

Données de validation

Numéro de fiche	Titre
METROPOL_417	MHHPA M-417

Données de validation principales

Généralités

Méthode validée pour la substance MHHPA disponible commercialement, mélange des isomères cis et trans du 4-MHHPA (anhydride hexahydro-4-méthylphtalique). Un autre isomère existe également : l'anhydride hexahydro-3-méthylphtalique. Si celui-ci était utilisé sur le lieu de travail, les mesures dans l'air nécessiteraient la séparation HPLC de tous les isomères de MHHPA, pour qu'ils soient bien repérés et ainsi différenciés d'éventuels interférents (présents dans le blanc de laboratoire). La méthode a été développée et optimisée pour permettre la mesure dans l'air des lieux de travail des **mélanges d'isomères de l'anhydride MHHPA sous forme gazeuse et particulaire, en présence ou non d'autres anhydrides**. Ses performances restent par conséquent bien en deçà du niveau d'exigences habituellement attendu pour les gaz et vapeurs, et seront prises en compte pour le calcul d'incertitude de la méthode.

Substance _____ MHHPA

Choix du domaine de validation :

La méthode peut permettre de doser quantitativement de 20 à 1000 µg de MHHPA sur le dispositif.

Débit prélèvement _____ 1 L/min

Conditions analytiques

1 injecteur :

PASSEUR AUTOMATIQUE

Température d'utilisation _____ 10 °C

Volume injecté _____ 10 µL

Programme de température _____ non

1 colonne :

Colonne _____ PHASE INVERSE C18

Nature phase _____ C18

Granulométrie _____ 5 µm

Longueur _____ 25 cm

Diamètre _____ 4,6 mm

Température d'utilisation _____ 40 °C

Programme de température _____ non

1 détecteur :

ULTRA VIOLET(UV)

Longueur d'onde 1 (ou excitation) en nm _____ 242

Phase mobile	Pourcentage	Présence d'un tampon	Nature tampon	Commentaires / Débit
ACETONITRILE	40	non		
EAU	60	oui	KH ₂ PO ₄ (1,36 g/L, pH=5)	Eau ramenée à pH 5 par ajout de KH ₂ PO ₄ 0,01 M (1,36 g/L)

Recommandations particulières :

Débit de l'éluant : 1 mL/min

Validation Méthode Analytique

Description de la méthode :

Réalisation des essais adaptée des documents de référence "Guide pour la mise au point des méthodes de prélèvement et d'analyse des polluants gazeux dans l'air des lieux de travail" (MétroPol F1.V03.01 :2014) et "Guide pour la mise au point des méthodes de prélèvement et d'analyse d'aérosols organiques semi-volatils dans l'air des lieux de travail" (MétroPol F3.V01.01 :2014).

Répétabilité :

Répétabilité sur 10 injections d'une même solution correspondant à une quantité de 40 µg sur le dispositif de prélèvement = 0,6 %.

Répétabilité _____ 0,6%

Limite de détection (LD) :

Dans les conditions décrites, la limite de détection est estimée à 5 µg de MHHPA sur le dispositif de prélèvement (ce qui correspond à une concentration d'environ 10 µg/m³ pour un prélèvement de 480 L d'air).

Limite de détection (LD) _____ 5 µg sur le dispositif

Limite de quantification (LQa) :

En l'absence d'interférence due au blanc-filtre, la limite de quantification est égale à 20 µg de MHHPA sur le dispositif. Pour une charge théorique de 16,64 µg de MHHPA (en mélange avec un autre anhydride) les résultats suivants ont été obtenus :

MHHPA dosé (µg) sur le dispositif	16,55	18,67	14,81	18,44	18,83	22,30	21,89	16,41	23,37	16,87
-----------------------------------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Coefficient de variation = 15 %

Ecart de justesse = 13 %

Limite de quantification (LQa) _____ 20 µg sur le dispositif

Réponse analytique - linéarité :

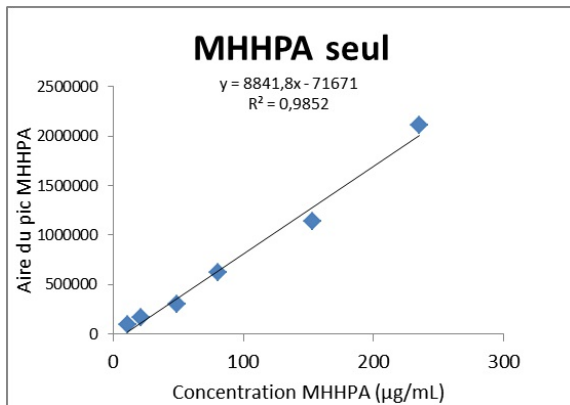
La fonction d'étalonnage et le domaine de concentrations associé ont été étudiés dans des conditions de fidélité intermédiaire.

Compte-tenu de la gamme étendue sur laquelle l'étalonnage peut être réalisé, il est conseillé pour la justesse du dosage :

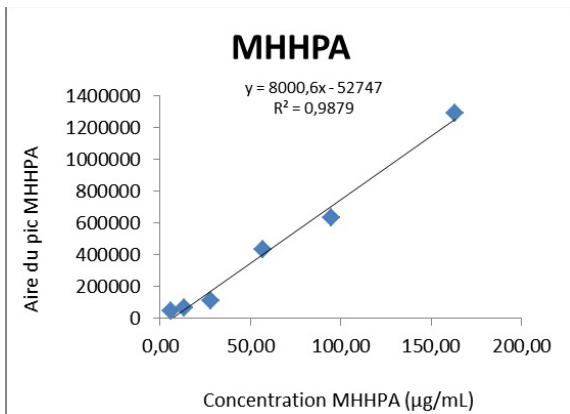
- de préparer les étalons exactement dans les mêmes conditions que les échantillons (conservation des dispositifs, désorption),
- d'effectuer l'étalonnage à l'aide de l'équation établie pour la zone de concentrations correspondant le mieux à l'échantillon dosé.

Exemples d'étalonnages, établis pour différentes séries d'échantillons, avec quantité MHHPA sur blanc-filtre < LOD

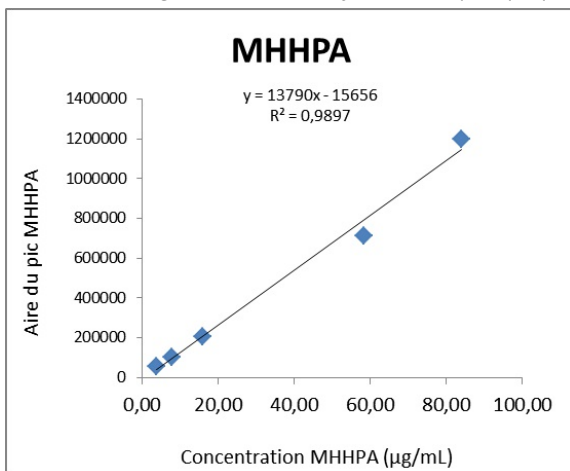
(y = aire globale des pics MHHPA, x = concentration MHHPA en µg/mL de la solution injectée) :



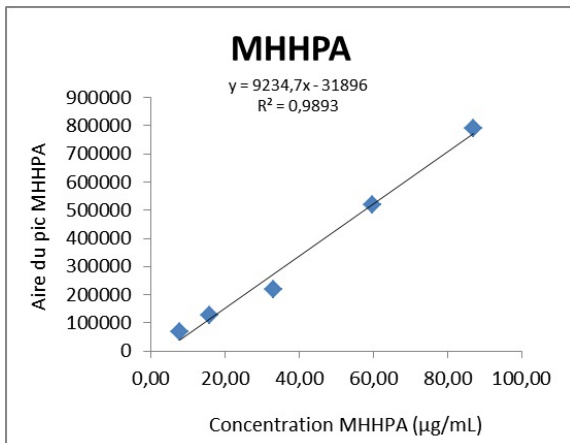
MHHPA seul, désorption par percolation, étalons [20 - 250 µg/mL].



MHHPA en mélange avec un autre anhydride, désorption par percolation, étalons [5 - 150 µg/mL].



MHHPA en mélange avec un autre anhydride, désorption à l'aide des ultra-sons, étalons [10 - 100 µg/mL].



MHHPA en mélange avec un autre anhydride, désorption à l'aide des ultra-sons, étalons [10 - 100 µg/mL], préparés sur filtre imprégné conditionné à -20°C.

Taux de récupération

L'essai a été réalisé pour 4 niveaux de charge dont les 2 plus bas avec MHHPA en mélange avec un autre anhydride, au moins 6 échantillons étant analysés par niveau de charge. Les échantillons sont désorbés dans les 24 heures selon le protocole décrit pour le traitement des cassettes. Le volume total de désorbat étant connu, l'analyse est effectuée sur une aliquote transférée dans un flacon pour passeur d'échantillons.

Pour ces 4 essais, la désorption des filtres a été effectuée par percolation.

Résultats de l'essai

Le rendement de récupération moyen est calculé sur l'ensemble des valeurs obtenues par niveau de charge.

$$K_{Ti} (\%) = \frac{q_{Ti}}{q} \times 100$$

q_{Ti} = quantité de MHPHA (μg) dosée dans la cassette i
 q = quantité collectée sur les filtres par dopage.

Quantité collectée(μg)	17	97	582	894
KT1(%)	99	88,9	100	123
KT2(%)	112	91,6	116	128
KT3(%)	89	107	122	131
KT4(%)	111	95,3	104	121
KT5(%)	113	99,2	105	99
KT6(%)	101	113	108	114
KT Moyen(%)	104	99	109	121
Coefficient de variation(%)	9	9	7	10

Conservation après prélèvement

Méthode appliquée / conditions de prélèvement :

Un essai complet de conservation a été réalisé pour au moins 2 niveaux de charge et au moins trois répétitions par niveau de charge et par type de conditions de stockage testées.

Pour les niveaux de charge q_2 et q_3 , la substance était en mélange avec un autre anhydride et la désorption des filtres a été effectuée à l'aide des ultra-sons (**étalons préparés sur des filtres préalablement conditionnés à -20°C**).

Pour le niveau de charge le plus élevé (q_1), seule la substance MHPHA a été soumise à l'essai (**étalons préparés sur des filtres non conditionnés et désorption des filtres par percolation** pour les essais à 8 jours, **étalons préparés sur des filtres conditionnés à -20°C et désorption à l'aide des ultra-sons** pour les essais à 30 jours).

Une comparaison entre les deux techniques de désorption a été effectuée et **la désorption aux ultra-sons se révèle plus adaptée** à la désorption de la substance collectée sur un filtre imprégné de réactif et conservée à -20°C .

Conditions de l'essai

Le niveau de charge q_1 correspond au 1/2 de la charge max : 500 μg de MHPHA chargés sur les dispositifs.

Le niveau de charge q_2 correspond au 1/5 de la charge max : 200 μg de MHPHA chargés sur les dispositifs.

Le niveau de charge q_3 correspond au 1/10 de la charge max : 100 μg de MHPHA chargés sur les dispositifs.

Pour chaque charge étudiée, deux cassettes sont analysées dans les 24 heures après le dopage pour vérifier la quantité de substance chargée sur le filtre. Les autres cassettes ont été stockées à -20°C et analysées au bout de 8 jours (K_{C8}) et 30 jours (K_{C30}).

Résultats de l'essai (après conservation à -20°C)

Pour chaque niveau de charge, le rendement de conservation moyen est calculé sur l'ensemble des valeurs :

$$K_{Ci} = \frac{q_{Ti}}{q_{i0}} \times 100$$

q_{Txi} = quantité de substance dosée à t_x jours pour le dispositif (i) ;

q_{t0} = quantité de substance calculée pour $t_0 = q \times K_T$ (pour le niveau de concentration).

Taux de récupération T1 = 8 jours	q_1	q_2	q_3
Charge (μg) corrigée par le KT	581	159,7	96
K_{C1} (%)	65*	67	75
K_{C2} (%)	60*	60	92
K_{C3} (%)	63*	95	77
K_{C4} (%)	68*	114	104
K_C Moyen (%)	64* (filtres non conditionnés et percolation)	84	87
Coefficient de variation (%)	5	30	16

Taux de récupération T2 = 30 jours	q1	q2	q3
Charge (µg) corrigée par le KT	581	159,7	96,9
K _{C1} (%)	84	90	93
K _{C2} (%)	65	110	80
K _{C3} (%)	77	86	73
K _{C4} (%)	63		
K _C Moyen (%)	75	95	82
coefficient de variation (%)	13	13	13

Même si la conservation des dispositifs à -20°C permet d'assurer un rendement de récupération globalement supérieur ou égal à 75 %, un facteur d'incertitude doit être annoncé sur les résultats quand les dispositifs de prélèvement ne sont pas analysés immédiatement après le prélèvement.

Informations complémentaires

ETALONNAGE :

L'étalonnage est réalisé par reconstitution de matrice. Les étalons sont :

- préparés à partir de la substance MHPA de référence mise en solution, déposée et dérivée sur les filtres imprégnés (préalablement conditionnés à -20°C, au besoin),
- désorbés selon le même protocole que les échantillons prélevés.

Préparation de la solution-mère :

Diluer environ 2 g, exactement pesés, de la substance de référence dans 10 mL de THF et homogénéiser la solution.

Concentration obtenue pour la solution mère : 200 mg/mL environ, exactement connue.

Cette solution-mère peut se conserver à 4°C pendant 8 jours.

Préparation des étalons de travail :

A réaliser **extemporanément** par dilution de la solution-mère.

Exemple de gamme pour la préparation des étalons :

	solution mère	THF	concentration de l'étalon MHPA
E1	100 µL	9,90 mL	2 mg/mL
E2	200 µL	9,80 mL	4 mg/mL
E3	400 µL	9,60 mL	8 mg/mL
E4	700 µL	9,30 mL	14 mg/mL
E5	500 µL	4,5 mL	20 mg/mL
E6	1 mL	4 mL	40 mg/mL

Préparation des étalons dopés sur filtre imprégné

Les performances de la méthode ont été améliorées par un conditionnement préalable des dispositifs, destinés à la préparation des étalons, identique à celui des cassettes utilisées pour les prélèvements (y compris la conservation à -20°C).

Préparer 6 dispositifs de prélèvement.

Faire passer de l'air (débit 1 L/min) au travers des cassettes ;

Sans arrêter le débit d'air, déposer aussi uniformément que possible, 20 µL de chaque solution étalon sur chacun des 6 filtres imprégnés en cassette.

Continuer à faire passer l'air pendant 30 minutes environ ;

Reboucher les cassettes.

Les cassettes-étalons seront ensuite traitées et analysées selon le protocole décrit pour les échantillons prélevés.

Les concentrations des solutions de désorption des étalons seront globalement comprises entre 5 et 200 µg/mL.

EXPRESSION DES RESULTATS :

La méthode permet de mesurer la concentration en MHPA dans l'air sans chercher à quantifier séparément les 2 formes sous lesquelles la substance pourrait avoir été prélevée, particules ou vapeur. [1]

Etablir une droite d'étalonnage à partir des résultats de dosage obtenus sur les solutions de désorption des étalons.

1°) Concentration en MHPA (Ci) dans les solutions de désorption

Reporter sur la droite d'étalonnage l'aire totale des pics repérés pour l'anhydride, obtenue pour chaque solution échantillon.

L'aire moyenne obtenue pour les blancs-filtres peut être systématiquement soustraite de l'aire des pics étalons et échantillons.

En déduire la concentration des solutions échantillons dans les solution de désorption (Ci en µg/mL). **Il est préconisé, pour la justesse du dosage, d'effectuer l'étalonnage à l'aide de l'équation établie pour la zone de concentrations correspondant le mieux à l'échantillon dosé.**

2°) Quantité de MHPA (Mp) sur le dispositif de prélèvement

$$M_p (\mu\text{g}) = (C_i \times V_i)$$

C_i (µg/mL) = concentration en MHPA dans la solution de désorption

V_i (mL) = volume de la solution de désorption

3°) Concentration C de MHPA dans l'air

$$C (\mu\text{g} / \text{m}^3) = (M_p - M_b) \times \frac{1000}{V}$$

M_p (µg) = quantité de MHPA dosée dans la cassette

M_b (µg) = quantité de MHPA dosée dans les blancs-filtres

V (L) = volume d'air prélevé.

Si les blancs-filtres sont déjà pris en compte pour l'établissement de la droite d'étalonnage, la valeur M_b est ici égale à 0.

- [Exemple de chromatogramme MHPA.pdf](#)
- [Exemple de chromatogramme obtenu pour HHPA et MHPA.pdf](#)