# Etude de la stabilité de sotalol, béflubutamide, N-butylbenzènesulfonamide (NBBS) et N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulphamide (DMST) dans des échantillons d'eau de surface

**P. Moreau, J.P. Ghestem**

Janvier 2018

Document final

Avec le soutien de :
AGENCE FRANÇAISE POUR LA BIODIVERSITÉ
ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT
Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET SOLIDAIRE

AQUAREF
Consortium scientifique et technique
BRGM, IFREMER, INERIS, Irstea et LNE

Géosciences pour une Terre durable
brgm

Avec le soutien de :
AGENCE FRANÇAISE POUR LA BIODIVERSITÉ
ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
MINISTÈRE DE LA TRANSITION ÉCOLOGIQUE ET SOLIDAIRE

**Contexte de programmation et de réalisation**

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme scientifique et technique AQUAREF pour l'année 2017, thème « Améliorer les opérations d'échantillonnage ».

Auteur (s) :

*Pauline MOREAU*
*BRGM*
*p.moreau@brgm.fr*

*Jean-Philippe GHESTEM*
*BRGM*
*jp.ghestem@brgm.fr*

Vérification du document :

*Sophie LARDY FONTAN*
LNE
sophie.lardy-fontan@lne.fr

*Bénédicte LEPOT*
INERIS
Benedicte.Lepot@ineris.fr

*Christelle MARGOUM*
IRSTEA
christelle.margoum@irstea.fr

**Les correspondants**

AFB : François Hissel, francois.hissel@afbiodiversite.fr
Gaelle Deronzier, gaelle.deronzier@afbiodiversite.fr

BRGM : Jean Philippe Ghestem, Direction des Laboratoires, jp.ghestem@brgm.fr

Référence du document : Pauline Moreau, Jean Philippe Ghestem – Etude de la stabilité de sotalol, béflubutamide, N-butylbenzènesulfonamide (NBBS) et N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulphamide (DMST) dans des échantillons d'eau de surface. Rapport final AQUAREF 2017 - BRGM/RP-67510-FR, 40p

| | |
|---|---|
| Droits d'usage : | *Accès libre* |
| Couverture géographique : | *International* |
| Niveau géographique : | *National* |
| Niveau de lecture : | *Professionnels, experts* |
| Nature de la ressource : | *Document* |

*ETUDE DE LA STABILITE DE SOTALOL, BEFLUBUTAMIDE, N-BUTYLBENZENESULFONAMIDE (NBBS) ET N,N-DIMETHYL-N'-P-TOLYLSULPHAMIDE (DMST) DANS DES ECHANTILLONS D'EAU DE SURFACE*

Pauline Moreau – Jean Philippe Ghestem

RESUME

La fiabilité des résultats d'analyse d'échantillons d'eau est fortement conditionnée par le délai entre le prélèvement et la mise en analyse. Afin de préciser les recommandations opérationnelles sur ce sujet, AQUAREF réalise des études techniques et documentaires. En 2015, un premier bilan des données bibliographiques disponibles sur la stabilité d'environ 450 substances a été réalisé. Pour de nombreuses substances, les données bibliographiques sont incomplètes ou incohérentes et des données complémentaires sont nécessaires. En parallèle, AQUAREF a publié un guide établissant des recommandations pour la réalisation d'études de stabilité, afin d'assurer la comparabilité des résultats obtenus dans différents laboratoires.

Pour apporter des informations sur la stabilité de certaines substances, et pour mettre en application le protocole et le mode de traitement des résultats détaillés dans le guide, AQUAREF a mené, depuis 2015, des essais en laboratoires pour caractériser la stabilité dans des eaux de surface sur :

- 46 pesticides en 2015
- 11 substances pertinentes à surveiller en 2016
- 17 HAP en 2016.

Dans la continuité de ces travaux, ce rapport, rédigé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF et de la convention de partenariat avec l'AFB pour l'année 2017, présente une étude de stabilité sur 4 substances pertinentes à surveiller (SPAS), faisant partie des listes de surveillance règlementaires des eaux souterraines. Il s'agit du sotalol (antiarythmique et béta bloquant), du béflubutamide (pesticide), du N-butylbenzènesulfonamide (NBBS, plastifiant) et du N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulphamide (DMST, métabolite du tolyfluanide qui est un fongicide). Les essais ont été réalisés à 2 températures (5°C et 20°C) et sur 2 échantillons d'eau pour une durée de 7 jours.

Pour qualifier la stabilité des molécules, deux critères ont été utilisés : le premier évalue la stabilité en regard de l'incertitude de la méthode d'analyse utilisée pour les essais et le second est un critère générique utilisé dans les précédents travaux AQUAREF, à savoir une perte maximale de 20% sur une durée de 3 jours. Dans les conditions de réalisation des essais, il en ressort que les 4 molécules testées sont stables 7 jours, à 5°C et 20°C. Cependant pour le DMST, dans un objectif de surveillance, les conclusions sont partielles. En effet, cette substance est un produit de dégradation du tolyfluanide. Pour conclure définitivement sur la stabilité de cette substance, il faudrait étudier également la stabilité de la molécule parent (donnée non disponible à ce jour). Cela nécessitait des développements dépassant le cadre de cette étude. Il est à noter également que le tolylfluanide ne fait pas partie des listes réglementaires.

**Mots clés** (thématique et géographique) :

stabilité, eau, micropolluant organique, substances pertinentes à surveiller (SPAS), dégradation, sotalol, béflubutamide, N-butylbenzènesulfonamide, NBBS, N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulfamide (DMST)

*STUDY OF THE STABILITY OF SOTALOL, BEFLUBUTAMID, N-BUTYLBENZENESULFONAMIDE (NBBS) AND N,N-DIMETHYL-N'-P-TOLYLSULPHAMIDE (DMST) IN SURFACE WATER SAMPLE*

Moreau P., Ghestem J.P.

ABSTRACT

This report was prepared by the BRGM according to the 2017 AQUAREF agenda and a partnership convention with the AFB.
The reliability of analysis results of water samples is strongly dependent on the extension of time between sampling and analysis operations. AQUAREF has been working for a few years on these questions. A documentary review was published in 2015 by AQUAREF establishing a first compilation of bibliographic data for 450 substances. For some substances, data are sometimes inexistent or available data are contradictory. In parallel, AQUAREF has published a guide to provide guidance to realize stability studies in laboratory, but also to interpret results. In 2015 and 2016, AQUAREF performed 3 stability studies for different substances (pesticides, HAP, emerging pollutants) to apply the protocol described in the guide, but also to get information about stability for substances for which data were lacking.
In 2017, this study was performed by BRGM on 4 substances (sotalol, beflubutamid, DMST, NBBS) which belong to regulatory documents for underground waters. The trials were done on 2 surface waters, with 2 temperatures (5°C and 20°C).
Results were interpreted with 2 criterions. The first one evaluated stability regarding to the analytical method uncertainty. The second one is a generic criterion and it has already been used for such studies by AQUAREF. An “acceptable maximal loss” of 20% after 3 days was used.
Considering these operational criterions, the 4 substances studied are stable 7 days at 5°C and 20°C. However, for DMST, the conclusions are only partial because this substance is a metabolite of tolylfluanid.

**Key words** (thematic and geographical area) :
Stability, water, sotalol, beflubutamid, N-butylbenzènesulfonamid (NBBS), N,N-diméthyl-N’-p-tolylsulfamid, micropollutant

Document public

# Etude de la stabilité de sotalol, béflubutamide, N-butylbenzènesulfonamide (NBBS) et N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulfphamide (DMST) dans des échantillons d'eau de surface

Rapport final

BRGM/RP-67510-FR

Janvier 2018

Géosciences pour une Terre durable

brgm

Document public

# Etude de la stabilité de sotalol, béflubutamide, N-butylbenzènesulfonamide (NBBS) et N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulphamide (DMST) dans des échantillons d'eau de surface

Rapport final

**BRGM/RP-67510-FR**
Janvier 2018

Étude réalisée dans le cadre des opérations
de Service public du BRGM 2017

**P. Moreau**
Avec la collaboration de
**J.P. Ghestem**

| **Vérificateur :** | **Approbateur :** |
|---|---|
| Nom : Bristeau Sébastien | Nom : Amalric Laurence |
| Fonction : Ingénieur | Fonction : responsable d'unité |
| Date : 05/01/18 | Date : 19/04/2018 |
| Signature : | Signature : |

**Le système de management de la qualité et de l'environnement est certifié par AFNOR selon les normes ISO 9001 et ISO 14001.**

Géosciences pour une Terre durable
brgm

**Mots-clés** : stabilité, eau, micropolluant organique, substances pertinentes à surveiller (SPAS), dégradation, sotalol, béflubutamide, N-butylbenzènesulfonamide, NBBS, N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulfamide (DMST)

En bibliographie, ce rapport sera cité de la façon suivante :

**Moreau P., Ghestem J.P.** (2017) – Etude de la stabilité de sotalol, béflubutamide, N-butylbenzènesulfonamide (NBBS) et N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulphamide (DMST) dans des échantillons d'eau de surface. Rapport final AQUAREF 2017 - BRGM/RP-67510-FR, 40p.

© BRGM, 2011, ce document ne peut être reproduit en totalité ou en partie sans l'autorisation expresse du BRGM.

# Synthèse

La fiabilité des résultats d'analyse d'échantillons d'eau est fortement conditionnée par le délai entre le prélèvement et la mise en analyse. Afin de préciser les recommandations opérationnelles sur ce sujet, AQUAREF réalise des études techniques et documentaires. En 2015, un premier bilan des données bibliographiques disponibles sur la stabilité d'environ 450 substances a été réalisé. Pour de nombreuses substances, les données bibliographiques sont incomplètes ou incohérentes et des données complémentaires sont nécessaires. En parallèle, AQUAREF a publié un guide établissant des recommandations pour la réalisation d'études de stabilité, afin d'assurer la comparabilité des résultats obtenus dans différents laboratoires.

Pour apporter des informations sur la stabilité de certaines substances, et pour mettre en application le protocole et le mode de traitement des résultats détaillés dans le guide, AQUAREF a mené, depuis 2015, des essais en laboratoires pour caractériser la stabilité dans des eaux de surface sur :

- 46 pesticides en 2015
- 11 substances pertinentes à surveiller en 2016
- 17 HAP en 2016.

Dans la continuité de ces travaux, ce rapport, rédigé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF et de la convention de partenariat avec l'AFB pour l'année 2017, présente une étude de stabilité sur 4 substances pertinentes à surveiller (SPAS), faisant partie des listes de surveillance règlementaires des eaux souterraines. Il s'agit du sotalol (antiarythmique et beta bloquant), du béflubutamide (pesticide), du N-butylbenzènesulfonamide (NBBS, plastifiant) et du N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulphamide (DMST, métabolite du tolyfluanide qui est un fongicide). Les essais ont été réalisés à 2 températures (5°C et 20°C) et sur 2 échantillons pour une durée de 7 jours.

Pour qualifier la stabilité des molécules, deux critères ont été utilisés : le premier évalue la stabilité en regard de l'incertitude de la méthode d'analyse utilisée pour les essais et le second est un critère générique utilisé dans les précédents travaux AQUAREF, à savoir une perte maximale de 20% sur une durée de 3 jours. Dans les conditions de réalisation des essais, il en ressort que les 4 molécules testées sont stables 7 jours, à 5°C et 20°C. Cependant pour le DMST, dans un objectif de surveillance, les conclusions sont partielles. En effet, cette substance est un produit de dégradation du tolyfluanide. Pour conclure définitivement sur la stabilité de cette substance, il faudrait étudier également la stabilité de la molécule parent (donnée non disponible à ce jour). Cela nécessitait des développements dépassant le cadre de cette étude. Il est à noter également que le tolylfluanide ne fait pas partie des listes réglementaires.

# Sommaire

**1. Introduction ..... 13**

**2. Méthodologie ..... 15**

2.1. PROTOCOLE GENERAL ..... 15

2.2. CHOIX DES MOLECULES POUR L'ESSAI ..... 16

2.3. CHOIX DES MATERIAUX D'ETUDE ..... 16

**3. Résultats ..... 21**

3.1. PRINCIPE DE TRAITEMENT DES DONNEES A $J_0$ ..... 21

3.2. APPLICATION AUX RESULTATS DE L'ETUDE ..... 21

**4. Conclusion ..... 37**

**5. Bibliographie ..... 39**

## Liste des illustrations

Illustration 1 : présentation de l'approche isochrone de type 2 [2] ..... 15

Illustration 2 : Liste des molécules analysées au cours de l'essai, code SANDRE, LQ dans l'avis agrément des laboratoires [10] ..... 16

Illustration 3: Photographies des lieux d'échantillonnage pour la Loire (à gauche) et le Cosson (à droite) ..... 17

Illustration 4 : Photographies de la cuve d'homogénéisation pour le remplissage des flacons pour l'eau chargée (à gauche) et l'eau peu chargée (à droite) ..... 18

Illustration 5 : Caractérisation physico-chimique des eaux au début de l'étude de stabilité ..... 19

Illustration 6: Concentrations ciblées des substances dans les 2 échantillons. ..... 19

Illustration 7 : calcul des écarts normalisés à J0 ..... 21

Illustration 8 : valeurs des ImO obtenues dans cette étude et incertitude de la méthode déterminée lors de la validation – dans le cas de l'eau de Loire, la valeur entre parenthèse est celle lorsque le réplicat identifié « incohérent » n'est pas pris en compte ..... 22

# 1. Introduction

Depuis 2014, différentes actions sont menées par AQUAREF concernant les exigences en termes de délai maximal avant analyse (DMAA) pour les substances de la surveillance des masses d'eau. Cette problématique est notamment en lien avec les contraintes rencontrées dans les DROM, puisque de nombreux échantillons d'eau prélevés dans ces territoires sont envoyés en métropole pour être analysés. Dans ce cadre, des contraintes fortes existent en ce qui concerne les délais et les températures de transport. La question de la fiabilité des résultats se pose lorsqu'il y a un dépassement de délai ou de température, y compris pour certains échantillons prélevés en métropole.

En 2015, AQUAREF a publié une synthèse documentaire et bibliographique [1] sur les données de stabilité et les DMAA pour environ 450 substances, dont la plupart font partie des listes de surveillance actuelles. L'objectif était d'établir des recommandations afin de distinguer les substances qui doivent être analysées dans les 24h (DMAA ≤ 24h), de celles qui pourraient être envoyées en métropole si nécessaire (DMAA ≥ 72h). Des recommandations ont pu être émises pour environ un tiers des substances. Pour les autres substances, des données manquent ou sont contradictoires, soulignant la nécessité de réaliser des études de stabilité en laboratoire.

AQUAREF a également récemment publié des « Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau» [2]. Ce document établit des recommandations pratiques sur le protocole mais également sur le traitement des résultats, pour la réalisation des essais, afin d'assurer la fiabilité et la comparabilité des résultats obtenus dans différents laboratoires.

Ainsi, AQUAREF a mené, depuis 2015, des essais en laboratoires pour caractériser la stabilité, dans des eaux de surface, des substances suivantes :

- 46 pesticides [3],
- 11 substances pertinentes à surveiller [4]
- 16 HAP [5]

Le présent travail s'inscrit dans la continuité des travaux engagés et porte sur l'étude de la stabilité de 4 substances pertinentes à surveiller (SPAS), faisant partie des listes de surveillance pour les eaux souterraines : sotalol, béflubutamide, du N-butylbenzènesulfonamide et du N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulphamide dont les caractéristiques sont données dans la partie 2.2.

L'intérêt de ces essais est double :

- apporter des informations concernant la stabilité de substances pour lesquelles peu de données sont disponibles à ce jour et ainsi compléter les informations bibliographiques recensées dans la synthèse réalisée en 2015 [1].
- appliquer les lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau [2].

Dans un premier temps, le protocole de l'étude est détaillé, puis les résultats sont discutés pour chaque substance.

# 2. Méthodologie

## 2.1. PROTOCOLE GENERAL

Le protocole de réalisation des essais est basé sur les « Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau» [2] (nommé simplement « guide » dans la suite du rapport).

Parmi les approches décrites dans le guide, c'est une approche isochrone de type 2 qui a été retenue. Le principe est présenté dans l'Illustration 1.

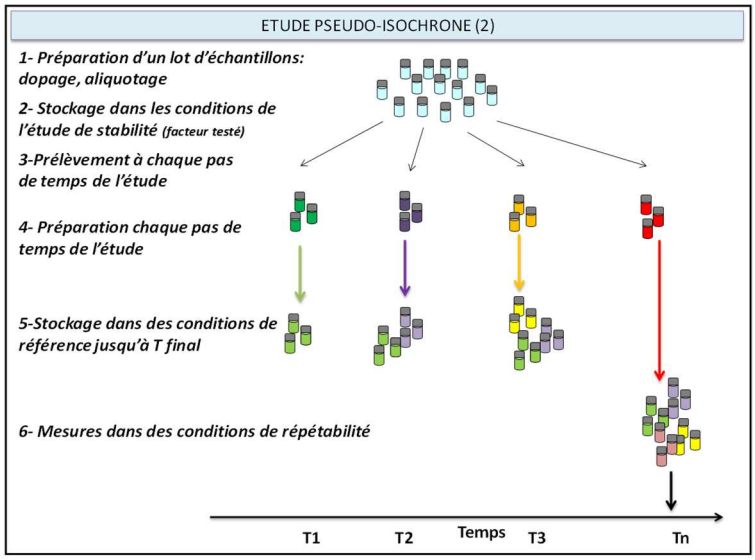



*Illustration 1 : présentation de l'approche isochrone de type 2 [2]*

Le détail des opérations est donné ci-dessous :

- Dopage dans un ordre aléatoire de tous les flacons le premier jour de l'essai ($J_0$), avec un dopage par flacon
- Stockage des flacons à 5 ± 3°C ou à 20°C
- Extraction des échantillons à différents pas de temps entre $J_0$, et $J_7$
- Nombre de réplicats à chaque pas de temps : 5 à $J_0$, et 3 de $J_1$ à $J_7$
- Stockage des extraits au congélateur (-20°C) jusqu'au dernier pas de temps
- Analyse instrumentale de tous les extraits dans des conditions de répétabilité dans un ordre aléatoire. Il est à noter que tous les extraits ont subi l'étape de congélation/décongélation.

Cinq pas de temps ont été étudiés : le jour du dopage (référence, $J_0$) puis à $J_1$, $J_2$, $J_3$, et $J_7$.

La matrice pour cet essai est l'eau de surface. Deux échantillons d'eau de surface ont été utilisés pour ces essais. Les caractéristiques et le choix des échantillons sont détaillés en 2.3.

Pour chaque molécule, une seule concentration a été testée, à un niveau de concentration au moins 5 fois supérieur à la limite de quantification et dans le premier quart du domaine d'étalonnage. Les valeurs cibles de dopage sont données dans la partie 2.3.4.

Afin de tester l'influence de la température, et donc l'impact de dépassement des températures par rapport aux consignes normatives de 5 ± 3°C, deux températures ont été sélectionnées pour le stockage des échantillons : 5 ± 3°C au réfrigérateur (exigence normative pour le transport des échantillons [6-9]) et 20 ± 3°C dans une étuve (température associée à des conditions de stockage dégradées). Pour chaque couple (matrice ; température), trois réplicats sont extraits à chaque pas de temps. Au total, 12 extractions sont ainsi réalisées à chaque pas de temps $J_1$ à $J_7$.

Le nombre de réplicats à réaliser à $J_0$ est défini dans le guide [2]. L'écart type de fidélité de la méthode mise en œuvre dans cette étude est inférieur à < 5%. 6 réplicats pour $J_0$ sont donc à mettre en œuvre. Au regard des contraintes pratiques d'extraction, ce nombre de réplicats a été limité à 5.

Une analyse des échantillons d'eau non dopés a également été réalisée afin de caractériser les échantillons d'eau de surface utilisés, ils sont appelés « témoin » dans la suite du rapport.

## 2.2. CHOIX DES MOLECULES POUR L'ESSAI

L'Illustration 2 présente les 4 molécules analysées au cours de cet essai, leur code sandre, les LQ données dans l'avis agrément, entrant en vigueur au 31/12/2018. Elles font partie de la liste « substances pertinentes à surveiller ». Dans la synthèse documentaire [1], les 4 substances ont une conclusion « données à rechercher », attestant du manque d'information en bibliographie concernant la stabilité de ces substances.

| Composé | code SANDRE | LQ avis agrément (ng/L) | utilisation |
|---|---|---|---|
| sotalol | 5424 | 5 | médicament anti arythmique et beta-bloquant |
| NN diméthyl N p tolylsuphamide (DMST) | 6824 | 30 | produit de dégradation du tolylfluanide (fongicide de contact) |
| N-butylbenzènesulfonamide (NBBS) | 5299 | 100 | plastifiant pour la polymérisation des polyamides, polyacetals, polycarbonates |
| béflubutamide | 7522 | 30 | herbicide (utilisation en combiné avec Isoproturon) |

*Illustration 2 : Liste des molécules analysées au cours de l'essai, code SANDRE, LQ dans l'avis agrément des laboratoires [10]*

Cette étude porte notamment sur le N-N-diméthyl-N-p-tolylsulphamide (DMST), qui est un produit de dégradation du tolylfluanide. Pour le DMST, dans un objectif de surveillance, les conclusions obtenues dans cette étude sont partielles. Pour conclure définitivement sur la stabilité de cette substance, il faudrait étudier également la stabilité de la molécule parent. Néanmoins, pour étudier la stabilité du tolylfluanide, des développements, dépassant le cadre de cette étude auraient été nécessaires. L'étude de stabilité n'a donc pas porté sur le tolylfluanide. Il est à noter également que le tolylfluanide ne fait pas partie des listes réglementaires.

## 2.3. CHOIX DES MATERIAUX D'ETUDE

Plusieurs options sont possibles pour le choix des échantillons d'étude. Dans cette étude, il a été choisi de travailler avec deux échantillons d'eaux de surface naturelles (matrice considérée

comme plus problématique du point de vue de la stabilité) afin d'élargir la portée des conclusions de l'étude, par rapport aux eaux souterraines. Les échantillons ont été prélevés quelques jours avant la réalisation de l'étude. Il a été supposé que la teneur en matières en suspension (MES) et la teneur en carbone organique total (COT) pouvaient impacter la stabilité des substances. Il a donc été décidé d'utiliser 2 eaux ayant des teneurs différentes en MES et COT.

### 2.3.1. Echantillonnage

L'échantillonnage d'eau sur les stations de mesure a eu lieu le 04/10/2017 (la Loire, cf Illustration 3, photo de gauche) et le 10/10/2017 (le Cosson, cf Illustration 3, photo de droite). Pour chaque station de mesure, 50L d'eau ont été prélevés dans des bouteilles en verre de 2,5 ou 5L, préalablement nettoyées et calcinées à 500°C. Entre le prélèvement et la mise en flacon de 1L, les bouteilles ont été stockées à 5±3°C, à l'abri de la lumière.

*Illustration 3: Photographies des lieux d'échantillonnage pour la Loire (à gauche) et le Cosson (à droite)*

Le but de cette étude de stabilité est de tester 2 échantillons d'eau ayant des caractéristiques différentes, en particulier en ce qui concerne les teneurs en MES et carbone organique total (COT). Afin d'accentuer la différence entre les 2 échantillons, l'eau de la Loire a été filtrée à 0.7µm. Le second échantillon a été constitué à partir de l'eau du Cosson, et du dépôt du lit du cours d'eau a été ajouté, afin d'augmenter la teneur en MES.

### 2.3.2. Mise en flacons

La mise en flacons a été réalisée le 05/10/2017 pour l'eau de Loire et le 10/10/2017 pour l'eau du Cosson. Les flacons utilisés pour l'étude sont des flacons en verre ambré de 1 L neufs.

Afin d'assurer l'homogénéité, une agitation avec hélice a été utilisée, dans une cuve en verre de 25L. Les flacons ont été remplis, par remplissage fractionné après 30 minutes d'agitation à l'aide du robinet de soutirage. Deux photos du montage sont présentées sur l'Illustration 4, pour chaque échantillon.

*Illustration 4 : Photographies de la cuve d'homogénéisation pour le remplissage des flacons pour l'eau chargée (à gauche) et l'eau peu chargée (à droite)*

Dans les deux cas, les flacons ont été pesés pour contrôler le volume d'eau contenu dans chaque flacon. Des flacons de « réserve » ont été préparés afin de réaliser une caractérisation physico-chimique des eaux à $J_0$ et à $J_7$. En particulier, les mesures de MES à $J_0$ et à $J_7$ ont été réalisées sur 2 flacons différents, afin de contrôler l'homogénéité du lot préparé.

### 2.3.3. Analyses physico-chimiques des eaux le jour du dopage ($J_0$) et à la fin de l'essai ($J_7$)

Des analyses physico-chimiques des eaux ont été réalisées à $J_0$. Les résultats sont consignés dans l'Illustration 5. Un contrôle de la teneur en MES a été réalisé à $J_7$. Aucune évolution n'a été observée pour l'eau de Loire. En revanche, pour du Cosson, une faible augmentation du taux de MES a été constatée à 20°C (9,5 mg/L).

| | Loire | Cosson |
|---|---|---|
| **pH** | 8,1 | 7,8 |
| **Conductivité (µS/cm)** | 419 | 249 |
| **MES (mg/L)** | <2 | 7 |
| **COT (mg/L)** | 1,6 | 4,85 |
| **Ca (mg/L)** | 59,5 | 21,3 |
| **Mg (mg/L)** | 5,7 | 3,2 |
| **Na (mg/L)** | 15,3 | 16,2 |
| **K (mg/L)** | 3,8 | 5,4 |
| **NH4 (mg/L)** | <0,05 | <0,05 |
| **CO3 (mg/L)** | <10 | <10 |
| **HCO3 (mg/L)** | 174 | 62 |
| **Cl (mg/L)** | 24 | 28,1 |
| **NO3 (mg/L)** | 16,9 | 6,3 |
| **SO4 (mg/L)** | 17 | 12,1 |
| **PO4 (mg/L)** | 0,08 | 0,21 |
| **NO2 (mg/L)** | 0,04 | 0,03 |
| **F (mg/L)** | 0,2 | <0,1 |
| **Fe (mg/L)** | <0,02 | 0,055 |
| **SiO2 (mg/L)** | 11 | 17,1 |

*Illustration 5 : Caractérisation physico-chimique des eaux au début de l'étude de stabilité*

### 2.3.4. Protocoles de dopage, extraction et analyse

Le dopage a été réalisé flacon par flacon le 09/10/2017 pour l'eau de Loire et le 11/10/2017 pour l'eau du Cosson. Les concentrations ajoutées pour chaque molécule sont données dans l'Illustration 6. Le dopage s'est fait par ajout de 200µL d'une solution mère (solvant méthanol) dans 1 L d'eau. Pour chaque condition, les dopages ont été réalisés dans un ordre aléatoire, 6 flacons étant dopés successivement, puis refermés immédiatement, et agités.

| Composé | concentration cible (ng/L) | LQ laboratoire (ng/L) |
|---|---|---|
| NBBS | 500 | 100 |
| sotalol | 100 | 5 |
| NN diméthyl N p tolylsuphamide | 100 | 5 |
| béflubutamide | 100 | 5 |

*Illustration 6: Concentrations ciblées des substances dans les 2 échantillons.*

Parmi les flacons dopés, pour chaque échantillon d'eau, 5 sont pris au hasard, extraits et analysés immédiatement (obtention des données pour $J_0$). Les flacons restants sont stockés au réfrigérateur (5 ± 3°C) ou à l'étuve (20 ± 2°C).

Pour le protocole analytique, les substances sont extraites sur cartouche SPE (extraction en phase solide) puis analysées en LC-MS/MS. Cette méthode est décrite dans la fiche méthode AQUAREF MA-71. La méthode a été validée pour les eaux souterraines, contenant donc une teneur en MES faible (inférieure à 3mg/L). Cependant, compte tenu de l'applicabilité de l'extraction SPE pour des eaux contenant des teneurs de MES jusqu'à 30mg/L [11], il a été décidé

d'appliquer cette méthode pour les échantillons de cette étude. La justesse des résultats obtenus à $J_0$ permet également de conforter ce choix.

Au cours de ces essais, tous les contrôles qualité effectués au laboratoire étaient conformes aux critères qualité du laboratoire, validant ainsi l'intégralité des données acquises.

Pour les 2 échantillons d'eau, un flacon non dopé témoin a été analysé. Seul le sotalol a été quantifié dans l'eau du Cosson à 216 ng/L. Pour les autres molécules et pour l'eau de Loire les teneurs mesurées sont <LQ.

# 3. Résultats

## 3.1. PRINCIPE DE TRAITEMENT DES DONNEES A $J_0$

Le traitement des données obtenues à $J_0$ s'appuie sur le guide [2]. Il reprend aussi la méthode décrite lors de « l'étude de la stabilité de 11 substances pertinentes à surveiller (SPAS) dans les échantillons d'eau de surface » [4] et repose sur les vérifications suivantes :

- Exactitude de la concentration moyenne retrouvée par calcul d'un écart normalisé entre la concentration cible et la concentration mesurée à $J_0$. L'exactitude est vérifiée si l'écart normalisé est inférieur à 2.
- Détermination de l'« instabilité minimale Observable » (ImO) qui correspond à 2 écart type des données à $J_0$. Cette borne est considérée comme la plus petite variation de concentration attribuable à une instabilité que l'étude est capable de mettre en évidence. Ainsi, si les données expérimentales sortent de cette borne, cela signifie qu'il y a d'autre(s) phénomène(s) que l'inhomogénéité du matériau à prendre en compte pour expliquer la tendance observée, en particulier une possible dégradation de la substance.
- Choix d'un critère opérationnel pour déterminer l' « instabilité Maximale Acceptable » (IMA). Pour ce travail, deux critères ont été présentés :
    - Le premier est basé sur l'incertitude de la méthode, $IMA_1$=U/2
    - Le second est celui qui a été utilisé dans plusieurs travaux AQUAREF : $IMA_2$ = 20% [3-5].
- Vérification que ImO < IMA pour pouvoir conclure avec le critère opérationnel choisi.

## 3.2. APPLICATION AUX RESULTATS DE L'ETUDE

Pour cette étude, les tests d'exactitude (écarts normalisés<2) ont donné des résultats satisfaisants. Les écarts normalisés sont donnés dans l'Illustration 7.

| condition | molécule | écart normalisé |
|---|---|---|
| **4°C Cosson** | Sotalol | 0,37 |
| **20°C Cosson** | Sotalol | 1,44 |
| **4°C Loire** | Sotalol | 0,45 |
| **20°C Loire** | Sotalol | 0,46 |
| **4°C Cosson** | DMST | 0,37 |
| **20°C Cosson** | DMST | 1,42 |
| **4°C Loire** | DMST | 0,45 |
| **20°C Loire** | DMST | 0,46 |
| **4°C Cosson** | NBBS | 0,04 |
| **20°C Cosson** | NBBS | 1,05 |
| **4°C Loire** | NBBS | 0,18 |
| **20°C Loire** | NBBS | 0,64 |
| **4°C Cosson** | Béflubutamide | 0,04 |
| **20°C Cosson** | Béflubutamide | 1,05 |
| **4°C Loire** | Béflubutamide | 0,18 |
| **20°C Loire** | Béflubutamide | 0,64 |

*Illustration 7 : Calcul des écarts normalisés à J0*

Dans le cas de l'eau de Loire, il semble qu'il y a eu une erreur lors du dopage d'une série de 6 flacons. En effet, pour les 4 substances, il y a 6 échantillons qui présentent une concentration supérieure (30%) à la concentration cible. Il est très probable que cela soit du à une erreur du volume à distribuer par la pipette. En effet, avant chaque dopage d'une série de 6 flacons, le volume à distribuer était contrôlé par l'opérateur, mais pour la dernière série, cela a été omis. En particulier, un réplicat à $J_0$ est surestimé par rapport aux autres. Le test de DIXON identifie cette valeur comme aberrante par rapport aux 4 autres. Il est toutefois décidé de présenter l'ensemble des résultats, sur les graphiques présentés dans ce rapport, et ils ne remettent pas en cause les conclusions de l'étude.

La répétabilité à $J_0$ est faible pour l'ensemble des substances. Elle est donnée pour chaque condition dans l'Illustration 8. Il est à noter que dans le cas de l'eau de Loire, 2 valeurs sont données. La première prend en compte les 5 valeurs obtenues à $J_0$. Celle entre parenthèse ne prend en compte que 4 valeurs car une erreur de dopage est suspectée dans un flacon, comme indiqué ci-dessus.

| substance | eau | ImO (%) = 2CVr(J0) | U (k=2, %) |
|---|---|---|---|
| Sotalol | Cosson | 3 | 15 |
| DMST | Cosson | 3 | 20 |
| NBBS | Cosson | 2 | 30 |
| Béflubutamide | Cosson | 1 | 10 |
| Sotalol | Loire | 22 (1) | 15 |
| DMST | Loire | 23 (2) | 20 |
| NBBS | Loire | 26 (1) | 30 |
| Béflubutamide | Loire | 23 (1) | 10 |

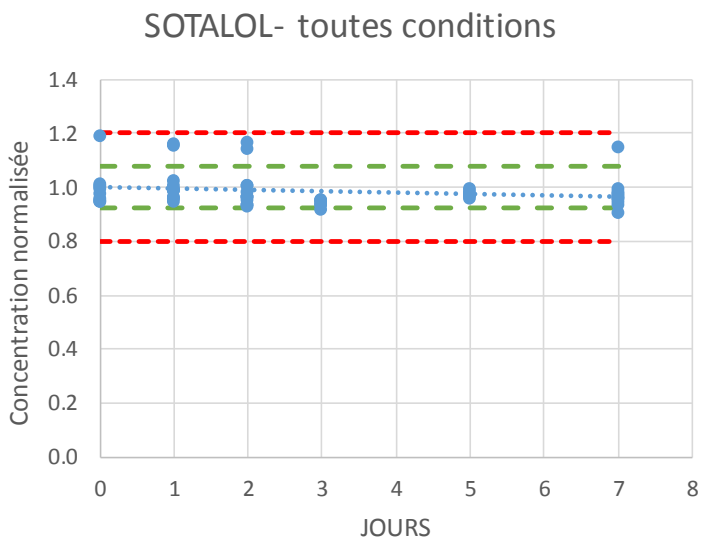
*Illustration 8 : Valeurs des ImO obtenues dans cette étude et incertitude de la méthode déterminée lors de la validation – dans le cas de l'eau de Loire, la valeur entre parenthèse est celle lorsque le réplicat identifié « incohérent » n'est pas pris en compte*

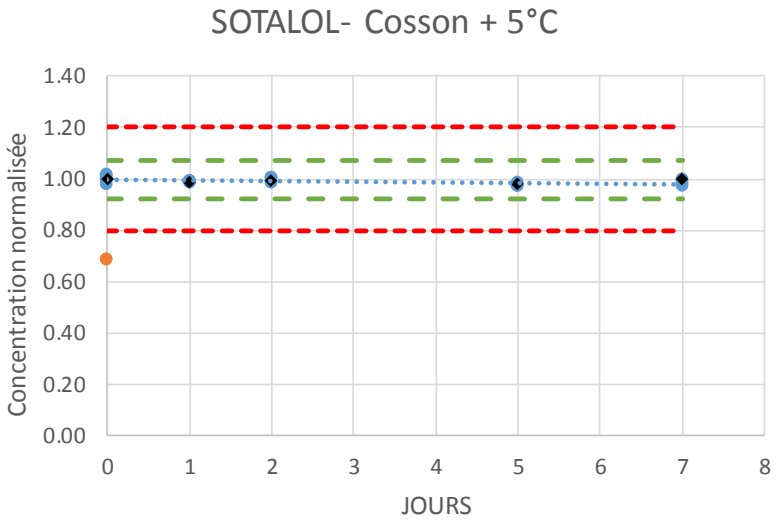
Les résultats sont présentés pour les 4 substances, pour chaque condition (eau du Cosson / eau de Loire et température) et toutes conditions confondues, avec la légende suivante :

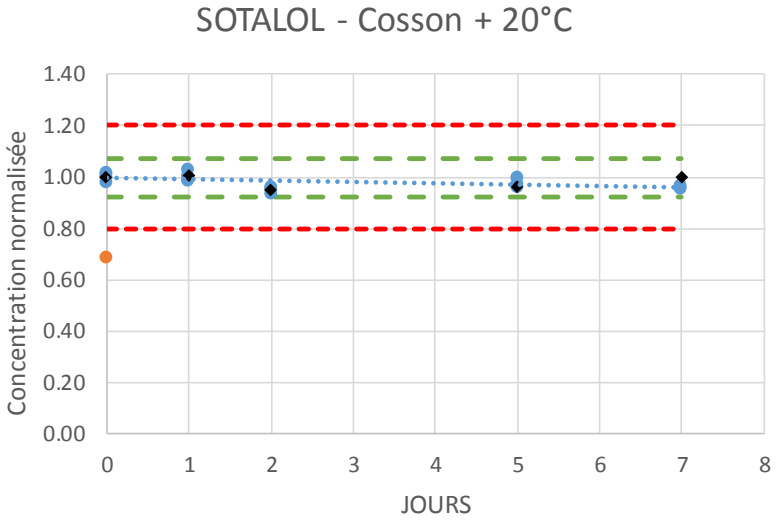
- Concentration dans l'échantillon témoin (non dopé)
- Données expérimentales après dopage
- Moyennes
- Régression linéaire
- $IMA_1$: U/2
- $IMA_2$: critère 20%

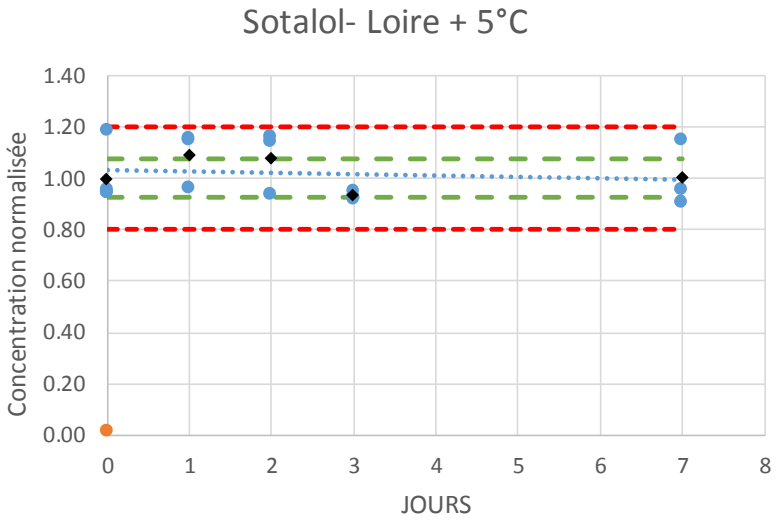
Lorsqu'une seule borne est visible sur les graphes, cela signifie que IMA1 = IMA2. Dans les représentations graphiques, les concentrations données sont les concentrations normalisées par rapport à la moyenne à $J_0$. Une droite de régression linéaire est présentée à titre informatif sur les graphiques.

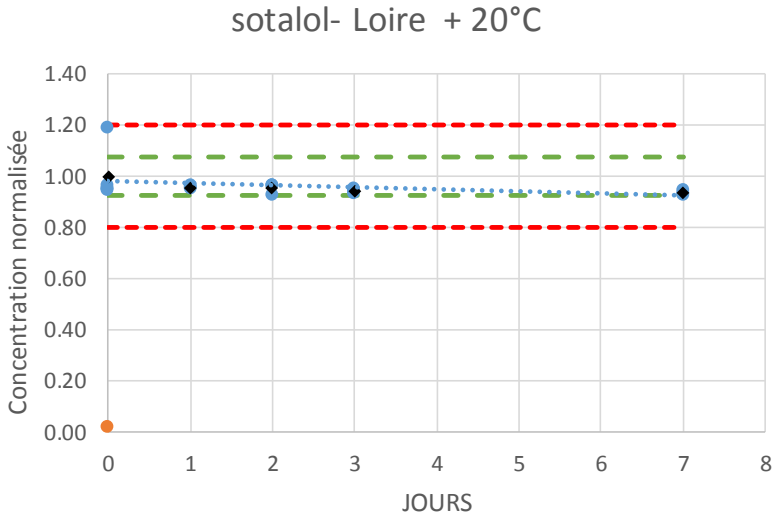
### 3.2.1. Sotalol


SOTALOL- toutes conditions
Concentration normalisée
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS


SOTALOL- Cosson + 5°C
Concentration normalisée
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS


SOTALOL - Cosson + 20°C
Concentration normalisée
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS

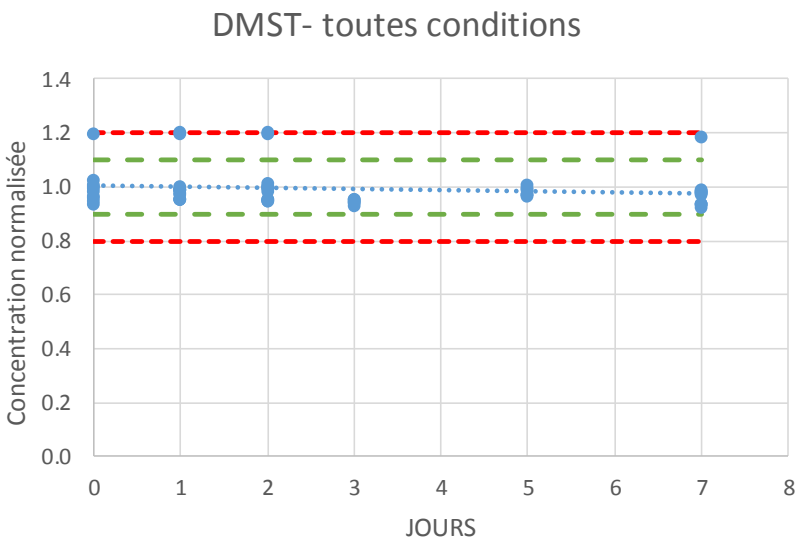


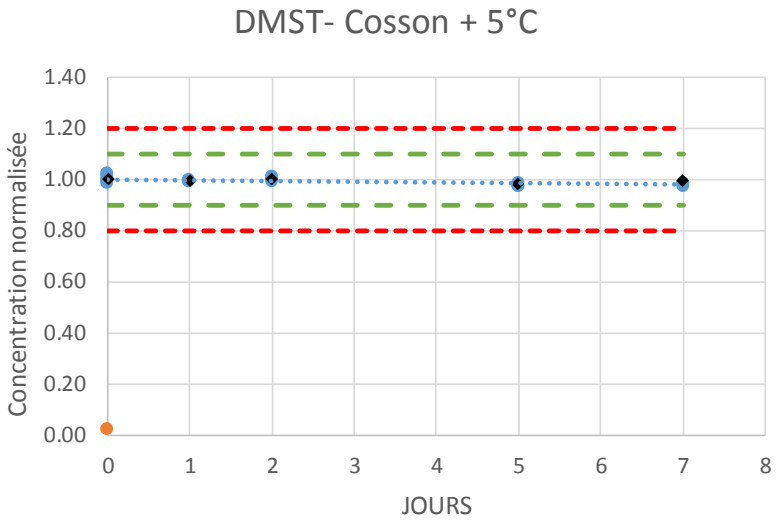



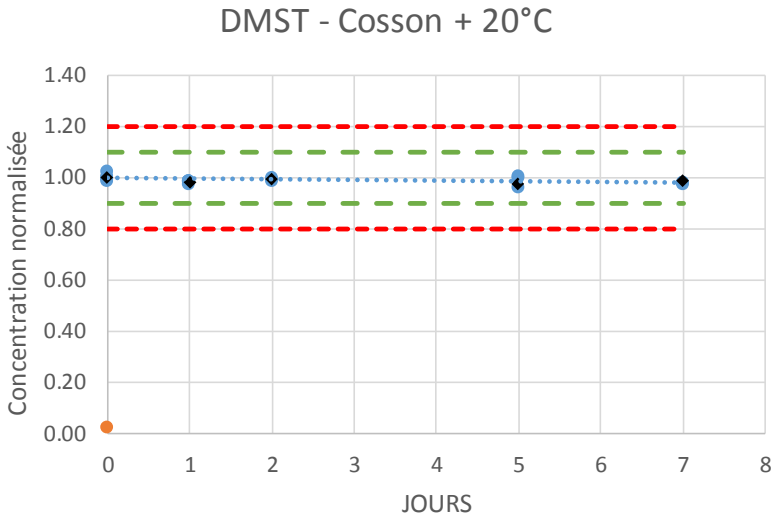

Pour les 4 conditions, l'exactitude à $J_0$ est vérifiée, la dispersion à $J_0$ est très faible, et les valeurs obtenues pour tous les pas de temps restent dans les bornes définies par les 2 IMA fixés.

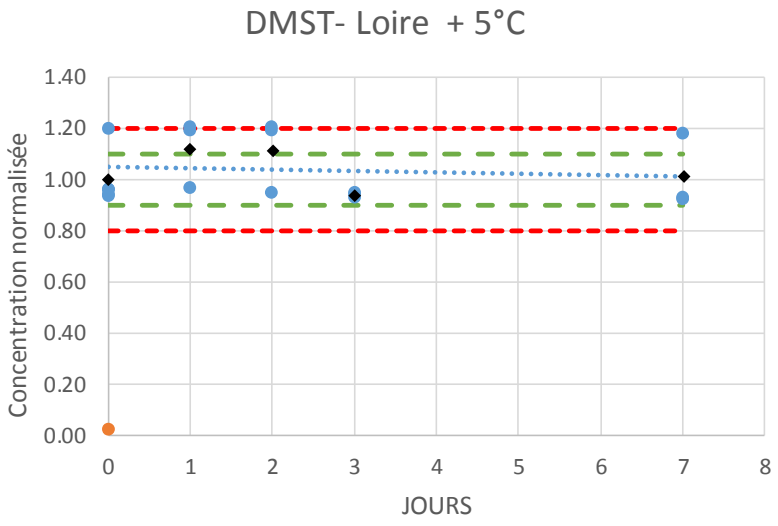
La stabilité à 7 jours pour le sotalol est vérifiée pour les 2 échantillons d'eau, aux 2 températures testées.

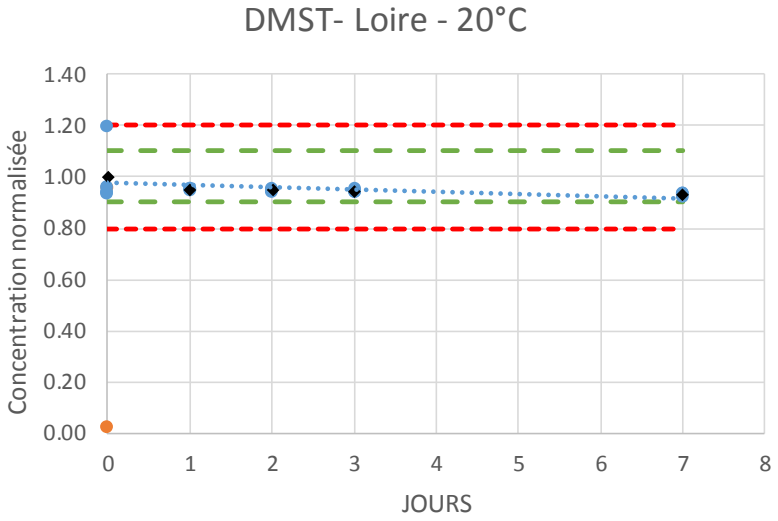
### 3.2.2. DMST


DMST- toutes conditions
Concentration normalisée
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS


DMST- Cosson + 5°C
Concentration normalisée
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS


DMST - Cosson + 20°C
Concentration normalisée
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS



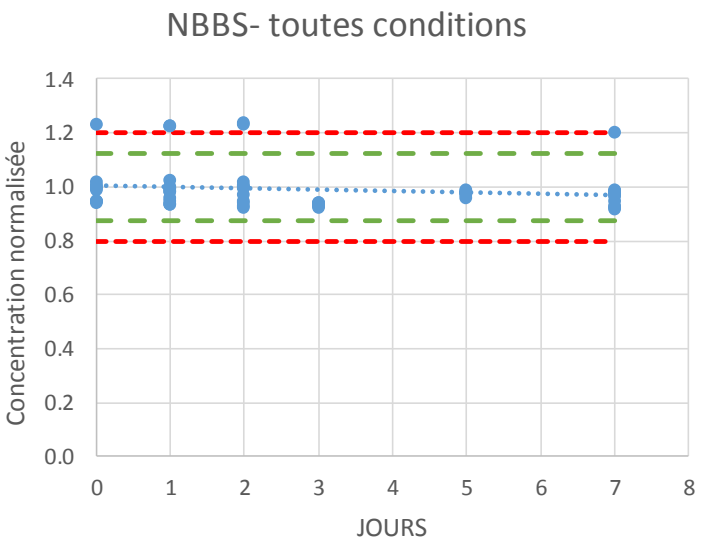



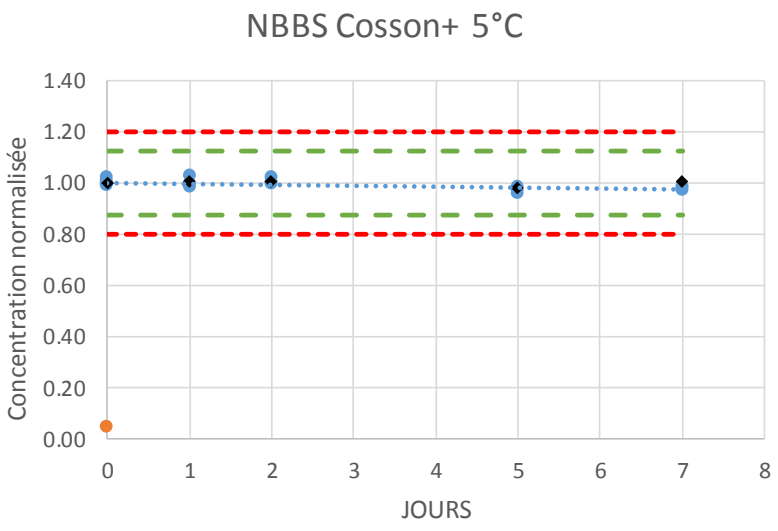

Pour les 4 conditions, l'exactitude à $J_0$ est vérifiée, la dispersion à $J_0$ est très faible, et les données expérimentales restent dans les bornes définies par les 2 IMA fixés.

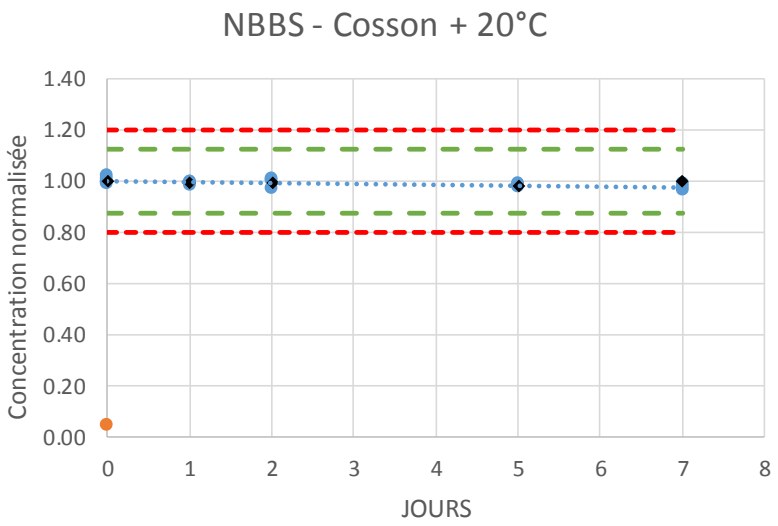
La stabilité à 7 jours pour DMST est vérifiée pour les 2 échantillons d'eau, aux 2 températures testées.

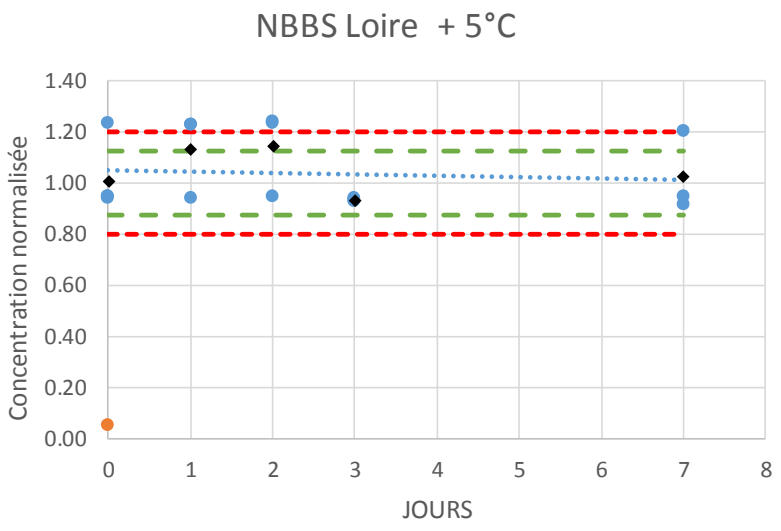
Cependant pour cette substance, dans un objectif de surveillance, les conclusions sont partielles. En effet, cette substance est un produit de dégradation du tolyfluanide. Pour conclure définitivement sur la stabilité de cette substance, il faudrait étudier également la stabilité de la molécule parent (donnée non disponible à ce jour). Cela nécessitait des développements dépassant le cadre de cette étude. Il est à noter également que le tolylfluanide ne fait pas partie des listes réglementaires.

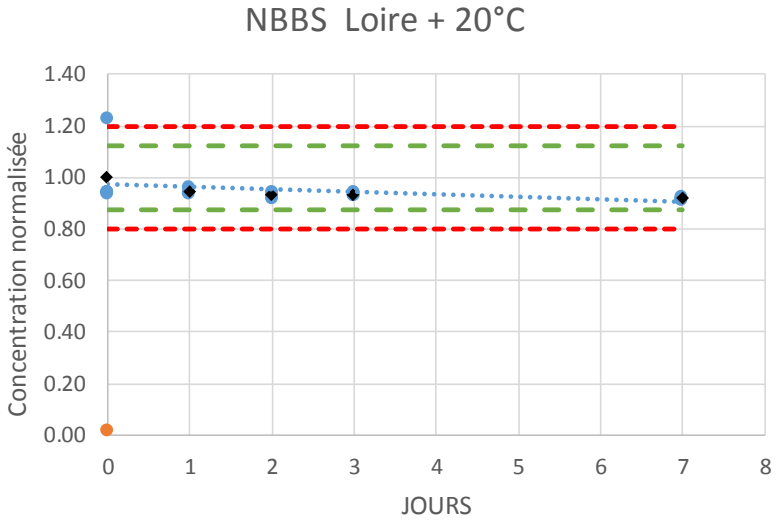
### 3.2.3. NBBS


NBBS- toutes conditions
Concentration normalisée
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS


NBBS Cosson+ 5°C
Concentration normalisée
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS


NBBS - Cosson + 20°C
Concentration normalisée
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS

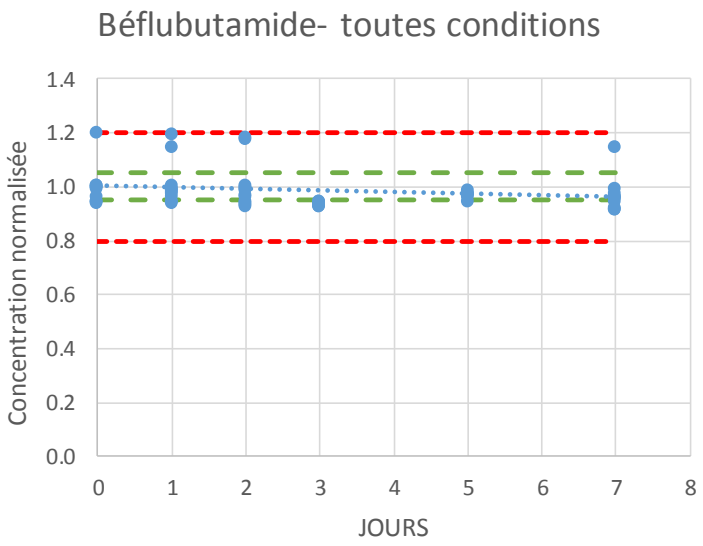


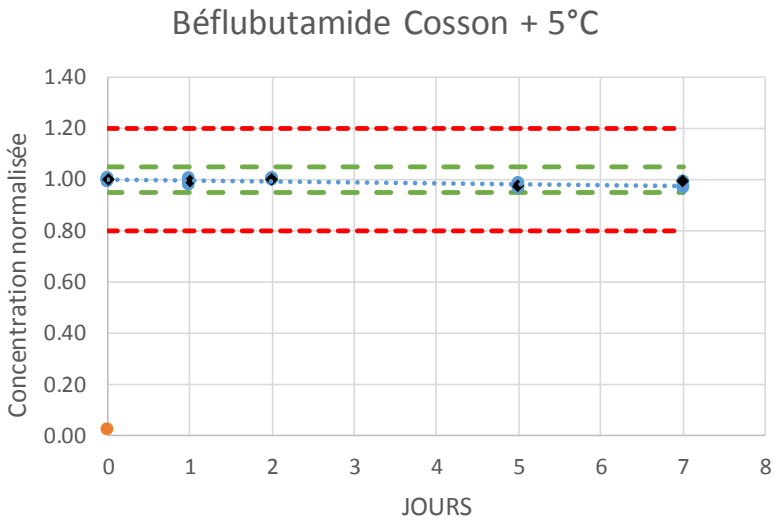



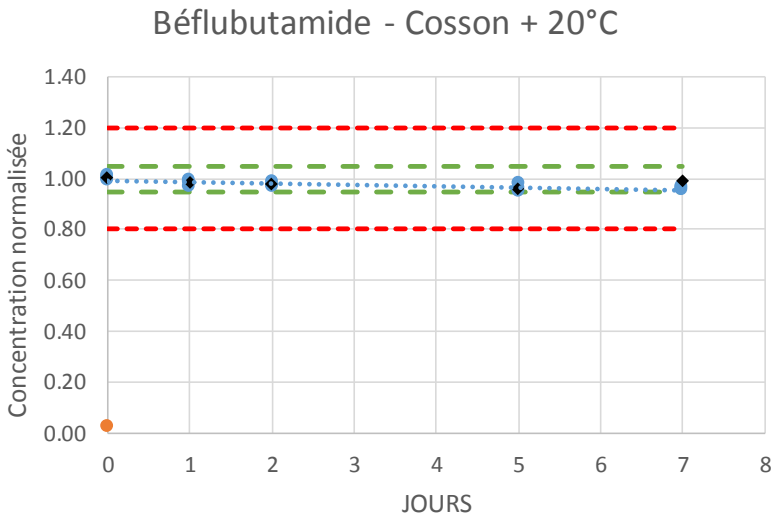

Pour les 4 conditions, l'exactitude à $J_0$ est vérifiée, la dispersion à $J_0$ est très faible, et les données expérimentales restent dans les bornes définies par les 2 IMA testés.

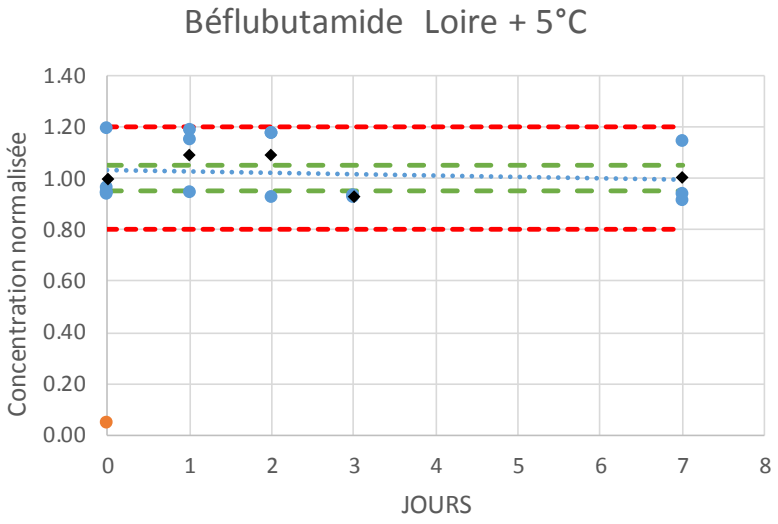
La stabilité à 7 jours pour NBBS est vérifiée pour les 2 échantillons d'eau, aux 2 températures testées.

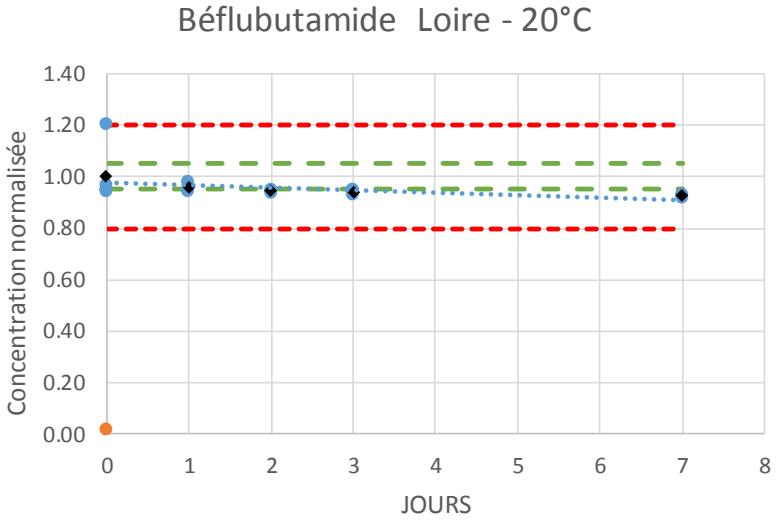
### 3.2.4. Béflubutamide




Béflubutamide Cosson + 5°C
Concentration normalisée
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS

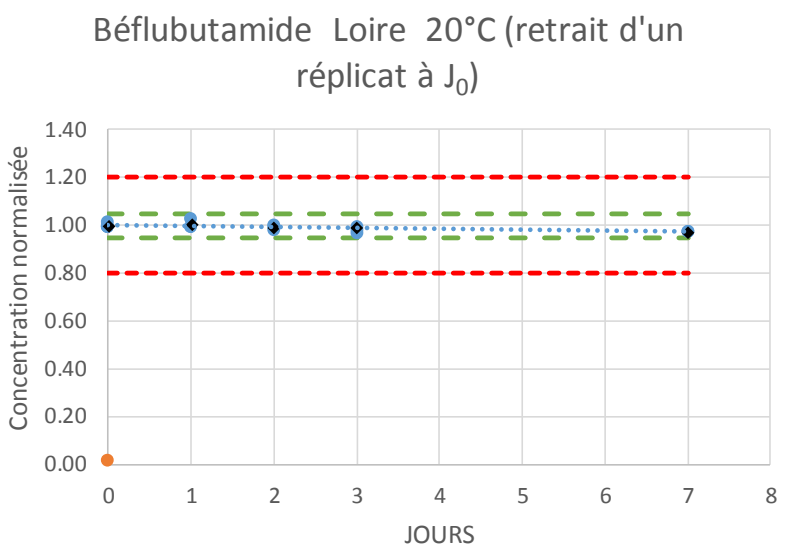

Béflubutamide - Cosson + 20°C
Concentration normalisée
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
0
1
2
3
4
5
6
7
8
JOURS




Pour les 4 conditions, l'exactitude à $J_0$ est vérifiée, la dispersion à $J_0$ est très faible, et les données expérimentales restent dans les bornes définies par l'$IMA_2$ (20%).

Dans le cas de l'eau de Loire à 20°C, une perte de stabilité semble être observée du fait que les données sortent du domaine délimité par les droites ±U/2 pour J7. Mais cela est dû au fait qu'un des réplicats à J0 est surestimé (cf 3.2). En effet, si ce point n'est pas pris en compte, les données sont celles présentées sur le graphe ci-dessous.




La stabilité à 7 jours pour béflubutamide est vérifiée pour les 2 échantillons d'eau, aux 2 températures testées.

### 3.2.5. Conclusion

Pour les 4 substances testées, la stabilité jusqu'à 7 jours est vérifiée, dans les deux échantillons d'eau étudiés (COT de 1,6 à 4,9 mg/l et MES jusqu'à 7 mg/l), à 5°C et 20°C.

# 4. Conclusion

Cette étude avait pour objectif de mener des essais de stabilité en laboratoire sur 4 substances des listes de surveillance réglementaire (sotalol, DMST, NBBS, et béflubutamide) pour à la fois acquérir de la connaissance sur la stabilité de substances organiques pour lesquelles très peu de données sont disponibles, mais également pour mettre en application les recommandations du guide méthodologique AQUAREF intitulé « lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau » [2]. Ce type d'étude permet également d'alimenter les discussions avec les laboratoires nationaux dans le cadre de la préparation d'un document normatif.

Pour le traitement des résultats, l'exactitude des données à $J_0$ a été contrôlée et vérifiée. Cette condition permet de s'assurer de la bonne maîtrise de la méthode d'analyse. La dispersion des données à $J_0$ permet de définir la variation minimale que l'étude est capable de détecter. Des limites de tolérance plus opérationnelles sont ensuite fixées, appelées « Instabilité Maximale Acceptable » (IMA). Dans ce travail, par exemple, la stabilité est évaluée en regard de l'incertitude de la méthode d'analyse, mais également en utilisant un critère qui a été utilisé dans d'autres études AQUAREF (perte acceptable de 20% après 3 jours) [3-5]. Dès lors que les données expérimentales sortent de l'une de ces limites, une instabilité peut être déclarée.

Ces essais ont montré que les 4 substances étudiées sont stables 7 jours pour les 4 conditions étudiées (2 températures, 2 échantillons d'eau de surface avec des teneurs en MES jusqu'à 7 mg/L et COT jusqu'à 5 mg/L), pour des échantillons stockés à l'abri de la lumière, pour les 2 critères opérationnels utilisés. Cependant pour le DMST, dans un objectif de surveillance, les conclusions sont partielles. En effet, cette substance est un produit de dégradation du tolyfluanide. Pour conclure définitivement sur la stabilité de cette substance, il faudrait étudier également la stabilité de la molécule parent (donnée non disponible à ce jour). Cela nécessitait des développements dépassant le cadre de cette étude. Il est à noter également que le tolylfluanide ne fait pas partie des listes réglementaires.

D'autres essais similaires pourront être réalisés sur des substances pour lesquelles les données sur la stabilité ne sont pas connues à ce jour afin de compléter les données de la synthèse [1]. Concernant le protocole décrit dans le guide [2], ces essais montrent son applicabilité, mais également certaines limites. Il est actuellement porté en normalisation et en discussion dans les commissions AFNOR et ISO.

# 5. Bibliographie

1. **P. Moreau, J. P. Ghestem, B. Lepot, and F. Botta**, "Délais de mise en analyse de paramètres surveillés dans les eaux naturelles continentales : synthèse documentaire et premières recommandations opérationnelles - AQUAREF 2015 - BRGM/RP-65507-FR", (2015).

2. **S. Lardy-Fontan and B. Lalere**, "Lignes directrice pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau - rapport AQUAREF LNE 2016", (2016).

3. **P. Moreau, A. Yari, and J. P. Ghestem**, "Etude de stabilité de 46 pesticides dans des échantillons d'eau de surface - AQUAREF 2015 - BRGM/RP-64034-FR", (2015).

4. **Moreau P. and Ghestem J.P.**, "Etude de la stabilité de 11 substances pertinentes à surveiller (SPAS) dans des échantillons d'eau de surface - rapport AQUAREF 2016 - BRGM/RP-66632-FR - 54p", (2016).

5. **S. Ngo, B. Lepot, and S. Lardy-Fontan**, "Etude de la stabilité de 17 HAP dans des échantillons d'eau de surface - rapport AQUAREF 2016 - 62p", (2016).

6. **AQUAREF**, "Opération d'échantillonnage en eau souterraine dans le cadre des programmes de surveillance DCE -Recommandations techniques - Edition 2015", (2015).

7. **AQUAREF**, "Opérations d'échantillonnage d'eau en cours d'eau dans le cadre des programmes de surveillance DCE - Recommandations techniques - Edition 2015", (2015).

8. **AQUAREF**, "Opérations d'échantillonnage d'eau en plan d'eau dans le cadre des programmes de surveillance DCE - Recommandations techniques - Edition 2015", (2015).

9. **AQUAREF**, "Opérations d'échantillonnage d'eau pour la surveillance des milieux aquatiques - Module spécifique DOM - Recommandations techniques - Edition 2015", (2015).

10. "Avis relatif aux limites de quantification des couples "paramètres-matrice' de l'agrément des laboratoires effectuant des analyses dans le domaine de l'eau et des milieux aquatiques du 8 novembre 2015".

11. **AQUAREF**, "Opérations d'analyses physico-chimiques des eaux et des sédiments en milieu continental dans le cadre des programmes de surveillance DCE - Recommandations techniques - Edition 2015", (2015).

**Centre scientifique et technique**
**Direction des laboratoires**
3, avenue Claude-Guillemin
BP 36009 – 45060 Orléans Cedex 2 – France – Tél. : 02 38 64 34 34
**www.brgm.fr**