

Composés pharmaceutiques

Méthode d'analyse dans les eaux – Phase dissoute

Généralités

Nom de la famille de substances	Composés pharmaceutiques
Nom des substances individuelles	psychotropes : alprazolam, lorazépam, oxazépam, zolpidem ; hypolipidémiants : bézafibrate, acide fénofibrique ; analgésiques : kétoprofène, diclofénac ; béta-bloquants : aténolol, métoprolol, propranolol ; antibiotiques : sulfaméthoxazole, triméthoprim
Code SANDRE des substances individuelles	psychotropes : 5370, 5374, 5375, 5376 hypolipidémiants : 5366, 5369 analgésiques : 5353, 5349 béta-bloquants : 5361, 5362, 5363 antibiotiques : 5356, 5357
Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]	Eau : Eau douce de surface [3] Eau souterraine [3]
Principe de la méthode	Extraction sur phase solide et analyse en chromatographie phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (ESI+)
Acronyme	EPS/CL/SM/SM
Domaine d'application	De la limite de quantification (2 à 13 ng/L) à 2 µg/L
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	N/A
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	N/A
Interférents (préciser la matrice)	N/A

AVERTISSEMENT : Il convient que l'utilisateur de cette méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Cette méthode n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.

Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à cette méthode soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	Eau : Phase dissoute
Conditionnement et conservation des échantillons	

<ul style="list-style-type: none"> - Protocole : - Nature du contenant de stockage : - Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) : 	<p>Conservation à l'obscurité et à 4°C.</p> <p>Prélèvement dans des flacons en verre ambré, à usage unique.</p> <p>N/A (contenant neuf)</p> <p>Stabilité eau souterraine : 7 jours à 4°C (kétoprofène 6 jours)</p>
<p>Filtration :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Type de filtre et méthode de nettoyage : - Type de support de filtration : 	<p>Filtre en fibre de verre (masse spécifique comprise entre 50 et 100 g/cm³) ; nettoyage au four à 500°C pendant 2 heures.</p> <p>Fiole à vide (nettoyage détergent et passage au four à 500°C pendant 2 heures.)</p>
<p>Pré-traitement des échantillons liquide ou solide</p>	<p>Ajout d'un étalon interne : 1 mL d'une solution à 0,1 mg/L de diazépam-d5 dans le méthanol, soit 0,1 µg/L dans l'échantillon.</p>
Analyse	
<p>Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)</p>	<p>1000 mL</p>
<p>Dérivation</p>	<p>N/A</p>
<p>Extraction</p> <ul style="list-style-type: none"> - Liquide / Liquide 	<p>Avant extraction, ajuster le pH de l'échantillon filtré à pH=7, par ajout d'acide acétique pur.</p> <p>Extraction automatique sur AutoTrace™ :</p> <p>Cartouche Oasis HLB (masse d'adsorbant 500 mg, volume de la cartouche 6 mL, diamètre des particules 60 µm)</p> <p>Conditionnement de la cartouche à 5 mL/min avec 5 mL de méthanol qualité HPLC, et 5mL d'eau (qualité HPLC gradient grade) à pH7</p> <p>Chargement de l'échantillon à 10 mL/min</p> <p>Lavage à 5 mL/min avec 2 mL du mélange (eau/méthanol 90/10, v/v)</p> <p>Séchage par flux d'azote pendant 1 heure (0.6 à 0.7 bar)</p> <p>Elution à 5 mL/min avec 10 mL de méthanol</p> <p>Evaporation de l'extrait à sec sous flux d'azote et reprise dans 0,330 mL du mélange eau méthanol (70/10, v/v)</p> <p>Les solvants utilisés sont de qualité HPLC.</p>
<p>Purification</p>	<p>N/A</p>
<p>Conservation de l'extrait</p>	<p>Conservation au congélateur (-20°C) avant analyse.</p> <p>Durée de stabilité testée : 16 jours</p>
<p>Volume ou masse finale avant analyse :</p>	<p>0,330 mL (eau / méthanol, 70/30, v/v)</p>

Méthode analytique utilisée :

Pour la détection par masse :
mode d'ionisation et ions de
quantification et de confirmation

Colonne Atlantis C18 : longueur 150 mm, diamètre interne 2,1 mm, diamètre des particules 3µm

Température de la colonne : 25°C

Volume d'injection : 15 µL

Les solvants sont de qualité HPLC gradient grade

Voie A : eau /méthanol 90/10, v/v + acide acétique 0,05%

Voie B : méthanol + acide acétique 0,05%

Débit : 200µL/min

Temps (min)	Composition (%)	Durée (min)
0	100% A	-
30	100% B	2
33	100% A	7

Spectrométrie de masse :

Mode ionisation ESI+

Analyseur : trappe ionique (MS²)

Les composés sont identifiés/confirmés par la présence d'au moins 2 ions fils en MS². Dans le cas de l'acide fénofibrique et du kétoprofène (1 seul ion fils en MS²), l'identité est confirmée en MS³.

Composés	Ion précurseur (m/z)	Ions fils de quantification en MS ² (m/z)	Ions fils de confirmation en MS ³ (m/z)
Aténolol	267	190+208+225	
Triméthoprim	291	123+230+258	
Zolpidem	308	235+263	
Métoprolol	268	116+191+218	
Sulfaméthoxazole	254	147+156+188	
Propranolol	260	116+157+183	
Lorazépam	321	275+303	
Oxazépam	287	241+269	
Alprazolam	309	206+274+281	
Kétoprofène	255	209	105+131+194
Bézafibrate	362	276+316	
Diclofénac	296	250+278	
Acide fénofibrique	319	233	121+139
Diazépam d-5	290	227+233+262	
Oxazépam d-5	292	246+274	

**Equipements¹
(modèles utilisés) :**

Equipement Thermo-Fisher :

- Autosampler AS2000®
- Pompe HPLC Surveyor MS®
- Trappe d'ion LCQ Deca XP+®

¹ Les matériels cités ici constituent des exemples d'application satisfaisante. Ces mentions ne constituent pas une recommandation exclusive, ni un engagement quelconque de la part du rédacteur ou d'AQUAREF

Type d'étalonnage	Interne
Modèle utilisé	Etalonnage linéaire
Etalons / Traceurs utilisés	Etalon interne : oxazépam-d5, ajouté avant l'injection (300 µg/l dans l'extrait). Traceur : Diazépam d5 (150 µg/l dans l'extrait)
Domaine de concentration	Domaine de la gamme d'étalonnage : 1 à 200 µg/L et 5 à 200 µg/L selon les composés (voir LQ)
Méthode de calcul des résultats Blancs	Correction du résultat avec le rendement du composé (cf. rendement) Eau Evian (bouteille plastique), suivant toute la procédure. Soustraction du blanc : non Critère : vérification que chacune des concentrations des composés d'intérêt dans le blanc sont bien inférieures à leur LQ respective

Références de la méthode

La méthode est dérivée de la publication suivante	N/A
Norme dont est tirée la méthode	N/A
Niveau de validation selon Norman	Niveau 1

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée	XP T 90-210 (décembre 1999)																												
Domaine de validation	LQ à 2 µg/l																												
Matériaux de référence utilisés	N/A																												
Blancs analytiques	Vérification que chacune des concentrations des composés d'intérêt dans le blanc sont bien inférieures à leur LQ respective																												
Rendement	<p>Matrice : 13 eaux de surface différentes Détermination du rendement moyen par dopage des 13 eaux à 150 ng/L. Les rendements ont été vérifiés au niveau de la limite de quantification par dopage de 6 eaux de surface à la LQ</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Composé</th> <th>R % (n=13)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Aténolol</td> <td>104 ± 15</td> </tr> <tr> <td>Triméthoprim</td> <td>94 ± 10</td> </tr> <tr> <td>Zolpidem</td> <td>90 ± 13</td> </tr> <tr> <td>Métoprolol</td> <td>99 ± 9</td> </tr> <tr> <td>Sulfaméthoxazole</td> <td>87 ± 6</td> </tr> <tr> <td>Propanolol</td> <td>99 ± 15</td> </tr> <tr> <td>Lorazépam</td> <td>80 ± 6</td> </tr> <tr> <td>Oxazépam</td> <td>92 ± 6</td> </tr> <tr> <td>Alprazolam</td> <td>97 ± 9</td> </tr> <tr> <td>Kétoprofène</td> <td>77 ± 12</td> </tr> <tr> <td>Bézafibrate</td> <td>80 ± 10</td> </tr> <tr> <td>Diclofénac</td> <td>73 ± 15</td> </tr> <tr> <td>Acide fénofibrique</td> <td>69 ± 14</td> </tr> </tbody> </table>	Composé	R % (n=13)	Aténolol	104 ± 15	Triméthoprim	94 ± 10	Zolpidem	90 ± 13	Métoprolol	99 ± 9	Sulfaméthoxazole	87 ± 6	Propanolol	99 ± 15	Lorazépam	80 ± 6	Oxazépam	92 ± 6	Alprazolam	97 ± 9	Kétoprofène	77 ± 12	Bézafibrate	80 ± 10	Diclofénac	73 ± 15	Acide fénofibrique	69 ± 14
Composé	R % (n=13)																												
Aténolol	104 ± 15																												
Triméthoprim	94 ± 10																												
Zolpidem	90 ± 13																												
Métoprolol	99 ± 9																												
Sulfaméthoxazole	87 ± 6																												
Propanolol	99 ± 15																												
Lorazépam	80 ± 6																												
Oxazépam	92 ± 6																												
Alprazolam	97 ± 9																												
Kétoprofène	77 ± 12																												
Bézafibrate	80 ± 10																												
Diclofénac	73 ± 15																												
Acide fénofibrique	69 ± 14																												

**Limite de quantification(LQ)
Limite de détection (LD)**

Les limites de quantification ont été vérifiées selon XP T 90-210 (décembre 1999), par dopage d'une eau minérale Evian puis de 6 eaux de surface différentes.

Composés	LQ (ng/L)	LD (ng/L)
Aténolol	13	4
Triméthoprim	13	4
Zolpidem	2	0,7
Métoprolol	5	2
Sulfaméthoxazole	6	2
Propranolol	10	3
Lorazépam	6	2
Oxazépam	2	0,7
Alprazolam	5	2
Kétoprofène	50	20
Bézafibrate	50	20
Diclofénac	7	2
Acide fénofibrique	5	2

Incertitudes (%) sur les résultats

Méthode d'évaluation suivant la méthode GUM. Les incertitudes liées à la courbe d'étalonnage et à l'extraction (fidélité et justesse) sont prises en compte, les incertitudes sur les pesées (échantillon, étalon interne...) et la préparation de la gamme d'étalonnage sont négligeables.

Facteur d'élargissement : $k = 2$

Composés	à la LQ	50 à 200 ng/L
Aténolol	55%	45%
Triméthoprim	50%	30%
Zolpidem	55%	40%
Métoprolol	55%	45%
Sulfaméthoxazole	60%	45%
Propranolol	50%	45%
Lorazépam	50%	30%
Oxazépam	45%	30%
Alprazolam	45%	40%
Kétoprofène	40%	40%
Bézafibrate	40%	40%
Diclofénac	60%	45%
Acide fénofibrique	55%	45%

Contacts

Auteurs

Sébastien BRISTEAU

Institut

BRGM

Contact

s.bristeau@brgm.fr