120 µL of surrogate solution (C=10000 ng/mL). Each solution was prepared in duplicate. In addition, the same solutions were prepared but were spiked instead with 300 µL of TDI solution (C=7000 ng/mL) and 120 µL of surrogate solution (C=10000 ng/mL). One mL of each solution was filtered and 200 µL of 5 N NaOH was added. One mL was extracted with SPE. The final extract was evaporated until dryness, reconstituted and finally acetylated as described previously. Finally, solutions were transferred to HPLC vials for analysis.

#### 2.6.7 Analytical performance

The analytical performance evaluation was achieved in accordance with DR-12-VMC method validation (QUÉBEC, 2015). Ten replicates of a glove solution spiked with TDA isomers at 40 ng/mL were used to evaluate the limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ). The standard deviation of the sample peak areas was determined. The LOD and LOQ were calculated as three and ten times the standard deviation, respectively. The concentrations of replicates were distributed over the calibration range.

The intra-day precision was performed with 6 glove solutions spiked with replicates at 105.2, 210.4, 420.2, and 631.3 ng/mL of TDA isomers in the same day. However, to evaluate the inter-day precision, one replicate of four different concentrations (105.2, 210.4, 420.2, and 631.3 ng/mL of TDA isomers) was prepared on six different days. The accuracy was evaluated with ten replicates of 625 ng/mL of TDA isomers. Finally, matrix effect and recovery were assessed by comparing six replicates at five concentration levels (105.2, 210.4, 420.2, 631.3 and 841.7 ng/mL) spiked in glove solution with replicates spiked in 1% acetic acid solution.

#### 2.6.8 RESULTS AND DISCUSSION

##### 2.6.9 UPLC-MS/MS method development

In this study, MRM parameters were optimized for the doubly-acetylated TDA protonated molecules as precursor ions. For quantitation, the most intense product ion ( $m/z=123$ ) was chosen. Therefore, a secondary ion ( $m/z=165$ ) was used, for confirmation. Chromatographic separation was optimized to reduce matrix effects for the analytes of interest. The compounds were baseline separated in less than 3 minutes with an overall run time of 6 min, including column re-equilibration time.

##### 2.6.10 Solid phase extraction (SPE)

In a recent study (Kabore, 2021b), liquid-liquid extraction (LLE) was used for the extraction of TDI in protective equipment, namely gloves. This method had many disadvantages: it involved many steps, consumed a significant number of solvents and due to systematic low recovery of TDA (approximately 20%); because of this, an SPE approach has been developed. The new SPE method was designed for protective equipment matrix, in particular gloves. The method involves fewer steps and provides better recoveries of the analytes as compared to LLE approach. The different steps of the SPE procedure can be controlled (deposit speed, washing, elution, etc). It

also allows a better control of the elution of the targeted compounds and potential interferents. Several different kinds of SPE cartridges were available but Oasis Mixed-mode Cationic exchange (MCX) cartridges were employed in this work. MCX is the most suitable for the analysis of bases that have a pKa range of (2-10) which is the case of 2,4-TDA and 2,6-TDA (pKa of 5.35 (Information, 2022) and 4.69 (Information) respectively). According to a recent extraction method used in the determination of aliphatic and aromatic isocyanate exposure in human urine<sup>31</sup>, TDA isomers were eluted using 500 µL 5% NH<sub>4</sub>OH in 83% methanol followed by a second elution using 2 x 500 µL of 15% NH<sub>4</sub>OH in 50% methanol. This elution allows all analytes to be well recovered in the same extract. Recovery (%) of 28.29±2.06 and 39.3±3.20 was obtained with an acid pH while a good recovery (%) of 80.06±3.95 and 88.27±3.52 was obtained with a basic medium, for 2,6-TDA and 2,4 TDA respectively. In order to determine the optimal pH of the solution containing the analytes that will be loaded on SPE, several tests were carried out. The concentration of TDA isomers was 100 ng/mL. Tests were done using MCX working with ion exchange mode (pH=3) as well as with reversed phase mode (pH=10). In acid medium, analytes were charged and cation exchange phase allowed the retention of protonated compounds. In basic medium, the ion exchange phase has no longer any influence because compounds are in neutral form. In this case, inverse phase allows the extraction of non ionised compounds.

#### 2.6.11 TDI/TDA conversion

All TDI contained on the glove must be converted to its free amine prior to the SPE extraction. Several tests were performed in this study with the aim of assessing the efficiency of the conversion of TDI to TDA. TDI solutions were prepared in ACN and then were spiked in the acid medium (Acetic acid 1% in water) to trigger the hydrolysis reaction. A good recovery for 2,6-TDA and 2,4-TDA of 91.5% and 105.7% were respectively obtained for the first replicate (Table 2.2). The same result was obtained with the second replicate (120.3% and 107.6%).

Tableau 2.2: % Conversion of TDI to TDA in 1% acetic acid

| Number of replicates | % Recovery |             |
|----------------------|------------|-------------|
|                      | 2.6-TDA    | 2.4-TDA     |
| 1(n=5)               | 91.5±0.64  | 105.7±2.07  |
| 2(n=5)               | 120.3±13.5 | 107.6±13.18 |

There are multiple competing pathways for TDI reactions in different aqueous environments relating to the number, type, and concentrations of reagents available (Prueitt et al., 2017). The conversion of TDI to TDA is just one of many types of chemical transformations that can take place from the contact of TDI with water (Prueitt et al., 2013). In this study, the reactivity of the amine groups of the 2,4-TDA surrogate with the isocyanate groups of TDI is strongly favored compared to reaction of the isocyanate groups with the hydroxyle group of water. TDI is a hydrophobic liquid, therefore once mixed with water, separate phases will occur with hydrolysis of isocyanate groups occurring at their interface (Yakabe et al., 1999). An alteration of the TDI-water interface such as by vigorous stirring is an important condition to lead to the formation of free TDA in significant yield. Under these conditions, there is increased availability of TDI molecules to react with water, which in turn increases the amount of TDA detectable, but polyureas remain the predominant product of this reaction. In order to enhance TDA formation, acidic aqueous environments were used (Seel et al., 1999). In this way, the amino group formed after the hydrolysis of one of TDI's isocyanate groups predominantly exists in the protonated form. Because only the neutral, non-protonated amine form is able to react with another isocyanate group, by using acetic acid 1% in water during this work, the subsequent reaction of the amine to form substituted ureas was inhibited.

#### 2.6.12 Recovery and Matrix effect (Reaction of the surrogate with the glove material)

The presence or absence of matrix effects during the analysis was investigated by preparing extracts from control samples which were subsequently spiked with the analytes. The surrogate was employed to minimize the variability in sample preparation and instrumental sensitivity. Recovery of TDI/TDA isomers and surrogate from the three glove types (Nitrile, Nylon and Cotton), is shown in Figure 2.2.

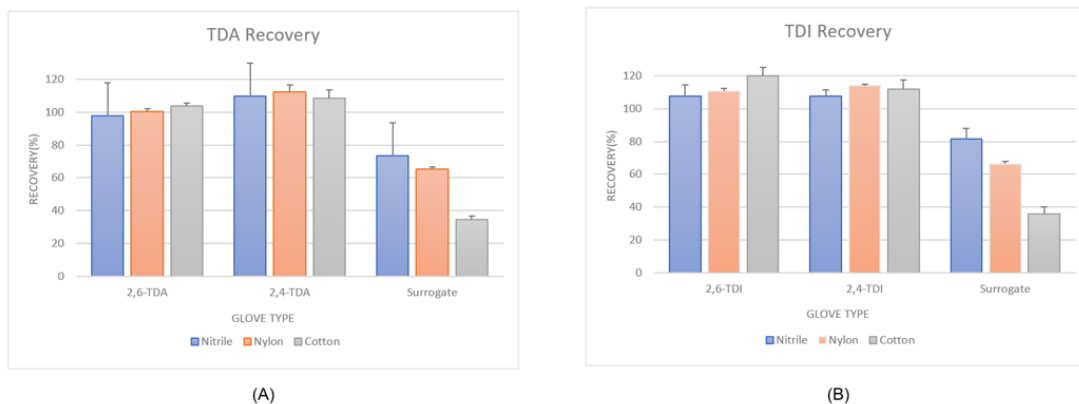


Figure 2.2: (A)% Recovery of 2,6TDA, 2,4TDA and the surrogate from gloves spiked with TDA solution, (B) Recovery of 2,6TDA, 2,4TDA and the surrogate from gloves spiked with TDI solution

The matrix effect was observed through the interaction between the surrogate and the glove matrix. Nitrile and Nylon glove types had significantly higher recovery of TDA than the cotton gloves. The highest recovery rates have been obtained with nitrile gloves, as they show the least interference with the surrogate.

#### 2.6.13 Analytical parameter validation

The dynamic range was 20 ng/mL to 800 ng/mL with a variation coefficient  $R^2 \geq 0.995$ . The sensitivity was determined by evaluating the (LOD) and the LOQ of the method. The LOD of the method was 6.86 and 2.83 ng/mL (0.03 and 0.01  $\mu\text{g}$ ) for 2,6-TDA and 2,4-TDA respectively. The LOQ was 22.85 and 9.42 ng/mL (0.11 and 0.05  $\mu\text{g}$ ) for 2,6-TDA and 2,4-TDA respectively, in accordance with DR-12-VMC method validation. These limits were sufficient for TDA isomers determination from sampled gloves. Finally, the ruggedness of the method was also evaluated by the measurement of intra-day and inter-day precisions. Intra-day precision was 3.67% and 3.55% for 2,6-TDA and 2,4-TDA respectively. Inter-day precision was 8.05% and 2.62% for 2,6-TDA and 2,4-TDA respectively. Excellent recoveries (%) for 2,6-TDA and 2,4-TDA were obtained and were, respectively:  $98.06 \pm 0.52$  and  $99.8 \pm 1.9$ . The analytical uncertainty and extended uncertainty are, respectively (5.83% and 15.05%) for 2,6-TDA; (3.81% and 12.32%) for 2,4-TDA.

#### 2.6.14 CONCLUSIONS

A quantitation method for TDA analysis from gloves used during TDI handling, has been developed. The new method is highly sensitive, specific and allows the determination of TDA

levels on glove materials. Sample preparation based on SPE has been optimized to provide a method with good accuracy, robustness and reliability. The developed method presents a very good recovery performance during the laboratory validation steps and offers a means to evaluate glove effectiveness in real work situations.

## 2.6.15 REFERENCES

1. Allport DC, Gilbert DS, S.M. O. Occupational exposure limits, stack limits and community limits. MDI and TDI: Safety, Health and the Environment: A Source Book and Practical Guide. John Wiley & Sons; 2003:343-358:chap 5.6.
2. Collins MA. Toxicology of toluene diisocyanate. Applied occupational and environmental hygiene. 2002;17(12):846-855.
3. IARC. Toluene diisocyanates (Re-evaluation of Some Organic Chemicals,Hydrazine and Hydrogen Peroxide. 1999;71:65–79.
4. NTP. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Commercial Grade 2,4 (80%)- and 2,6 (20%)- Toluene Diisocyanate (CAS No. 26471-62-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). Natl Toxicol Program Tech Rep Ser. Aug 1986;251:1-194.
5. Hulst AG, Verstappen DR, van der Riet–Van Oeveren D, Vermeulen NP, Noort D. Mass spectrometric identification of isocyanate-induced modifications of keratins in human skin. Chemico-biological interactions. 2015;237:141-150.
6. Monso E, Cloutier Y, Lesage J, Perreault G, Malo JL. What is the respiratory retention of inhaled hexamethylene di-isocyanate? European Respiratory Journal. 2000;16(4):729.
7. Karol MH, Hauth BA, Riley EJ, Magreni CM. Dermal contact with toluene diisocyanate (TDI) produces respiratory tract hypersensitivity in guinea pigs. Toxicol Appl Pharmacol. Apr 1981;58(2):221-30. doi:10.1016/0041-008x(81)90426-9
8. Marzulli FN, Anjo DM, Maibach HI. In vivo skin penetration studies of 2,4-toluenediamine, 2,4-diaminoanisole, 2-nitro-p-phenylenediamine, p-dioxane and N-nitrosodiethanolamine in cosmetics. Food Cosmet Toxicol. Dec 1981;19(6):743-7. doi:10.1016/0015-6264(81)90530-7
9. Rosenberg C, Savolainen H. Determination of occupational exposure to toluene diisocyanate by biological monitoring. Journal of Chromatography A. 1986/01/01/ 1986;367:385-392. doi:[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)94859-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)94859-3)
10. Peters JM, Murphy RL. Hazards to health: do it yourself polyurethane foam. American Review of Respiratory Disease. 1971;104(3):432-433.

11. Plehiers PM, Chappelle AH, Spence MW. Practical learnings from an epidemiology study on TDI-related occupational asthma: Part II-Exposure without respiratory protection to TWA-8 values indicative of peak events is a good indicator of risk. *Toxicol Ind Health*. Nov 2020;36(11):885-891. doi:10.1177/0748233720947203
12. Plehiers PM, Chappelle AH, Spence MW. Practical learnings from an epidemiology study on TDI-related occupational asthma: Part I-Cumulative exposure is not a good indicator of risk. *Toxicol Ind Health*. Nov 2020;36(11):876-884. doi:10.1177/0748233720947202
13. Redlich CA, Karol MH. Diisocyanate asthma: clinical aspects and immunopathogenesis. *International Immunopharmacology*. 2002/02/01/ 2002;2(2):213-224. doi:[https://doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00174-6](https://doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00174-6)
14. Daftarian HS, Lushniak BD, Reh CM, Lewis DM. Evaluation of self-reported skin problems among workers exposed to toluene diisocyanate (TDI) at a foam manufacturing facility. *Journal of occupational and environmental medicine*. 2002;44(12):1197-1202.
15. Duprat P, Gradiski D, Marignac B. [The irritant and allergenic action of two isocyanates: toluene diisocyanate (TDI) and diphenylmethane diisocyanate (MDI)]. *Eur J Toxicol Environ Hyg*. Jan-Feb 1976;9(1):43-53. Pouvoir irritant et allergisant de deux isocyanates: toluène diisocyanate (T. D. I.), diphenylméthane diisocyanate (M. D. I.).
16. Kanerva L, Jolanki R, Alanko K, Estlander T. Patch-test reactions to plastic and glue allergens. *Acta Derm Venereol*. Jul 1999;79(4):296-300. doi:10.1080/000155599750010706
17. Collins MA. Toxicology of toluene diisocyanate. *Appl Occup Environ Hyg*. Dec 2002;17(12):846-55. doi:10.1080/10473220290107048
18. van Och FM, Slob W, de Jong WH, Vandebriel RJ, van Loveren H. A quantitative method for assessing the sensitizing potency of low molecular weight chemicals using a local lymph node assay: employment of a regression method that includes determination of the uncertainty margins. *Toxicology*. Apr 20 2000;146(1):49-59. doi:10.1016/s0300-483x(00)00165-7
19. ACGIH. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2021 TLVs and BEIs: based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agent. 2021; Cincinnati, USA
20. Austin S. Biological monitoring of TDI-derived amines in polyurethane foam production. *Article. Occupational Medicine*. 2007;57(6):444-448. doi:10.1093/occmed/kqm085
21. Dieter MP, Boorman GA, Jameson CW, Matthews HB, Huff JE. The carcinogenic activity of commercial grade toluene diisocyanate in rats and mice in relation to the metabolism of the 2,4- and 2,6-TDI isomers. *Toxicol Ind Health*. Dec 1990;6(6):599-621.
22. IARC. Some aromatic amines and related nitro compounds (hair dyes, colouring agents and miscellaneous industrial chemicals. 1978;16:83–90.



23. American Conference on Government Industrial Hygienists. 2021 TLVs and BEIs : based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices ACGIH; 2021:276.
24. Health and Safety Laboratory. Organic isocyanates in air. 2014:16. Methods for the Determination of Hazardous Substances. MDHS 25/4. 2014.
25. Occupational Safety & Health Administration. Code of federal regulations: air contaminants, [29 CFR 1910.1000]. Washington, DC: GPO; 1992.
26. Quebec (Province). Regulation respecting occupational health and safety, [S-2.1, r.19.01]. Publications du Québec; 2014.
27. Swedish National Board of Occupational Safety and Health. Occupational exposure limit values. vol AFS 2000:3. Arbetarskyddsstyrelsens Föfattningssamling; 2000.
28. Cocker J. Biological monitoring for isocyanates. *Occup Med (Lond)*. Sep 2007;57(6):391-3. doi:10.1093/occmed/kql148
29. Cocker J. Biological Monitoring for Isocyanates. *The Annals of occupational hygiene*. 03/01 2011;55:127-31. doi:10.1093/annhyg/meq083
30. Cocker J, Jones K, Leng G, et al. Hexamethylene diisocyanate, 2,4-toluene diisocyanate, 2,6-toluene diisocyanate, isophorone diisocyanate and 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate – Determination of hexamethylenediamine, 2,4-toluenediamine, 2,6-toluenediamine, isophoronediamine and 4,4'-methylenedianiline in urine using gas chromatography-mass spectrometry [Biomonitoring Methods, 2017]. *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety*. 2017:1415-1435.
31. Lépine M, Sleno L, Lesage J, Gagné S. A validated UPLC-MS/MS method for the determination of aliphatic and aromatic isocyanate exposure in human urine. *Anal Bioanal Chem*. Jan 2020;412(3):753-762. doi:10.1007/s00216-019-02295-y
32. Scholten B, Kenny L, Duca RC, et al. Biomonitoring for Occupational Exposure to Diisocyanates: A Systematic Review. *Ann Work Expo Health*. Jul 1 2020;64(6):569-585. doi:10.1093/annweh/wxaa038
33. Bello D, Herrick CA, Smith TJ, et al. Skin exposure to isocyanates: reasons for concern. *Environ Health Perspect*. Mar 2007;115(3):328-35. doi:10.1289/ehp.9557
34. Blake CL, Johnson GT, Abritis AJ, Lieckfield R, Jr., Harbison RD. Isocyanate and VOC exposure analysis using Flexane®. *Regul Toxicol Pharmacol*. Aug 2012;63(3):363-70. doi:10.1016/j.yrtph.2012.05.007
35. Thomasen JM, Fent KW, Nylander-French LA. Development of a sampling patch to measure dermal exposures to monomeric and polymeric 1,6-hexamethylene diisocyanate: a pilot

study. Journal of occupational and environmental hygiene. Dec 2011;8(12):709-17. doi:10.1080/15459624.2011.626744

36. Bello D, Redlich CA, Stowe MH, et al. Skin exposure to aliphatic polyisocyanates in the auto body repair and refinishing industry: II. A quantitative assessment. Ann Occup Hyg. Mar 2008;52(2):117-24. doi:10.1093/annhyg/mem066

37. Fent KW, Trelles Gaines LG, Thomasen JM, et al. Quantification and statistical modeling-part II: dermal concentrations of monomeric and polymeric 1,6-hexamethylene diisocyanate. Ann Occup Hyg. Oct 2009;53(7):691-702. doi:10.1093/annhyg/mep048

38. Ceballos D. Evaluation of protective gloves used in the collision repair industry. University of Washington; 2009.

39. Ceballos DM, Reeb-Whitaker C, Sasakura M, Dills R, Yost MG. Protection efficacy of gloves against components of the solvent in a sprayed isocyanate coating utilizing a reciprocating permeation panel. Annals Of Occupational Hygiene. 2015;59(3):358-372.

40. Harari H, Bello D, Woskie S, Redlich C. Development of an Interception Glove Sampler for Skin Exposures to Aromatic Isocyanates. Ann Occup Hyg. Nov 2016;60(9):1092-1103. doi:10.1093/annhyg/mew052

41. Mäkelä EA, Henriks-Eckerman ML, Ylinen K, Vuokko A, Suuronen K. Permeation tests of glove and clothing materials against sensitizing chemicals using diphenylmethane diisocyanate as an example. Ann Occup Hyg. Aug 2014;58(7):921-30. doi:10.1093/annhyg/meu040

42. QUÉBEC CDEEAED. Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie(DR-12-VMC) Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques : Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques. 2015:18.

43. Kabore R. ÉVALUATION DE LA PROTECTION DES GANTS PAR LA MESURE ANALYTIQUE DE LA MIGRATION DES ISOCYANATES ET DES AMINES DANS LES MATÉRIAUX ,"Mémoire, UQAM". 2021:1-97.

44. Information NCfB. PubChem Compound Summary for CID 7261, 2,4-Diaminotoluene. Accessed 24 March, 2022. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2\\_4-Diaminotoluene](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Diaminotoluene).

45. Information NCfB. PubChem Compound Summary for CID 13205, 2,6-Diaminotoluene. Accessed 24 March, 2022. [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2\\_6-Diaminotoluene](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_6-Diaminotoluene)

46. Prueitt RL, Lynch HN, Zu K, Shi L, Goodman JE. Dermal exposure to toluene diisocyanate and respiratory cancer risk. Environment International. 2017/12/01/ 2017;109:181-192. doi:<https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.09.017>

47. Prueitt RL, Rhomberg LR, Goodman JE. Hypothesis-based weight-of-evidence evaluation of the human carcinogenicity of toluene diisocyanate. *Critical Reviews in Toxicology*. 2013/09/01 2013;43(5):391-435. doi:10.3109/10408444.2013.790877
48. Yakabe Y, Henderson KM, Thompson WC, Pemberton D, Tury B, Bailey RE. Fate of Methylenediphenyl Diisocyanate and Toluene Diisocyanate in the Aquatic Environment. *Environmental Science & Technology*. 1999;33(15):2579-2583. doi:10.1021/es981350c
49. Seel K, Walber U, Herbold B, Kopp R. Chemical behaviour of seven aromatic diisocyanates (toluenediisocyanates and diphenylmethanediisocyanates) under in vitro conditions in relationship to their results in the Salmonella/microsome test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 1999/01/13/ 1999;438(2):109-123. doi:[https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(98\)00157-0](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(98)00157-0)

## **CHAPITRE 3**

### **DISCUSSION**

Durant des travaux antérieurs, bien que différentes approches (la surveillance biologique, la surveillance environnementale dans l'air ou dans le sol, etc.) aient permis de documenter l'exposition aux isocyanates, il y a peu d'études faisant appel aux analyses du TDI ou TDA sur les gants de protection (Liu et al., 2000). Dans cette étude, une nouvelle approche analytique pour l'extraction et la quantification du TDA suite à l'exposition au TDI sur des matrices de gants fut développée. Cette approche a subi toutes les démarches nécessaires du développement d'une méthode analytique allant de l'optimisation de la préparation des échantillons jusqu'à l'analyse instrumentale par UPLC/MS-MS et finissant par une validation de méthode robuste.

#### **3.1 Méthode d'analyse du TDA sur des matrices de tissus**

Durant le développement de cette approche, la préparation de l'échantillon a tout d'abord été simplifiée et réduite, par rapport aux méthodes analytiques utilisant l'extraction liquide-liquide (Kabore, 2021a). L'emploi d'une extraction en phase solide (SPE) en plus d'une dérivation par acétylation se sont avérées donc essentielles afin de développer une méthode sensible pour l'analyse des isomères du TDA. Par la suite, une optimisation de la méthode sur UPLC/MS-MS a eu lieu. Au final, la validation de la méthode a favorisé l'obtention d'une méthode robuste, fiable et efficace pour la quantification des isomères du TDA.

#### **3.2 Préparation des échantillons**

Pour le développement de toute méthode d'analyse, l'étape de préparation d'échantillon (hydrolyse, extraction, dérivation...) est l'étape la plus importante et la plus délicate à mettre en place. Le défi de cette étape est d'obtenir une meilleure récupération des composés d'intérêt dans la matrice à analyser afin d'établir une méthode fiable.

#### **3.3 Dérivation par acétylation**

Les problèmes de quantification des isocyanates dans les environnements de travail et les limites des méthodes actuellement disponibles sont bien connus par les chercheurs de ce domaine ((Dhimiter Bello et al., 2002); (Streicher et al., 1995)). Les principales méthodes analytiques pour l'analyse des isocyanates reposent sur un réactif de dérivation. L'emploi d'une dérivation, non

seulement il améliore la sensibilité et la sélectivité de la méthode analytique, mais de plus il contribue à la stabilisation des espèces réactives d'isocyanates (Dhimiter Bello et al., 2002).

Une étude récente (Lépine et al., 2020) a démontré la possibilité de quantifier le MDA sans avoir recours à une dérivation. Toutefois, les isomères de TDA sont des molécules de faibles poids moléculaires et plus polaires que le MDA ce qui rend leurs analyses sur UPLC/MS-MS plus complexe. Une dérivation est donc primordiale dans ce projet afin d'obtenir une meilleure sensibilité ainsi qu'une bonne séparation chromatographique. Certains réactifs de dérivation courants sont 1-(2-méthoxyphényl) pipérazine (MOPIP), 9-(méthylaminométhyl)anthracène (MAMA) et le di-butyl-amine (DBA). Tous ces réactifs sont utilisés dans l'analyse HPLC des isocyanates, avec une combinaison de détecteurs ultraviolets (UV), électrochimiques (EC) ou de fluorescence (FLD) à l'exception de la DBA, qui convient mieux à l'analyse LC/MS (D. Bello et al., 2002). Les méthodes basées sur ces réactifs requièrent de longues étapes de dérivation et nécessitent une étape d'extraction supplémentaire dans le but de se débarrasser de l'excès de réactif (Rosenberg et al., 2002). C'est pour cette raison, qu'une dérivation par acétylation, une méthode proposée par NIOSH{National, 1994, NIOSH Manual of Analytical Methods}, a été privilégiée durant cette étude. L'acétylation est l'une des réactions les plus importantes de la synthèse organique car les groupes acétyle peuvent être facilement utilisés pour protéger une large gamme de groupes fonctionnels, notamment les amines (Sartori et al., 2004). Pour ce faire, l'anhydride acétique a été employé pour la dérivation des isomères du TDA en greffant sur le groupement amine un groupement acétyle. Cette réaction se fait en une seule étape, les conditions expérimentales sont plus douces que les méthodes conventionnelles et les réactions sont achevées en un temps de réaction plus court.

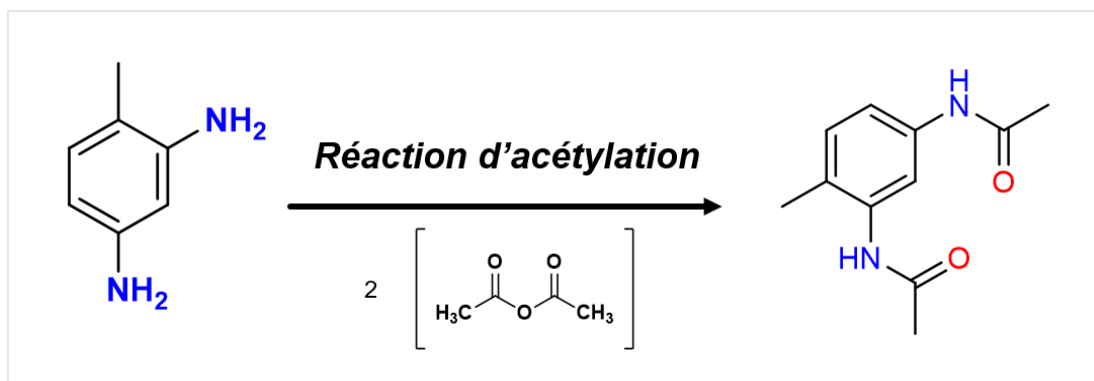


Figure 3.1: Réaction d'acétylation du 2,4TDA en employant l'anhydride acétique

Suite à cette réaction, les isomères du TDA étaient tous doublement acétylés comme le montre la figure ci-dessous.

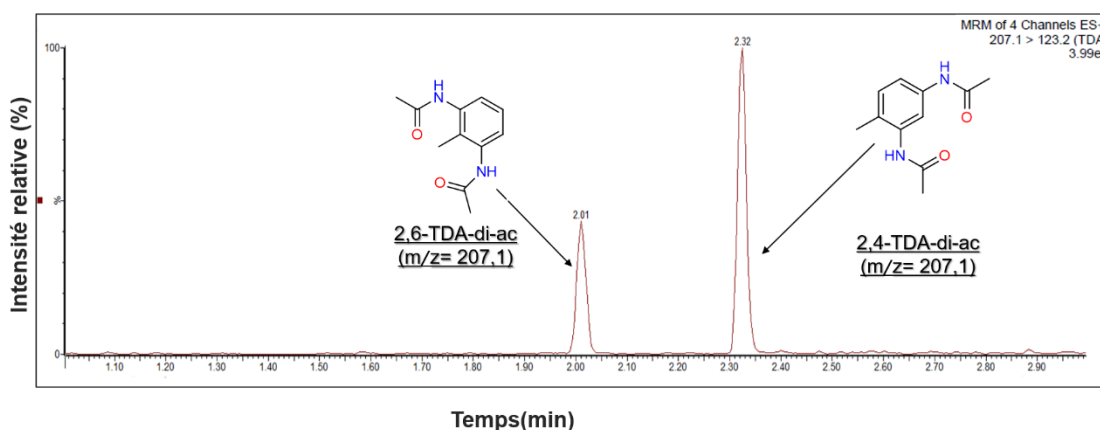


Figure 3.2: Exemple de chromatogramme de la séparation des isomères du TDA doublement acétylés pour une concentration de 100 (ng/mL)

La reproductibilité de la dérivation a été étudiée pour une solution de standard de 2,6-TDA et 2,4-TDA préparée dans l'acétonitrile en suivant les mêmes étapes de préparation des solutions d'étalonnage. La concentration finale est de 800 ng/mL pour chaque isomère de TDA. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3.1 ci-dessous.

Tableau 3.1: Résultats de la reproductibilité de la dérivation pour une solution de standard de concentration 800 ng/mL

| Analytes         | 2,6-TDA | 2,4-TDA |
|------------------|---------|---------|
|                  | Réponse | Réponse |
| Injection 1      | 6138,91 | 9106,12 |
| Injection 2      | 6199,51 | 9383,48 |
| Injection 3      | 6283,40 | 9389,92 |
| Injection 4      | 6216,75 | 9665,35 |
| Injection 5      | 6391,14 | 9491,47 |
| Injection 6      | 6408,17 | 9680,34 |
| Moyenne (n=6)    | 6272,98 | 9452,78 |
| Écart-type (n=6) | 108,52  | 213,26  |
| % CV             | 1,73%   | 2,26%   |

Il s'est avéré que l'injection de 6 fois pour un même vial de standard est hautement réplicable. Les coefficients de variation (%CV) obtenues étaient faibles pour les isomères de TDA (<5%), donc les résultats sont précis.

### 3.4 Conversion du TDI en TDA

Avant l'extraction par SPE, la conversion du tout le TDI contenu sur le gant après exposition en son amine libre TDA, est une étape qui influence directement le résultat final dans ce projet. Il existe plusieurs voies concurrentes pour les réactions du TDI dans différents environnements aqueux en fonction du nombre, du type et des concentrations de réactifs disponibles. Durant cette étude, une solution d'acide acétique à 1 % dans l'eau a été employée afin de privilégier la formation de TDA et empêcher cette dernière de se trouver sous sa forme neutre. Ainsi, le groupe amine formé après l'hydrolyse de l'un des groupes isocyanate du TDI existe majoritairement sous forme protonée et la réaction ultérieure de l'amine pour former des urées substituées est inhibée (Seel et al., 1999).

Après plusieurs essais de conversion, un temps de mise en contact d'une heure de la solution de TDI avec la solution d'acide acétique 1 % dans l'eau accompagné d'une agitation modérée, a été jugé suffisant pour convertir tout le TDI en solution en amine correspondante TDA.

### 3.5 Extraction en phase solide (SPE)

Afin d'extraire le TDA provenant de la conversion du TDI en milieu acide, l'extraction en phase solide (SPE) a été choisie. Dans une étude récente (Kabore, 2021a), l'extraction liquide-liquide (LLE) a été utilisée pour extraire du TDI sur les gants. Cette méthode implique de nombreuses étapes, consomme un nombre important de solvants et permet une faible récupération de TDA (environ 20 %). Le TDA est une molécule polaire, ce qui rend son extraction moyennant un solvant organique plus difficile. De ce fait, la SPE apporte une meilleure efficacité comparée à la LLE. Durant cette étude, les cartouches MCX en mode phase inversée ont été utilisées pour extraire les composés d'intérêts. Au cours des étapes d'optimisation, il a été démontré que le pH de chargement influence énormément le rendement de l'extraction pour les cartouches MCX utilisées. C'est pourquoi, les analytes ont été extraits adéquatement en utilisant un pH basique (pH=10). Une autre étude récente (Lépine et al., 2020) a démontré qu'une double élution des isomères de TDA avec des petits volumes d'éluant est préférable à une seule élution pour le même volume d'éluant. Cette double élution est nécessaire afin d'assurer une meilleure récupération des analytes. Une première élution se fait moyennant 500  $\mu$ L d'une solution de méthanol basique avec un ratio élevé en solution organique (5%  $\text{NH}_4\text{OH}$ : 83% MeOH). Une deuxième élution est effectuée en employant (2\*500  $\mu$ L) d'une solution de méthanol basique avec un ratio élevé en solution basique (15%  $\text{NH}_4\text{OH}$ : 50% MeOH). Toutes les conditions décrites précédemment ont été nécessaires pour atteindre des meilleurs pourcentages de récupérations (%) de  $80,06 \pm 3,95$  et  $88,27 \pm 3,52$  pour 2,6-TDA et 2,4 TDA respectivement.

La reproductibilité de l'extraction en phase solide (SPE) a été aussi testée. Une solution de standard mixte du 2,6 et 2,4 TDA de concentration (100 ng/mL) a été préparée et passée sur SPE en suivant les mêmes étapes citées dans la partie EXPERIMENTAL du chapitre 2. L'opération a été répétée 4 fois. La solution finale obtenue pour chaque test SPE a été injectée 10 fois. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 3.2 et figure 3.3 suivants.



Tableau 3.2: Sommaire du % de récupération des deux isomères de TDA suite à la SPE pour les 4 réplicas

| Nombre de réplicas | Paramètres        | Récupération (%) 2,6-TDA | Récupération (%) 2,4-TDA |
|--------------------|-------------------|--------------------------|--------------------------|
| Réplica SPE 1      | Moyenne (n=10)    | 80,06                    | 88,27                    |
|                    | Écart-Type (n=10) | 2,95                     | 3,52                     |
|                    | % CV              | 3,69                     | 3,98                     |
| Réplica SPE 2      | Moyenne (n=10)    | 107,95                   | 86,02                    |
|                    | Écart-Type (n=10) | 2,95                     | 1,46                     |
|                    | % CV              | 2,73                     | 1,70                     |
| Réplica SPE 3      | Moyenne (n=10)    | 98,39                    | 86,39                    |
|                    | Écart-Type (n=10) | 3,12                     | 1,81                     |
|                    | % CV              | 3,18                     | 2,09                     |
| Réplica SPE 4      | Moyenne (n=10)    | 107,95                   | 87,36                    |
|                    | Écart-Type (n=10) | 2,95                     | 3,62                     |
|                    | % CV              | 2,73                     | 4,15                     |
| 4 réplicas SPE     | Moyenne (n=10)    | 98,59                    | 87,01                    |
|                    | Écart-Type (n=10) | 11,89                    | 2,81                     |
|                    | % CV              | 12,06                    | 3,23                     |

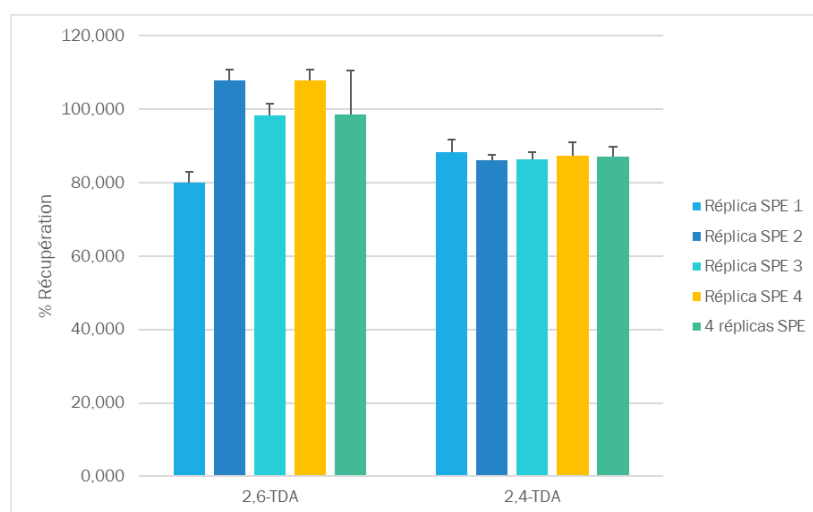


Figure 3.3: Graphique de % récupération de SPE de chaque isomère de TDA pour les 4 réplicas

D'après le tableau 3.3 et la figure 3.3, il est possible de conclure dans un premier lieu que l'injection de 10 fois pour un même test de SPE est réplicable. Un bon recouvrement a aussi été obtenu pour les deux isomères de TDA suite à la SPE. Toutefois, le recouvrement du 2,4-TDA est hautement répétable d'un test SPE à un autre, alors qu'une variation plus importante pour le 2,6-TDA a été notée. Ceci pourrait être expliqué par le fait que le 2,6-TDA est toujours moins réactif que son isomère le 2,4-TDA vu la différence de la position des groupements amine sur la molécule. On note un encombrement stérique pour le 2,6-TDA qui pourrait être à l'origine d'une acétylation non complète.

### 3.6 Choix du standard interne et du surrogate

Les déterminations par UPLC/MS-Ms ont été réalisées en utilisant le 2,6-2,4-TDA trideutérés et du 2,4-TDA trideutérés (2,6-TDA- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d<sub>3</sub> et 2,4-TDA- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d<sub>3</sub>) comme standard interne afin de contribuer à la robustesse de la méthode. Les atomes d'hydrogène dans les positions  $\alpha$  du groupe méthyle ont été échangés avec des atomes de deutérium. Plusieurs avantages de l'utilisation du composé marqué au deutérium comme étalon interne ont été trouvés. Les propriétés chromatographiques et physico-chimiques se sont avérées similaires à celles du TDA. Les molécules de TDA et de TDA trideutérée présentent des modèles de fragmentation très similaires. De plus, il n'a pas été envisagé que les molécules de TDA trideutérée se présentent comme un interférant dans l'échantillon.

En présence d'une matrice de gants, la réaction du 2,4-TDA- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d<sub>3</sub> était semblable à celle des isomères du TDA. C'est pourquoi, 2,4-TDA- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d<sub>3</sub> a été choisi pour être utilisé comme un étalon de recouvrement (Surrogate) plutôt qu'un standard interne. Ce dernier va suivre les mêmes étapes que les isomères de TDA afin de compenser tous les effets liés à la préparation et à l'analyse. Quant au 2,6-TDA- $\alpha,\alpha,\alpha$ -d<sub>3</sub>, il a été opté pour jouer le rôle de standard interne. Il sera ajouté juste après l'étape d'élution de la SPE pour corriger les variations dues à l'évaporation et à l'UPLC-MS/MS.

L'emploi de plus qu'un étalon interne (surrogate et standard interne) dans une même méthode, pour l'extraction d'une part et pour l'analyse instrumentale d'autre part permet de générer des informations complémentaires.

### 3.7 Développement de méthode sur l'UPLC-MS/MS

En spectrométrie de masse, on travaille généralement avec des composés ciblés. On commence par l'infusion du composé d'intérêt afin de déterminer les paramètres de source et de fragmentation optimisés. Une solution contenant du 2,4-TDA-di-acétylé et 2,6-TDA-di-acétylé (8ppm) a été préparée dans un mélange (ACN : H<sub>2</sub>O) (50 :50) et est délivrée directement à la sonde MS à partir un réservoir intégré. L'injection des solutions est réalisée à un débit de 20 µL/min. Cette technique permet la détection de molécules mères ainsi que les molécules ionisables en mode positif ou en mode négatif. Différents paramètres (voltage du cône, énergie de collision, mode d'ionisation.) ont été déterminés afin d'optimiser les conditions d'ionisation et les paramètres MS/MS. Les résultats de l'infusion sont présentés dans l'ANNEXE A et montrent la détection seulement des masses et des ions correspondants aux 2,4-TDA-di-acétylé et 2,6-TDA-di-acétylé.

Pour cette étude, une méthode MRM spécifique aux isomères de TDA ainsi qu'une bonne séparation chromatographique ont permis une analyse sensible et performante. En spectrométrie de masse, l'une des phases mobiles par excellence est un mélange d'eau et d'acétonitrile contenant 0,1% d'acide formique qui est le cas dans cette étude. Toute phase mobile contenant un sel non-volatile, (par exemple un tampon phosphate), est à proscrire en chromatographie liquide couplée à un détecteur de masse. Ceci est expliqué par le fait que de tels sels s'accumulent dans la source d'ionisation, générant ainsi rapidement des problèmes lors de l'ionisation. Une phase mobile contenant un acide organique très volatil, comme l'acide formique, demeure une solution idéale pour fournir une source de proton et ainsi ioniser des composés en mode positif sous la forme  $[M+H]^+$ . Les isomères de TDA et les étalons internes ont été ionisés avec une source d'ionisation d'électronébulisation en mode positif. Les molécules protonées  $[M+H]^+$  obtenues ainsi que leurs fragments respectifs ont été étudiés. Pour chacun des ions précurseurs du TDA, l'ion produit le plus intense est choisi pour la quantification alors que le deuxième ion le plus intense pour la confirmation (Figure 3.4). Le tableau 2.1 (CHAPITRE II) regroupe les structures des analytes et des standards internes ainsi les transitions de chaque ion produit.

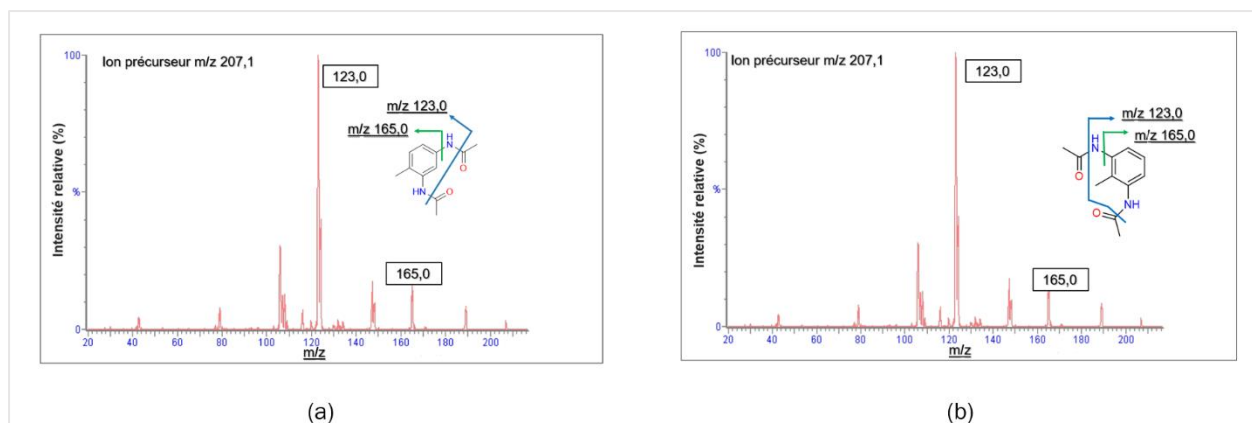


Figure 3.4: Spectre MS / MS du 2,4-TDA-di-acétylé (a) et 2,6-TDA-di-acétylé (b) montrant la fragmentation ionique la plus intense choisie pour la transition MRM

La séparation chromatographique a été par la suite optimisée afin d'avoir une meilleure résolution entre les pics dans un intervalle de temps réduit (figure 3.2). L'emploi d'une colonne HSS T3 a permis une séparation des composés en moins de 3 minutes avec un temps d'analyse global de 6 minutes, y compris le temps de rééquilibrage de la colonne. La description de gradient utilisé afin d'assurer une meilleure séparation des isomères de TDA est présenté dans le tableau 3.3 ci-dessous.

Tableau 3.3: Gradient utilisé pour la séparation chromatographique des isomères de TDA en UPLC

| Temps (min) | A (%)                   | B (%)                                |
|-------------|-------------------------|--------------------------------------|
|             | ACN+0,1% acide formique | H <sub>2</sub> O+0,1% acide formique |
| 0,00        | 2                       | 98                                   |
| 1,00        | 2                       | 98                                   |
| 1,20        | 10                      | 90                                   |
| 1,40        | 17                      | 83                                   |
| 3,00        | 20                      | 80                                   |
| 3,50        | 90                      | 10                                   |
| 4,50        | 90                      | 10                                   |
| 5,00        | 2                       | 98                                   |
| 6,00        | 2                       | 98                                   |

### 3.8 Validation de méthode

La validation d'une méthode représente l'ensemble des opérations nécessaires pour prouver que le protocole est suffisamment exact et fiable pour avoir confiance dans les résultats obtenus et ceci pour un usage déterminé. Donc, afin d'assurer la robustesse de cette méthode, la validation a été effectuée pour le 2,6-TDA ainsi que pour le 2,4-TDA. Les paramètres analytiques ont été évalués conformément à la DR-12-VMC du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ, 2015). Les résultats obtenus ont confirmé l'efficacité de la méthode développée.

Afin d'évaluer l'exposition des travailleurs au TDI/TDA, une gamme de concentration de 20 à 800 ng/mL a été établie pour les deux isomères de TDA. Les différents paramètres analytiques ont été présentés dans la partie Analytical parameter validation de l'Article (CHAPITRE II).

Dix répliques d'une solution de gant dopée avec des isomères de TDA à 41,66 ng/mL ont été utilisées pour évaluer la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ). L'écart type des aires des pics des échantillons a été déterminé. La LOD et la LOQ ont été calculées comme trois et dix fois l'écart type, respectivement. Les données qui ont permis de déterminer LOD et LOQ sont présentés par les tableaux 3.4 et 3.5. Les valeurs de % de précision et % coefficient de variation (%CV) pour chaque niveau de concentration, présentées dans les tableaux 3.6 et 3.7 confirment la fiabilité de nos résultats.

Tableau 3.4: Détermination de la LOD et LOQ pour le 2,6-TDA

| Réplicas analysés | Concentration trouvée (ng/mL) |
|-------------------|-------------------------------|
| 1                 | 51,23                         |
| 2                 | 46,37                         |
| 3                 | 51,90                         |
| 4                 | 51,38                         |
| 5                 | 50,40                         |
| 6                 | 50,31                         |
| 7                 | 50,12                         |
| 8                 | 54,41                         |
| 9                 | 53,69                         |
| 10                | 53,24                         |
| Moyenne           | 51,31                         |
| Écart-type        | 2,29                          |
| LOD               | 6,86                          |
| LOQ               | 22,85                         |

Tableau 3.5: Détermination de la LOD et LOQ pour le 2,4-TDA

| Réplicas analysés | Concentration trouvée (ng/mL) |
|-------------------|-------------------------------|
| 1                 | 45,63                         |
| 2                 | 45,51                         |
| 3                 | 44,90                         |
| 4                 | 44,46                         |
| 5                 | 44,61                         |
| 6                 | 47,00                         |
| 7                 | 45,73                         |
| 8                 | 46,16                         |
| 9                 | 46,18                         |
| 10                | 47,27                         |
| Moyenne           | 45,75                         |
| Écart-type        | 0,94                          |
| LOD               | 2,83                          |
| LOQ               | 9,42                          |

Tableau 3.6: Valeurs de précision (%) et CV (%) de chaque étalon mesuré dans trois courbes d'étalonnage différentes pour le 2,6-TDA

| Niveau de concentrations<br>du 2,6-TDA (ng/mL) | Précision (%) |          |         | CV (%) |
|------------------------------------------------|---------------|----------|---------|--------|
|                                                | Courbe1       | Courbe 2 | Courbe3 | (n= 3) |
| 12,5                                           | 128,0         | 123,8    | 123,6   | 2,0    |
| 25                                             | 109,3         | 118,0    | 100,3   | 8,1    |
| 100                                            | 104,4         | 100,3    | 97,00   | 3,7    |
| 200                                            | 98,90         | 98,80    | 100,0   | 0,7    |
| 400                                            | 100,4         | 101,2    | 89,80   | 6,6    |
| 800                                            | 99,90         | 99,80    | 100,0   | 0,1    |

Tableau 3.7: Valeurs de précision (%) et CV (%) de chaque étalon mesuré dans trois courbes d'étalonnage différentes pour le 2,4-TDA

| Niveau de concentrations<br>du 2,4-TDA (ng/mL) | Précision (%) |          |         | CV (%)<br>(n= 3) |
|------------------------------------------------|---------------|----------|---------|------------------|
|                                                | Courbe1       | Courbe 2 | Courbe3 |                  |
| 12,5                                           | 96,20         | 96,40    | 104,0   | 4,5              |
| 25                                             | 99,90         | 97,80    | 97,90   | 1,2              |
| 100                                            | 100,3         | 99,70    | 94,90   | 3,0              |
| 200                                            | 101,9         | 101,2    | 98,50   | 1,8              |
| 400                                            | 97,20         | 96,50    | 92,20   | 2,8              |
| 800                                            | 100,6         | 100,8    | 100,2   | 0,3              |

Pour toutes les courbes de calibration, un bon coefficient de détermination  $R^2 (\geq 0.995)$  a été trouvé pour chacun des analytes. Les figures 3.5 et 3.6 représentent un exemple de courbes de calibration pour le 2,6-TDA et 2,4-TDA respectivement.

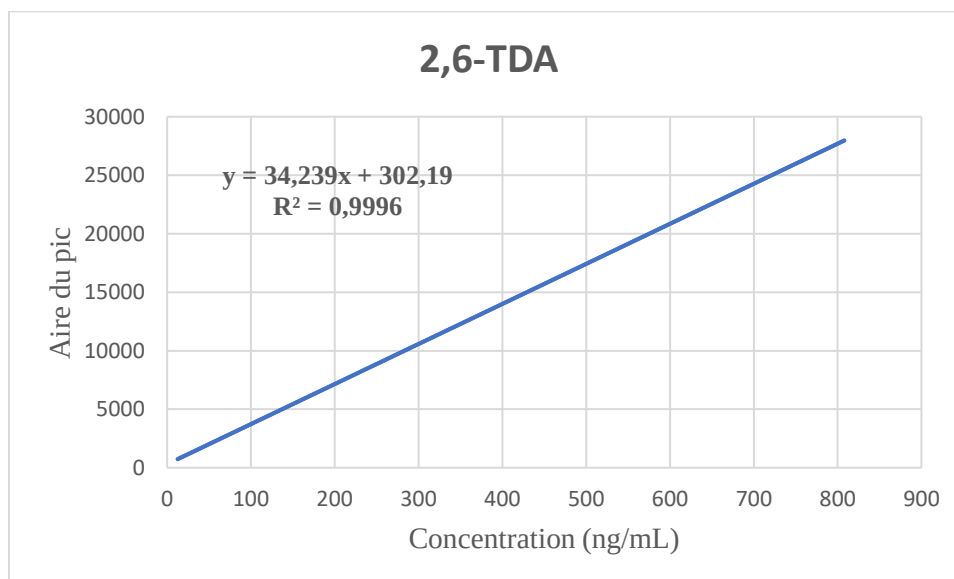


Figure 3.5: Exemple de courbe d'étalonnage du 2,6 TDA obtenue lors de l'analyse des concentrations de TDA dans des échantillons de gants

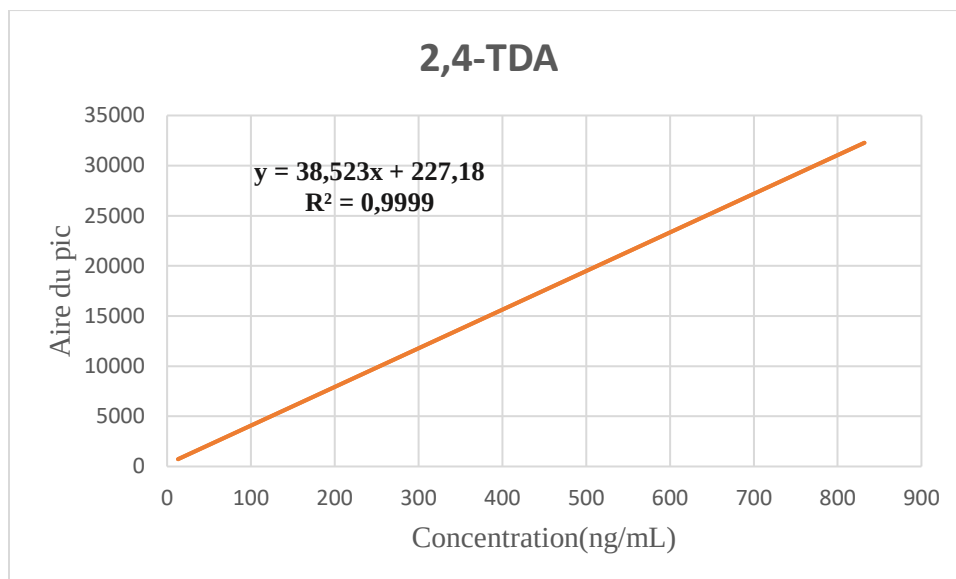


Figure 3.6: Exemple de courbe d'étalonnage du 2,4TDA obtenue lors de l'analyse des concentrations de TDA dans des échantillons de gants.

Une bonne sensibilité de la méthode a été démontrée par la détermination des LOD et LOQ. La robustesse de la méthode a été aussi évaluée par la détermination de la réplicabilité et la répétabilité pour les quatre concentrations choisies des isomères de TDA. Les données obtenues montrent que la différence de précision de mesure entre les échantillons réalisés et analysés à des jours différents et ceux réalisés et analysés le même jour est minime. Enfin, une excellente récupération de 98,06 % et 99,8 % respectivement pour le 2,6-TDA et 2,4-TDA a été obtenue.

### 3.9 Étude pilote : Application de la nouvelle méthode développée sur des échantillons de gants réels

#### 3.10 Échantillonnage des matériaux des gants

Une visite sur le terrain a été effectuée dans une industrie de fabrication de mousse en polyuréthane (PU) utilisant le TDI. Le but de cette visite était de mettre en application la méthode développée pour l'évaluation de la perméation du TDI sur des matrices de gants portées par les travailleurs. Les matériaux testés (gants noirs en PU) représentaient un type de gants portés sur les lieux de travail par les opérateurs et les aides à la production. Des paires de gants en nitrile ont été fournies à chaque travailleur pour être portées sous les gants de test. Les caractéristiques chimiques et physiques de chaque gant utilisé durant l'échantillonnage sont présentées dans le tableau 3.8.



Tableau 3.8: Les caractéristiques chimiques et physiques de chaque gant utilisé dans l'échantillonnage sur le terrain

| Identification des Gants                                                                                                        | Couleur | Matériel                          | Type                        | Type de manchette     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-----------------------------------|-----------------------------|-----------------------|
| <br><b>Gant series 200-2</b>                   | Noir    | 50% Nylon,<br>50%<br>Polyuréthane | Usage<br>général            | Tricot                |
| <br><b>Gant series 200</b>                    | Gris    | Nylon                             | Paume<br>avec<br>revêtement | Tricot                |
| <br><b>Microflex® Supreno®<br/>SE SU-690</b> | Violet  | Nitrile                           | Usage<br>général            | Manchette<br>à perles |

Sept paires de gants de test et sept paires de gants en nitrile ont été collectées : 3 pour opérateurs et 4 pour les aides à la production. Chaque paire de gants de test et de gants en nitrile correspond à un travailleur pour une période de travail d'une heure. Au total, deux équipes de travail d'une heure ont été évaluées et 28 paires de gants ont été collectées et stockées dans des sacs en

plastique. Après l'échantillonnage, les matériaux de gants ont été immédiatement coupés en deux parties : paume-pouce et index-milieu, comme indiqué sur la figure 3.7.



Figure 3.7: Exemple de gant échantillonné. Les lignes pointillées indiquent les zones de découpe pour les parties de gants soumises à l'analyse.

Au total, 56 échantillons ont été analysés. Les échantillons ont été préparés selon la nouvelle méthode développée dans cette étude. Chaque morceau de gant (environ 25% du poids total du gant) a été transféré dans un flacon ambré contenant 20 mL de la solution d'extraction (1% acide acétique dans l'eau) et dopé avec 240  $\mu\text{L}$  d'une solution de surrogate ( $C=10000 \text{ ng/mL}$ ). Cette dernière a été préparée à partir d'une solution mère de substitution (200  $\mu\text{g/mL}$ ) dans l'acétonitrile. Enfin, les échantillons ont été stockés dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à la prochaine préparation.

### 3.10.1 Résultats et discussion

Tableau 3.9: Résultats terrain bruts pour les gants PU noirs testés et les gants nitrile correspondants

| Identification de l'échantillon | Opérateur | Type du gant | Position | Zone         | % (m/m) du gant testé | 2,6-TDA (µg) | 2,4-TDA (µg) | 2,6-TDA (µg/g) | 2,4-TDA (µg/g) | % Récupération 2,4-TDA-d <sub>3</sub> |
|---------------------------------|-----------|--------------|----------|--------------|-----------------------|--------------|--------------|----------------|----------------|---------------------------------------|
| 1A                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 17,50                 | 27,13*       | 1,15         | 10,81*         | 0,46           | 11,2                                  |
| 1B                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 30,40                 | 27,00*       | 1,78         | 6,21*          | 0,41           | 13,9                                  |
| 2A                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 17,40                 | 257,79*      | 6,90*        | 106,09*        | 2,84*          | 1                                     |
| 2B                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Pouce-Paume  | 30,40                 | 69,65*       | 1,74         | 16,38*         | 0,41           | 4,2                                   |
| N1A                             | Opérateur | Nitrile      | Droite   | Index-Milieu | 23,00                 | 0,16         | <0,05        | 0,10           | <0,03          | 51                                    |
| N1B                             | Opérateur | Nitrile      | Droite   | Pouce-Paume  | 27,50                 | 0,14         | <0,05        | 0,08           | <0,03          | 49,8                                  |
| N2A                             | Opérateur | Nitrile      | Gauche   | Index-Milieu | 24,10                 | 0,18         | <0,05        | 0,11           | <0,03          | 62,3                                  |
| N2B                             | Opérateur | Nitrile      | Gauche   | Pouce-Paume  | 23,80                 | 0,12         | <0,05        | 0,07           | <0,03          | 48,3                                  |
| 3A                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 18,70                 | 28,02*       | 4,19         | 11,30*         | 1,69           | 40,9                                  |
| 3B                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 23,00                 | 21,78*       | 3,40         | 7,16*          | 1,12           | 27,6                                  |
| 4A                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 19,80                 | 27,01*       | 6,99*        | 9,89*          | 2,56*          | 40,5                                  |
| 4B                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Pouce-Paume  | 22,80                 | 50,45*       | 13,42*       | 16,02*         | 4,26*          | 48,2                                  |
| N3A                             | Opérateur | Nitrile      | Droite   | Index-Milieu | 22,40                 | 0,64         | 0,17         | 0,43           | 0,11           | 54,4                                  |
| N3B                             | Opérateur | Nitrile      | Droite   | Pouce-Paume  | 23,70                 | 0,17         | <0,05        | 0,11           | <0,03          | 47,1                                  |
| N4A                             | Opérateur | Nitrile      | Gauche   | Index-Milieu | 22,20                 | 0,23         | 0,07         | 0,16           | 0,05           | 41,3                                  |
| N4B                             | Opérateur | Nitrile      | Gauche   | Pouce-Paume  | 21,60                 | 1,79         | 0,31         | 1,27           | 0,22           | 46,9                                  |
| 5A                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 17,70                 | 76,16*       | 11,77*       | 33,11*         | 5,12*          | 26,8                                  |
| 5B                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 25,10                 | 95,64*       | 18,03*       | 29,34*         | 5,53*          | 32,9                                  |
| 6A                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 19,00                 | 69,49*       | 13,58*       | 28,09*         | 5,48*          | 31,5                                  |

|      |           |         |        |              |       |        |        |        |       |      |
|------|-----------|---------|--------|--------------|-------|--------|--------|--------|-------|------|
| 6B   | Opérateur | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 23,40 | 97,10* | 20,08* | 31,73* | 6,56* | 36,3 |
| N5A  | Opérateur | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 20,50 | 0,69   | 0,12   | 0,53   | 0,09  | 27,1 |
| N5B  | Opérateur | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 26,20 | 1,22   | 0,19   | 0,73   | 0,11  | 19,1 |
| N6A  | Opérateur | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 22,40 | 0,80   | 0,16   | 0,59   | 0,12  | 15,2 |
| N6B  | Opérateur | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 22,70 | 1,82   | 0,32   | 1,32   | 0,23  | 15,3 |
| 7A   | Aide      | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 19,40 | 55,60* | 9,88*  | 20,22* | 3,59* | 0,4  |
| 7B   | Aide      | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 24,90 | 31,53* | 4,26*  | 8,93*  | 1,21* | 0,6  |
| 8A   | Aide      | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 17,70 | 12,63* | 0,85   | 5,01   | 0,34  | 6,1  |
| 8B   | Aide      | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 23,50 | 11,16* | 0,83   | 3,34   | 0,25  | 7,2  |
| N7A  | Aide      | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 22,80 | 0,20   | <0,05  | 0,13   | <0,03 | 53,4 |
| N7B  | Aide      | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 24,70 | 0,25   | <0,05  | 0,15   | <0,03 | 46,8 |
| N8A  | Aide      | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 22,10 | 0,53   | <0,05  | 0,35   | <0,03 | 43,4 |
| N8B  | Aide      | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 24,50 | 0,48   | <0,05  | 0,29   | <0,03 | 50,7 |
| 9A   | Aide      | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 18,20 | 2,28   | 0,12   | 0,96   | 0,05  | 12,4 |
| 9B   | Aide      | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 24,00 | 7,01*  | 0,27   | 2,25*  | 0,09  | 8,3  |
| 10A  | Aide      | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 19,80 | 4,80*  | 0,23   | 1,93*  | 0,09  | 10   |
| 10B  | Aide      | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 24,60 | 8,62*  | 0,35   | 2,79*  | 0,11  | 8,2  |
| N9A  | Aide      | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 19,00 | 0,15   | <0,05  | 0,12   | <0,03 | 14,9 |
| N9B  | Aide      | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 20,90 | 0,74   | 0,15   | 0,52   | 0,11  | 2,9  |
| N10A | Aide      | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 21,60 | 0,34   | <0,05  | 0,24   | 0,03  | 6,6  |
| N10B | Aide      | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 23,50 | 0,65   | 0,09   | 0,41   | 0,06  | 3,9  |
| 11A  | Aide      | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 18,20 | 89,43* | 7,80*  | 38,05* | 3,32* | 1    |
| 11B  | Aide      | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 21,00 | 68,15* | 7,22*  | 25,06* | 2,66* | 1,2  |
| 12A  | Aide      | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 17,50 | 45,88* | 3,88   | 19,95* | 1,69  | 0,8  |
| 12B  | Aide      | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 19,80 | 56,96* | 8,77*  | 21,91* | 3,37* | 0,7  |

|      |      |         |        |              |       |        |       |        |       |      |
|------|------|---------|--------|--------------|-------|--------|-------|--------|-------|------|
| N11A | Aide | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 21,60 | 0,37   | 0,08  | 0,28   | 0,06  | 7,6  |
| N11B | Aide | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 21,10 | 0,66   | 0,12  | 0,50   | 0,09  | 4,4  |
| N12A | Aide | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 21,60 | 0,62   | 0,37  | 0,47   | 0,28  | 3,1  |
| N12B | Aide | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 21,80 | 0,52   | 0,34  | 0,39   | 0,26  | 3,4  |
| 13A  | Aide | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 17,80 | 27,90* | 7,79* | 11,67* | 3,26* | 0,5  |
| 13B  | Aide | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 25,70 | 35,22* | 6,44* | 10,21* | 1,87* | 0,5  |
| 14A  | Aide | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 18,60 | 28,41* | 5,96* | 11,94* | 2,50* | 0,4  |
| 14B  | Aide | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 25,70 | 5,69*  | 0,35  | 1,73   | 0,105 | 6,6  |
| N13A | Aide | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 23,00 | 0,19   | <0,05 | 0,12   | <0,03 | 10,2 |
| N13B | Aide | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 21,70 | 0,18   | <0,05 | 0,12   | <0,03 | 10,1 |
| N14A | Aide | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 23,40 | 0,13   | 0,07  | 0,08   | 0,04  | 13,1 |
| N14B | Aide | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 24,00 | 0,22   | <0,05 | 0,13   | <0,03 | 9,9  |

\*Résultat en dehors de la plage dynamique de la méthode.

Tableau 3.10: Résultats terrain bruts pour les gants PU gris testés et les gants nitrile correspondants

| Identification de l'échantillon | Opération | Type du gant | Position | Zone         | % (m/m) du gant testé | 2,6-TDA (µg) | 2,4-TDA (µg) | 2,6-TDA (µg/g) | 2,4-TDA (µg/g) | % Récupération 2,4-TDA-d <sub>3</sub> |
|---------------------------------|-----------|--------------|----------|--------------|-----------------------|--------------|--------------|----------------|----------------|---------------------------------------|
| 15A                             | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 17,50                 | 177,40*      | 32,51*       | 71,25*         | 13,06*         | 0,8                                   |
| 15B                             | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 30,40                 | 64,48*       | 21,39*       | 18,48*         | 6,13*          | 0,5                                   |
| 16A                             | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 17,40                 | 132,97*      | 35,09*       | 54,05*         | 14,26*         | 0,6                                   |
| N15A                            | Opérateur | Nitrile      | Droite   | Index-Milieu | 23,00                 | 0,13         | <0,05        | 0,09           | <0,03          | 31,3                                  |
| N16A                            | Opérateur | Nitrile      | Gauche   | Index-Milieu | 24,10                 | 0,16         | <0,05        | 0,10           | 0,01           | 32,7                                  |
| N16B                            | Opérateur | Nitrile      | Gauche   | Pouce-Paume  | 23,80                 | <0,1         | <0,05        | <0,06          | <0,03          | 37,8                                  |
| 17A                             | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 18,70                 | 10,19*       | 1,56         | 4,08*          | 0,63           | 12,2                                  |

|      |           |         |        |              |       |         |        |         |       |      |
|------|-----------|---------|--------|--------------|-------|---------|--------|---------|-------|------|
| 17B  | Opérateur | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 23,00 | 6,60*   | 1,49   | 1,87*   | 0,43  | 10,6 |
| 18A  | Opérateur | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 19,80 | 17,55*  | 4,40*  | 6,60*   | 1,65* | 34,5 |
| 18B  | Opérateur | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 22,80 | 12,98*  | 3,53   | 4,06*   | 1,10  | 30   |
| N17A | Opérateur | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 22,40 | 1,79    | 0,56   | 1,18    | 0,37  | 0,6  |
| N17B | Opérateur | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 23,70 | 2,20    | <0,05  | 1,34    | <0,03 | 0,6  |
| N18A | Opérateur | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 22,20 | 2,45    | 0,27   | 1,69    | 0,19  | 0,8  |
| N18B | Opérateur | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 21,60 | 2,60    | 0,18   | 1,58    | 0,11  | 0,5  |
| 19A  | Opérateur | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 17,70 | 19,18*  | 6,05*  | 7,80*   | 2,46* | 39,1 |
| 19B  | Opérateur | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 25,10 | 37,09*  | 9,09*  | 11,07*  | 2,71* | 25,9 |
| 20A  | Opérateur | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 19,00 | 15,87*  | 5,62*  | 6,27*   | 2,22* | 26,9 |
| 20B  | Opérateur | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 23,40 | 21,49*  | 10,37* | 6,87*   | 3,31* | 17,3 |
| N19A | Opérateur | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 20,50 | 0,36    | 0,09   | 0,23    | 0,06  | 33   |
| N19B | Opérateur | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 26,20 | 0,15    | <0,05  | 0,08    | <0,03 | 40,8 |
| N20A | Opérateur | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 22,40 | 0,34    | 0,11   | 0,22    | 0,07  | 36   |
| N20B | Opérateur | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 22,70 | <0,1    | <0,05  | <0,06   | <0,03 | 31   |
| 21A  | Aide      | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 19,40 | 16,93*  | 4,02*  | 6,75*   | 1,60* | 0,3  |
| 21B  | Aide      | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 24,90 | 50,59*  | 5,96*  | 15,06*  | 1,77* | 0,4  |
| 22A  | Aide      | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 17,70 | 153,23* | 8,62*  | 55,72*  | 3,14* | 0,3  |
| 22B  | Aide      | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 23,50 | 379,42* | 8,85*  | 112,25* | 2,62* | 0,4  |
| N21A | Aide      | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 22,80 | 4,96*   | 0,22   | 3,29*   | 0,14  | 0,3  |
| N21B | Aide      | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 24,70 | 1,75    | 0,23   | 1,21    | 0,16  | 0,7  |
| N22A | Aide      | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 22,10 | 1,41    | 0,22   | 1,02    | 0,16  | 0,7  |
| N22B | Aide      | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 24,50 | 3,13    | 0,34   | 1,85    | 0,20  | 0,4  |
| 23A  | Aide      | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 18,20 | 9,75*   | 3,55   | 4,53*   | 1,65  | 0,3  |
| 23B  | Aide      | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 24,00 | 27,30*  | 11,49* | 8,70*   | 3,66* | 0,1  |

|      |      |         |        |              |       |        |        |        |        |      |
|------|------|---------|--------|--------------|-------|--------|--------|--------|--------|------|
| 24A  | Aide | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 19,80 | 15,97* | 4,41   | 6,49*  | 1,79   | 0,2  |
| 24B  | Aide | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 24,60 | 30,63* | 7,01*  | 9,14*  | 2,09*  | 0,2  |
| N23A | Aide | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 19,00 | 3,94*  | 0,22   | 2,84*  | 0,16   | 0,3  |
| N23B | Aide | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 20,90 | 4,83*  | 0,91   | 3,24*  | 0,61   | 0,2  |
| N24A | Aide | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 21,60 | 3,14   | <0,05  | 2,27   | <0,03  | 0,3  |
| N24B | Aide | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 23,50 | 2,99   | 0,35   | 2,02   | 0,24   | 0,3  |
| 25A  | Aide | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 18,20 | 9,73*  | 1,94   | 4,20*  | 0,83   | 0,3  |
| 25B  | Aide | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 21,00 | 10,60* | 12,04* | 3,22*  | 3,66*  | 0,2  |
| 26A  | Aide | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 17,50 | 20,52* | 2,73   | 8,48*  | 1,13   | 0,4  |
| 26B  | Aide | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 19,80 | 23,57* | 4,54*  | 6,51*  | 1,25*  | 0,4  |
| N25A | Aide | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 21,60 | <0,1   | <0,05  | <0,06  | <0,03  | 66,2 |
| N25B | Aide | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 21,10 | 2,72   | 1,35   | 1,69   | 0,84   | 0,3  |
| N26A | Aide | Nitrile | Gauche | Index-Milieu | 21,60 | 4,31   | <0,05  | 3,08   | <0,03  | 0,2  |
| N26B | Aide | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 21,80 | 2,22   | <0,05  | 1,28   | <0,03  | 0,2  |
| 27A  | Aide | Gant PU | Droite | Index-Milieu | 17,80 | 10,93* | 3,1    | 4,84*  | 1,37   | 0,3  |
| 27B  | Aide | Gant PU | Droite | Pouce-Paume  | 25,70 | 11,57* | 2,48   | 3,68*  | 0,79   | 0,4  |
| 28A  | Aide | Gant PU | Gauche | Index-Milieu | 18,60 | 27,41* | 4,44*  | 11,28* | 1,83*  | 0,3  |
| 28B  | Aide | Gant PU | Gauche | Pouce-Paume  | 25,70 | 72,46* | 10,87* | 23,08* | 3,46*  | 0,2  |
| N27A | Aide | Nitrile | Droite | Index-Milieu | 23,00 | 0,86   | 4,07*  | 0,56   | 2,64*  | 72,4 |
| N27B | Aide | Nitrile | Droite | Pouce-Paume  | 21,70 | 6,59*  | 3,09   | 3,99*  | 1,87   | 0,1  |
| N28B | Aide | Nitrile | Gauche | Pouce-Paume  | 24,00 | 8,02*  | 20,67* | 4,95*  | 12,76* | 14,2 |

\*Résultat en dehors de la plage dynamique de la méthode.

Le calcul de la perméation des isomères de TDA à partir des données brutes présentées dans les tableaux 3.4 et 3.5 est présenté dans le tableau 3.6 pour chaque type de gant testé. Il faut noter qu'un filtre a été appliqué excluant les récupérations du surrogate inférieur à 5%.

Tableau 3.11: Perméation des isomères de TDA sur les gants PU noirs ou gris

| Identification de l'échantillon | Opérateur | Type du gant | Position | Zone         | % Perméation 2,6-TDA (basé sur µg) | % Perméation 2,4-TDA (basé sur µg) |
|---------------------------------|-----------|--------------|----------|--------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 1A                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 0,58%                              | NA                                 |
| 1B                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 0,52%                              | NA                                 |
| 3A                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 2,27%                              | 3,98%                              |
| 3B                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 0,79%                              | NA                                 |
| 4A                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 0,85%                              | 0,96%                              |
| 4B                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Pouce-Paume  | 3,56%                              | 2,31%                              |
| 5A                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 0,90%                              | 1,01%                              |
| 5B                              | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 1,27%                              | 1,04%                              |
| 6A                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 1,15%                              | 1,21%                              |
| 6B                              | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Pouce-Paume  | 1,87%                              | 1,59%                              |
| 8A                              | Aide      | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 4,16%                              | NA                                 |
| 8B                              | Aide      | Gant PU      | Gauche   | Pouce-Paume  | 4,30%                              | NA                                 |
| 9A                              | Aide      | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 6,64%                              | NA                                 |
| 14B                             | Aide      | Gant PU      | Gauche   | Pouce-Paume  | 3,81%                              | NA                                 |
| 17A                             | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 17.52%                             | 35.72%                             |
| 17B                             | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 33.39%                             | NA                                 |
| 18A                             | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 13.96%                             | 6.14%                              |
| 18B                             | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Pouce-Paume  | 20.02%                             | 4.99%                              |
| 19A                             | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Index-Milieu | 1.89%                              | 1.50%                              |
| 19B                             | Opérateur | Gant PU      | Droite   | Pouce-Paume  | 0.40%                              | NA                                 |
| 20A                             | Opérateur | Gant PU      | Gauche   | Index-Milieu | 2.13%                              | 1.96%                              |

\*NA : Non applicable.

L'interprétation des tableaux de résultats bruts a permis de faire plusieurs constatations. Bien que les résultats soient exprimés en TDA, l'interaction des échantillons avec la solution d'acide acétique à 1% contenant le surrogate suggère une interaction entre le TDI sur le gant et le surrogate. En effet, une réaction de compétition pourrait avoir lieu entre l'hydrolyse du TDI en TDA



en contact avec d'acide acétique à 1% ou l'interaction avec la fonction amine du surrogate déjà présent et qui est plus nucléophile que la fonction hydroxyle de l'eau.

Un effet de matrice des gants en PU semble également affecter la stabilité du surrogate. Les gants en PU gris ont été analysés avec un délai plus long suivant la date de l'échantillonnage, ce qui semble avoir affecté la récupération du surrogate. Pour ces raisons, l'interprétation des résultats des tableaux 3.9 à 3.10 pour les échantillons à faible récupération de surrogate doit être effectuée avec prudence. On a remarqué également que la majorité des résultats obtenus sont hors de la plage dynamique de la méthode. En effet, lors de l'étude terrain, on ne s'attendait pas à trouver autant d'isocyanates sur les gants échantillonnés. Dans ce cas, les concentrations trouvées ont dépassé largement les concentrations attendues. Pour des travaux futurs, une extension de la courbe de calibration à de plus hautes concentrations doit être effectuée afin que le range dynamique de la méthode soit adapté aux valeurs retrouvées sur le terrain. Un volume de dilution de la solution d'extraction plus grand est suggéré lors de la préparation d'échantillon ce qui limiterait les effets de compétition entre le surrogate et l'analyte.

Le % de perméation du 2,6-TDA et 2,4-TDA présenté dans le tableau 3.11 correspond à la quantité de TDA retrouvée sur le gant de nitrile divisé par la quantité de TDA retrouvée sur le gant de polyuréthane. La perméation a été évaluée sur la quantité en  $\mu\text{g}$  et non par rapport à la surface disponible (en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Il est difficile de prendre une mesure exacte d'un gant pour détailler une aire avec précision d'un élément en 3D et la masse des divers types de gants étaient trop différentes pour comparer en ( $\mu\text{g}/\text{g}$ ) de gants. L'interprétation aurait ainsi donc été faussée.

Pour des études futures, l'échantillon de gant devrait être placé dans la solution contenant seulement la solution 1% d'acide acétique dans l'eau. Le surrogate devrait être ajouté à cette solution après un temps d'attente permettant la transformation complète du TDI en TDA. Cela permettrait d'éviter une réaction de compétition du TDI entre l'hydrolyse en TDA ou la réaction avec l'amine du surrogate. Une autre solution pourrait aussi être envisagée et qui consiste dans la désactivation de la fonction amine du surrogate pour la rendre moins réactive.

En plus de cela, cette étude a montré que la stabilité du surrogate peut être affectée par la matrice du gant. Il serait donc important de traiter les échantillons le plus rapidement possibles ou bien envisager des nouvelles méthodes de conservation qui seront plus efficaces.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les di-isocyanates sont des molécules très toxiques pouvant engendrer de graves effets sur la santé des travailleurs de l'industrie du PU. La contamination à ces toxiques se fait par inhalation principalement et par contact cutané qui est cependant peu documenté. L'objectif de ce projet est de développer une nouvelle méthode d'analyse de l'exposition cutanée au TDI des travailleurs de l'industrie du PU.

Au cours de ces travaux, l'objectif principal était d'implanter une nouvelle approche pour l'extraction et la quantification des isomères du TDA sur une matrice de gants suite à une exposition au TDI sur les lieux de travail. L'objectif a été bien atteint pour la matrice étudiée.

Une méthode sensible, sélective et précise d'extraction et de quantification du TDA sur les gants a été développée afin d'assurer la surveillance-le suivi de l'exposition au TDI des lieux de travail. Le TDA est obtenu suite à l'hydrolyse acide du TDI retrouvé sur les gants. En effet, cette méthode permet de quantifier le TDA à de faible concentration. Le domaine de celle-ci est de 20 à 800 ng/mL. La méthode d'extraction utilisée fut une extraction en phase solide, qui a présenté une meilleure efficacité par rapport à l'extraction liquide-liquide employée précédemment. La SPE permet d'avoir moins de contaminations, diminuer l'effet de matrice et ainsi obtenir une meilleure sensibilité. Une excellente récupération moyenne de 98,06 % et 99,8 % respectivement pour le 2,6-TDA et 2,4-TDA a été obtenue. L'emploi d'un étalon de recouvrement (surrogate) et d'un étalon interne dans une même méthode, pour l'extraction d'une part et pour l'analyse instrumentale d'autre part a permis d'augmenter la précision et la quantification et de compenser tous les effets liés à la préparation et à l'analyse des échantillons.

La méthode développée est avantageuse. En effet, selon les connaissances actuelles, aucune méthode n'a été développée pour la quantification du TDA sur une matrice de gants. Il a été possible d'optimiser une nouvelle préparation de l'échantillon et une analyse sur UPLC/MS-MS simple, rapide et surtout efficace pour doser l'exposition à ce type de substance toxique. La validation de cette approche a permis de démontrer la robustesse de cette dernière. Dans ce cas, il serait donc possible d'assurer une meilleure évaluation de la performance des EPI comme les gants pour les travailleurs. Dans le cas contraire, une implantation de nouvelles stratégies réduisant les impacts sanitaires suite à une exposition serait possible.

Une observation importante notée pour l'échantillonnage sur le terrain est l'interaction du surrogate avec le matériau du gant, qui affecte l'exactitude des résultats. Dans les études futures et afin d'assurer de meilleurs résultats, le surrogate devrait être ajouté à la solution d'extraction après un temps d'attente permettant la transformation complète du TDI en TDA. D'autre part, On peut procéder à une désactivation de la fonction amine du surrogate pour la rendre moins réactive. Cela permettrait d'éviter une réaction de compétition du TDI entre son hydrolyse en TDA ou la réaction d'addition avec l'amine du surrogate.

**ANNEXE A**

**RÉSULTATS DE L'INFUSION DE LA SOLUTION CONTENANT LE 2,6-TDA-DI-  
ACÉTYLÉ ET LE 2,4-TDA-DI-ACÉTYLÉ**

## Method Development Report

|                        |                                                                           |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| MS1 Resolution         | 0.75                                                                      |
| MS2 Resolution         | 0.75                                                                      |
| Calibration Method     | C:\MassLynx\IntelliStart\Results\Unit Resolution\Calibration_20190403.cal |
| Tune Method            | D:\Projets\TDA\2_4_TDA.ipr                                                |
| Cone Voltage Range     | 2 - 100                                                                   |
| Collision Energy Range | 2 - 80                                                                    |
| Lowest Fragment Mass   | 20.00                                                                     |
| Excluded Losses        | 18.00, 44.00                                                              |

Date: Generated on Wed 17 Mar 2021 at 13:56

## Results

IntelliStart generated the following experiments:

|                |                                  |
|----------------|----------------------------------|
| MRM Experiment | C:\MassLynx\TDA\2_4_TDA_d3_3.exp |
|----------------|----------------------------------|

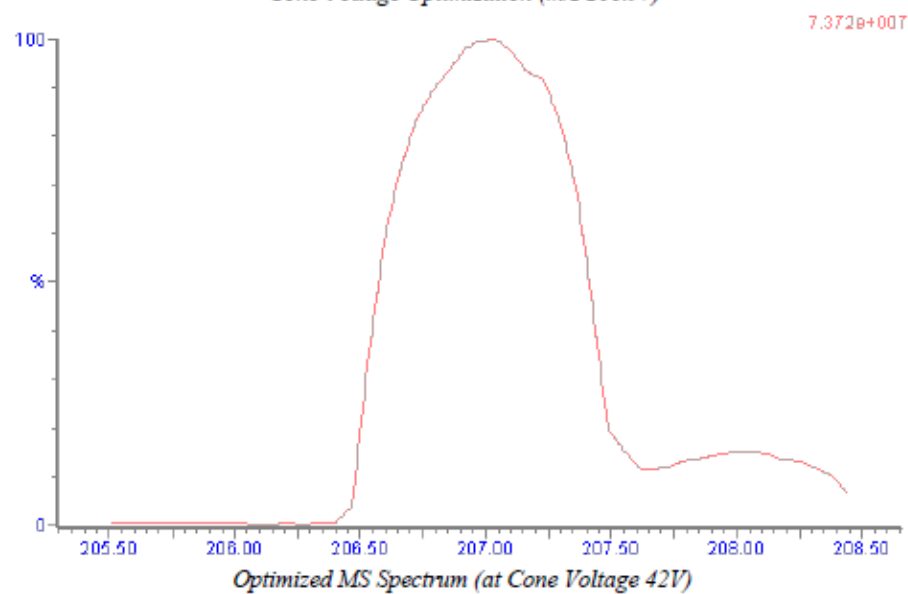
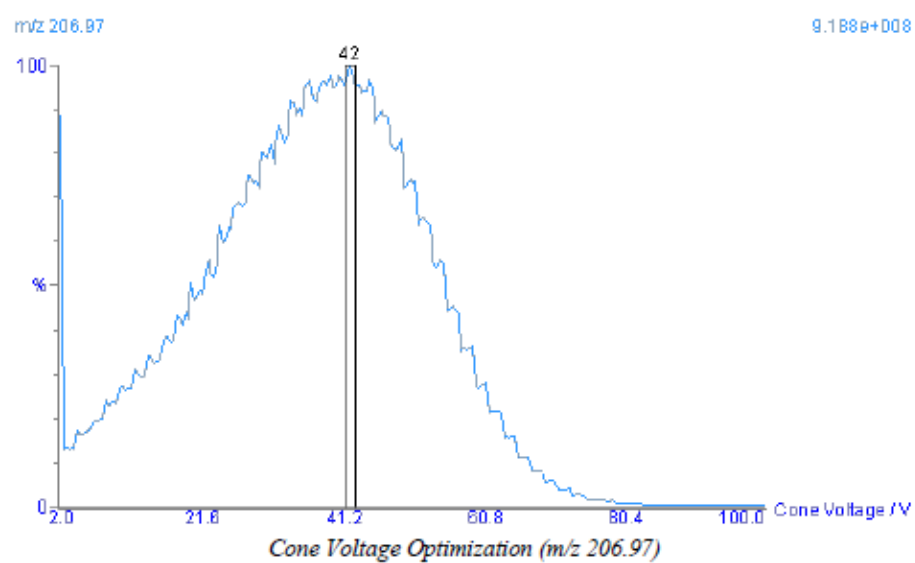
IntelliStart found the following compounds:

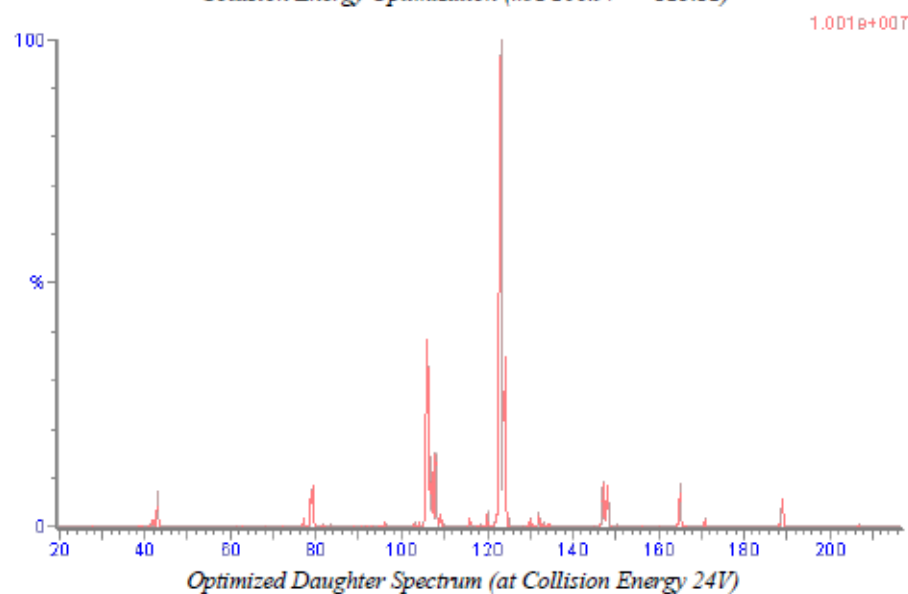
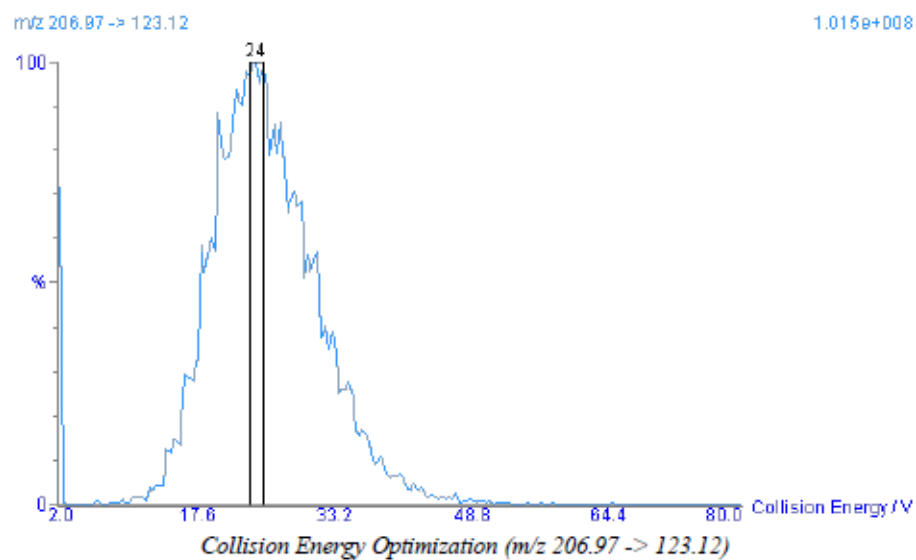
| Compound | Formula/Mass |   | Parent m/z | Cone Voltage | Daughters | Collision Energy | Ion Mode |
|----------|--------------|---|------------|--------------|-----------|------------------|----------|
| TDA-ac   | 206          | 1 | 206.97     | 42           | 123.12    | 24               | ES+      |
|          |              | 2 | 206.97     | 42           | 108.49    | 28               | ES+      |
|          |              | 3 | 206.97     | 42           | 107.97    | 36               | ES+      |

## Compound

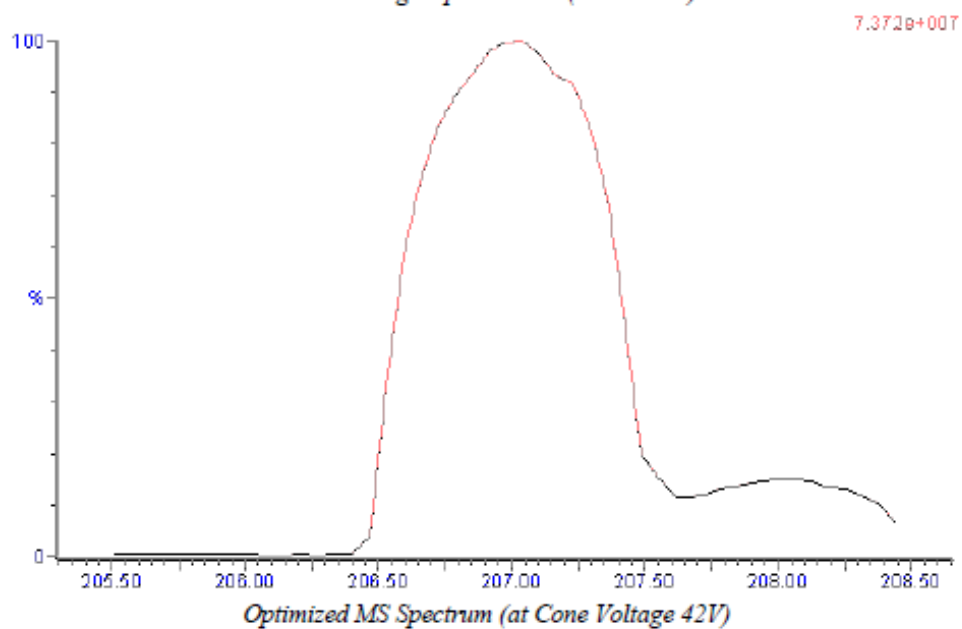
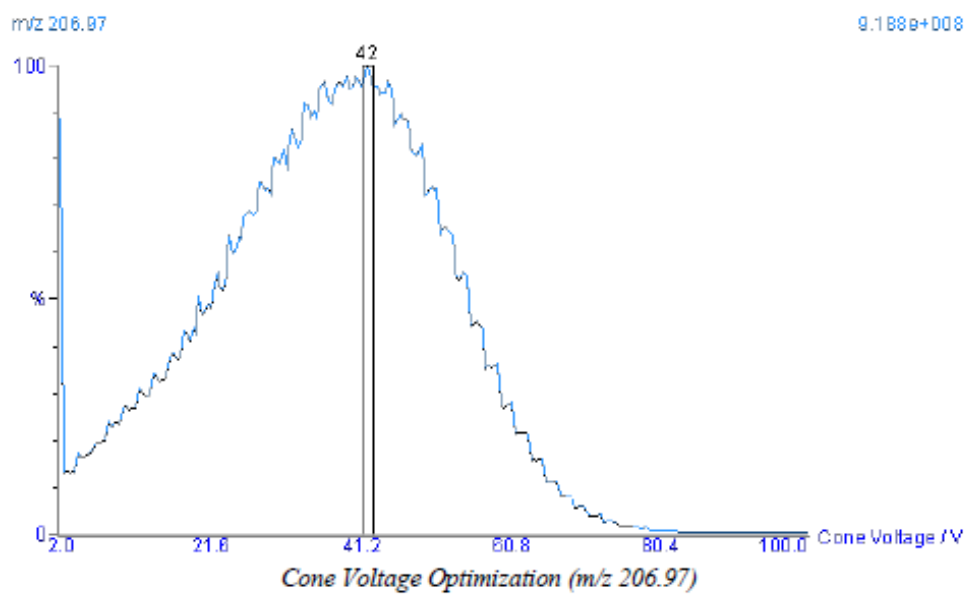
**TDA-ac**  
**(206)**

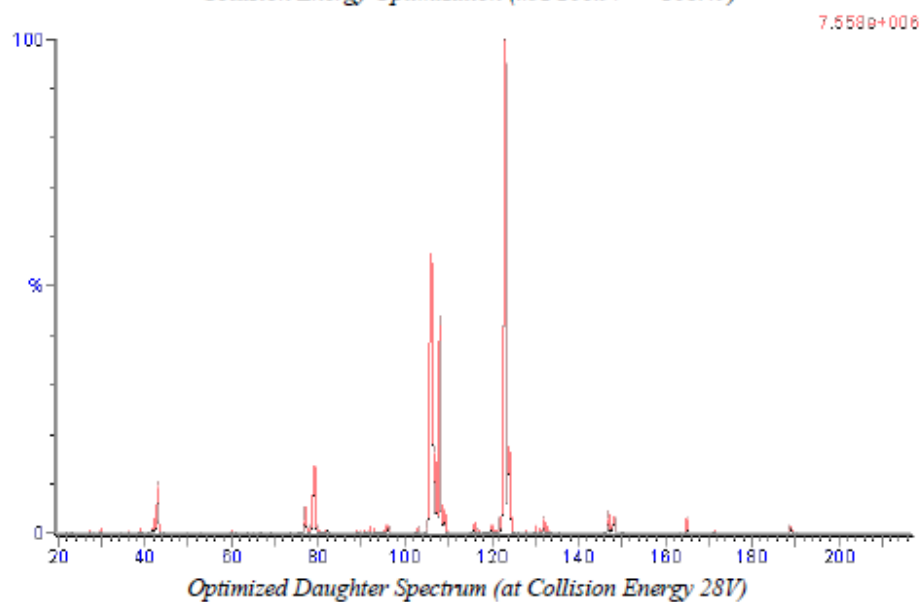
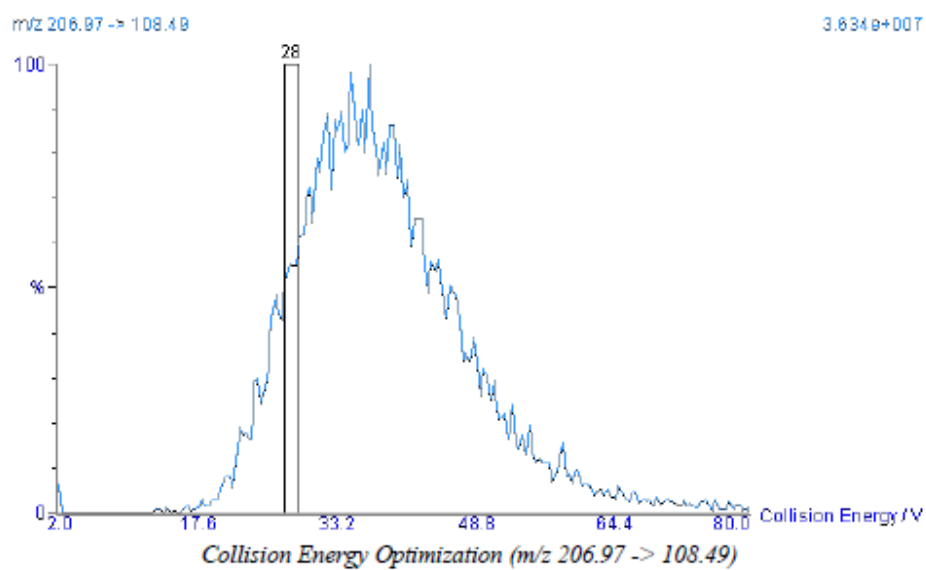
**Transition 1: ES+, m/z 206.97 → 123.12**





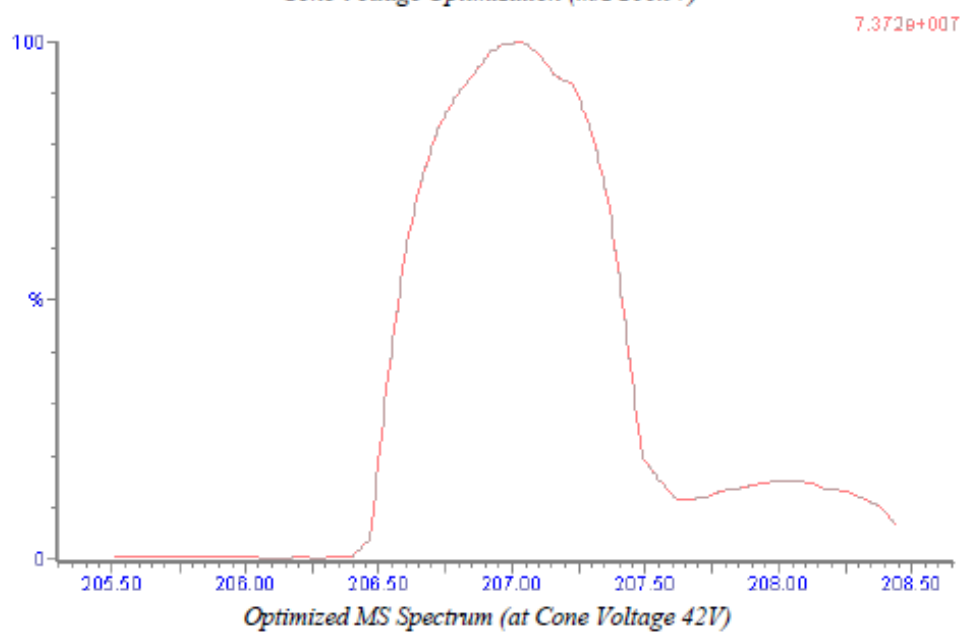
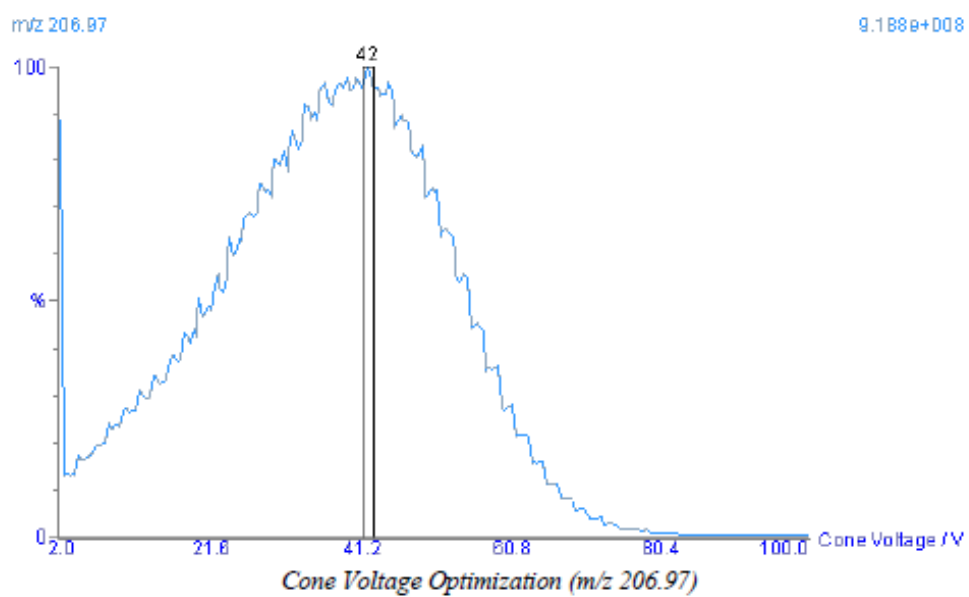
**Transition 2: ES+, m/z 206.97 → 108.49**

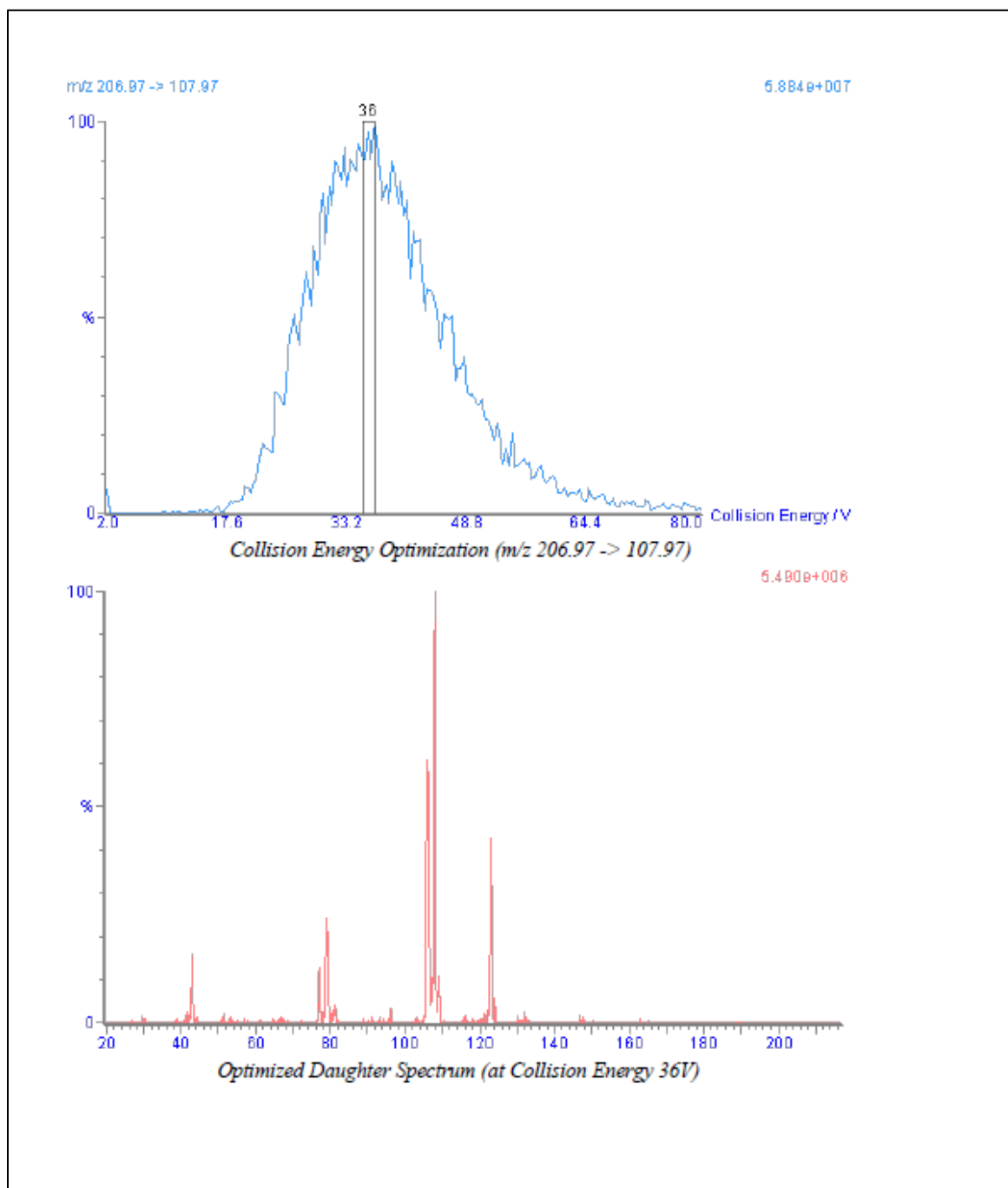




**Transition 3: ES+, m/z 206.97 → 107.97**







## RÉFÉRENCES

- HHS. (2015). TOXICOLOGICAL PROFILE FOR TOLUENE DIISOCYANATE AND METHYLENEDIPHENYL DIISOCYANATE.
- NIOSH. (1994). NIOSH Manual of Analytical Methods (4th edn ed.).
- RSST. (2021). Règlement sur la santé et la sécurité du travail.
- Abdel-Rehim, M. (2004). New trend in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe for liquid and gas chromatography applications: I. Determination of local anaesthetics in human plasma samples using gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 801(2), 317-321.
- ACGIH. (2010). American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2010 TLVs and BEIs: based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agent.
- ACGIH. (2021). American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). 2021 TLVs and BEIs: based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agent.
- Allport, D. C. (1997). H. ULRICH Chemistry and Technology of Isocyanates John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 1996; 514pp; £80.00. *Journal of Applied Toxicology*, 17(3), 195-195. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1263\(199705\)17:3<195::AID-JAT424>3.0.CO;2-A](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1263(199705)17:3<195::AID-JAT424>3.0.CO;2-A)
- Allport, D. C., Gilbert, D. S., & S.M., O. (2003). Occupational exposure limits, stack limits and community limits. In MDI and TDI: Safety, Health and the Environment: A Source Book and Practical Guide (pp. 343-358). John Wiley & Sons.
- Altun, Z. (2005). New Techniques for Sample Preparation in Analytical Chemistry Institutionen för kemij].
- American Conference on Government Industrial Hygienists. (2021). 2021 TLVs and BEIs : based on the documentation of the threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices ACGIH.
- Arnold, S. M., Collins, M. A., Graham, C., Jolly, A. T., Parod, R. J., Poole, A., . . . Woolhiser, M. R. (2012). Risk assessment for consumer exposure to toluene diisocyanate (TDI) derived from polyurethane flexible foam. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 64(3), 504-515.
- Arnold, S. M., Collins, M. A., Graham, C., Jolly, A. T., Parod, R. J., Poole, A., . . . Woolhiser, M. R. (2012). Risk assessment for consumer exposure to toluene diisocyanate (TDI) derived from polyurethane flexible foam. *Regulatory toxicology and pharmacology : RTP*, 64(3), 504-515. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.07.006>
- Austin, S. (2007). Biological monitoring of TDI-derived amines in polyurethane foam production [Article]. *Occupational Medicine*, 57(6), 444-448. <https://doi.org/10.1093/occmed/kqm085>
- Bello, D., Herrick, C. A., Smith, T. J., Woskie, S. R., Streicher, R. P., Cullen, M. R., . . . Redlich, C. A. (2007). Skin exposure to isocyanates: reasons for concern. *Environ Health Perspect*, 115(3), 328-335. <https://doi.org/10.1289/ehp.9557>
- Bello, D., Redlich, C. A., Stowe, M. H., Sparer, J., Woskie, S. R., Streicher, R. P., . . . Liu, Y. (2008). Skin exposure to aliphatic polyisocyanates in the auto body repair and refinishing industry: II. A quantitative assessment. *Ann Occup Hyg*, 52(2), 117-124. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mem066>
- Bello, D., Streicher, R., Liu, Y., Sparer, J., Young, F., & Woskie, S. (2002). Field Comparison of Impingers and Treated Filters for Sampling of Total Aliphatic Isocyanates with the MAP Reagent. *AIHA journal : a journal for the science of occupational and environmental health and safety*, 63, 790-796. <https://doi.org/10.1080/15428110208984769>

- Bello, D., Streicher, R. P., & Woskie, S. R. (2002). Evaluation of the NIOSH draft method 5525 for determination of the total reactive isocyanate group (TRIG) for aliphatic isocyanates in autobody repair shops. National Institute for Occupational Safety and Health. *J Environ Monit*, 4(3), 351-360. <https://doi.org/10.1039/b110613a>
- Berode, M., Testa, B., & Savolainen, H. (1991). Bicarbonate-catalyzed hydrolysis of hexamethylene diisocyanate to 1,6-diaminohexane. *Toxicol Lett*, 56(1-2), 173-178. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(91\)90104-e](https://doi.org/10.1016/0378-4274(91)90104-e)
- Blake, C. L., Johnson, G. T., Abritis, A. J., Lieckfield, R., Jr., & Harbison, R. D. (2012). Isocyanate and VOC exposure analysis using Flexane®. *Regulatory toxicology and pharmacology* : RTP, 63(3), 363-370. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.05.007>
- Boutin, M., Lesage, J., Ostiguy, C., Bertrand, M.,. (2003). Identification et quantification des isocyanates générés lors de la dégradation thermique d'une peinture automobile à base de polyuréthane(R418).
- Brochhagen, F. (1991a). Isocyanates. In (Vol. 3 / 3G, pp. 1-95). [https://doi.org/10.1007/978-3-540-46757-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-540-46757-1_1)
- Brochhagen, F. (1991b). Isocyanates. In *Anthropogenic Compounds* (pp. 1-95). Springer.
- Buyantseva, L. V., Liss, G. M., Ribeiro, M., Manno, M., Luce, C. E., & Tarlo, S. M. (2011). Reduction in diisocyanate and non-diisocyanate sensitizer-induced occupational asthma in Ontario. *Journal of occupational and environmental medicine*, 53(4), 420-426.
- Ceballos, D. (2009). Evaluation of protective gloves used in the collision repair industry. University of Washington.
- Ceballos, D. M., Reeb-Whitaker, C., Sasakura, M., Dills, R., & Yost, M. G. (2015). Protection efficacy of gloves against components of the solvent in a sprayed isocyanate coating utilizing a reciprocating permeation panel. *Annals Of Occupational Hygiene*, 59(3), 358-372.
- Cocker, J. (2007). Biological monitoring for isocyanates. *Occup Med (Lond)*, 57(6), 391-393. <https://doi.org/10.1093/occmed/kql148>
- Cocker, J. (2011). Biological Monitoring for Isocyanates. *The Annals of Occupational Hygiene*, 55, 127-131. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meq083>
- Cocker, J., Jones, K., Leng, G., Gries, W., Budnik, L. T., Müller, J., . . . Commission, M. (2017). Hexamethylene diisocyanate, 2,4-toluene diisocyanate, 2,6-toluene diisocyanate, isophorone diisocyanate and 4,4'-methylene diphenyl diisocyanate – Determination of hexamethylenediamine, 2,4-toluenediamine, 2,6-toluenediamine, isophoronediamine and 4,4'-methylenedianiline in urine using gas chromatography-mass spectrometry [Biomonitoring Methods, 2017]. In *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety* (pp. 1415-1435). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/3527600418.bi82206e2217>
- Collins, M. A. (2002). Toxicology of toluene diisocyanate. *Appl Occup Environ Hyg*, 17(12), 846-855. <https://doi.org/10.1080/10473220290107048>
- Collins, M. A. (2002). Toxicology of Toluene Diisocyanate. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 17(12), 846-855. <https://doi.org/10.1080/10473220290107048>
- Crespo, J., & Galán, J. (1999). Exposure to MDI during the process of insulating buildings with sprayed polyurethane foam. *The Annals of Occupational Hygiene*, 43(6), 415-419. <https://doi.org/10.1093/annhyg/43.6.415>
- D.C. Allport, D. S. G., S.M. Outterside (2003). Outterside MDI and TDI: Safety, Health and the Environment.
- Daftarian, H. S., Lushniak, B. D., Reh, C. M., & Lewis, D. M. (2002). Evaluation of self-reported skin problems among workers exposed to toluene diisocyanate (TDI) at a foam manufacturing facility. *Journal of occupational and environmental medicine*, 44(12), 1197-1202.

- De Pascale, A., Cobelli, L., Paladino, R., Pastorello, L., Frigerio, A., & Sala, C. (1983). Quantitative determination of airborne 2, 4-toluene diisocyanate. *Journal of Chromatography A*, 256, 352-358.
- Dieter, M. P., Boorman, G. A., Jameson, C. W., Matthews, H. B., & Huff, J. E. (1990). The carcinogenic activity of commercial grade toluene diisocyanate in rats and mice in relation to the metabolism of the 2,4- and 2,6-TDI isomers. *Toxicol Ind Health*, 6(6), 599-621.
- Duprat, P., Gradiski, D., & Marignac, B. (1976). [The irritant and allergenic action of two isocyanates: toluene diisocyanate (TDI) and diphenylmethane diisocyanate (MDI)]. *Eur J Toxicol Environ Hyg*, 9(1), 43-53. (Pouvior irritant et allergisant de deux isocyanates: toluène diisocyanate (T. D. I.), diphénylméthane diisocyanate (M. D. I.).)
- Fent, K. W., Trelles Gaines, L. G., Thomasen, J. M., Flack, S. L., Ding, K., Herring, A. H., . . . Nylander-French, L. A. (2009). Quantification and statistical modeling--part II: dermal concentrations of monomeric and polymeric 1,6-hexamethylene diisocyanate. *Ann Occup Hyg*, 53(7), 691-702. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mep048>
- Figovsky, O. L., & Shapovalov, L. (2015). Cyclocarbonate-Based Polymers, Non-Isocyanate Polyurethane Adhesives and Coatings. *methods*, 7(17), 21-23.
- Figovsky, O. L., & Shapovalov, L. D. (2001).
- Green, L. C., Skipper, P. L., Turesky, R. J., Bryant, M. S., & Tannenbaum, S. R. (1984). In Vivo Dosimetry of 4-Aminobiphenyl in Rats via a Cysteine Adduct in Hemoglobin. *Cancer Research*, 44(10), 4254.
- Hagmar, L., Welinder, H., & Mikoczy, Z. (1993). Cancer incidence and mortality in the Swedish polyurethane foam manufacturing industry. *Occupational and Environmental Medicine*, 50(6), 537-543.
- Harari, H., Bello, D., Woskie, S., & Redlich, C. (2016). Development of an Interception Glove Sampler for Skin Exposures to Aromatic Isocyanates. *Ann Occup Hyg*, 60(9), 1092-1103. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mew052>
- Hardy, H. L., & Devine, J. M. (1979). Use of organic isocyanates in industry--some industrial hygiene aspects. *Ann Occup Hyg*, 22(4), 421-427. <https://doi.org/10.1093/annhyg/22.4.421>
- Health and Safety Laboratory. (2014). Organic isocyanates in air (MDHS 25/4). (Methods for the Determination of Hazardous Substances, Issue. H. Books.
- Henion, J., Brewer, E., & Rule, G. (1998). Sample preparation for LC/MS/MS: analyzing biological and environmental samples. *Anal Chem*, 70(19), 650a-656a. <https://doi.org/10.1021/ac981991q>
- Hulst, A. G., Verstappen, D. R., van der Riet-Van Oeveren, D., Vermeulen, N. P., & Noort, D. (2015). Mass spectrometric identification of isocyanate-induced modifications of keratins in human skin. *Chemico-biological interactions*, 237, 141-150.
- IARC. (1978). Some aromatic amines and related nitro compounds (hair dyes, colouring agents and miscellaneous industrial chemicals., 16, 83-90.
- IARC. (1999). Toluene diisocyanates (Re-evaluation of Some Organic Chemicals,Hydrazine and Hydrogen Peroxide. 71, 65-79.
- IARC. (1986). Toluene Diisocyanate, . 39, 287.
- Information, N. C. f. B. PubChem Compound Summary for CID 13205, 2,6-Diaminotoluene. Retrieved 24 March from [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2\\_6-Diaminotoluene](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_6-Diaminotoluene)
- Information, N. C. f. B. (2022). PubChem Compound Summary for CID 7261, 2,4-Diaminotoluene. Retrieved 24 March from [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2\\_4-Diaminotoluene](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Diaminotoluene).
- Ito, N., Hiasa, Y., Konishi, Y., & Marugami, M. (1969). The development of carcinoma in liver of rats treated with m-toluylenediamine and the synergistic and antagonistic effects with other chemicals. *Cancer Res*, 29(5), 1137-1145.

- Javni, I., Hong, D. P., & Petrovic, Z. S. (2008). Soy-based Polyurethanes by Nonisocyanate Route. *J. Appl. Polym. Sci.*, 108, 3867.
- Jones, C. R., Liu, Y.-Y., Sepai, O., Yan, H., & Sabbioni, G. (2005). Hemoglobin adducts in workers exposed to nitrotoluenes. *Carcinogenesis*, 26(1), 133-143.
- Kabore, R. (2021a). ÉVALUATION DE LA PROTECTION DES GANTS PAR LA MESURE ANALYTIQUE DE LA MIGRATION DES ISOCYANATES ET DES AMINES DANS LES MATÉRIAUX. In UQAM (Ed.), (pp. 1-97).
- Kabore, R. (2021b). ÉVALUATION DE LA PROTECTION DES GANTS PAR LA MESURE ANALYTIQUE DE LA MIGRATION DES ISOCYANATES ET DES AMINES DANS LES MATÉRIAUX, "Mémoire, UQAM". In UQAM (Ed.), (pp. 1-97). "Mémoire, UQAM".
- Kanerva, L., Jolanki, R., Alanko, K., & Estlander, T. (1999). Patch-test reactions to plastic and glue allergens. *Acta Derm Venereol*, 79(4), 296-300. <https://doi.org/10.1080/000155599750010706>
- Karlsson, D., Dahlin, J., Skarping, G., & Dalene, M. (2002). Determination of isocyanates, aminoisocyanates and amines in air formed during the thermal degradation of polyurethane [10.1039/B110593K]. *Journal of Environmental Monitoring*, 4(2), 216-222. <https://doi.org/10.1039/B110593K>
- Karol, M. H., Hauth, B. A., Riley, E. J., & Magreni, C. M. (1981). Dermal contact with toluene diisocyanate (TDI) produces respiratory tract hypersensitivity in guinea pigs. *Toxicol Appl Pharmacol*, 58(2), 221-230. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(81\)90426-9](https://doi.org/10.1016/0041-008x(81)90426-9)
- Karol, M. H., & Magreni, C. (1982). Extensive skin sensitization with minimal antibody production in guinea pigs as a result of exposure to dicyclohexylmethane-4,4'-diisocyanate. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 65(2), 291-301. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0041-008X\(82\)90012-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0041-008X(82)90012-6)
- Kimber, I., Bernstein, I. L., Karol, M. H., Robinson, M. K., Sarlo, K., and Selgrade, M. K. (1996). Workshop overview. Identification of respiratory allergens, . *FUNDAMENTAL AND APPLIED TOXICOLOGY* 1-10.
- Kraw, M., & Tarlo, S. M. (1999). Isocyanate medical surveillance: respiratory referrals from a foam manufacturing plant over a five-year period. *American journal of industrial medicine*, 35(1), 87-91. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0274\(199901\)35:1<87::aid-ajim12>3.0.co;2-x](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0274(199901)35:1<87::aid-ajim12>3.0.co;2-x)
- Liu, Y., Sparer, J., Woskie, S. R., Cullen, M. R., Chung, J. S., Holm, C. T., & Redlich, C. A. (2000). Qualitative assessment of isocyanate skin exposure in auto body shops: a pilot study. *American journal of industrial medicine*, 37(3), 265-274. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0274\(200003\)37:3<265::aid-ajim4>3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0274(200003)37:3<265::aid-ajim4>3.0.co;2-o)
- Lépine, M. (2019). Quantification des biomarqueurs d'exposition au isocyanates dans l'urine humaine par LC-MS/MS. In UQAM (Ed.).
- Lépine, M., Sleno, L., Lesage, J., & Gagné, S. (2020). A validated UPLC-MS/MS method for the determination of aliphatic and aromatic isocyanate exposure in human urine. *Anal Bioanal Chem*, 412(3), 753-762. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02295-y>
- Maître, A., & Perdrix, A. (2004). Isocyanates. *EMC - Toxicologie-Pathologie*, 1(4), 186-193. <https://doi.org/10.1016/j.emctp.2004.06.001>
- Mapp, C., Butcher, BT., Fabbri, LM. (1999). Asthma in the Workplace. <https://doi.org/https://doi.org/10.3109/9780849374531>
- Marzulli, F. N., Anjo, D. M., & Maibach, H. I. (1981). In vivo skin penetration studies of 2,4-toluenediamine, 2,4-diaminoanisole, 2-nitro-p-phenylenediamine, p-dioxane and N-nitrosodiethanolamine in cosmetics. *Food Cosmet Toxicol*, 19(6), 743-747. [https://doi.org/10.1016/0015-6264\(81\)90530-7](https://doi.org/10.1016/0015-6264(81)90530-7)
- Maître, A., Berode, M., Perdrix, A., Stoklov, M., Mallion, J., & Savolainen, H. (1996). Urinary hexane diamine as an indicator of occupational exposure to hexamethylene diisocyanate. *International archives of occupational and environmental health*, 69, 65-68. <https://doi.org/10.1007/BF02630741>

- Meade, M. (2008). A COMBINED MURINE LOCAL LYMPH NODE AND IRRITANCY ASSAY TO PREDICT SENSITIZATION AND IRRITANCY POTENTIAL OF CHEMICALS. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 8, 245-256. <https://doi.org/10.1080/105172398242835>
- Monso, E., Cloutier, Y., Lesage, J., Perreault, G., & Malo, J. L. (2000). What is the respiratory retention of inhaled hexamethylene di-isocyanate? *European Respiratory Journal*, 16(4), 729.
- Mäkelä, E. A., Henriks-Eckerman, M. L., Ylinen, K., Vuokko, A., & Suuronen, K. (2014). Permeation tests of glove and clothing materials against sensitizing chemicals using diphenylmethane diisocyanate as an example. *Ann Occup Hyg*, 58(7), 921-930. <https://doi.org/10.1093/annhyg/meu040>
- NCI. (1979). Bioassay of 2,4-diaminotoluene for possible carcinogenicity. *Natl Cancer Inst Carcinog Tech Rep Ser*, 162, 1-139.
- NTP. (1986). NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Commercial Grade 2,4 (80%)- and 2,6 (20%)- Toluene Diisocyanate (CAS No. 26471-62-5) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Gavage Studies). *Natl Toxicol Program Tech Rep Ser*, 251, 1-194.
- Code of federal regulations: air contaminants, [29 CFR 1910.1000], (1992). [https://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show\\_document?p\\_table=Standards&p\\_id=9991](https://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=Standards&p_id=9991)
- Ott, M. G., Diller, W. F., & Jolly, A. T. (2003). Respiratory Effects of Toluene Diisocyanate in the Workplace: A Discussion of Exposure-Response Relationships [Article]. *Critical Reviews in Toxicology*, 33(1), 1. <https://doi.org/10.1080/713611031>
- Paris, C., Ngatchou-Wandji, J., Luc, A., McNamee, R., Bensefa-Colas, L., Larabi, L., . . . Ameille, J. (2012). Work-related asthma in France: recent trends for the period 2001-2009. *Occup Environ Med*, 69(6), 391-397. <https://doi.org/10.1136/oemed-2011-100487>
- Peters, J. M., & Murphy, R. L. (1971). Hazards to health: do it yourself polyurethane foam. *American Review of Respiratory Disease*, 104(3), 432-433.
- Pinkerton, L. E., Yiin, J. H., Daniels, R. D., & Fent, K. W. (2016). Mortality among workers exposed to toluene diisocyanate in the US polyurethane foam industry: Update and exposure-response analyses. *American journal of industrial medicine*, 59(8), 630-643. <https://doi.org/10.1002/ajim.22622>
- Pitt, J. J. (2009). Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. *The Clinical biochemist. Reviews*, 30(1), 19-34.
- Plehiars, P. M., Chappelle, A. H., & Spence, M. W. (2020a). Practical learnings from an epidemiology study on TDI-related occupational asthma: Part I-Cumulative exposure is not a good indicator of risk. *Toxicol Ind Health*, 36(11), 876-884. <https://doi.org/10.1177/0748233720947202>
- Plehiars, P. M., Chappelle, A. H., & Spence, M. W. (2020b). Practical learnings from an epidemiology study on TDI-related occupational asthma: Part II-Exposure without respiratory protection to TWA-8 values indicative of peak events is a good indicator of risk. *Toxicol Ind Health*, 36(11), 885-891. <https://doi.org/10.1177/0748233720947203>
- Prevention, C. f. D. C. a. (2015a). NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards - Toluenediamine.
- Prueitt, R. L., Lynch, H. N., Zu, K., Shi, L., & Goodman, J. E. (2017). Dermal exposure to toluene diisocyanate and respiratory cancer risk. *Environment International*, 109, 181-192. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.09.017>
- Prueitt, R. L., Rhomberg, L. R., & Goodman, J. E. (2013). Hypothesis-based weight-of-evidence evaluation of the human carcinogenicity of toluene diisocyanate. *Critical Reviews in Toxicology*, 43(5), 391-435. <https://doi.org/10.3109/10408444.2013.790877>
- Quebec (Province). (2014). Regulation respecting occupational health and safety, [S-2.1, r.19.01]. Publications du Québec.
- CEAEQ. (2015). Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie(DR-12-VMC) Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les

- changements climatiques : Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques.
- R. Woolhiser Benjamin B. Hayes B. Jean Meade, M. (1998). A COMBINED MURINE LOCAL LYMPH NODE AND IRRITANCY ASSAY TO PREDICT SENSITIZATION AND IRRITANCY POTENTIAL OF CHEMICALS. *Toxicology Methods*, 8(4), 245-256. <https://doi.org/10.1080/105172398242835>
- Raulf-Heimsoth, M., & Baur, X. (1998). Pathomechanisms and pathophysiology of isocyanate-induced diseases — summary of present knowledge [[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0274\(199808\)34:2<137::AID-AJIM6>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0274(199808)34:2<137::AID-AJIM6>3.0.CO;2-U)]. *American journal of industrial medicine*, 34(2), 137-143. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0274\(199808\)34:2<137::AID-AJIM6>3.0.CO;2-U](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0274(199808)34:2<137::AID-AJIM6>3.0.CO;2-U)
- Redlich, C. A. (2010). Skin exposure and asthma: is there a connection? *Proc Am Thorac Soc*, 7(2), 134-137. <https://doi.org/10.1513/pats.201002-025RM>
- Redlich, C. A., & Karol, M. H. (2002). Diisocyanate asthma: clinical aspects and immunopathogenesis. *International Immunopharmacology*, 2(2), 213-224. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00174-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00174-6)
- Rosenberg, C., Nikkilä, K., Henriks-Eckerman, M. L., Peltonen, K., & Engström, K. (2002). Biological monitoring of aromatic diisocyanates in workers exposed to thermal degradation products of polyurethanes. *J Environ Monit*, 4(5), 711-716. <https://doi.org/10.1039/b206340a>
- Rosenberg, C., & Savolainen, H. (1986). Determination of occupational exposure to toluene diisocyanate by biological monitoring. *Journal of Chromatography A*, 367, 385-392. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)94859-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)94859-3)
- Rouessac, F., Rouessac, A., Daniel, C. (2004). *ANALYSE CHIMIQUE Méthodes et techniques instrumentales modernes* (6 e édition ed.).
- Sabbioni, G., & Jones, C. R. (2002). Biomonitoring of arylamines and nitroarenes. *Biomarkers*, 7(5), 347-421.
- Sakai, T., Morita, Y., Kim, Y., & Tao, Y. X. (2002). LC-MS determination of urinary toluenediamine in workers exposed to toluenediisocyanate. *Toxicol Lett*, 134(1-3), 259-264. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(02\)00174-1](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(02)00174-1)
- Sartori, G., Ballini, R., Bigi, F., Bosica, G., Maggi, R., & Righi, P. (2004). Protection (and deprotection) of functional groups in organic synthesis by heterogeneous catalysis. *Chem Rev*, 104(1), 199-250. <https://doi.org/10.1021/cr0200769>
- Saunders, J. H., & Slocombe, R. J. (1948). The Chemistry of the Organic Isocyanates. *Chemical Reviews*, 43(2), 203-218. <https://doi.org/10.1021/cr60135a001>
- Schnorr, T. M., Steenland, K., Egeland, G. M., Boeniger, M., & Egilman, D. (1996). Mortality of workers exposed to toluene diisocyanate in the polyurethane foam industry. *Occupational and Environmental Medicine*, 53(10), 703-707.
- Scholten, B., Kenny, L., Duca, R. C., Pronk, A., Santonen, T., Galea, K. S., . . . Jones, K. (2020). Biomonitoring for Occupational Exposure to Diisocyanates: A Systematic Review. *Ann Work Expo Health*, 64(6), 569-585. <https://doi.org/10.1093/annweh/wxaa038>
- Seel, K., Walber, U., Herbold, B., & Kopp, R. (1999). Chemical behaviour of seven aromatic diisocyanates (toluenediisocyanates and diphenylmethanediisocyanates) under in vitro conditions in relationship to their results in the Salmonella/microsome test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 438(2), 109-123. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(98\)00157-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1383-5718(98)00157-0)
- Sharifi, L., Karimi, A., Shokouhi Shoormasti, R., Miri, S., Heydar Nazhad, H., Bokaie, S., . . . Moin, M. (2013). Asthma Symptoms and Specific IgE Levels among Toluene Diisocyanate (TDI) Exposed Workers in Tehran, Iran. *Iran J Public Health*, 42(4), 397-401.
- Sielken, R. L., Jr., Bretzlaff, R. S., Valdez-Flores, C., & Parod, R. (2012). Statistical Comparison of Carcinogenic Effects and Dose-Response Relationships in Rats and Mice for 2,4-



- Toluene Diamine to those Ascribed to Toluene Diisocyanate. *Hum Ecol Risk Assess*, 18(6), 1315-1337. <https://doi.org/10.1080/10807039.2012.722853>
- Skipper, P. L., Kim, M. Y., Sun, H. L. P., Wogan, G. N., & Tannenbaum, S. R. (2010). Monocyclic aromatic amines as potential human carcinogens: old is new again. *Carcinogenesis*, 31(1), 50-58. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgp267>
- Skipper, P. L., & Tannenbaum, S. R. (1990). The role of protein adducts in the study of chemical carcinogenesis. *Prog Clin Biol Res*, 340c, 301-310.
- Streicher, R. P., Arnold, J. E., Cooper, C. V., & Fischbach, T. J. (1995). Investigation of the Ability of MDHS Method 25 to Determine Urethane-Bound Isocyanate Groups. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 56(5), 437-442. <https://doi.org/10.1080/15428119591016854>
- Swedish National Board of Occupational Safety and Health. (2000). Occupational exposure limit values (Vol. AFS 2000:3). *Arbetskyddsstyrelsens Föfattningssamling*.
- Tarlo, S. M., Liss, G. M., Dias, C., & Banks, D. E. (1997). Assessment of the relationship between isocyanate exposure levels and occupational asthma. *American journal of industrial medicine*, 32(5), 517-521.
- Thomassen, J. M., Fent, K. W., & Nylander-French, L. A. (2011). Development of a sampling patch to measure dermal exposures to monomeric and polymeric 1,6-hexamethylene diisocyanate: a pilot study. *J Occup Environ Hyg*, 8(12), 709-717. <https://doi.org/10.1080/15459624.2011.626744>
- Timchalk, C., Smith, F. A., & Bartels, M. J. (1994). Route-dependent comparative metabolism of [14C]toluene 2,4-diisocyanate and [14C]toluene 2,4-diamine in Fischer 344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 124(2), 181-190. <https://doi.org/10.1006/taap.1994.1022>
- Toluene Di-Isocyanate (TDI) Toxicity. (1963). *Canadian Medical Association journal*, 88(14), 767-768.
- Tornling, G., Alexandersson, R., Hedenstierna, G., & Plato, N. (1990). Decreased lung function and exposure to diisocyanates (HDI and HDI-BT) in car repair painters: observations on re-examination 6 years after initial study. *American journal of industrial medicine*, 17(3), 299-310. <https://doi.org/10.1002/ajim.4700170302>
- Ulrich H, T. J. N., Sayigh AAR (1967). CHAPTER IV - Isocyanates. In H. Ulrich (Ed.), *Organic Chemistry* (Vol. 9, pp. 122-219). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395751-1.50008-8>
- van Och, F. M., Slob, W., de Jong, W. H., Vandebriel, R. J., & van Loveren, H. (2000). A quantitative method for assessing the sensitizing potency of low molecular weight chemicals using a local lymph node assay: employment of a regression method that includes determination of the uncertainty margins. *Toxicology*, 146(1), 49-59. [https://doi.org/10.1016/s0300-483x\(00\)00165-7](https://doi.org/10.1016/s0300-483x(00)00165-7)
- Vandenplas, O., Lantin, A.-C., D'Alpaos, V., Larbanois, A., Hoet, P., Vandeweerdt, M., . . . Speybroeck, N. (2011). Time trends in occupational asthma in Belgium. *Respiratory medicine*, 105(9), 1364-1372.
- Vandenplas, O., Malo, J. L., Saetta, M., Mapp, C. E., & Fabbri, L. M. (1993a). Occupational asthma and extrinsic alveolitis due to isocyanates: current status and perspectives. *British Journal of Industrial Medicine*, 50(3), 213. <https://doi.org/10.1136/oem.50.3.213>
- Vandenplas, O., Malo, J. L., Saetta, M., Mapp, C. E., & Fabbri, L. M. (1993b). Occupational asthma and extrinsic alveolitis due to isocyanates: current status and perspectives. *British Journal of Industrial Medicine*, 50(3), 213-228. <https://doi.org/10.1136/oem.50.3.213>
- Wazeter, F. X., Buller, R.H., Geil, R.G. (1964). Toluene diisocyanate (TDI) and polymethylene polyphenylisocyanate (PAPI): acute dermal toxicity studies(LD50) in the albino rabbit.
- Williams, N. R., Jones, K., & Cocker, J. (1999). Biological monitoring to assess exposure from use of isocyanates in motor vehicle repair. *Occupational and Environmental Medicine*, 56(9), 598. <https://doi.org/10.1136/oem.56.9.598>

- Wilson, P. M., La, D. K., & Froines, J. R. (1996). Hemoglobin and DNA adduct formation in Fischer-344 rats exposed to 2,4- and 2,6-toluene diamine. *Arch Toxicol*, 70(10), 591-598. <https://doi.org/10.1007/s002040050317>
- Wisnewski, A. V., & Redlich, C. A. (2001). Recent developments in diisocyanate asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 1(2), 169-175. <https://doi.org/10.1097/01.all.0000011003.36723.d8>
- Włoch, M., & Datta, J. (2017). Chapter 7 - Nonisocyanate Polyurethanes. In S. Thomas, J. Datta, J. T. Haponiuk, & A. Reghunadhan (Eds.), *Polyurethane Polymers* (pp. 169-202). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804039-3.00007-5>
- Yakabe, Y., Henderson, K. M., Thompson, W. C., Pemberton, D., Tury, B., & Bailey, R. E. (1999). Fate of Methylenediphenyl Diisocyanate and Toluene Diisocyanate in the Aquatic Environment. *Environmental Science & Technology*, 33(15), 2579-2583. <https://doi.org/10.1021/es981350c>