

Données de validation

Numéro de fiche	Titre
METROPOL_419	Mélange d'anhydrides HHPA et MHHPA M-419

Données de validation principales

Généralités

Méthode validée pour les anhydrides d'acide HHPA et MHHPA quand ils sont utilisés en mélange sur le lieu de travail.

Les mélanges sont habituellement composés de cis-HHPA et des isomères cis et trans de l'anhydride hexahydro-4-méthylphthalique (4-MHHPA). D'autres isomères existent, pour lesquels les mesures dans l'air nécessiteraient d'optimiser la séparation HPLC.

Substance _____ HHPA

Choix du domaine de validation :

La méthode a été validée pour des quantités comprises entre **20 µg et 400 µg de chaque anhydride d'acide (HHPA et MHHPA) dosé sur le dispositif de prélèvement.**

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 contenant 40 µg de MHHPA et 40 µg de HHPA : 0,6 % sur le pic MHHPA et 0,2 % sur le pic HHPA.

Répétabilité _____ < 0,6%

Limite de détection (LD) :

Dans les conditions décrites, la limite de détection est estimée à 5 µg d'anhydride, MHHPA ou HHPA, sur le dispositif de prélèvement (ce qui correspond à une concentration en anhydride d'environ 10 µg/m³ estimée 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 de **20 µg pour chaque anhydride dosé sur le dispositif**.

Pour une charge théorique de 18,89 µg de HHPA et 19,45 µg de MHHPA en mélange, et en désorbant les dispositifs de prélèvement à l'aide des ultra-sons, les résultats suivants ont été obtenus :

HHPA (µg) dosé sur le dispositif	19,62	21,46	19,00	19,75	21,21	20,50	18,82	21,90	17,68	18,14
MHHPA (µg) dosé sur le dispositif	21,24	24,91	22,27	24,95	24,55	25,08	23,43	27,84	24,45	22,65

Coefficient de variation = 7 % (HHPA), 8 % (MHHPA)

Ecart de justesse = 5 % (HHPA), 24 % (MHHPA)

Les performances du dosage à ce niveau de charge (estimées par le coefficient de variation et l'écart de justesse) sont améliorées par **la désorption du mélange sur les filtres à l'aide des ultra-sons**. Elles restent toutefois en deçà du niveau d'exigences habituellement attendu et devront être prises en compte lors de l'estimation des incertitudes sur les résultats.

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

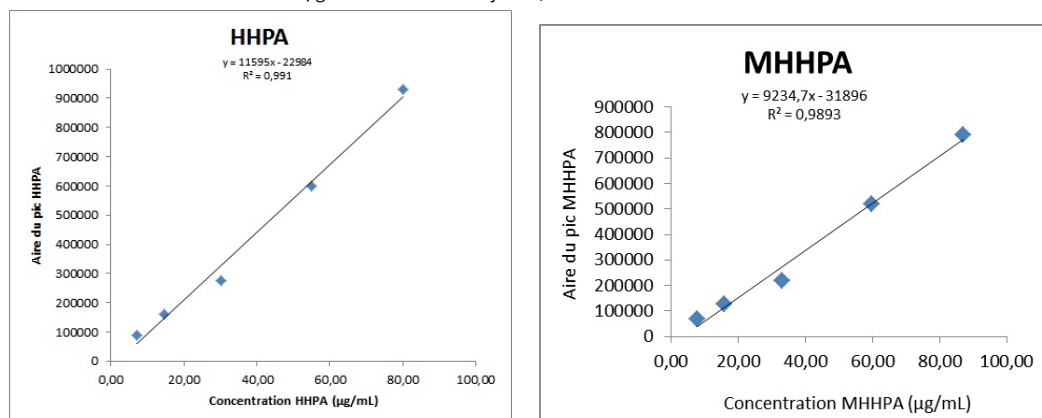
Réponse analytique - linéarité :

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

Il est préconisé, pour la justesse du dosage, :

- de préparer les étalons exactement dans les mêmes conditions que les échantillons (HHPA et MHHPA en mélange, conservation des dispositifs, désorption),
- d'effectuer les étalonnages respectifs à l'aide des équations établies pour la zone de concentrations correspondant le mieux à l'échantillon dosé.

Exemples d'étalonnages établis pour la **réalisation des essais de conservation de HHPA et MHHPA en mélange** (y = aire globale des pics HHPA ou MHHPA, x = concentration HHPA ou MHHPA en µg/mL de la solution injectée) :



Préparation des étalons [10 - 100 µg/mL de chaque anhydride] sur des **filtres imprégnés préalablement conditionnés à -20°C**, désorption à l'aide des ultra-sons, quantité d'anhydride sur blanc-filtre < LOD

Taux de récupération

Essai réalisé avec HHPA et MHHPA en mélange, pour 4 niveaux de charge et 6 échantillons au moins analysés par niveau de charge. Pour la charge la plus faible, les échantillons ont été désorbés dans les 24 heures à l'aide des ultra-sons. Pour les charges 90, 160 et 400 µg, les échantillons ont été désorbés par percolation. Après la désorption, le flacon plein, bouché, est à nouveau pesé. Une aliquote du désorbat est transférée dans un flacon pour passeur d'échantillons et analysée.

Pour chaque niveau de charge, et pour chaque anhydride dosé, le rendement de récupération moyen est calculé sur toutes les valeurs obtenues pour le niveau de charge.

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

q_{Ti} = quantité de MHHPA ou de HHPA (µg) dosée dans la cassette i

q = quantité théorique de MHHPA ou de HHPA (µg) dopée sur les filtres.

Les performances du dosage à ce niveau de charge (estimées par le rendement de récupération moyen et le coefficient de variation) peuvent être améliorées par la désorption des filtres à l'aide des ultra-sons. Si elles restent en deçà du niveau d'exigences attendu, elles devront être prises en compte lors de l'estimation des incertitudes sur les résultats.

Résultats de l'essai pour HHPA en mélange

	20	90	160	400
Quantité collectée (µg)	20	90	160	400
KT1(%)	104	95	86	96
KT2(%)	114	98	86	99
KT3(%)	101	116	81	99
KT4(%)	105	103	88	99
KT5(%)	112	111	91	99
KT6(%)	109	118	85	102
KT7(%)	100			
KT8(%)	116			
KT9(%)	94			
KT10(%)	96			
KT Moyen(%)	105	107	86	99
Coefficient de variation(%)	7	9	4	2

Conservation après prélèvement

Méthode appliquée / conditions de prélèvement :

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

Les étalons ont été préparés à partir d'un mélange des deux anhydrides, sur des filtres conditionnés dans les mêmes conditions de conservation que les cassettes-échantillons (T° et durée de conservation). La désorption des filtres à l'aide des ultra-sons s'est révélée plus adaptée à la désorption des mélanges d'anhydrides collectés sur un filtre imprégné de réactif et conservés à -20°C .

Conditions de l'essai

Le niveau de charge q_1 correspond au quart de la charge max : 100 µg de chaque anhydride sur les dispositifs.

Le niveau de charge q_2 correspond à la moitié de la charge max : 200 µg de chaque anhydride sur les dispositifs.

Pour chaque charge étudiée, deux cassettes sont analysées dans les 24 heures après le dopage pour vérifier la quantité de chaque anhydride 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}).

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

$$K_{Ci} = \frac{q_{txi}}{q_{t0}} \times 100$$

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).

Résultats de l'essai (après conservation à -20°C) pour HHPA en mélange

Taux de récupération T1= 8 jours	q1	q2
Charge (µg) corrigée avec le KT	90 µg	161,8 µg
K _C 1 (%)	76	66
K _C 2 (%)	94	58
K _C 3 (%)	77	93
K _C 4 (%)	108	111
K _c Moyen (%)	89	82
Coefficient de variation (%)	17	30

Taux de récupération T1= 30 jours	q1	q2
Charge (µg) corrigée avec le KT	90 µg	161,8 µg
K _C 1 (%)	94	90
K _C 2 (%)	86	102
K _C 3 (%)	76	84
K _c Moyen (%)	85	92
Coefficient de variation (%)	10	10

Le rendement de récupération K_C est supérieur à 80 % pour chaque niveau de charge testé. La conservation de HHPA en mélange, sur les dispositifs de prélèvement conservés à - 20°C, peut être admise au regard de l'incertitude attendue sur les résultats des mesures dans les conditions de l'analyse.

Résultats de l'essai (après conservation à -20°C) pour MHHPA en mélange

Taux de récupération T1= 8 jours	q1	q2
Charge (µg) corrigée avec le KT	96,9 µg	159,7 µg
K _C 1 (%)	75	67
K _C 2 (%)	92	60
K _C 3 (%)	77	95
K _C 4 (%)	104	114
K _c Moyen (%)	87	84
Coefficient de variation (%)	16	30

Taux de récupération T1= 30 jours	q1	q2
Charge (µg) corrigée avec le KT	96,9 µg	159,7 µg

K _C 1 (%)	93	90
K _C 2 (%)	80	110
K _C 3 (%)	73	86
K _C Moyen (%)	82	95
Coefficient de variation (%)	13	13

Le rendement de récupération K_C est supérieur à 80 % pour chaque niveau de charge testé. La conservation de MHPA en mélange, sur les dispositifs de prélèvement conservés à - 20°C, peut être admise au regard de l'incertitude attendue sur les résultats des mesures dans les conditions de l'analyse.

Données de validation - données 2

Taux de récupération

Résultats de l'essai pour MHPA en mélange :

Taux de récupération				
Quantité collectée (µg)	19,45	97	160	450
KT1(%)	109	89	80	95
KT2(%)	128	92	77	99
KT3(%)	115	108	72	99
KT4(%)	128	95	79	98
KT5(%)	126	99	83	98
KT6(%)	129	113	77	101
KT7(%)	120			
KT8(%)	143			
KT9(%)	126			
KT10(%)	116			
KT Moyen(%)	124	99	78	98
Coefficient de variation(%)	8	9	5	2

Calcul d'incertitude

Une aide à l'estimation des incertitudes sur les résultats des mesures est fournie : voir **Données complémentaires**

Informations complémentaires

ETALONNAGE :

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

- préparés à partir des substances pures (HHPA et MHPA), mélangées en solution, déposées et dérivées sur les filtres imprégnés,
- désorbés selon le même protocole que les échantillons prélevés.

Préparation de la solution-mère :

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

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

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 (µL)	THF (mL)	Concentration de l'étalon (mg/mL) en chacun des composés HHPA et MHHPA
E1	50	9,95	1
E2	100	9,9	2
E3	200	9,8	4
E4	500	9,5	10
E5	700	9,3	14
E6	500	4,5	20

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 solutions de désorption des étalons correspondront, par exemple, à des concentrations comprises entre 3 et 66 µg/mL pour des quantités sur le filtre comprises entre 20 µg et 400 µg de chaque anhydride.

EXPRESSION DES RESULTATS :

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

Etablir une droite d'étalonnage pour chaque anhydride, à partir des résultats de dosage des solutions de désorption des étalons.

1°) Concentration en HHPA ou MHHPA (C_i) dans les solutions de désorption

Reporter sur chacune des droites d'étalonnage, l'aire totale des pics repérés pour l'anhydride.

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 anhydrides dans les solutions de désorption (C_i en µg/mL).

Il est préconisé, pour la justesse du dosage de chaque anhydride, 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 HHPA ou MHHPA (M_p) sur le dispositif de prélèvement

$$M_p (\mu g) = C_i \times V_i$$

C_i (µg/mL) = concentration en HHPA ou MHHPA dans la solution de désorption

V_i (mL) = volume de la solution de désorption

3°) Concentration C de chaque anhydride dans l'air

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

M_p (µg) = quantité de HHPA ou MHHPA dosée dans la cassette

M_b (µg) = quantité de HHPA ou MHHPA 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.

- Chromatogramme HHPA et MHHPA.pdf