

Bêtabloquants

Méthode d'analyse dans les eaux – Phase dissoute

Références de la méthode

La méthode qui suit est dérivée de la publication suivante	<i>Sans objet</i>
Norme dont est tirée la méthode	<i>Sans objet</i>
Niveau de validation selon Norman	Niveau 1
Code SANDRE de la méthode (suivant niveau de validation)	

Généralités

Nom de la famille de substances	Bêtabloquants
Nom des substances individuelles	acébutolol, aténolol, bêtaxolol, bisoprolol, metoprolol, nadolol, oxprénolol, propranolol, sotalol et timolol
Code(s) SANDRE des substances individuelles	Acébutolol : 6456 Aténolol : 5361 Bêtaxolol : 6457 Bisoprolol : 6453 Metoprolol : 5362 Nadolol : 6443 Oxprénolol : 6448 Propranolol : 5363 Sotalol : 5424 Timolol : 6444
Matrice analysée	Eau : Eau douce de surface Eau résiduaire
Acronyme [MSr5]	SPE / LC / MS-MS

Principe de la méthode	Extraction/concentration des composés par SPE Analyse par LC/MS-MS
Domaine d'application ^[MSr6]	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)
Autres paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	<i>Sans objet</i>
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	La verrerie de laboratoire lavée est rincée à l'acétone Tous les solvants sont de qualité « pour analyse de pesticides »

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 - Protocole ^[MSr10] : - Nature du contenant de stockage : - Lavage du contenant : - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :	-Ajout d'additif (0.1% d'acide formique, v/v) dans l'échantillon d'eau préalablement filtré. -Verre brun - Lavage à la machine, rinçage à l'acétone - 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 : - Type de support de filtration :	- Filtres Whatman en fibre de verre, porosité de 0,7 µm, diamètre de 45 mm (préalablement calcinés 1 heure à 450 °C) - Système de filtration en verre (1 litre) Sartorius
Pré-traitement des échantillons liquides ou solides	<i>Sans objet</i>

Analyse

Volume ou masse de la prise d'essai (mL ou mg)	Eau : Eau douce de surface 100 mL Effluent de STEP 100 mL
---	--

selon la phase analysée	Influent de STEP 100 mL
Dérivation ^[N13] - Conditions (réactifs, solvants, pH, température et durée)	
Extraction - Liquide / Liquide (préciser la nature et le volume du solvant) - Micro-onde (préciser la nature et le volume du solvant ainsi que les paramètres d'utilisation de l'appareil) - SPE (préciser le type de cartouche, la nature et les volumes des solvants de lavage et d'élution) - PFE ^[MSr14] (T°C, P, solvant d'extraction, nombre de cycles, % de flush) - Micro extraction (support, durée d'exposition, température, sel) - Autre (préciser)	Sans objet Sans objet SPE sur cartouches mixtes échangeuses de cations Oasis (Waters©) MCX <i>En cours de publication</i> Sans objet Sans objet
Purification (type de purification, paramètres de purification, méthode d'évaporation)	Sans objet
Conservation de l'extrait	Stabilité testée sur 72 heures.
Minéralisation Type d'appareil utilisé Durée et température et de minéralisation : Réactifs utilisés :	Sans objet

Volume^[MSr16] ou masse finale avant analyse :

250 µL pour les extraits d'eaux de rivières
500 µL pour les extraits d'eaux de stations d'épuration

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®)

En cours de publication

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
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](#)

Equipement ¹ (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 : aténolol D7, métoprolol D7 et propranolol D7 à 100 µg/L

Domaine de concentration

0,1 – 100 (bêtaxolol, oxprénolol, timolol, nadolol) ou 200 µg/L (pour les autres molécules)

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^[MSr21]

Paramètres de validation de la méthode

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

Norme utilisée^[MSr22]

XP T90-210

Modèle utilisé

Linéaire

Domaine de validation0,1 – 100 ou 200 µg/L *en cours***Matériaux de référence
certifiés 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**

	Concentration de dopage (ng/L)	R (%) : Eau d'entrée (n=1)	R (%) : Eau de sortie (n=2)
Aténolol	700	68	84
Acébutolol	1400	90	80
Timolol	700	87	73
Métoprolol	700	108	87
Oxprénolol	700	78	73
Bisoprolol	700	106	96
Bêtaxolol	700	87	74
Propranolol	700	76	81
Nadolol	700	78	74
Sotalol	1400	95	84

**- par niveau de
concentration**

Niveau bas :

	Concentration de dopage (ng/L)	R (%) (n= 8)
Aténolol	200	68
Acébutolol	50	86
Timolol	10	95
Métoprolol	25	97
Oxprénolol	10	98
Bisoprolol	25	94
Bêtaxolol	10	90
Propranolol	100	83
Nadolol	25	101
Sotalol	200	81

Niveau haut :

	Concentration de dopage (ng/L)	R (%) (n= 6)
Aténolol	2000	75
Acébutolol	2000	93
Timolol	100	99
Métoprolol	400	110
Oxprénolol	100	76
Bisoprolol	400	129
Bêtaxolol	100	128
Propranolol	400	106
Nadolol	400	107
Sotalol	2000	77

- par molécule

(si moyenne préciser le nombre de répétitions et l'écart-type)

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

[MSr25]

(indiquez la méthode de détermination en précisant la matrice testée)

Dans un premier temps par 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)

En cours : détermination des LQ par vérification d'une LQ pressentie (méthode expérimentale et statistique selon norme XP T90-210)

Spécificité de la méthode (préciser la matrice)

Testée : Oui

En cours

Si oui, dans quelle matrice ?

En cours selon norme XP T90-210

Incertitudes (%) sur les résultats

- par type de matrice

- par niveau de

concentration

- par molécule

(reproductibilité avec méthode de détermination)

En cours selon norme XP T90-220

Contacts

Auteurs

Institut

Adresses mail

Corinne Brosse et Cécile Miège

Cemagref Lyon

cecile.miege@cemagref.fr