

Données de validation

Numéro de fiche	Titre
METROPOL_13	Ammoniac et sels d'ammonium M-13

Données de validation principales

Généralités

Cette validation a été réalisée pour le dosage de l'ammoniac en phase gazeuse.

Substance _____ Ammoniac, anhydre

Existe-t-il une VLEP ? _____ oui

VLEP 8h _____ 7 mg/m³

Existe-t-il une VLEP-CT ? _____ oui

VLEP-CT _____ 14 mg/m³

Choix du domaine de validation :

0,1 à 2 VLEP-8h

0,5 à >2 VLEP-CT

Le domaine de validation a été choisi en fonction des valeurs en vigueur à la date des essais, mais peuvent être différentes aujourd'hui. Afin de connaître les valeurs actuelles, se reporter au document **ED984**.¹

¹ <https://www.inrs.fr/media.html?refINRS=outil65>

Rappel : les valeurs limites à la date des essais sont : VLEP-8h : 7 mg/m³ en NH₃ VLEP-CT : 14 mg/m³ en NH₃

Dispositif de prélèvement :

La méthode a été validée entièrement pour 2 L/min. Des essais de claquage complémentaires ont été réalisés à 1 L/min pour permettre des prélèvements sur 8 h dans des lieux où le seuil d'exposition est proche de 2 VLEP-8h.

Débit prélèvement _____ 2 L/min

Conditions analytiques

1 injecteur :

PASSEUR AUTOMATIQUE

Volume injecté _____ 25 µL

Programme de température _____ non

3 colonnes :

Colonne _____ ■ ECHANGEUSE D'IONS

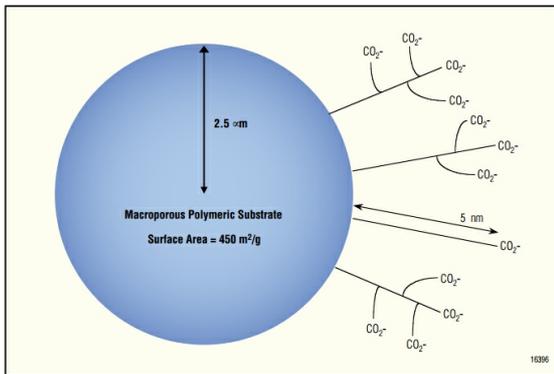
Nature phase _____ ■ POLYMERE

Granulométrie _____ 5 μ m

Longueur _____ 50mm

Diamètre _____ 4mm

Commentaires :



Précolonne CG16 (Dionex®) La phase est un polymère macroporeux d'éthylvinylbenzène réticulé avec 55 % de divinylbenzène. Le substrat est fonctionnalisé avec un acide carboxylique hydrophile.

Programme de température _____ non

Colonne _____ ■ ECHANGEUSE D'IONS

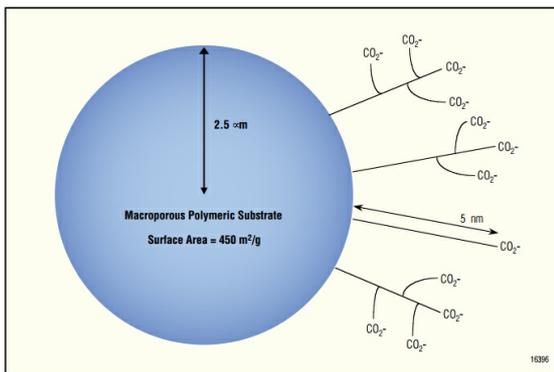
Nature phase _____ ■ POLYMERE

Granulométrie _____ 5 μ m

Longueur _____ 250mm

Diamètre _____ 4mm

Commentaires :



Colonne CS16 (Dionex) La phase est un polymère macroporeux d'éthylvinylbenzène réticulé avec 55 % de divinylbenzène. Le substrat est fonctionnalisé avec un acide carboxylique hydrophile.

Programme de température _____ non

Colonne _____ ■ SUPPRESSEUR

Diamètre _____ 4mm

Commentaires :

Suppresseur à membrane CMMS 300 (Dionex®) utilisée pour la suppression chimique du bruit de fond.

Programme de température _____ non

Commentaires _____ voir recommandations particulières

1 détecteur :

CONDUCTIMETRIE

Commentaires _____ Sensibilité 30 μ S, conductivité du bruit de fond < 3 μ S

Phase mobile	Pourcentage	Nature tampon	Commentaires / Débit
ACIDE METHANESULFONIQUE	2,44mL/L	Solution aqueuse d'acide méthanesulfonique (MSA \geq 99,5%) 37 mM/L (2,44 mL/L).	débit 1 mL/min

Recommandations particulières :

Régénérant : solution de tétraméthylammonium hydroxyde pentahydrate (TMAOH) à 95 % à 70 mM (63,8 g / 5 L), débit 8 mL/min. Lors de l'utilisation d'un supprimeur à membrane CMMS 300, il est important d'utiliser une pompe HPLC inerte pour avoir une bonne stabilité du débit et donc de la ligne de base. Sensibilité 30 μ S, conductivité du bruit de fond < 3 μ S.

Validation Méthode Analytique

Description de la méthode :

Cette méthode a été validée selon les recommandations et indications de la norme NF EN 1076 et en suivant le guide de **Mise au point de méthodes de prélèvement actif et d'analyse d'aérosols inorganiques**²

² <http://www.inrs.fr/dms/inrs/PDF/metropol-analyse-validation-aerosol-inorganique.pdf%20%C2%A0>

La mise au point a été réalisée pour un débit de prélèvement de 2 L/min.

Période des essais : janvier 2011 à août 2012

Matériels et réactifs utilisés pour la validation :

Matériels

Chaîne chromatographique Dionex modèle DX600 avec pompe HPLC inerte avec un débit de 8 mL/min. (AXP)

Filtre en fibre de quartz (Whatman) et filtre Téflon (Millipore)

Réactifs

- Acide sulfurique H₂SO₄ à 95 % (Prolabo Normapur)
- Solution étalon d'ion ammonium NH₄⁺ (certifiée à 1 g/L \pm 2 mg/L)
- Eau ultra-pure
- Acide méthanesulfonique MSA (\geq 99,5 % Fluka)
- Tétraméthylammonium hydroxyde pentahydrate TMAOH \geq 95 % (Aldrich)

Les essais de validation ont été réalisés sur le dispositif suivant :



Homogénéité des supports de collecte

Ces essais ont été réalisés sur 6 filtres Téflon et 6 filtres imprégnés servant de blancs de laboratoire. Chaque série est issue d'un même lot.

	Concentration en NH ₄ ⁺ (µg/mL)	Quantité de NH ₄ ⁺ sur le support (µg/filtre)	écart-type (µg/mL)
Filtre imprégné (n=6)	0,090	1,808	0,007
Filtre Téflon (n=6)	0,001	0,018	0,002

Répétabilité :**Répétabilité des injections (n=10)**

Une solution de NH₄ à 1 µg/mL a été injectée 10 fois, le même jour, dans les mêmes conditions d'analyse.
La moyenne obtenue est de 1,04 µg/mL avec un coefficient de variation de 1 %.

Répétabilité de la méthode (n=5) - Voir taux de récupération

Ces essais sont réalisés par dépôt d'une micro-goutte d'une solution de NH₄⁺ sur le filtre Téflon et aspiration jusqu'à évaporation totale.
Malgré un CV supérieur à 10 % sur la concentration la plus faible, la répétabilité de la méthode reste satisfaisante.

Répétabilité _____ 0%

Limite de détection (LD) :

La limite de détection instrumentale en NH₄⁺ a été déterminée sur 10 essais de 20 mL à l'aide de la formule suivante :

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

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

H : Hauteur du pic de l'élément considéré à la concentration la plus faible de la gamme d'étalonnage, en µS

C : Concentration de l'élément considéré à la concentration la plus faible de la gamme d'étalonnage, en µg/mL

La limite de détection instrumentale est de 0,007 µg/mL

Limite de détection (LD) _____ 0,14

Limite de quantification (LQa) :

10 supports de collecte imprégnés ont été dopés avec 70 µL d'une solution de NH₄ à 60 µg/mL.

Après séchage, ces supports ont été désorbés dans 20 mL d'eau, passés aux ultrasons 5 min, puis dosés.

La concentration attendue est de 0,2 µg/mL.

Tableau des limites de détection et de quantification de la méthode

n	Concentration en NH ₄ ⁺		Concentration atmosphérique équivalente en NH ₄ ⁺		
	En solution (µg/mL)	Support (µg/filtre)	Pour 480L d'air prélevé (mg/m ³)	Pour 30L d'air prélevé (mg/m ³)	
LD _m	10	0,050	1,008	0,002	0,034
LQ _m	10	0,168	3,360	0,007	0,112

LD_m : 3 x écart-type de 10 supports dopés - LQ_m : 10 x écart-type de 10 supports dopés

Tableau de vérification de la limite de quantification de la méthode

Concentration attendue en NH ₄ ⁺ (µg/mL)	n	Moyenne des concentrations trouvées en NH ₄ ⁺ (µg/mL)	Taux de récupération moyen NH ₄ ⁺ (%)	Ecart-type (%)	CV (%)
0,20	10	0,23	116,2	8,4	7,2

Conclusion : Les valeurs obtenues répondent aux exigences du guide de **Mise au point de méthodes de prélèvement actif et d'analyse d'aérosols inorganiques**

Limite de quantification (LQa) _____ 3,36

Réponse analytique - linéarité :

Désorption

L'extraction de l'ammoniac se fait dans 20 mL d'eau ultra pure pour les filtres en fibre de quartz imprégnés et dans 5 mL de blanc filtres pour les membranes ou filtres non imprégnés.

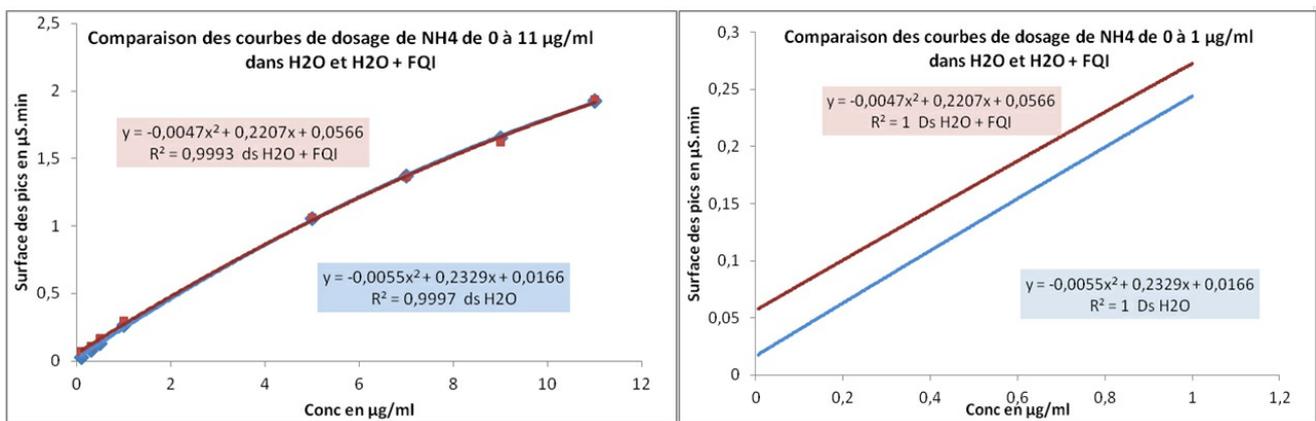
Les cassettes sont également rincées avec 5 mL de blanc filtre.

Se référer à la partie préparation de la méthode pour plus de détails.

Réponse de la méthode

Une gamme d'étalonnage comprendra un **minimum de 5 points**.

Pour une gamme d'étalonnage de 0,1 à 11 µg/mL de NH₄⁺, **la réponse obtenue est de type polynômial du second degré**.



Réponse du détecteur de 0 à 11 µg/mL de NH₄⁺ et influence de la matrice sur les courbes d'étalonnage

Récapitulatif des essais complémentaires concernant les **effets de matrice** dans les **données de validation - compléments**.

Taux de récupération

Pour réaliser ces essais, le dispositif de prélèvement a été connecté à une pompe de prélèvement réglée à 2 L/min. Un volume constant de 70 µL de NH₄OH à différentes concentrations est déposé sur le filtre en téflon et la pompe de prélèvement est mise en fonctionnement pendant environ 4h soit 480L, pour évaporer cette microgoutte. Le nombre de répétition par quantité vaporisée est de 5.

Quantité de NH ₃ vaporisée (mg)	Concentration équivalente NH ₃ (mg/m ³)		Fraction de VLEP		Taux de récupération moyen NH ₃ (%)	CV NH ₃ (%)
	480 L	30 L	VLEP-8h	VLEP-CT		
0,25	0,51	8,20	0,07	0,59	109,9 %	14,3 %
0,43	0,89	14,23	0,13	1,02	100,9 %	3,4 %
0,94	1,96	31,29	0,28	2,24	93,6 %	7,5 %
1,28	2,66	42,50	0,38	3,04	96,8 %	5,7 %
2,42	5,04	80,59	0,72	5,76	96,9 %	7,7 %
4,19	8,72	139,58	1,25	9,97	98,5 %	2,4 %
7,46	15,55	248,81	2,22	17,77	95,4 %	4,2 %

Le taux de récupération moyen, toutes concentrations confondues, est de 98,9 % avec un CV moyen de 6,5 %

Essai de claquage

Essai de claquage :

Les premiers tests effectués ont mis en évidence un problème de maintien du FQi Am (amont) pour les fortes concentrations en ammoniac. Aussi l'essai à la plus forte concentration a été réalisé en plaçant un filtre en acétate de cellulose sous le filtre FQi Am (amont) pour le maintenir correctement en place.

Pour réaliser ces essais, le dispositif de prélèvement est connecté à une pompe de prélèvement réglée à 2 L/min. Un volume constant de 70 µL de NH₄OH à différentes concentrations est déposé sur le filtre en téflon et la pompe de prélèvement est mise en fonctionnement pendant environ 4 heures pour évaporer cette microgoutte.

Les supports de collecte ont ensuite été désorbés dans l'eau et dosés. Le claquage est constaté lorsque plus de 5 % de la quantité totale en NH₃ est retrouvée sur le filtre aval.

Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Quantité de NH ₃ vaporisée (mg)	Concentration massique équivalente de NH ₃ (mg/m ³)		n	Fraction de VLEP		Taux de récupération moyen NH ₃ (%)		
	480 L	30 L		VLEP-8h	VLEP-CT	FQi Am	parois cassette	FQi Av
0,25	0,51	8,20	5	0,07	0,6	106,1	3,7	0,0
0,43	0,89	14,23	5	0,13	1,0	100,7	0,3	0,0
0,94	1,96	31,29	5	0,28	2,2	93,4	0,2	0,0
1,28	2,66	42,50	5	0,38	3,0	96,1	0,4	0,0
2,42	5,04	80,59	5	0,72	5,8	96,8	0,0	0,0
4,19	8,72	139,58	5	1,25	10,0	98,3	0,1	0,0
7,46	15,55	248,81	5	2,22	17,8	95,4	0,1	0,1
9,33	19,45	311,15	5	2,78	22,2	68,5	0,0	11,2
13,32	27,75	444,00	6	3,96	31,7	68,8	0,0	14,0
11,56	24,08	385,30	5	3,44	27,5	87,4	0,1	16,5

Conclusion : Avec un volume de prélèvement de 480 L et 30 L, le seuil de claquage se situe à une concentration comprise entre 2,22 et 2,78 VLEP-8h ou 17,8 et 22,2 VLEP-CT (seuil olfactif de 0,4 mg/m³).

Des essais complémentaires ont été réalisés au débit de **1 L/min sans le filtre en acétate de cellulose**.

Pour réaliser ces essais, le dispositif de prélèvement est connecté à une pompe de prélèvement réglée à 1 L/min. Un volume constant de 70 µL de NH₄OH à différentes concentrations est déposé sur le filtre en téflon et la pompe de prélèvement est mise en fonctionnement pendant environ 4 heures pour évaporer cette microgoutte.

n	Fraction de VLEP		Taux de récupération moyen NH ₃ (%)	
	VLEP-8h	VLEP-CT	FQi Am	FQi Av
5	2,6	21,1	91,9	3,6
5	2,3	18,7	86,8	4,2
5	1,95	15,8	92,8	3,4
5	1,6	13	94,9	0,7
5	1,3	10,6	96,9	-0,5

Conclusion : Avec un volume de prélèvement de 480 L et 30 L, le seuil de claquage n'est pas atteint si on prélève à 1 L/min.

Pour des prélèvements réalisés dans des lieux où une concentration forte en ammoniac est suspectée, il est recommandé de faire les prélèvements à 1 L/min.

Conservation après prélèvement

Méthode appliquée / conditions de prélèvement :

La conservation est réalisée pour des concentrations de $0,7 \text{ mg/m}^3$ de NH_3 (soit 0,1 VLEP-8h)

Ces essais sont réalisés avec deux séries de filtres en fibre de quartz, l'une imprégnée par $500 \mu\text{L}$ d' H_2SO_4 1,5 M et l'autre imprégnée par $500 \mu\text{L}$ d' H_2SO_4 1,5 M + 4 % de glycérol.

La conservation est réalisée pour des concentrations de $0,7 \text{ mg/m}^3$ de NH_3 (soit 0,1 VLEP-8h)

Un volume de $70 \mu\text{L}$ de solution est déposé sur le filtre téflon et le prélèvement est réalisé à 2 L/min jusqu'à disparition complète de ce micro volume.

Les cassettes sont stockées à température ambiante et dosées à J+1, J+7, J+15, J+34 et J+63.

Tableau : conservation du support de collecte après prélèvement

Nb de jours de conservation	FQi		FQi + glycérol	
	Taux de récupération NH_3 (%)	CV (%)	Taux de récupération NH_3 (%)	CV (%)
J+1	100,7	0,4	99,7	1,7
J+7	96,1	2,3	95,7	1,3
J+15	100,5	8,4	98,8	0,7
J+34	100,0	4,9	98,1	3,1
J+63	100,9	3,8	103,5	2,3

Conclusion : Pas de perte sur 63 jours de stockage et pas de différence significative entre FQi imprégnés avec ou sans glycérol.

q1

Niveau de charge 1 (q1) _____ 0,672 mg
 Conc air _____ $0,7 \text{ mg/m}^3$
 pour _____ 960 L prélevés

Temps de conservation

Temps 1 _____ 63 jour(s)(s) à 22°C

Calcul d'incertitude

Rappel : les valeurs limites à la date des essais sont : VLEP-8h : 7 mg/m^3 en NH_3 VLEP-CT : 14 mg/m^3 en NH_3

Ce tableau résume les performances de la méthode par rapport aux exigences des normes NF EN 482 et NF EN 1076 pour le prélèvement et l'analyse de NH_3 en phase vapeur.

Paramètre	Objectif	Résultats*		
		VLEP-8h 7 mg/m ³	VLEP-CT 14 mg/m ³	
Non ambiguïté	1 seule concentration			
Sélectivité	Interférences	Non étudié	Non étudié	
Temps de pondération	durée de prélèvement ≤ tps de référence VLEP	240 min	Aucun	
Etendue de mesurage	0,1 - 2 VLEP-8h 0,5 - 2 VLEP-CT	0,07 – 2,22	0,59 – 3,04	
Conditions environnementales	T, HR, P	Non étudié	Non étudié	
Dispositif de prélèvement		CFC	CFC	
Perte de charge (ΔP)	ΔP ≤ 10kPa (type A)	Non étudié	Non étudié	
Identification échantillons				
Marquage des dispositifs				
Instructions d'utilisation				
Prélèvement				
Volume prélevé	< 2/3 volume claquage (480 L)	480 L	30 L	
Conservation du dispositif 63j	écart récupération (t ₀ - t) < 10%	< 4,6%	< 4,6%	
Analyse				
LQ analytique (LQ _a)	C _{LQ} < 0,1.VLEP-8h ou 0,5.VLCT 0,7 mg/m ³ VLEP-8h 7 mg/m ³ VLEP-CT	0,007	0,112	
Taux de récupération analytique	R _{an} ≥ 75%	98,8%	100,3%	
	K _v ≤ 10%	5,4%	7,0%	
Valeur du blanc	m _B < 0,1 mLQ 22,4 µg pour VLEP-8h 21 µg pour VLEP-CT	PTFE	0,018	0,018
		FQi	1,81	1,81
Incertitude élargie	50% (0,1 - < 0,5 VLEP-8h)	50% (0,5 - 2 VLEP-CT)	27,1%	27,6%
	30% (0,5 - 2 VLEP-8h)		17,7%	

Conformité vis-à-vis exigences du référentiel : Vert = conforme ; Orange = non conforme

Conclusion :

- La méthode est conforme aux exigences des référentiels normatifs. Le seuil olfactif étant très faible (0,4 mg/m³) le dépassement de 2 VLEP-8h n'est pas supportable pour toute personne exposée.
- L'incertitude élargie de la méthode est en accord avec les exigences de la norme NF EN 482.

Informations complémentaires

- Exemples de chromatogrammes
- Récapitulatif des effets de matrice

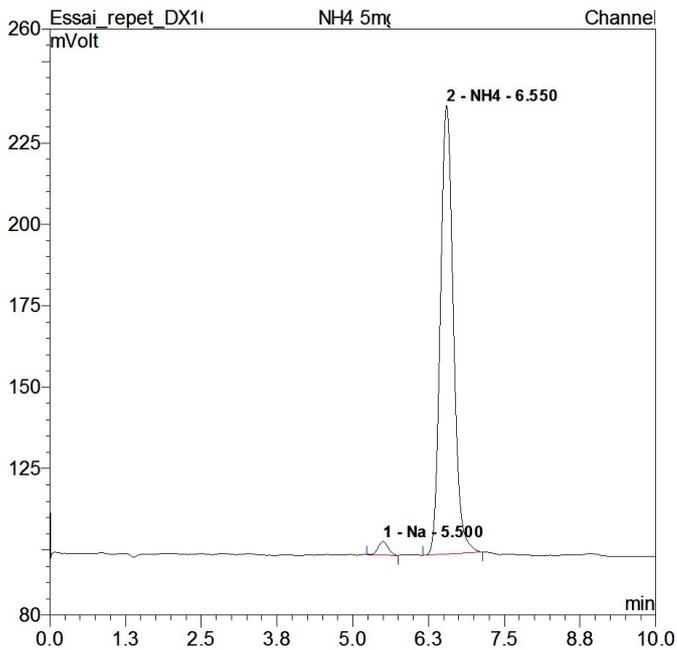
1- Exemples de chromatogrammes obtenus par chromatographie ionique avec membrane de suppression pour diverses colonnes

1.1- Colonne CS12 Dionex 4mm

Chromatogramme de NH₄⁺ à 5 mg/L

- Colonne analytique CS12 DIONEX 4 mm, et pré-colonne type CG12 DIONEX 4 mm.
- Suppresseur à membrane CMMS III DIONEX 4 mm, utilisée en suppression chimique.
- Éluant (1) : 10 mN H₂SO₄, soit 50 mL H₂SO₄ 1 N dans 5 L d'eau, débit 1 mL/min, RT NH₄ = 6,5 min.
- Régénérant : solution de tétraméthylammonium hydroxyde pentahydrate à 95 % (TMAOH) à 30 mM, débit 5 mL/min.
- Sensibilité 30 µS, conductivité du bruit de fond < 2 µS.
- Volume injecté : 20 µL

N°	Composé	Temps de rétention (min)	Aire (mV.min)	Hauteur (mV)	Concentration (mg/L)
1	Na	5,5	0,813	4,217	-
2	NH ₄	6,55	34,196	137,773	5



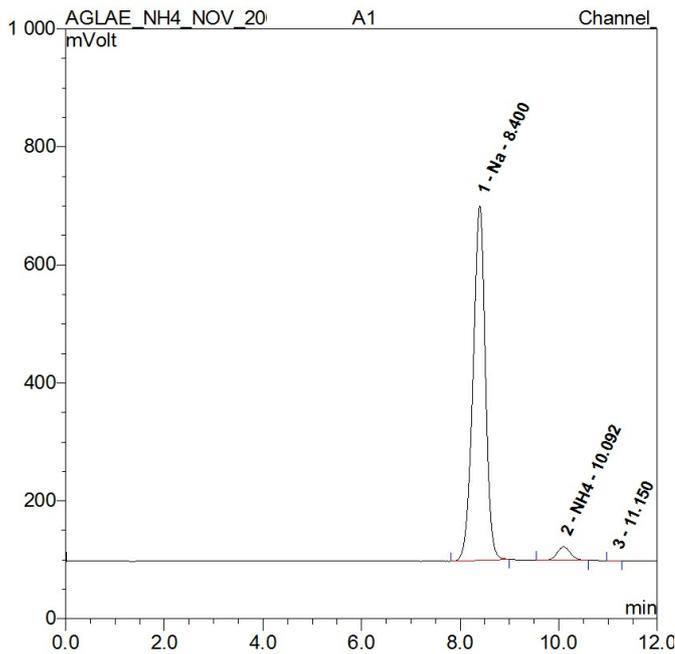
Chromatogramme de NH₄⁺ à 0,8 mg/L

- Colonne analytique CS12 DIONEX 4 mm, et pré-colonne type CG12 DIONEX 4 mm.
- Suppresseur à membrane CMMS III DIONEX 4 mm, utilisée en suppression chimique.
- Éluant (2) : 5,5 mN H₂SO₄, soit 27,5 mL H₂SO₄ 1 N dans 5 L d'eau, débit 1 mL/min, RT_{NH4} = 10,1 min.
- Régénérant : solution de tétraméthylammonium hydroxyde pentahydrate à 95 % (TMAOH) à 30 mM, débit 5 mL/min.
- Sensibilité 30 μS, conductivité du bruit de fond < 2 μS.
- Volume injecté : 20 μL

Cet éluant retarde la sortie des pics et permet une meilleure séparation des pics sodium et NH₄⁺.

Exemple de chromatogramme présentant une grande quantité de sodium par rapport à NH₄⁺

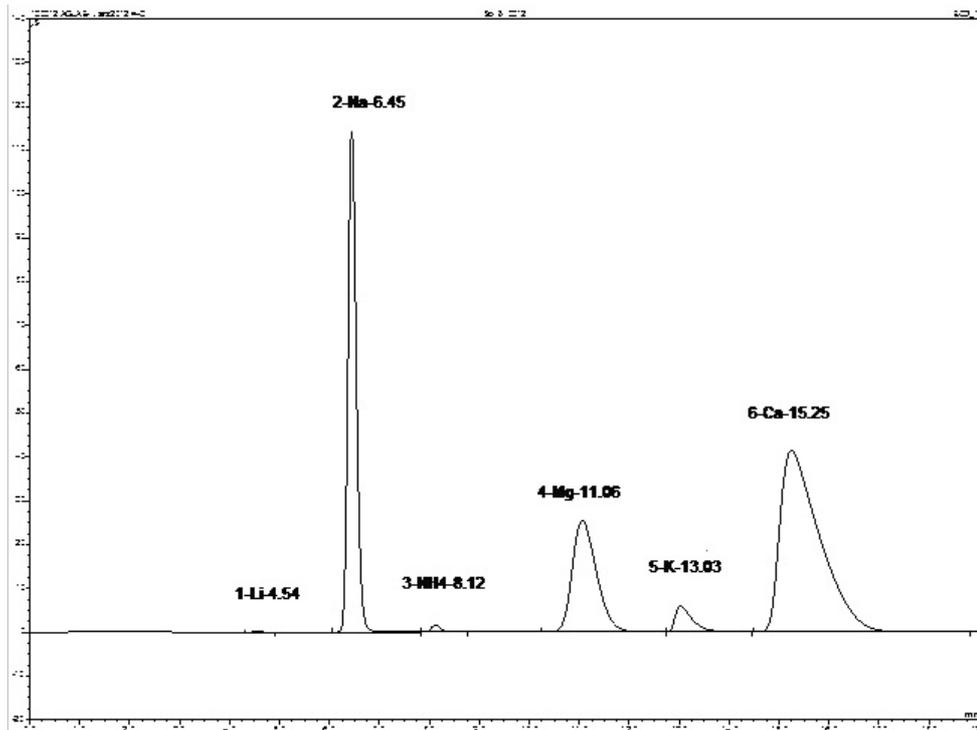
N°	Composé	Temps de rétention (min)	Aire (mV.min)	Hauteur (mV)	Concentration (mg/L)
1	Na	8,4	174,365	600,68	-
2	NH ₄	10,09	7,348	22,901	0.81



1.2- Colonne CS16 Dionex 4mm

Chromatogramme de tous les cations - concentration en NH_4^+ à 1,5 mg/L

- Colonne analytique DIONEX CS16 4 mm et précolonne type CG16 DIONEX 4 mm.
- Suppresseur à membrane CMMS 300 DIONEX 4 mm utilisée en suppression chimique.
- Eluant : acide méthanesulfonique (MSA $\geq 99.5\%$) 37 mM/L (2,44 mL/L), débit : 1 mL/min.
- Régénérant : solution de tétraméthylammonium hydroxyde pentahydrate (TMAOH) à 95 % à 70 mM (63,8 g / 5L), débit 8 mL/min. Lors de l'utilisation d'un suppresseur à membrane CMMS 300, il est important d'utiliser une pompe HPLC inerte pour avoir une bonne stabilité du débit et donc de la ligne de base.
- Sensibilité 30 μS , conductivité du bruit de fond < 3 μS
- Volume injecté : 25 μL



2- Récapitulatif des effets de matrice

Influence du glycérol sur les courbes d'étalonnage

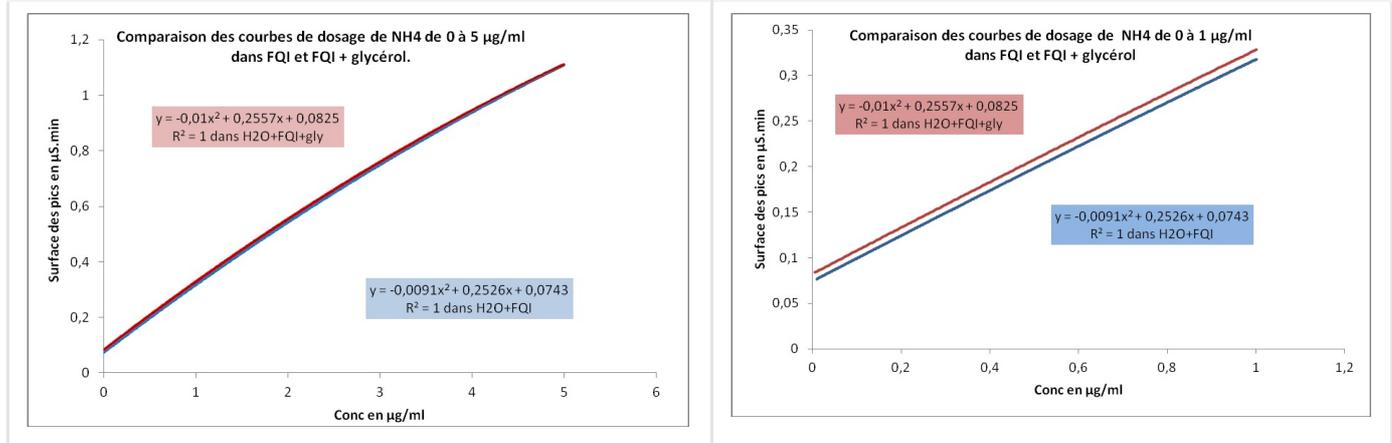


Tableau récapitulatif des effets de matrice :

comparaison étalonnage dans H ₂ O et dans H ₂ O+FQI		comparaison étalonnage dans H ₂ O et dans H ₂ O+FQI+glycérol		comparaison étalonnage dans H ₂ O+FQI et dans H ₂ O+FQI+glycérol	
Concentration en NH ₄ ⁺ (µg/mL)	% d'écart entre les courbes	Concentration en NH ₄ ⁺ (µg/mL)	% d'écart entre les courbes	Concentration en NH ₄ ⁺ (µg/mL)	% d'écart entre les courbes
(de 0 à 11)	0 %	(de 0 à 5)	7 %	(de 0 à 5)	1 %
(de 0 à 1)	20 %	(de 0 à 1)	31 %	(de 0 à 1)	5 %
(de 1 à 5)	2 %	(de 1 à 5)	5 %	(de 1 à 5)	1 %

Conclusion :

- L'étalonnage dans la matrice de l'échantillon est vivement conseillé compte-tenu de la différence de réponse de l'instrument pour les faibles concentrations.
- L'ajout de glycérol a un effet négligeable sur la courbe d'étalonnage.