

Application du POCIS pour l'échantillonnage et l'analyse semi-quantitative des bêtabloquants et des hormones estrogéniques dans les eaux de surface

Références de la méthode

La méthode qui suit est dérivée de(s) la publication(s) suivante(s)	Jacquet R ;, Miege C., Bados P., Schiavone S., Coquery M. Evaluating the polar organic chemical integrative sampler for the monitoring of beta-blockers and hormones in wastewater treatment plant effluents and receiving surface waters, <i>Environmental Toxicology and Chemistry</i> . 2011 , 31 (2), 279-288.
Code SANDRE de la méthode	<i>Sans objet</i>

Généralités

Nom de la famille de substances	Bêtabloquants (acébutolol, aténolol, bêtaxolol, bisoprolol, métoprolol, nadolol, oxprénolol, propranolol, sotalol, timolol) Hormones estrogéniques (estrone E1, 17 α -estradiol α -E2, 17 β -estradiol β -E2, estriol E3, 17 α -éthynilestradiol EE2)
Codes SANDRE des substances	Estrone : 5396 17 α -Estradiol : 5399 17 β -Estradiol : 5397 Estriol : 6446 17 α -Éthynilestradiol : 2629 Acébutolol : 6456 Aténolol : 5361 Bêtaxolol : 6457 Bisoprolol : 6453 Metoprolol : 5362 Nadolol : 6443 Oxprénolol : 6448 Propranolol : 5363 Sotalol : 5424 Timolol : 6444
Type de dispositif	Polar Organic Chemical Integrative Sampler (POCIS)
Matrice analysée	Eaux douces de surface, effluents et influents de station d'épuration

Principe et Théorie	Idem fiche Aquaref ME03: "Application du POCIS pour l'échantillonnage des herbicides dans les eaux de surface : approche quantitative avec l'utilisation d'un composé de référence et de performance " (Nicolas Mazzella, 2008).
Fraction échantillonnée	Fraction dissoute (< 0,1 µm)

Protocole analytique

Préparation, exposition et conservation des dispositifs et des échantillons

Conditionnement, et préparation des échantillonneurs	<p>Adsorbant (200 mg de OASIS ® HLB, 60µm, Waters)</p> <p>Atenolol-d7 (ATE-d7) en test (thèse Nicolas Morin). Dopage de l'adsorbant avec le PRC :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Peser 5 g d'adsorbant dans un ballon de 250 mL. - Ajouter 50 mL d'une solution à 50 µg/L d'ATE-d7 dans le méthanol - Passer le mélange aux ultrasons pendant 5 minutes puis éliminer le méthanol au moyen d'un évaporateur rotatif. La température du bain est de 40°C. - Sécher l'adsorbant dopé à température ambiante pendant 30 minutes puis à l'étuve (52°C) jusqu'à obtention d'une masse stable. <p>On obtient ainsi un dopage homogène d'environ 0,5 µg d'ATE-d7 par g d'adsorbant sec (soit 100 ng/POCIS).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Peser ensuite 200 mg d'adsorbant dopé et le placer entre deux membranes de polyéthersulfone (SUPOR ® 100, 90 mm de diamètre, porosité de 0,1 µm, Pall®). - L'ensemble est maintenu par deux anneaux plats en inox que l'on serre au moyen d'écrous et de vis en inox. On obtient un diamètre utile de 5,1 cm (où la membrane est accessible). - Analyse 1/ de la phase non dopée (blanc de phase), et 2/ de la phase dopée (préparée en triplicat), pour vérifier l'absence de contamination préalable et la concentration initiale en ATE-d7. <p>Après avoir assemblé les POCIS avec de la phase dopée, conserver les POCIS emballés dans une feuille d'aluminium et congelé (-20°C).</p>
Exposition des échantillonneurs	<p>Durée d'exposition conseillée de 15 jours (fin du régime cinétique de l'ATE).</p> <p>Les POCIS sont disposés dans des cages en inox (système standard commercialisé par Exposmeter) afin de les protéger. Ces cages sont grillagées pour laisser passer l'eau tout en réduisant le courant. Elles sont exposées sous la surface, classiquement entre 30 cm et 1 m environ, si possible. Elles ne doivent pas toucher les sédiments au fond de la rivière. Il n'est pas nécessaire de protéger les cages de la lumière.</p> <p>Il est préférable de mesurer préalablement la vitesse du courant en dehors de la cage puisque ce paramètre a une influence primordiale sur les taux d'échantillonnage. Il est aussi recommandé de suivre la température de l'eau car elle influence également les</p>

<ul style="list-style-type: none"> - Contrôle qualité (blancs d'exposition) - Précautions particulières 	<p>taux d'échantillonnage. Le PRC a pour but de corriger l'influence de ces deux paramètres.</p> <p>Il est aussi conseillé de mesurer la conductivité, le COD et COT.</p> <p>Un blanc de terrain (POCIS non exposé dans les eaux mais transporté dans les mêmes conditions) est réalisé.</p> <p>Les POCIS doivent être constamment immergés et ne doivent pas s'envaser. Eviter l'effet "bordure" lorsque cela est possible (cas des grands cours d'eau), pour cela les cages peuvent être fixées à une bouée située au moins à 2 mètres de la berge. Sécuriser les cages en les rendant par exemple moins visibles ou peu accessibles (problèmes fréquents de vol ou de vandalisme).</p> <p>Se reporter au projet de norme (ISO/CD 5667-23) concernant plus généralement les précautions à prendre lors de l'exposition <i>in situ</i> d'échantillonneurs passifs.</p>
<p>Récupération et élution/dialyse de la phase réceptrice</p> <ul style="list-style-type: none"> - Récupération - Extraction - Elution - Dialyse - Purification (cartouche, nature et volume du solvant d'élution, évaporation) - Autres 	<p>Après exposition, les POCIS sont emballés individuellement dans une feuille d'aluminium et un sac de congélation puis conservés à -20°C.</p> <p>Avant traitement, les POCIS sont mis à décongeler pendant 24h à 4°C dans du papier absorbant. Des cartouches d'extraction en verre de 6 mL (équipées d'un fritté en téflon) relatives à chaque POCIS sont pesées à vide. Les POCIS sont alors désassemblés et l'adsorbant est transféré à l'aide d'un entonnoir dans les cartouches en verre. La membrane et l'entonnoir sont rincés par 2 fois 5 mL d'eau milliQ® qui est versée dans les cartouches. Ces dernières sont ensuite séchées sous vide pendant au moins 15 minutes, jusqu'à ce que la phase soit bien sèche.</p> <p><i>Sans objet</i></p> <p>L'élution des cartouches est réalisée par 2 fois 5 mL de méthanol puis par 2 fois 5 mL d'un mélange méthanol/dichlorométhane (1/1, v/v) dans des tubes ASE®.</p> <p>L'adsorbant contenu dans chaque cartouche est ensuite séché sous vide pendant au moins 5 minutes puis repesé pour déterminer sa masse.</p> <p>L'évaporation des éluats se fait à l'évaporateur automatique ($V_{\text{agitation}} = 150 \text{ rpm}$, $T_{\text{réfri}} = 5^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{bain}} = 45^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{couvercle}} = 70^{\circ}\text{C}$, $P_{\text{vide}} = 550 - 300 \text{ mbars}$) puis sous courant d'azote à 30°C.</p> <p>L'extrait est repris dans 1 mL d'un mélange eau/acétonitrile (99/01) contenant les 2 traceurs d'injection à $50 \mu\text{g/L}$: le métoprolol impureté A pour les bêtabloquants et le 17β-estradiol acétate pour les hormones.</p> <p>Après reprise, les tubes sont placés 30 secondes au vortex puis 2 minutes aux ultrasons et à nouveau 30 secondes au vortex pour homogénéisation. L'extrait est alors séparé en 2 pour une analyse séparée des bêtabloquants et des hormones</p> <p><i>Sans objet</i></p> <p><i>Sans objet</i></p> <p><i>Sans objet</i></p>

Analyse

Technique analytique utilisée (Référence de la publication, de la norme ou de la fiche méthodologique Aquaref utilisée)	Les dosages sont réalisés par HPLC-ESI-MS/MS. Cf fiche Aquaref MA13 pour les bêtabloquants Cf fiche Aquaref MA12 pour les hormones
Correction par les rendements	Contrairement aux méthodes décrites dans les fiches MA12 et MA13, les concentrations ne sont pas corrigées par les rendements. Les extraits dilués par 10 ne montrent aucune interférences.
Effets de matrice	Les POCIS pré-concentrent assez fortement les analytes mais également des composés interférents présents dans la matrice. Il en résulte souvent des effets de matrice assez importants lors du dosage HPLC-ESI-MS/MS. Ces effets sont généralement réduits avec la dilution des extraits suivie de l'utilisation d'étalons internes.
Dilution(s) - Autres	Analyses de : - les extraits dilués au dixième et au centième pour les bêtabloquants en plus de l'extrait non dilué. - les extraits dilués au dixième pour les hormones estrogéniques en plus de l'extrait non dilué. Un contrôle qualité de fabrication est réalisé (POCIS dopé monté en laboratoire, conservé à -20°C et analysé lors de l'étude du POCIS exposé le plus longtemps).

Etalonnage et validation

Etalonnage des échantillonneurs en laboratoire - Schéma et fonctionnement du dispositif d'étalonnage - Taux d'échantillonnage et constantes d'équilibre - Coefficients de diffusion	En cours (thèse N.Morin). Suivi cinétique <i>in situ</i> seulement.
Evaluation des paramètres d'étalonnage in situ	
Niveau de validation selon Norman	S/O

Calculs d'incertitude	
Intercalibration	
Limites et développements ultérieurs	- Recherche de nouveaux PRC (idéalement faible log K_{ow} , deutéré et peu coûteux).

Contacts

Auteur(s)	Cécile Miège, Romain Jacquet et Nicolas Morin
Institut	Cemagref Groupement de Lyon
Adresse(s) mail	cecile.miege@cemagref.fr , romain.jacquet@cemagref.fr et nicolas.morin@cemagref.fr
Partenaires	