

Données de validation

Numéro de fiche	Titre
METROPOL_430	Chrome VI M-430

Données de validation principales

Généralités

Prélèvement surfacique par essuyage du chrome hexavalent sur les surfaces de travail

Substance _____ Chrome VI (composé du), en Cr

Choix du domaine de validation :

Contrairement aux méthodes de prélèvement atmosphérique, l'absence pour la plupart des composés chimiques de valeurs réglementaires ou de valeurs guides relatives à une exposition professionnelle aux pollutions surfaciques ne permet pas de définir un domaine d'application pour lequel la méthode de prélèvement surfacique doit être validée.

La méthode est validée pour un niveau de charge (500 ng / 100 cm²), un domaine de validation de 100 ng à 2 µg sur support de collecte a été testé dans la **méthode M-43**¹. Les bornes de travail seront adaptées si nécessaire en fonction des situations de travail rencontrées.

¹http://www.inrs.fr/publications/bdd/metropol/fiche.htm?refINRS=METROPOL_43

Cette méthode permet la détermination du Cr^{VI} total sans distinction des fractions soluble et insoluble.

Deux supports de collecte ont été testés : des lingettes et des filtres en fibre de quartz imprégnés ou non imprégnés. Les résultats ont montré que le support le mieux adapté était le filtre en fibre de quartz imprégné. Les résultats de comparaison sont détaillés dans la partie Solutions écartées.

Compte tenu de la complexité de l'ensemble « nature de la surface - nature et concentration du (des) composé(s) - environnement de travail », chaque situation d'exposition professionnelle particulière doit donner lieu à une mise au point spécifique.

Dispositif de prélèvement :

Le support de collecte retenu est un filtre en fibre de quartz imprégné avec 500 µL d'une solution de carbonate de sodium et de sulfate de magnésium.

Conditions analytiques

1 injecteur :

PASSEUR AUTOMATIQUE

Volume injecté _____ 100 µL

Programme de température _____ non

2 colonnes :

Colonne _____ ■ ECHANGEUSE D'IONS

Nature phase _____ ■ POLYMERE

Longueur _____ 35mm

Diamètre _____ 4mm

Commentaires :

Précolonne IonPac® NG1

Programme de température _____ non

Colonne _____ ■ ECHANGEUSE D'IONS

Nature phase _____ ■ POLYMERE

Longueur _____ 250mm

Diamètre _____ 4mm

Commentaires :

Colonne analytique IonPac® AS7

Programme de température _____ non

1 détecteur :

ULTRA VIOLET(UV)

Longueur d'onde 1 (ou excitation) en nm _____ 540

Ion de dosage _____ CrVI

Phase mobile	Présence d'un tampon	Nature tampon	Commentaires / Débit
ELUANT	oui	(NH ₄) ₂ SO ₄ 0,25 M / NH ₄ OH 0,1 M obtenu par dissolution de 66 g de (NH ₄) ₂ SO ₄ et 13 mL de NH ₄ OH dans de l'eau et jauge à 2 L.	1 mL/min

Recommandations particulières :

Système équipé d'un module d'introduction du réactif post-colonne avec un té de mélange et un serpentin de réaction de 750 µL.

Réactif poste-colonne :

Diphénylcarbazine 0,002 M / méthanol 10 % / H₂SO₄ 0,5 MVerser environ 500 mL d'eau dans une fiole jaugée de 1 L. Ajouter lentement et avec précaution 28 mL d'H₂SO₄ concentré, agiter et laisser refroidir. Dissoudre 0,5 g de 1,5-diphénylcarbazine dans 100 mL de méthanol, transférer dans la fiole jaugée de 1 L contenant H₂SO₄ dilué, jauger avec de l'eau. Boucher et mélanger.

Préparer une solution fraîche chaque jour.

Débit : 0,33 mL/min (Débit total réactif post-colonne + phase mobile : 1,33 mL/min).

Validation Méthode Analytique

Description de la méthode :

Cette méthode a été validée selon les indications du **Protocole de mise au point des méthodes de prélèvement surfacique**² (V2 - décembre 2019).²<http://www.inrs.fr/dms/inrs/PDF/metropol-analyse-validation-surfaces/metropol-analyse-validation-surfaces.pdf>

(Période des essais : 2019-2020)

Matériels et réactifs utilisés pour la validation

Matériels

Chaîne chromatographique Dionex ICS 1000 avec pompe pneumatique PC10 et détecteur UV/MS AX10

Filtres en fibre de quartz WHATMAN® QMA (1851-037) lot : 9810092

Filtres Millex 0.22µm (ref. SLGP033RS) avec seringue plastique.

D'autres tests de comparaison de supports de collecte ont été réalisés (voir solutions écartées) avec :

Filtres en fibre de quartz SKC® R-100 (225-1827) lot 13555- boîte 1

Lingettes mercurochrome et hansaplast (plusieurs lots)

Réactifs

- Sulfate de magnésium (VWR Prolabo – normapur)
- Hydroxyde de sodium : Qualité puriss. (SIGMA Riedel-de-Haën)
- Dichromate de potassium (pureté 99,995 % - Sigma Aldrich)
- Carbonate de sodium (Prolabo Normapur)
- Acide sulfurique 95-97 % (Merck – pro analysis)
- Sulfate d'ammonium (VWR - Prolabo – Normapur)
- Hydroxyde d'ammonium (28-30 % - Sigma Aldrich - A.C.S. Reagent)
- Diphenylcarbamide (Merck – pro analysis)
- Méthanol (Merck - LiChrosolv®)
- Etalon certifié de chrome VI 1000 µg/mL dans l'eau (Bichromate d'ammonium - VWR)

La validation de la méthode a été réalisée par **dépôt de 1mL de solution sur des surfaces de référence** (10*10 cm) en mélaminé ou en verre à l'aide d'une micropipette, récupération avec le support de collecte choisi, extraction 1h aux ultrasons à 60°C et dosage en chromatographie ionique détection UV.

Tous les dépôts de Cr^{VI} ont été réalisés en utilisant du dichromate de potassium (pureté 99,995 %) mis en solution dans de l'eau.

Un exemple de chromatogramme est donné dans la partie informations complémentaires.

Répétabilité :

La répétabilité a été déterminée sur 6 blancs de laboratoire, dopés et analysés (données de validation de la méthode M-43)

Répétabilité _____ < 2%

Limite de détection (LD) :

La limite de détection instrumentale et la limite de quantification instrumentale ont été déterminées à l'aide des formules suivantes :

$$LD = (BF / H) \times 3 \times C$$

$$LQ = 3 \times LD_i$$

Avec BF : Bruit de fond mesuré pendant 1 min sur une zone sans pic du chromatogramme en µAU

H : Hauteur du pic de l'élément considéré à la concentration la plus faible en µAU

C : Concentration de l'élément considéré à la concentration la plus faible en ng/mL (ici, étalon 1 ng/mL)

Limites de détection et de quantification instrumentales :

	n	LD _i (ng/mL Cr ^{VI})	LQ _i (ng/mL Cr ^{VI})
Cr ^{VI}	10	0,020	0,060

Limite de quantification (LQa) :

Important : Avant toute utilisation de supports de collecte, évaluer les teneurs en Cr^{VI} des blancs de laboratoire et l'homogénéité du lot pour s'assurer d'avoir une LQa en accord avec les besoins (par exemple LQa < 100 ng/support).

Les essais ont été réalisés sur un lot (9810092) de filtres QMA précédemment vérifié, soit 6*10 blancs de laboratoire, qui ont été traités suivant la méthode de préparation des échantillons décrite dans la méthode. Les solutions récupérées ont été dosées par chromatographie ionique.

Limites de détection et de quantification analytiques :

	n	LD _a (ng/support Cr ^{VI})	LQ _a (ng/support Cr ^{VI})
Cr ^{VI}	6*10	17,7	58,5

LD_a : 3 fois l'écart-type de 6*10 blancs de laboratoire - LQ : 10 fois l'écart-type de 6*10 blancs de laboratoire

Quantité minimale quantifiable ~ 100 ng / support de collecte (voir données de validation de la méthode M-43) selon le lot utilisé.

Réponse analytique - linéarité :

Les analyses sont réalisées par chromatographie ionique avec détection UVMIS.

La gamme d'étalonnage est réalisée de 0 à 50 ng/mL. La linéarité du détecteur a été vérifiée jusqu'à 300 ng/mL

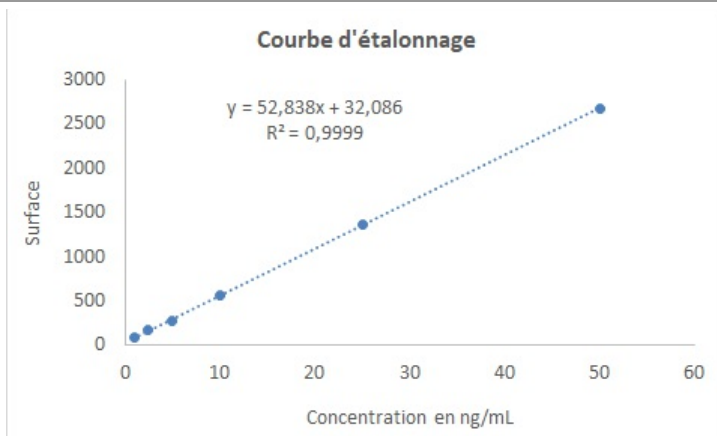
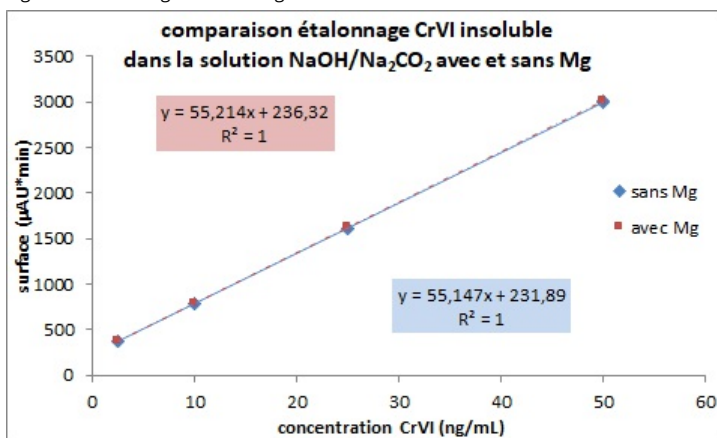


Figure 1 : étalonnage de 0 à 50 ng/mL

Figure 2 : L'influence de la présence de magnésium (provenant des filtres imprégnés de MgSO₄) a été analysée (voir données de validation de la méthode M-43)

Conclusion : Le sulfate de magnésium ne modifie pas la réponse de la méthode. Les étalons seront donc réalisés dans la solution d'extraction sans ajout de sulfate de magnésium.

Prélèvements surfaciques

Cette méthode a été validée sur filtres en fibres de quartz WHATMAN® QMA (1851-037) imprégnés d'une solution de carbonate de sodium et sulfate de magnésium après vérification des blancs. Des lingettes imprégnées ou non imprégnées ont également été testées (voir comparaisons dans la partie Solutions écartées)

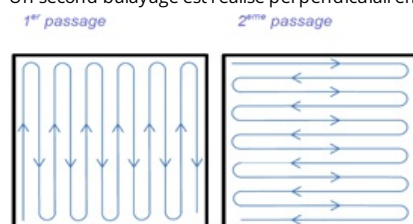
Optimisation de différents paramètres :

- surfaces de référence : Les essais ont été réalisés sur des surfaces en verre et en mélaminé
- influence du nombre d'essuyages et méthode
- Influence de l'opérateur
- Interférence Cr^{III}

Protocole d'essuyage et protocole d'extraction :

Les surfaces de référence sont nettoyées à l'eau ultrapure et séchées avant utilisation. Si les surfaces sont dopées (solution de Cr VI ou Cr III), les laisser sécher, puis procéder à l'essuyage par un balayage en appuyant légèrement sur le filtre avec 2 doigts.

Un second balayage est réalisé perpendiculairement au premier avec le même filtre plié en 2, surface prélevée à l'intérieure.



Les filtres sont placés dans des tubes fermés immédiatement après le prélèvement.

Le protocole d'extraction est réalisé par ajout de 5 mL de solution de Na₂CO₃ 3 % + NaOH 2% ; les tubes sont placés aux ultrasons à 60 °C pendant une heure. Après refroidissement, 5mL d'eau ultrapure sont ajoutés. Les solutions sont homogénéisées et filtrées avant analyse par chromatographie ionique.

Quantité minimale quantifiable ~ 100 ng / support de collecte (voir données de validation de la méthode M-43) selon le lot utilisé.

Limite de quantification analytique (LQa) sur surfaces de référence :

Des filtres en fibre de quartz imprégnés ont été humidifiés avec 450µL d'eau ultrapure juste avant la réalisation du prélèvement sur chaque surface de référence préalablement nettoyée et sans dépôt de Cr VI.

Après essuyage, les filtres ont été placés directement dans les tubes et 5 mL de solution d'extraction $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaOH}$ ont été ajoutés dans chaque tube. Les extractions ont été réalisées aux ultrasons 1h à 60 °C.

Une fois les solutions refroidies, 5mL d'eau ont été ajoutés dans chaque tube, les solutions ont été homogénéisées et filtrées avant analyse.

Surface testée	Nb	Moyenne (ng/support)	écart-type (s)	LQ (10*s) (ng/support)
mélaminé	7	77,67	2,7	27,04
verre	4	70,32	1,97	19,68

Taux de récupération

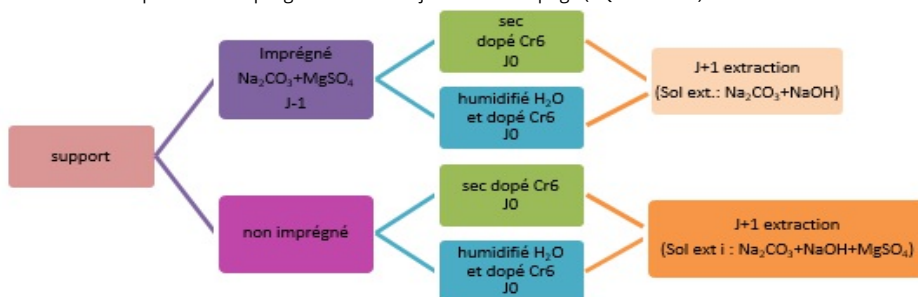
Influence de l'humidification du support de collecte :

La mise au point du protocole de prélèvement surfacique a mis en évidence que l'utilisation d'un support de collecte humidifié favorisait la récupération par essuyage.

Ces essais ont été réalisés pour vérifier que l'humidification du support de collecte ne modifiait pas les taux de récupération du Cr VI.

Une solution de Cr VI à 10 mg/L a été préparée à partir de dichromate de potassium mis en solution dans de l'eau. Une aliquote de 50 µL a été déposée sur chaque support de collecte soit :

- 4 filtres en fibre de quartz imprégnés (FQI sec)
- 4 filtres en fibre de quartz non imprégnés (FQ sec)
- 4 filtres en fibre de quartz imprégnés humidifiés juste avant dopage (FQI humidifié)
- 4 filtres en fibre de quartz non imprégnés humidifiés juste avant dopage (FQ humidifié)



Les supports de collecte ont été conservés dans une pièce exempte de toute pollution pendant le temps de séchage.

Les extractions ont été réalisées à J+1. Les échantillons extraits ont été filtrés et dosés les jours suivants.

Ces essais ont été réalisés pour une quantité déposée de 500 ng /support

nb	support	moyenne (ng/support)	écart-type	Rendement
4	FQ sec	508,86	3,08	99 %
4	FQ humidifié	492,35	8,47	96 %
4	FQI sec	494,62	6,95	97 %
4	FQI humidifié	492,68	4,76	96 %

Conclusion :

L'humidification du support ne modifie pas les taux de récupération du Cr VI.

Le filtre en fibre de quartz imprégné sera retenu pour la suite des essais, le pH basique du support de collecte et la présence de MgSO_4 dans la solution d'imprégnation permettent une meilleure gestion des interférents métalliques (voir données de validation méthode M-43).

Influence de la surface de référence :

Après nettoyage à l'eau des surfaces de référence, et vérification par quelques blancs de surface, les surfaces de référence ont été dopées avec 1mL de solution de Cr VI à 0,5 mg/L ce qui correspond à une quantité déposée de 500 ng/100 cm².

Le dopage a été réalisé en déposant 1 mL en gouttelettes permettant de recouvrir plus de 50 % de la surface de référence, comme décrit dans le Protocole de mise au point des méthodes de prélèvement surfacique (V2 - décembre 2019).

Après le séchage des surfaces dopées une nuit sous sorbonne, les essayages ont été réalisés avec un FQI humidifié extemporanément avec 450 µL d'eau ultrapure.

Le premier balayage a été réalisé avec le filtre entier. Le filtre a ensuite été plié en deux à l'aide d'une pince en plastique, surface prélevée à l'intérieur. Un second passage perpendiculaire au premier a été réalisé avec le filtre est plié en deux.

Les filtres prélevés ont été placés immédiatement dans des flacons fermés.

Les extractions ont été réalisées aux ultrasons à 60 °C pendant une heure. Une fois les solutions refroidies, 5 mL d'eau ont été ajoutés dans chaque tube, les solutions ont été homogénéisées et filtrées sur cartouche Millex avant analyse par chromatographie.

Les blancs de laboratoire ont été traités de la même façon.

Surface de référence	Mélaminé	Verre
Quantité sur le support	500 ng	500 ng
Nb	6	5
Rendement 1 (%)	78,1	84,2
Rendement 2 (%)	66,1	84,0
Rendement 3 (%)	71,9	88,7
Rendement 4 (%)	68,7	79,8
Rendement 5 (%)	65,9	78,9
Rendement 6 (%)	71,1	
R. moyen (%)	70,3	83,1
Ecart-type	4,6	3,9
CV (%)	6,5	4,7

Conclusion :

Les rendements obtenus sur les surfaces en verre sont légèrement supérieurs à ceux obtenus pour les surfaces en mélaminé mais ces derniers restent plus proches des conditions rencontrées sur le terrain.

L'OSHA a mis en évidence, dans la publication W4001, que seule la surface en PTFE permet une bonne récupération (>96 %) du Cr VI.

Il faudra, dans la mesure du possible, prendre en compte la nature de la surface à prélever pour déterminer en laboratoire les taux de récupération spécifiques à celle-ci.

Influence du nombre d'essayages et technique

Le protocole utilisé pour le dopage est identique à celui utilisé pour tester l'influence de la surface de référence.

Deux prélèvements successifs ont été réalisés sur la surface dopée avec un filtre par prélèvement

Deux balayages, avec le même filtre, ont donc été réalisés pour chaque prélèvement.

Ces essais ont été réalisés uniquement sur la surface mélaminé.

	Rendement 1 ^{er} prélèvement	Rendement 2 ^{ème} prélèvement
surface 1	78 %	4 %
surface 2	66 %	2 %
surface 3	72 %	3 %
surface 4	69 %	2 %
surface 5	66 %	2 %
surface 6	71 %	3 %

L'utilisation d'une pince en plastique et le prélèvement avec des gants propres ont été testés pour voir si l'une des deux méthodes pouvait entraîner des pertes de Cr VI.

	Nb de surface dopée	Rendement 1 ^{er} prélèvement	Rendement 2 ^{ème} prélèvement
pince	6	67 %	7 %
gants	6	72 %	3 %

Conclusion :

Un seul prélèvement permet de récupérer la majorité du Cr^{VI} déposé.

L'utilisation d'une pince en plastique ne permet pas d'améliorer la récupération. De plus, la pince limite la surface de contact lors du prélèvement ce qui peut expliquer un taux de récupération plus important lors du 2^{ème} prélèvement avec la pince.

Influence de l'opérateur

Ces essais ont été réalisés uniquement sur la surface en mélaminé.

Après dopage de surface en mélaminé et séchage, 2 opérateurs ont procédé à l'essuyage des surfaces à l'aide d'un filtre imprégné humidifié extemporanément.

	Nb de surface	Opérateur 1	Opérateur 2
Rendement (%)	2	79 %	77 %

Conclusion :

Cet essai rapide avec seulement 2 surfaces prélevées n'a pas mis en évidence de grosses différences entre les 2 opérateurs.

Conservation des prélèvements :

Les supports de collecte étant identiques à ceux de la méthode M-43, les essais de conservation n'ont pas été à nouveau réalisés.

Rappel des résultats obtenus :

Une solution de Cr^{VI} a été préparée à partir de dichromate de potassium mis en solution dans de l'eau. Une aliquote a été déposée sur chaque support de collecte préalablement imprégné. Les supports de collecte ont été conservés dans une pièce exempte de toute pollution pendant le temps de séchage.

Les essais ont été réalisés pour 0,15 µg/filtre, avec extraction à J+1 ; J+8 ; J+15 et J+30. Des essais complémentaires ont été effectués à 0,5 et 2 µg/filtre, avec extraction à J+1 ; J+15 et J+30.

Les échantillons extraits ont été dosés rapidement après extraction.

Résultats des essais de conservation en Cr^{VI} sur supports imprégnés :

Cr ^{VI} total déposé µg/filtre	n	Cinétique	Taux de récupération (%)	CV (%)
0,15	6	J+1	98,6	1,7
	6	J+8	100,2	1,2
	6	J+15	98,6	2,1
	6	J+30	88	2,4
0,5	3	J+1	97,5	1,2
	6	J+8	94,3	1
	6	J+30	93,5	0,4
2	3	J+1	100,1	0,3
	6	J+30	97,2	1,1

Conclusion :

Les rendements obtenus pour les dispositifs de prélèvement dopés sont corrects. La répétabilité analytique est inférieure à 3 %. Il est conseillé de **traiter les échantillons dans les 15 jours** suivant les prélèvements surtout si des quantités très faibles de Cr^{VI} sont suspectés.

Informations complémentaires**Interférents**

De nombreux essais ont été réalisés et résumés dans les données de validation de la méthode M-43.

Seule la présence de Cr^{III} a été testée lors de cette validation.

Une quantité de 1000 µg de Cr^{III} a été déposée sur les surfaces de référence en mélaminé. La récupération a été réalisée par essuyage en suivant le même protocole que pour le Cr^{VI} seul. La même quantité de Cr^{III} a été également déposée sur des filtres en fibre de quartz.

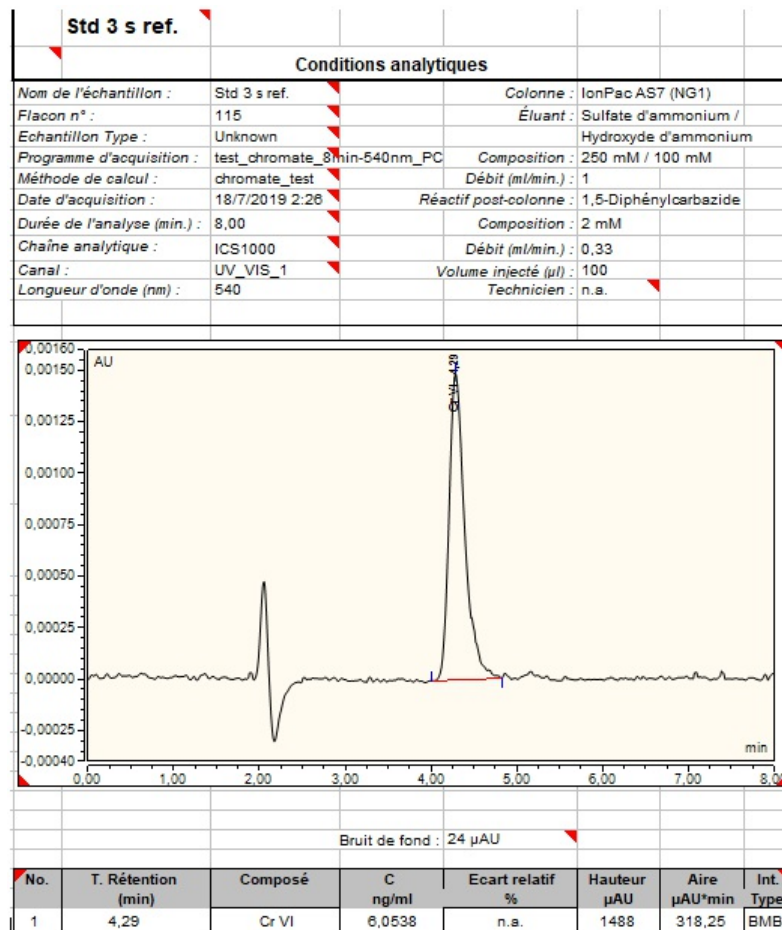
Les différents filtres ont été placés dans des tubes et extraits comme décrit précédemment dans le protocole.

	Nb	Taux de conversion ‰	2* écart-type (s)	
FQI dopage sur filtre QMA (Whatmann)	4	0,13	0,011	
dopage surface en mélaminé Cr ^{III} seul récup. FQI humidifié	4	0,27	0,070	
FQI dopage sur filtre MK360	4	0,24	0,192	résultats extraits M-43
FQI dopage sur filtre SKC	4	0,21	0,078	résultats extraits M-43

Conclusion :

Les taux d'interconversion Cr^{III}/Cr^{VI} restent du même ordre de grandeur que ceux obtenus lors de la validation de la méthode M-43.

Exemple de chromatogramme :



Solutions écartées

Tests lingettes

Les lingettes, qui constituent le support de prélèvement surfacique le plus courant, ont été testées dans le cadre de cette validation.

Les lingettes Ghost wipe ont été suspectées de réduire le Cr^{VI}, et n'ont par contre pas été testées.

Les essais ont été réalisés sur des lingettes Mercurochrome® et Hansaplast® qui permettent une humidification avec une solution déterminée.

Tous les supports ont été extraits suivant le protocole décrit précédemment (solution d'extraction 3 % Na₂CO₃+2 %NaOH - Ultrasons 1h 60 °C)

Les lingettes ont été traitées comme les filtres en fibre de quartz mais avec 10 mL de solution d'extraction (5 mL pour les filtres) permettant un trempage de toute la lingette pendant la phase d'extraction. 10 mL d'eau ont été ajoutés après refroidissement pour se retrouver dans la même matrice que les filtres.

Détermination des limites de quantification :

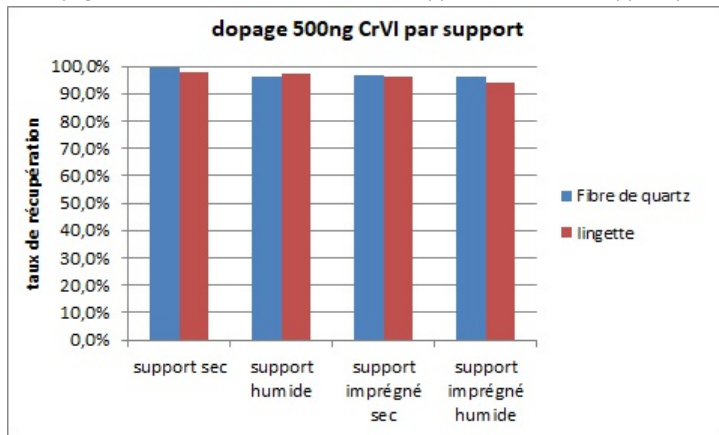
		ng	ng
		LQ intralot	LQ interlot (mercurochrome)
n=10	lingette Mercurochrome® lot 17391Z0054	13,75	32,81
n=6	lingette Mercurochrome® lot 17414Z0048	25,61	
n=6	lingette Mercurochrome® lot 1168127	58,98	
n=6	lingette Hansaplast® lot 656250002	14,06	

Conclusion :

LQ satisfaisante avec des taux de base inférieurs à 18ng/support.

Comparaison taux de récupération Cr VI

Les dopages ont été réalisés directement sur les supports de collecte, 4 supports par condition, 4 conditions : support sec ou humide, imprégné ou non imprégné.

**Conclusion :**

Rendement satisfaisant pour le Cr VI seul.

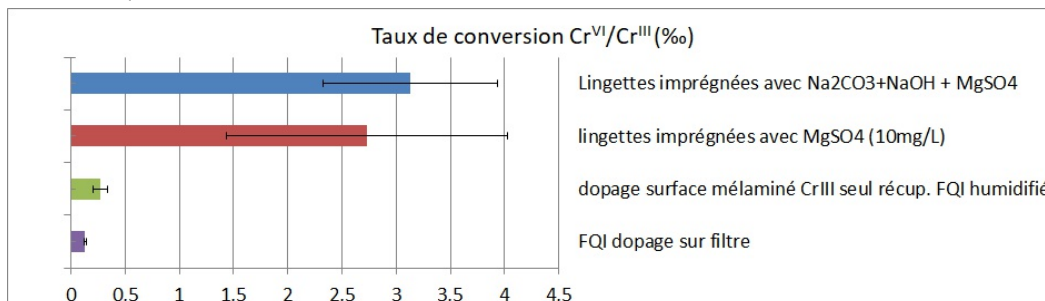
Taux de conversion Cr VI/Cr III

Imprégnation des supports à J-1 :

- Lingettes imprégnées avec 1 mL MgSO₄ (10 mg/L) - pour test réactif moins agressif
- Lingettes imprégnées avec 1 mL (Na₂CO₃ + NaOH + MgSO₄)
- FQI : imprégnation 500 µL (Na₂CO₃ + NaOH + MgSO₄)

Les différents supports ont été placés dans des tubes Digiprep et dopés avec 1000 µg de Cr III.

- 4 surfaces en mélaminé sont également dopées avec 1000 µg de Cr III à J-1 (séchage des surfaces). La récupération par essuyage est réalisée avec un FQI humidifié.
- Comme décrit précédemment, les extractions ont été réalisées dans les tubes.



Les barres d'erreurs représentent 2 écart-types avec n=4.

Conclusion :

Le Cr III réagit avec les lingettes et les rend inutilisables pour les prélèvements de Cr VI.

Les lingettes peuvent être uniquement utilisées en présence de Cr VI seul sur les surfaces de travail.