

## Bêtabloquants

### Méthode d'analyse dans les eaux - Phase dissoute

#### Généralités

<b>Nom de la famille de substances</b>	Bêtabloquants										
<b>Nom des substances individuelles</b>	acébutolol, aténolol, bêtaxolol, bisoprolol, metoprolol, nadolol, oxprénolol, propranolol, sotalol et timolol										
<b>Code SANDRE des substances individuelles</b>	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">Acébutolol : 6456</td> <td style="width: 50%;">Nadolol : 6443</td> </tr> <tr> <td>Aténolol : 5361</td> <td>Oxprénolol : 6448</td> </tr> <tr> <td>Bêtaxolol : 6457</td> <td>Propranolol : 5363</td> </tr> <tr> <td>Bisoprolol : 6453</td> <td>Sotalol : 5424</td> </tr> <tr> <td>Metoprolol : 5362</td> <td>Timolol : 6444</td> </tr> </table>	Acébutolol : 6456	Nadolol : 6443	Aténolol : 5361	Oxprénolol : 6448	Bêtaxolol : 6457	Propranolol : 5363	Bisoprolol : 6453	Sotalol : 5424	Metoprolol : 5362	Timolol : 6444
Acébutolol : 6456	Nadolol : 6443										
Aténolol : 5361	Oxprénolol : 6448										
Bêtaxolol : 6457	Propranolol : 5363										
Bisoprolol : 6453	Sotalol : 5424										
Metoprolol : 5362	Timolol : 6444										
<b>Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]</b>	Eau [3] : Eau douce de surface Eau résiduaire										
<b>Principe de la méthode</b>	Extraction/concentration des composés par SPE Analyse par LC/MS-MS										
<b>Acronyme</b>	SPE / LC / MS-MS										
<b>Domaine d'application</b>	Limite inférieure : LQ Limite supérieure : dépend du dernier point de gamme injecté, du volume de reprise dans l'étalon interne et de la dilution de l'échantillon (à titre d'indication pour un dernier point de gamme à 200 µg/L, un volume de reprise de 500 µL et sans dilution de l'échantillon : 1000 ng/L)										
<b>Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode</b>	La verrerie de laboratoire lavée est rincée à l'acétone Tous les solvants sont de qualité « pour analyse de pesticides »										
<b>Interférents (préciser la matrice)</b>	pas d'interférents identifiés. Nous avons observé des effets de matrice suivant qu'il s'agit d'effluents secondaires, tertiaires ou d'eaux de rivière. Le fait de corriger par les traceurs internes deutérés permet de s'affranchir de ces effets de matrice.										

**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 [3]

#### Conditionnement et conservation des échantillons

- Protocole :

-Ajout d'additif (0.1% d'acide formique, v/v) dans l'échantillon d'eau préalablement filtré.

- Nature du contenant de stockage :

-Verre brun

- Lavage du contenant :

- Lavage à la machine, rinçage à l'acétone

- Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :

- Conservation d'un échantillon d'effluent dopé à 125 ng/L sur une durée de 6 jours vérifiée (pour les 10 molécules).

#### Filtration :

- Type de filtre et méthode de nettoyage :

- Filtres Whatman en fibre de verre, porosité de 0,7 µm, diamètre de 45 mm (préalablement calcinés 1 heure à 450 °C)

- Type de support de filtration :

- Système de filtration en verre (1 litre) Sartorius

### Analyse

#### Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)

Eau : Eau douce de surface **100 mL**  
Effluent de STEP **100 mL**  
Influent de STEP **100 mL**

#### Extraction

- SPE (préciser le type de cartouche, la nature et les volumes des solvants de lavage et d'élution)

SPE sur cartouches mixtes échangeuses de cations Oasis (Waters©) MCX 150mg, 6mL.

Conditionnement : 3 mL de méthanol puis 3 mL d'un mélange eau/acide formique, 99,8/0,2 (v/v).

Percolation : 100mL de l'échantillon préalablement acidifié avec 0.1 % volumique d'acide formique.

Rinçage : 3 mL d'un mélange acétonitrile/acide formique, 99,8/0,2 (v/v)

Séchage de la cartouche d'extraction sous azote

Elution : 3 mL d'un mélange méthanol/hydroxyde d'ammonium, 95/5 (v/v)

L'extrait obtenu après SPE est évaporé à sec sous flux d'azote puis repris avec la solution de métoprolol Imp A à 50 µg/L.

#### Conservation de l'extrait

Stabilité testée sur 72 heures.

#### Volume ou masse finale avant analyse :

500 µL pour les extraits d'eaux de stations d'épuration et les eaux de surface

**Méthode analytique utilisée :**

Indiquer les paramètres complets de la méthode (exemple pour la chromatographie : gradient, phase mobile, débit, T °C, colonne, mode de détection)

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

Séparation HPLC sur colonne XBridge (Waters©)

Ionisation par électrospray en mode positif (ESI+), analyse MS-MS en mode MRM (multiple reaction monitoring)

Molécule	Transition de quantification (uma)	Transition de confirmation (uma)
acébutolol	337,2>116,2	337,2>56,1
timolol	317,4>261,4	317,4>188,0
métoprolol	268,0>116,0	268,0>98,0
oxprénolol	266,1>225,4	266,1>116,0
bisoprolol	326,1>116,1	326,1>74,0
bêtaxolol	308,3>116,2	308,3>55,0
propranolol	260,1>116,1	260,1>183,2
nadolol	310,3>254,1	310,3>201,3
sotalol	273,1>255,4	273,1>212,8
aténolol	267,0>145,2	267,0>189,9
aténolol – D7	274,0>145,1	274,0>189,9
métoprolol– D7	275,1>125,2	275,1>105,2
bêtaxolol – D7	315,3>123,3	315,3>55
acébutolol – D7	344,2>123,2	344,2>79,2
bisoprolol – D7	333,3>123,2	333,3>75
Sotalol – D7	280,2>262,1	280,2>214,2
propranolol– D7	266,9>189,2	266,9>116,3
métoprolol impureté A	254,2>102,2	---

- La procédure de confirmation est basée sur la décision de la commission européenne n° [2002/657/CE](#)

**Equipements<sup>1</sup> (modèles utilisés) :**

Chromatographe liquide haute performance Agilent 1100  
Spectromètres de masse en tandem Applied Biosystems API 4000

**Type d'étalonnage**

Interne

**Modèle utilisé**

Linéaire

**Etalons / Traceurs utilisés**

Etalon interne : métoprolol impureté A, à 50 µg/L + Traceurs de méthode globale : acébutolol D7, aténolol D7, bêtaxolol D7, bisoprolol D7, métoprolol D7, propranolol D7, sotalol D7 à 100 µg/L

**Domaine de concentration**

0,1 – 100 µg/L

**Méthode de calcul des résultats**

Rendement

Utilisation du rendement : dans certains cas, lorsque les rendements de dopages sont inférieurs à 80% ou supérieurs à 120%.

Blancs

Dans le cas où les blancs sont compris entre la LD et la LQ, c'est à l'analyste de déterminer si ceux-ci doivent être retranchés ou non

<sup>1</sup> 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

## Références de la méthode

### La méthode est dérivée de la publication suivante

Gabet-Giraud V., C. Miège, J-M. Choubert, S. Martin-Ruel, M. Coquery. Analysis of estrogens and beta blockers in the dissolved phase of wastewater treatment plants in France. Science of the Total Environment. 408 (2010) 4257–4269

### Norme dont est tirée la méthode

Sans objet

### Niveau de validation selon Norman

Niveau 1

## Paramètres de validation de la méthode

### Norme utilisée

XP T90-210 (2009)

### Domaine de validation

0,1 – 100 ou 200 µg/L

### Matériaux de référence utilisés

Sans objet

### Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)

Les blancs sont vérifiés systématiquement et doivent être inférieurs aux LQ de chaque composé.

Dans le cas où les blancs sont compris entre la LD et la LQ, c'est à l'analyste de déterminer si ceux-ci doivent être retranchés ou non (cas par exemple lorsque les blancs sont contaminés de façon systématique ou s'ils sont proches de la LQ ou encore lorsque la concentration de l'échantillon est élevée par rapport à la contamination)

### Rendement - par type de matrice

	Eaux de surface							
	Dopage à 20% de la gamme				Dopage à 80% de la gamme			
	Rdt <sup>1</sup> (%)	CV de fidélité intermédiaire (%)	Ecart normalisé	Exactitude (EMA)	Rdt <sup>1</sup> (%)	CV de fidélité intermédiaire (%)	Ecart normalisé	Exactitude (EMA)
<b>ACE</b>	89-126	10,1	2,24	34	86-111	8,6	0,20	18
<b>ATE</b>	84-119	11,8	0,81	30	88-115	8,0	1,30	22
<b>BET</b>	92-134	12,4	2,58	46	76-104	11,5	1,63	34
<b>BIS</b>	83-121	12,3	1,22	49	82-113	10,6	0,77	30
<b>MET</b>	77-101	9,7	2,32	27	71-90	8,7	5,44	32
<b>NAD</b>	88-120	8,0	1,96	25	85-110	7,4	0,12	23
<b>OXP</b>	84-126	13,0	1,38	38	77-115	13,3	0,84	31
<b>PROP</b>	88-130	13,6	1,77	43	81-127	14,3	0,38	32
<b>SOT</b>	74-114	16,9	0,13	51	74-126	16,2	0,28	42
<b>TIM</b>	87-113	10,5	0,04	22	66-96	12,0	3,31	36

<sup>1</sup>Rendement

Effluent								
Dopage à 20% de la gamme					Dopage à 80% de la gamme			
	Rdt <sup>1</sup> (%)	CV de fidélité intermédiaire (%)	Ecart normalisé	Exactitude (EMA)	Rdt <sup>1</sup> (%)	CV de fidélité intermédiaire (%)	Ecart normalisé	Exactitude (EMA)
ACE	81-123	13,6	0,66	33	80-124	15,2	0,52	33
ATE					89-115	8,8	13	22
BET	85-126	15,8	0,19	34	80-114	12,3	0,10	26
BIS	93-112	6,9	0,19	28	93-113	5,8	0,80	13
MET	80-104	7,9	1,2	20	78-104	9,4	2,57	27
NAD	89-105	6,3	1,77	19	88-103	4,3	0,67	10
OSP	88-112	8,2	0,68	20	80-104	8,4	3,05	26
PROP	88-127	14,0	1,03	37	96-115	5,1	2,43	23
SOT	71-105	12,1	1,13	29	73-108	14,6	1,73	37
TIM	94-115	5,4	3,07	20	97-103	2,3	0,70	22

Influent								
Dopage à 20% de la gamme					Dopage à 80% de la gamme			
	Rdt <sup>1</sup> (%)	CV de fidélité intermédiaire (%)	Ecart normalisé	Exactitude (EMA)	Rdt <sup>1</sup> (%)	CV de fidélité intermédiaire (%)	Ecart normalisé	Exactitude (EMA)
ACE					88-112	6,6	0,29	14
ATE					78-143	17,6	0,48	41
BET	76-114	11,5	0,82	27	82-106	10,0	0,77	23
BIS	73-134	16,4	1,04	44	87-106	6,2	0,55	14
MET	81-113	10,9	0,63	25	84-102	6,7	3,11	21
NAD	97-104	3,6	0,45	8	85-106	6,4	2,15	18
OSP	86-105	7,8	1,81	21	85-101	6,2	2,59	19
PROP	74-159	30,7	0,58	76	97-139	12,7	1,19	35
SOT					57-128	27,7	1,02	61
TIM	84-105	7,0	2,69	21	83-103	6,2	1,63	17

Influent				
Dopage à 200% de la gamme puis dilution par 10				
	Rdt <sup>1</sup> (%)	CV de fidélité intermédiaire (%)	Ecart normalisé	Exactitude (EMA)
ACE	91-124	10,9	0,25	24
ATE	86-113	10,1	0,70	23
BET	98-117	5,6	1,73	17
BIS	96-109	4,1	1,93	13
MET	92-111	6,5	0,84	16
NAD	61-82	11,0		
OSP	83-99	7,2	2,87	22
PROP	96-114	6,5	1,89	20
SOT	85-108	10,1	1,08	24
TIM	81-101	8,8	3,13	27

**Limite de quantification(LQ)**  
**Limite de détection (LD)**  
 (indiquez la méthode de détermination en précisant la matrice testée)

extrapolation des LD et LQ instrumentales (mesure rapport signal sur bruit) :

En admettant que  $LQ = 3 \times LD$  et rendement global = 100%

**Eaux de STEP**

**LD variant 0,3 à 0,8 ng/L**

**LQ variant de 1 (autres molécules) à 2,5 ng/L** (sotalol, aténolol, oxprénolol)

**Eaux de surface**

**LD variant 0,15 à 0,4 ng/L**

**LQ variant de 0,5 (autres molécules) à 1,2. ng/L** (sotalol, aténolol, oxprénolol)

**Incertitudes (%) sur les résultats**  
**- par type de matrice**

Se référer aux CV de fidélités intermédiaires ci-dessus (partie « rendement »)

## Contacts

**Auteurs**

Séverine Schiavone et Cécile Miège

**Institut**

Irstea (Cemagref) (Lyon)

**Contact**

[cecile.miege@irstea.fr](mailto:cecile.miege@irstea.fr)