

## Données de validation

Numéro de fiche	Titre
METROPOL_441	Allergènes M-441

### Données de validation principales

#### Généralités

Recherche des allergènes dans un gant.

#### Conditions analytiques

##### 1 injecteur :

PASSEUR AUTOMATIQUE

Température d'utilisation \_\_\_\_\_ 20 °C

Volume injecté \_\_\_\_\_ 2 µL

##### 1 colonne :

Colonne \_\_\_\_\_ ■ PHASE INVERSE

Nature phase \_\_\_\_\_ ■ Phényl hexyl

Granulométrie \_\_\_\_\_ 3 µm

Longueur \_\_\_\_\_ 100 mm

Diamètre \_\_\_\_\_ 2,1 mm

Température d'utilisation \_\_\_\_\_ 30 °C

Commentaires \_\_\_\_\_ colonne utilisée pour la mise au point : UHPLC Peek column-GL sciences-InertSustain Phenylhexyl®

##### 1 détecteur :

MS/MS

Phase mobile	Présence d'un tampon	Nature tampon	Commentaires / Débit
ACETONITRILE	non		A (voir gradient ci-dessous)
EAU ULTRAPURE	non		B
ACIDE ACETIQUE 5% VV	oui	ZnSO <sub>4</sub> 2,5 10 <sup>-4</sup> M	C

#### Recommandations particulières:

Débit d'élution 0,4 mL/min

Stabiliser le système avec ZnSO<sub>4</sub> et acide acétique. Si possible, remplacer l'inox par le matériau Peek.

#### Conditions d'élution

**Gradient d'éluéon**

Temps (min)	A %	B %	C %
0	2	96	2
0,5	2	96	2
4	98	0	2
8,5	98	0	2
9	2	96	2
11	2	96	2

**Attention :**

Le compromis trouvé entre résolution, temps d'analyse et sélectivité **ne permet pas l'obtention de pics chromatographiques de forme optimale pour chacun des composés recherchés.**

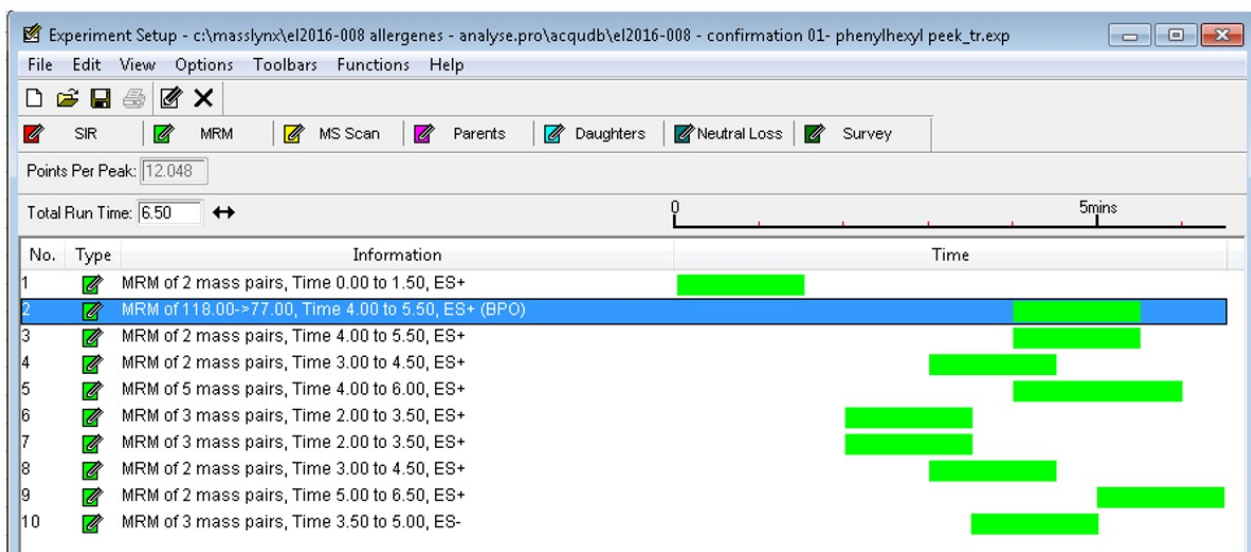
**Conditions MS/MS****Conditions MS**

Mode ion	ES +	ES -
Temp source °C	150	150
Temp désolvation °C	600	600
Débit désolvation L/h	650	650
Tension capillaire kV	3,5	2,5
Débit gaz de cône L/h	10	10

Le mode ES- est utilisé pour le Bisphénol A

Les données de transition sont fournies dans les tableaux suivants.

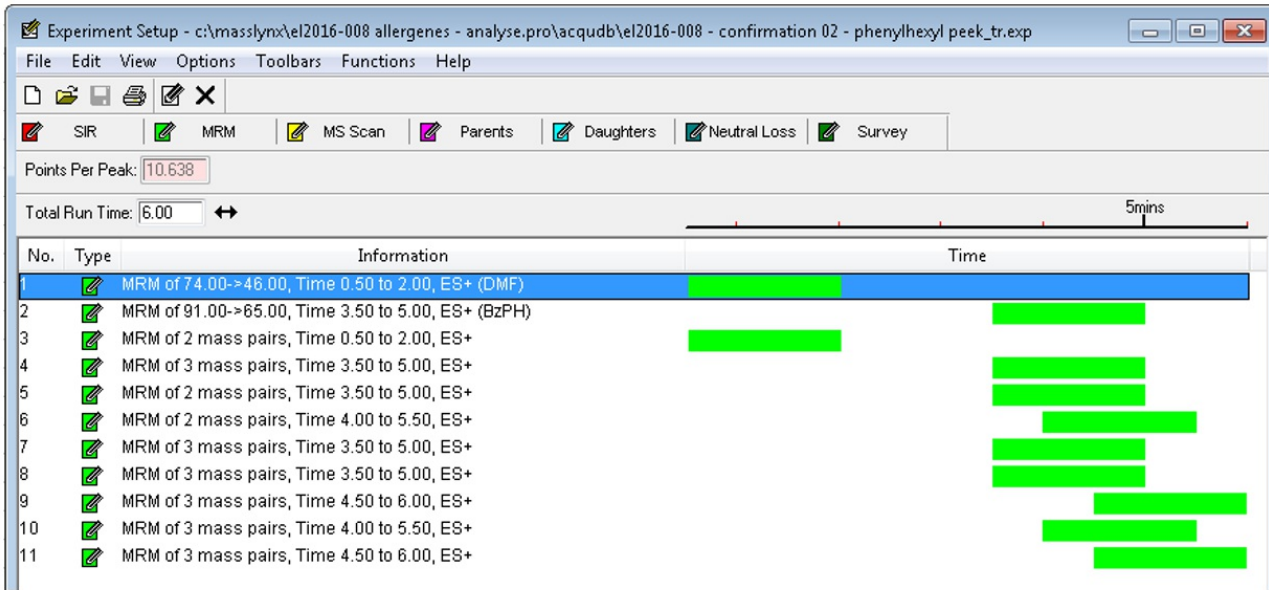
La composition optimisée des mélanges témoins est détaillée dans le paragraphe Données de validation 2.

**Conditions MS/MS1**

## Conditions MS/MS1

Molécule	Temps de rétention min	Temps de début d'acquisition min	Temps de fin d'acquisition min	Mode	Ion parent m/z	Ion fils m/z	Tension de cône V	Energie de collision V	Ratio d'aire de pic attendu
PDA	0,51	0	1,5	ES+	109	92	40	15	1
					109	65	40	20	2,3
BPO	4,74	4,0	5,5	ES+	118	77	50	15	1
IBOA	4,92	4,0	5,5	ES+	137	81	20	10	1
					137	95	20	10	1,4
FD	3,56	3,0	4,5	ES+	145	113	25	10	1
					145	85	25	15	2,3
DPTT pic 1	4,95	4,0	6,0	ES+	321	128	20	10	1
					321	160	20	15	2,8
					321	84	20	40	8,3
DPTT pic 2	5,18	4,0	6,0	ES+	192	128	30	15	1
					192	69	30	25	1,7
DPG	2,815	2,0	3,5	ES+	212	77	30	40	1
					212	94	30	20	1,1
					212	119	30	30	1,5
DOT	2,95	2,0	3,5	ES+	240	108	40	20	1
					240	133	40	25	1,2
					240	223	40	20	4,1
CPC	3,71	3,0	4,5	ES+	304	80	55	30	1
					304	71	55	25	8,4
UV-350	5,64	5,0	6,5	ES+	324	268	50	20	1
					324	212	50	30	1,8
BPA	4,04	3,5	5,0	ES-	227	212	50	20	1
					227	133	50	25	2,6
					227	93	50	25	9,6

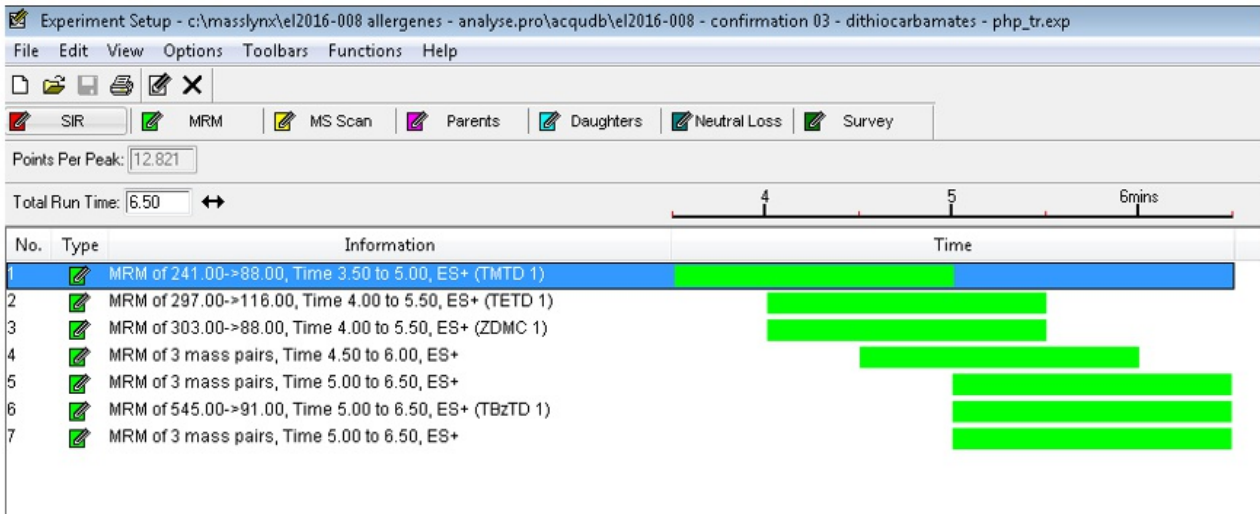
## Conditions MS/MS2



## Conditions MS/MS2

Molécule	Temps de rétention min	Temps de début d'acquisition min	Temps de fin d'acquisition min	Mode	Ion parent M/Z	Ion fils M/Z	Tension de cône V	Energie de collision V	Ratio d'aire de pic attendu
DMF	1,35	0,5	2,0	ES+	74	46	35	10	1
BzPH	4,22	3,5	5,0	ES+	91	65	50	15	1
CHAC	1,11	0,5	2,0	ES+	94	58	35	10	1
					94	77	35	10	3,6
BM	4,12	3,5	5,0	ES+	137	77	25	20	1
					137	91	25	15	1,1
					137	104	25	15	46,5
BE	4,35	3,5	5,0	ES+	151	123	25	10	1
					151	79	25	20	0,8
BP	4,54	4,0	5,5	ES+	165	123	10	15	1
					165	79	10	8	2,3
HBP	4,04	3,5	5,0	ES+	181	95	15	20	1
					181	121	15	20	1,7
					181	138	15	8	47,4
TCEP	4,01	3,5	5,0	ES+	287	125	30	15	1
					287	161	30	15	1,1
					287	225	30	10	1,4
T3P	5,16	4,5	6,0	ES+	311	217	40	20	1
					311	77	40	40	1
					311	153	40	30	4,6
TPP	4,78	4,0	5,5	ES+	327	152	60	35	1
					327	251	60	25	3,3
					327	216	60	35	122,8
TCP	5,07	4,5	6,0	ES+	369	91	60	40	1
					369	166	60	30	2,63
					369	261	60	25	18,19

## Conditions MS/MS3

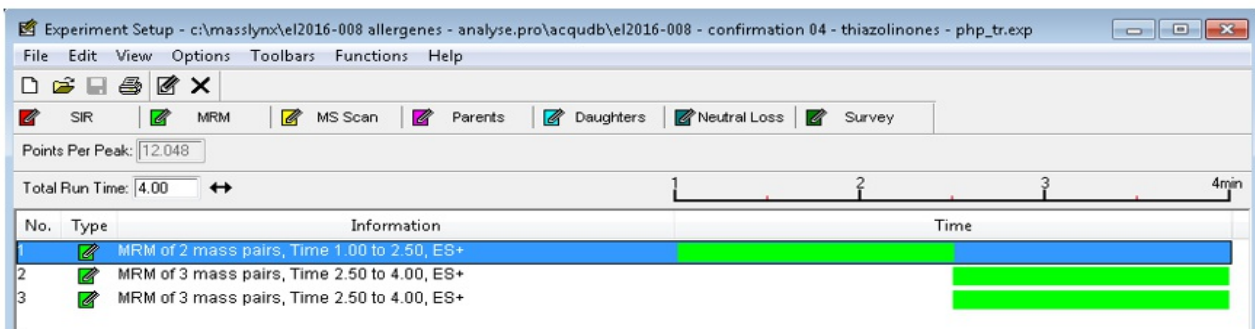


Conditions MS/MS3

Molécule	Temps de rétention min	Temps de début d'acquisition min	Temps de fin d'acquisition min	Mode	Ion parent M/Z	Ion fils M/Z	Tension de cône V	Energie de collision V	Ratio d'aire de pic attendu
TMTD (pour info)*	4,23	3,5	5	ES+	241	88	15	10	1
TETD (pour info)*	4,83	4,0	5,5	ES+	297	116	20	10	1
ZDMC	4,70	4,0	5,5	ES+	303	88	40	25	1
ZDEC	5,17	4,5	6,0	ES+	359	116	30	25	1
					359	88	30	25	2,6
					359	212	30	25	8,7
ZDBC	5,90	5,0	6,5	ES+	471	172	30	25	1
					471	116	30	30	1,2
					471	268	30	20	7,0
TBzTD (pour info)	5,64	5,0	6,5	ES+	545	91	20	10	1
ZBEC	5,90	5,0	6,5	ES+	607	91	30	60	1
					607	212	30	30	1,6
					607	196	30	25	3,8

\* Pour vérifier la dégradation des dithiocarbamates en thiurames.

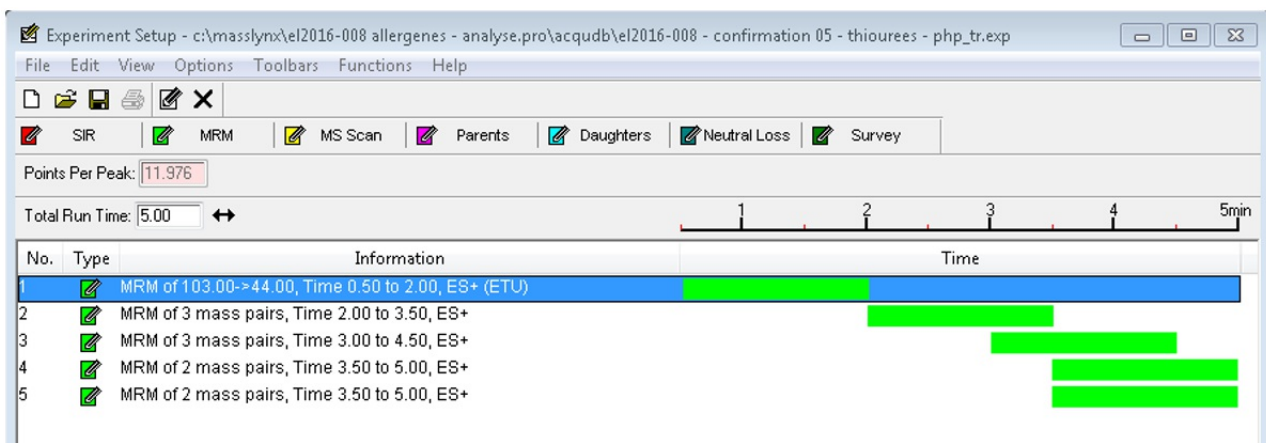
Condition MS/MS4



## Conditions MS/MS4

Molécule	Temps de rétention min	Temps de début d'acquisition min	Temps de fin d'acquisition min	Mode	Ion parent M/Z	Ion fils M/Z	Tension de cône V	Energie de collision V	Ratio d'aire de pic attendu
MIT	1,97	1,0	2,5	ES+	116	101	40	20	1
					116	85	40	20	2,4
CMIT	3,02	2,5	4,0	ES+	150	87	40	30	1
					150	135	40	25	1,5
					150	115	40	20	1,4
BIT	3,25	2,5	4,0	ES+	152	109	50	20	1
					152	134	50	20	1,2
					152	105	50	20	1,4

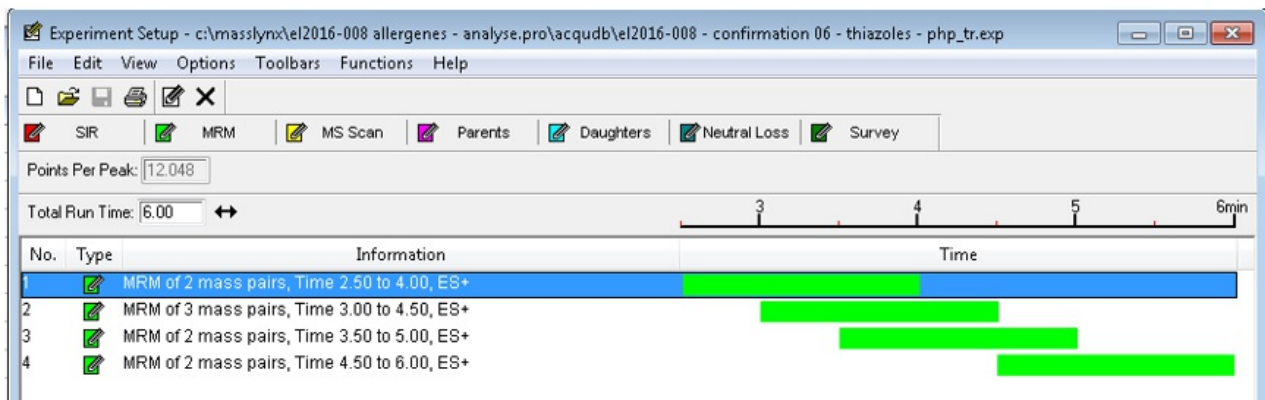
## Conditions MS/MS5



## Conditions MS/MS5

Molécule	Temps de rétention min	Temps de début d'acquisition min	Temps de fin d'acquisition min	Mode	Ion parent M/Z	Ion fils M/Z	Tension de cône V	Energie de collision V	Ratio d'aire de pic attendu
ETU	1,17	0,5	2,0	ES+	103	44	45	15	1
DETU	2,99	2,0	3,5	ES+	133	46	20	10	1
					133	60	20	20	2,7
					133	88	20	15	2,7
EBTU	3,72	3,0	4,5	ES+	161	46	20	10	1,1
					161	116	20	10	15,4
					161	74	20	10	1
DBTU	4,17	3,5	5,0	ES+	189	74	20	10	1
					189	57	20	20	1,8
DPTU	4,16	3,5	5,0	ES+	229	94	40	20	1
					229	136	40	20	1,9

## Conditions MS/MS6

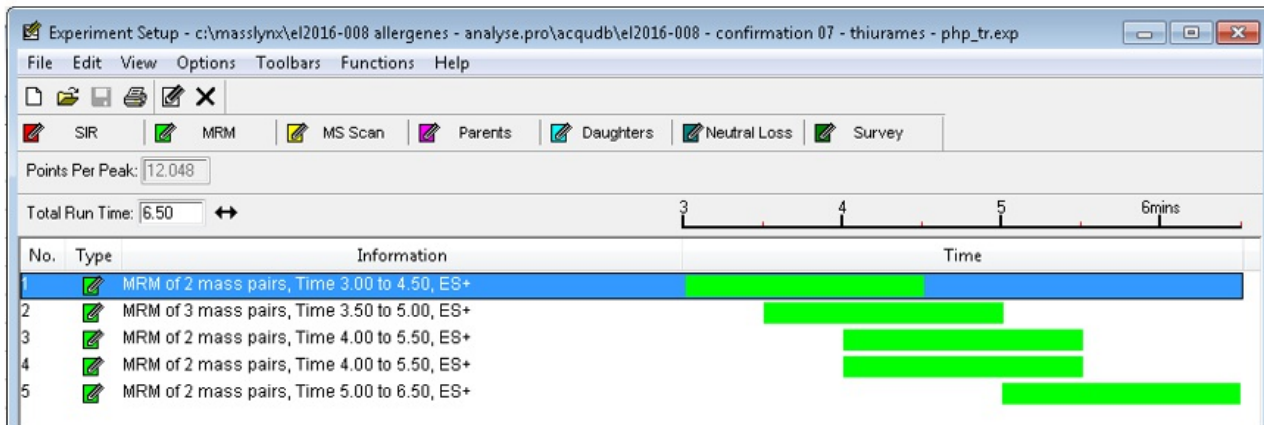




## Conditions MS/MS6

Molécule	Temps de rétention min	Temps de début d'acquisition min	Temps de fin d'acquisition min	Mode	Ion parent M/Z	Ion fils M/Z	Tension de cône V	Energie de collision V	Ratio d'aire de pic attendu
MBI	3,19	2,5	4,0	ES+	151	93	50	25	1
					151	118	50	25	1,7
MBT	3,93	3,0	4,5	ES+	168	135	50	25	1
					168	124	50	20	2,0
					168	109	50	25	2,3
MMBT	4,04	3,5	5,0	ES+	221	109	50	40	1,3
					221	177	50	20	1
MBTS	5,23	4,5	6,0	ES+	333	167	40	30	1
					333	91	40	50	14,6

## Conditons MS/MS7



## Conditions MS/MS7

Molécule	Temps de rétention min	Temps de début d'acquisition min	Temps de fin d'acquisition min	Mode	Ion parent M/Z	Ion fils M/Z	Tension de cône V	Energie de collision V	Ratio d'aire de pic attendu
TMTM	3,98	3,0	4,5	ES+	209	88	20	10	1
					209	164	20	5	29,8
TMTD	4,22	3,5	5,0	ES+	241	88	15	10	1
					241	120	15	15	1,7
					241	196	15	5	3,6
DEDMTD	4,6	4,0	5,5	ES+	269	116	20	10	1
					269	148	20	15	4,3
TETD	4,83	4,0	5,5	ES+	297	116	20	10	1
					297	148	20	20	4,6
TBzTD	5,62	5,0	6,5	ES+	545	91	20	25	1
					545	240	20	10	1,6

## Données de validation - données 2

## Composition optimisée des 11 mélanges étalon.

**Mélange 1 recommandé : mélange des 6 solutions-filles, à 10 µg/mL chacune, dans l'acide acétique 5 %.**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère
2-Mercaptobenzimidazole	MBI	6	Méthanol
Ethylbutylthiourée	EBTU	5	Méthanol
Benzoate d'éthyle	BE	2	Méthanol
4-(benzyloxy)phénol	BzPH	2	Méthanol
Benzoate de propyle	PB	2	Méthanol
Acrylate d'isobornyle	IBOA	1	Méthanol

**Mélange 2 recommandé : mélange des 4 solutions-filles, chacune à 10 µg/mL, dans le méthanol.**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère
Paraphénylène diamine	PDA	1	Dichlorométhane
2-Mercaptobenzothiazole	MBT	6	Méthanol
Chlorure de cétylpyridinium	CPC	1	Méthanol
2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4-(tert-butyl)-6-(sec-butyl)phenol	UV-350	1	Méthanol

**Mélange 3 recommandé : mélange des 3 solutions-filles, aux concentrations indiquées, dans le méthanol.**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère	Concentration solution fille
Cloroacétamide	CHAC	2	Méthanol	500 µg/mL
Benzoate de méthyle	BM	2	Méthanol	100 µg/mL
Disulfure de benzothiazole	MBTS	6	THF	10 µg/mL

**Mélange 4 recommandé : mélange des 4 solutions-filles, à 10 µg/mL sauf BPO, dans le méthanol.**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère	Concentration solution fille
Ethylène thiourée	ETU	5	Méthanol	
2-(Morpholinothio)benzothiazole <i>Obtenu par réaction entre 2-MBT et MBTS</i>	MMBT	6	THF	
Monosulfure de tétraméthylthiurame	TMTM	7	Méthanol	
Peroxyde de dibenzoyl	BPO	1	Méthanol	79 µg/mL fraichement préparée

**Mélange 5 recommandé : mélange des 4 solutions-filles, chacune à 10 µg/mL, dans le méthanol.**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère
Diméthylformamide	DMF	2	Méthanol
Phosphate de tris-(2-chloéthyle)	TCEP	2	Méthanol
Phosphate de triphényle	TPP	2	Méthanol
Disulfure de tétrabenzylthiurame	TBzTD	3	Acétone

**Mélange 6 recommandé : mélange des 4 solutions-filles, chacune à 10 µg/mL, dans le méthanol.**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère
Isothiazolones	MIT(CMIT)	4	Solution sigma 48121 à 1,5 % dans l'eau
Isothiazolones	CMIT(MIT)	4	
4-Hydroxybenzoate de propyle	HBP	2	Méthanol
Disulfure de tétraéthylthiurame	TETD	3	Méthanol

**Mélange 7 recommandé mélange des 3 solutions-filles, chacune à 10 µg/mL, dans le méthanol**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère
1,3-diphénylguanidine	DPG	1	Méthanol
Disulfure de tétraméthylthiurame	TMTD	3	Acétonitrile
Hexasulfure de dipentaméthylène thiurame	DPTT	1	Acétone

**Mélange 8 recommandé : mélange des 4 solutions-filles, chacune à 10 µg/mL, dans le méthanol.**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère
1,3 Diéthylthiourée	DETU	5	Méthanol
Bisphénol A	BPA	1	Méthanol
Phosphate de tricrésyle	TCP	2	Méthanol
Bis(dibenzylthiocarbamate) de zinc	ZBEC	3	Acétone

**Mélange 9 recommandé mélange des 3 solutions-filles, chacune à 10 µg/mL, dans le méthanol**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère
1,3-Di-o-tolyguanidine	DOTG	1	Méthanol
1,3-Dibutylthiourée	DBTU	5	Méthanol
Bis(dibutylthiocarbamate) de zinc	ZDBC	3	Acétone

**Mélange 10 recommandé : mélange des 3 solutions-filles, chacune à 10 µg/mL dans le méthanol**

Nom allergène	Abréviation	Conditions MS/MS	Solvant solution mère
Benzisothiazolone ou kathon	BIT	4	Méthanol
N,N-Diphénylthiourée ou thiocarbanilide	DPTU	5	Méthanol
Diéthylthiocarbamate de zinc	ZDEC	3	Acétone

**Mélange 11 recommandé : mélange des 4 solutions-filles, à 10 µg/mL sauf FD, dans le méthanol.**

Nom allergène	Abréviation	Condition MS/MS	Solvant solution mère	Concentration solution fille
Fumarate de diméthyle	FD	1	Méthanol	500 µg/mL
Diméthylthiocarbamate de zinc ou Ziram	ZDMC	3	Acétone	
Phosphite de triphényle	T3P	2	Méthanol	
N,N-Alkylthiourée : mélange de DETU et DBTU +EBTU par réaction	DATU	5	Méthanol	

**Mélange 12 de TETD et TMTD (10 µg/mL dans le méthanol) recommandé pour confirmer la présence de DEDMTD**

Nom allergène	Abréviation	MS/MS	Solvant solution mère
Disulfure de tétraéthylthiurame	TETD	7	Méthanol
Disulfure de tétraméthylthiurame	TMTD	7	Acétonitrile
Disulfure de N,N'-diéthyl-N',N'-diméthylthiurame : obtenu par réaction entre TMTD et TETD	DEDMTD	7	

## Informations complémentaires

## Liste des 43 allergènes pour lesquels la méthode a été validée

Famille	Nom de l'allergène	Abréviation	CAS	Masse molaire	Formule
Thiurames	Disulfure de tétraéthylthiurame	TETD	97-77-8	296,5	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub>
	Monosulfure de tétraméthylthiurame	TMTM	97-74-5	208,4	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S <sub>3</sub>
	Disulfure de tétraméthylthiurame	TMTD	137-26-8	240,43	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S <sub>3</sub>
	Disulfure de tétrabenzylthiurame	TBzTD	10591-85-2	544,82	C <sub>30</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub>
	Disulfure de N,N-diéthyl-N',N'-diméthylthiurame	DEDMTD	84145-11-9	268,48	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub>
	Hexasulfure de dipentaméthylèthiurame	DPTT	971-15-3	448,8	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> S <sub>8</sub>
Thiazoles	Disulfure de benzothiazole	MBTS	120-78-5	332,49	C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub>
	2-Mercaptobenzimidazole	MBI	583-39-1	150,2	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> S
	Mercaptobenzothiazole	MBT	149-30-4	167,3	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NS <sub>2</sub>
	2-(Morpholinotio)benzothiazole (mél de 2- MBT et MBTS)	MMBT	102-77-2	252,4	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> OS <sub>2</sub>
Thiourées	Ethylene thiourée	ETU	96-45-7	102	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> S
	1,3-Diéthyl-2-thiourée	DETU	105-55-5	132	(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NH) <sub>2</sub> CS
	1,3-dibutyl-2-thiourée	DBTU	109-46-6	188	C <sub>9</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> S
	N,N-Alkylthiourées (mel DETU et DBTU)	DATU			
	Ethylbutylthiourée	EBTU	32900-06-4	160,28	C <sub>7</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> S
	N,N-Diphénylthiourée ( Thiocarbanilide)	DPTU	102-08-9	228	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S
Thiazolinones	Benzisothiazolone-Kathon	BIT	2634-33-5	151,19	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NOS
	Isothiazolones (Méthyl- et )Chlorométhylisothiazolone	CMIT/MIT	CMIT 26172-55-4 MIT 2682-20-4 Mélange 55965-84-9	CMIT 149,6 MIT 115,15	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> CINOS C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> NOS
Amides	Chloroacétamide	CHAC	79-07-2	93,5	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> CINO
Guanidines	1,3-Diphényl guanidine	DPG	102-06-7	211	C <sub>13</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>
	1,3-Di- o-Tolyguanidine	DOT	97-39-2	239,32	C <sub>15</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub>
Parabens	Benzoate de méthyle	BM	93-58-3	136,15	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>
	Benzoate d'éthyle	BE	93-89-0	150,17	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>
	Benzoate de propyle	PB	2315-68-6	164,2	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
	4 Hydroxybenzoate de propyle	HBP	94-13-3	180,2	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>
Phosphates	Phosphate de tricrésyle	TCP	78-30-8	368,4	C <sub>21</sub> H <sub>21</sub> O <sub>4</sub> P
	Phosphate de triphényle	TPP	115-86-6	326,3	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> P
	Triphényl phosphite	T3P	101-02-0	310,3	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> P
	Phosphate de tris [2-chloroéthyle]	TCEP	115-96-8	285,49	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>4</sub> P
Bisphénols	Bisphénol A	BPA	80-05-7	228,29	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>

Diamines aromatiques	Paraphénylènediamine	PDA	106-50-3	108,14	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>
Amides	Diméthylformamide	DMF	68-12-2	73	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO
Esters	Fumarate de diméthyle	FD	624-49-7	144,12	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>
Ammoniums quaternaires	Chlorure de cétylpyridinium	CPC	123-03-5	340	C <sub>21</sub> H <sub>38</sub> ClN
Phénols	2-(2H-Benzotriazol-2-yl) 4 (tert-butyl) 6 (sec-butyl)phénol	UV-350	36437-37-3	323,4	C <sub>20</sub> H <sub>25</sub> N <sub>3</sub> O
Acyles	Peroxyde de benzoyle	BPO	94-36-0	242,23	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
Acrylates	Acrylate d'isobornyle	IBOA	5888-33-5	208,3	C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
Hydroquinones	4-(Benzyloxy)phénol	BzPH	103-16-2	200,23	C <sub>13</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
Dithiocarbamates	Bis(dibenzylthiocarbamate) de zinc	ZBEC	14726-36-4	610,19	C <sub>30</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> Zn
	Bis(dibutylthiocarbamate) de zinc	ZDBC	136-23-2	474,1	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> Zn
	Diéthylthiocarbamate de zinc	ZDEC	14324-55-1	361,9	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> Zn
	Diméthylthiocarbamate de zinc - ziram	ZDMC	137-30-4	305,8	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> Zn