

Béflubutamide, DMST, NBBS et Sotalol

Méthode d'analyse dans les eaux souterraines – phase dissoute

Généralités

Nom de la famille de substances	<u>Amides (hors acétamides)</u> : Béflubutamide (herbicide) ; N,N-Diméthyl-N'-p-tolylsulphamide (métabolite du tolylfluanide) <u>Benzènes et dérivés</u> : N-butylbenzènesulfonamide <u>Médicaments Béta-bloquants</u> : sotalol
Nom des substances individuelles	Béflubutamide N,N-diméthyl-N'-p-tolylsulphamide (DMST) N-butylbenzènesulfonamide (NBBS) Sotalol
Code SANDRE des substances individuelles	Béflubutamide : 7522 DMST : 6824 NBBS : 5299 Sotalol : 5424
Matrice analysée [code SANDRE du support]	Eau [3]
Principe de la méthode	Extraction sur phase solide et analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse triple quadripôle avec une ionisation en électrospray positif (UPLC/MS/MS) et quantification par dilution isotopique.
Acronyme	SPE/UHPLC/MS/MS
Domaine d'application	5 à 1000 ng/L pour béflubutamide, DMST et sotalol 100 à 1000 ng/L pour NBBS
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	MES
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	Pour éviter toute contamination notamment pour le plastifiant NBBS, il est conseillé : - d'éviter le contact avec les plastiques au cours du prélèvement, du conditionnement et de l'extraction des échantillons ; - de réaliser un blanc méthode (avec une eau de qualité HPLC/MS/MS en bouteille verre par exemple) à chaque série d'extraction.
Interférents	Interférents identifiés : présence éventuelle de NBBS dans les plastiques qui doit être maîtrisée. Dans cette étude, les eaux souterraines ont été prélevées en tuyau téflon (piézomètre) au seau en acier (puits). Un effet de matrice a été constaté pour béflubutamide, NBBS et DMST : les taux de récupération de ces 3 composés et de leur analogue isotopiquement marqué respectif semblent affectés par la quantité de MES et/ou de carbone organique, pour les 4 eaux utilisées pour cette validation. Le même phénomène a été constaté dans une autre eau de surface plus riche en MES et COT (le Cosson).

Taux de récupération des étalons internes (moyenne pour les 5 niveaux, en duplicat) dans les 4 eaux utilisées pour la validation (Evian, PZ3, Puits du chêne, Loire) et dans une autre eau de rivière (le Cosson) :

	Evian n=10	PZ3 n=20	Puits du Chêne n=10	Loire n=20	Cosson n=30
Type d'eau	ESO	ESO	ESO	ESU	ESU
MES (mg/l)	< 2	< 2	3	2	5
COT (mg/l)	< 0,5	0,7	4,3	2,5	4,8
Sotalol-d7	78 ± 11%	71 ± 10%	87 ± 13%	82 ± 15%	62 ± 8%
DMST-d3	59 ± 13%	42 ± 8%	15 ± 4%	16 ± 5%	7 ± 1%
NBBS-d9	68 ± 6%	52 ± 4%	22 ± 3%	24 ± 4%	10 ± 1%
Beflubutamide-d7	53 ± 12%	43 ± 9%	20 ± 4%	25 ± 7%	12 ± 1%

La mise en œuvre de la dilution isotopique permet de s'affranchir des effets matrices.

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 :

Conditionnement et conservation des échantillons

- Protocole :
- Nature du contenant de stockage :
- Lavage du contenant :
- Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température...) :

Phase aqueuse : [3]

Les échantillons sont conservés à l'obscurité à 4 ± 2 °C. L'extraction peut être réalisée dans les 7 jours après le prélèvement.

Verre ambré (certifié EPA) ou protégé de la lumière par une feuille aluminium, avec bouchons à vis à revêtement de PTFE (polytétrafluoroéthylène).

Contenant neuf

L'étude de stabilité a été réalisée avec 2 eaux superficielles (la Loire : MES < 2 mg/L et COT = 2 mg/L ; le Cosson : MES = 7 mg/L et COT = 5 mg/L) dopées à 100 ng/L en béflubutamide, DMST, sotalol et à 500 ng/L en NBBS, conservées à 4°C et 20°C jusqu'à 7 jours (protocole Aquaref 2016 « Lignes directrices pour la conduite et la validation d'études de stabilité des paramètres physico-chimiques dans le domaine de l'eau »).

L'étude montre une stabilité de tous les composés pendant 7 jours à 4°C et 20°C.

Analyse

Volume de la prise d'essai	1000 mL
Extraction - SPE (préciser le type de cartouche, la nature et les volumes des solvants de lavage et d'élution)	Ajuster le pH de l'échantillon à $\text{pH } 7 \pm 0,1$ au pH-mètre avec de la soude (1 mol/L) ou de l'acide acétique (titre >99%). Ajouter 100 μL d'un mélange des 4 étalons internes (béflubutamide-d7, DMST-d3, NBBS-d9 et sotalol-d7) à 2,5 mg/L chacun dans le méthanol. Extraction sur cartouche HLB 500 mg (Waters) : Conditionnement : 5 mL de méthanol puis 5 mL d'eau (qualité milli-Q) à 5 mL/min Chargement de l'échantillon à 10 mL/min Rinçage avec 2 mL d'un mélange eau/méthanol 95/5 (v/v) à 5 mL/min Séchage sous azote 1h Elution avec 10 mL de méthanol à 5 mL/min Evaporation sous flux azote dans un bain marie à 40°C jusqu'à environ 0,5 mL. Au moment de l'analyse, évaporation à sec et ajout de 1 mL d'eau (qualité HPLC/MSMS).
Conservation de l'extrait	Non évalué

Volume avant analyse :

1 mL

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

Chromatographie :

Colonne Acquity UPLC HSS-T3 (10 cm x 2,1 mm, diamètre de particules 1,8 µm ; Waters), thermostatée à 40°C.

Phase mobile :

Voie A : Eau avec 0,01% d'acide formique (v/v)

Voie B : Méthanol avec 0,01% d'acide formique (v/v)

Débit : 0,3 mL/min

Temps (min)	% A	% B
0	95	5
0,75	95	5
8	1	99
9	1	99
9,3	95	5
14	95	5

Volume d'injection : 30 µL, échantillon maintenu à 10°C dans le passeur d'échantillons.

Spectrométrie de masse en mode MRM :

Mode d'ionisation : ESI+

Température de la source : 150 °C

Température de désolvatation : 650 °C

Débit gaz du cône : 50 L/h

Débit gaz de désolvatation : 800 L/h

Tension du capillaire : 1 kV

Conditions d'ionisation et de fragmentation :

Composés	Temps de rétention (min)	Tension de cône (V)	Transition de quantification en uma (énergie de collision en eV)	Transition de qualification en uma (énergie de collision en eV)
Béflubutamide	7,97	40	356 > 91 (25)	356 > 162 (30)
Béflubutamide-d7	7,95	40	363 > 98 (25)	363 > 169 (30)
DMST	6,39	25	215 > 106 (15)	215 > 79 (30)
DMST-d3	6,37	25	218 > 109 (15)	218 > 82 (30)
NBBS	6,67	25	214 > 77 (25)	214 > 158 (10)
NBBS-d9	6,64	25	223 > 77 (25)	223 > 159 (10)
Sotalol	2,75	25	273 > 255 (10)	273 > 133 (30)
Sotalol-d7	2,73	25	280 > 262 (15)	280 > 134 (30)

Equipements ¹ (modèles utilisés) :	Chromatographe Ultra Haute pression Acquity® (Waters) équipé d'un passeur d'échantillons automatique réfrigéré, avec dispositif d'injection permettant d'introduire une prise d'essai de 2 µL à 50 µL. Spectromètre de masse en tandem (triple quadripôle) : XEVO-TQD® (Waters)
Type d'étalonnage	Interne en mode dilution isotopique (analogue marqué pour chaque composé)
Modèle utilisé	Quadratique pondéré en 1/x pour béflubutamide, DMST et sotalol. Cubique pondéré en 1/x pour NBBS.
Étalons internes utilisés	Homologue marqué pour chaque composé, soit une solution de 4 étalons internes, chacun à 2,5 mg/L dans le méthanol : Béflubutamide-d7 DMST-d3 NBBS-d9 Sotalol-d7
Domaine de concentration	Étalonnage de 1 à 1000 µg/L pour béflubutamide, DMST et sotalol. Étalonnage de 10 à 1000 µg/L pour NBBS. Les étalons sont préparés dans de l'eau de qualité HPLC/MSMS.
Méthode de calcul des résultats Rendement	Étalonnage interne, en mode dilution isotopique. Sans objet. Chaque composé dispose de son homologue marqué ; cela permet de corriger du rendement pour chaque échantillon.
Blancs	Blanc méthode (eau de qualité HPLC/MSMS) réalisé à chaque série d'extraction.

Références de la méthode

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

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée Domaine de validation	NF T90-210 (mai 2009) LQ (5 ng/L pour béflubutamide, DMST, sotalol ; 100 ng/L pour NBBS) à 1000 ng/L
Matériaux de référence utilisés	Pas de matériau de référence disponible. Les essais sont réalisés sur des eaux naturelles (4 eaux souterraines et 2 eaux superficielles) présentant des teneurs en MES de < 2 à 3 mg/L et en COT de 0,3 à 4,3 mg/L.

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

Blancs analytiques
(concentration ou résultat maximum acceptable)

Blanc méthode (eau de qualité HPLC/MSMS) inférieur à la limite de détection.

Rendement

L'étude du rendement est réalisée dans des conditions de fidélité intermédiaire avec 4 eaux naturelles : 3 eaux souterraines (Evian x1, PZ3 géothermie x2, Puits du chêne x1) et 1 eau superficielle (Loire x2). Les teneurs en MES et COT s'étendent de < 2 à 3 mg/L et de < 0,5 à 4,3 mg/L, respectivement.

Les échantillons d'eau sont dopés à 4 niveaux de concentrations (5, 30, 100 et 1000 ng/L pour béflubutamide, DMST, sotalol et 50, 100, 300 et 1000 ng/L pour NBBS).

- par niveau de concentration

Rendement relatif moyen et écart-type en % (n=12 par niveau)				
Composés	5 ng/L	30 ng/L	100 ng/L	1000 ng/L
Béflubutamide	106 ± 5	99 ± 3	98 ± 3	96 ± 2
DMST	99 ± 18	99 ± 3	100 ± 2	107 ± 5
Sotalol	107 ± 6	106 ± 2	105 ± 2	100 ± 2

Rendement relatif moyen et écart-type en % (n=12 par niveau)			
Composé	100 ng/L	300 ng/L	1000 ng/L
NBBS	97 ± 11	94 ± 4	94 ± 8

Les résultats de la béflubutamide sont corrigés par un facteur 0,84 pour prendre en compte un biais sur la justesse, provenant de la réponse de l'étalon interne plus faible dans l'échantillon que dans l'étalonnage, comparativement à la molécule non marquée, attribuée à l'étape d'évaporation de l'extrait à sec.

NB : sans cette correction la validation de la méthode est également conforme à la NF T 90-210, avec un rendement relatif moyen pour les 4 niveaux de 119 ± 4%, et des incertitudes élargies de 50% (100 ng/L) et 35% (300 à 1000 ng/L).

Limite de quantification (LQ)

5 ng/L pour béflubutamide, DMST, sotalol
100 ng/L pour NBBS

Validées selon la norme NF T90-210 :2009 (plan B) par dopage des composés dans des eaux naturelles.

Limite de détection (LD)

Les limites de détection sont obtenues en divisant la limite de quantification par 3.

Incertitudes (%) sur les résultats

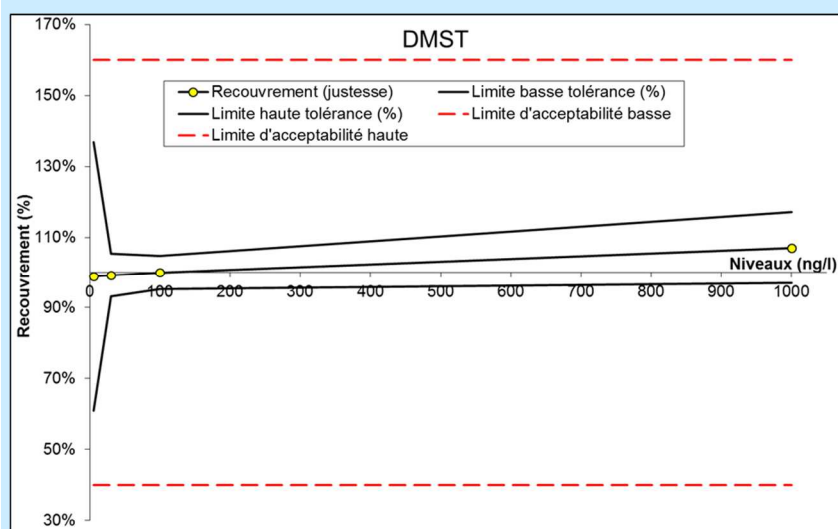
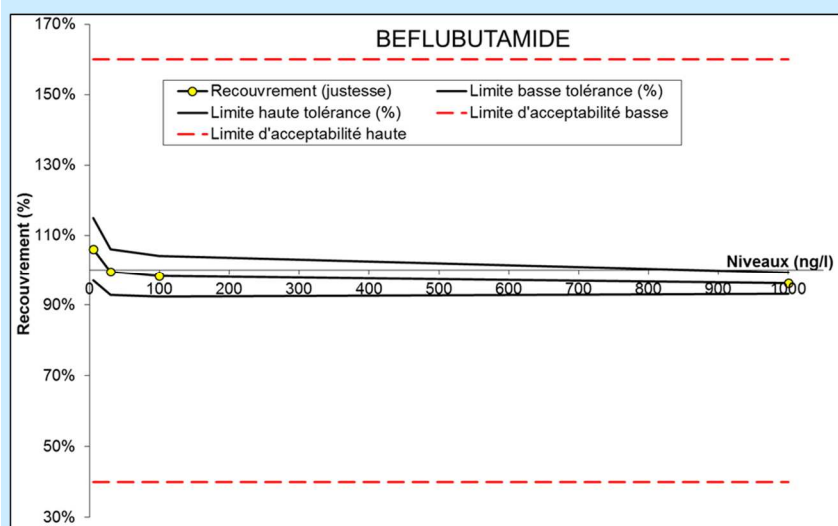
L'évaluation de l'incertitude est réalisée en utilisant la norme ISO 11352, par ajout des composés dans des eaux naturelles avec réalisation de deux réplicats pendant 6 jours différents à 3 ou 4 niveaux de concentration selon les composés. Elle prend en compte l'incertitude liée au biais et l'incertitude liée à la fidélité.

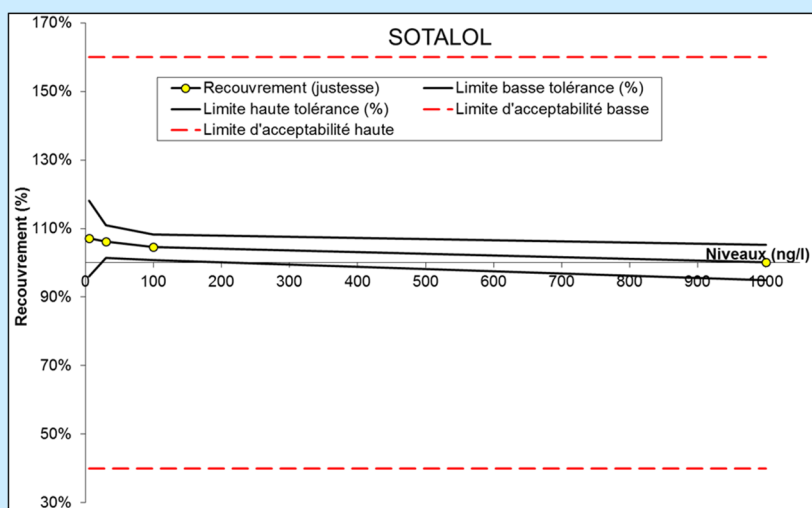
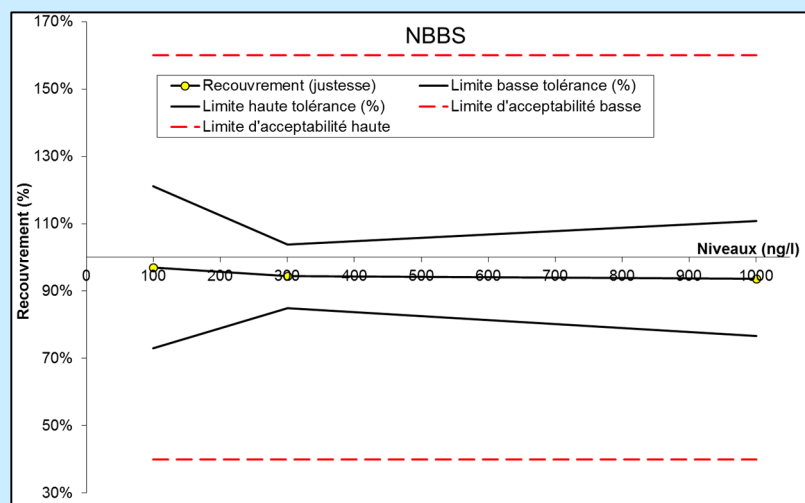
Elle est exprimée avec un facteur d'élargissement : k=2.

- par niveau de concentration

Composé	Incertitude élargie (k=2)	
	100 ng/L	300 à 1000 ng/L
NBBS	35%	30%
	5 ng/L	30 à 1000 ng/L
Béflubutamide	20%	10%
DMST	50%	20%
Sotalol	20%	15%

Profils d'exactitude :





Contacts

Auteurs

Sébastien BRISTEAU

Institut

BRGM

Contact

s.bristeau@brgm.fr