

SURVEILLANCE DES RESIDUS DE MEDICAMENT DANS LES EAUX

Stabilité dans les échantillons et distribution entre fractions dissoute et particulaire

S.Bristeau

Décembre 2011

Programme scientifique et technique
Année 2011

Document final

Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2011

Auteur (s) :

Sébastien Bristeau
BRGM
s.bristeau@brgm.fr

Avec la collaboration de :

Laurence Amalric et Anne Togola
BRGM
l.amalric@brgm.fr et a.togola@brgm.fr

Vérification du document :

Jean Philippe Ghestem
BRGM
Jp.ghestim@brgm.fr

Hugues BIAUDET
INERIS
Hugues.BIAUDET@ineris.fr

Francois LESTREMAU
INERIS
Francois.LESTREMAU@ineris.fr

Cécile Miede
Cemagref
miede@lyon.cemagref.fr

Lardy-Fontan Sophie
LNE
sophie.lardy-fontan@lne.fr

Les correspondants

Onema : Pierre François STAUB, ONEMA DAST, pierre-françois.staub@onema.fr

Etablissement : Jean-Philippe GHESTEM, BRGM, Service MMA, jp.ghestim@brgm.fr

Référence du document : Sébastien Bristeau – Surveillance des résidus de médicament : stabilité dans les échantillons d'eau et distribution entre fractions dissoute et particulaire – Rapport AQUAREF 2011 – 53 p.

Droits d'usage :	<i>Accès libre</i>
Couverture géographique :	<i>International</i>
Niveau géographique :	<i>National</i>
Niveau de lecture :	<i>Professionnels, experts</i>
Nature de la ressource :	<i>Document</i>

SURVEILLANCE DES RESIDUS DE MEDICAMENT DANS LES EAUX - STABILITE DANS LES ECHANTILLONS ET DISTRIBUTION ENTRE FRACTIONS DISSOUTE ET PARTICULAIRE
S.BRISTEAU, BRGM

RESUME

Ce rapport, rédigé par le BRGM dans le cadre du programme d'action d'AQUAREF et dans le cadre du partenariat ONEMA-BRGM pour l'année 2011, a pour objectif de faire le point sur les exigences pour l'analyse de substances pharmaceutiques dans les eaux. Des campagnes de surveillance exploratoires d'ores et déjà organisées pour ces composés dans les eaux devraient bientôt être lancées à plus large échelle. Il apparaît donc important de bien préciser quelques paramètres relatifs aux conditions d'analyses, notamment en termes de fraction à analyser (totale/dissoute) et de stabilité de ces substances dans les échantillons d'eau.

La stabilité des composés pharmaceutiques est étudiée par conservation d'une eau souterraine après 2, 4, 6 et 7 jours à 4°C. Ces eaux sont extraites sur phase solide et analysées en LC/MSMS.

La répartition entre les fractions particulières et dissoutes est évaluée par plusieurs dopages d'une eau naturelle en matière en suspension et analyse des différentes fractions (brute/dissoute/particulaire).

L'étude de la stabilité de 26 composés pharmaceutiques, effectuée dans une eau souterraine dopée à une concentration de 80 ng/l, montre que les échantillons peuvent être conservés 2 jours à 4°C à l'obscurité. Pour 19 des 26 composés pharmaceutiques, la stabilité est confirmée jusqu'à 7 jours. Les dégradations observées, à partir d'une durée de conservation de 2 à 7 jours, sont de 12% à 45% selon les substances.

Le projet de norme AFNOR sur le dosage de certains résidus médicamenteux dans la fraction dissoute des eaux est en accord avec les résultats obtenus puisqu'il est mentionné de réaliser la filtration et l'extraction dès que possible après le prélèvement et au plus tard 48 heures en conservant les échantillons à 5+/- 3°C.

L'étude de la répartition de 26 composés pharmaceutiques pour une eau superficielle chargée jusqu'à 85 mg/l en matière en suspension a permis de mettre en évidence leur affinité pour la phase aqueuse. La filtration de l'échantillon d'eau, préalablement à l'extraction sur phase solide dans nos conditions, ne semble pas nécessaire à la vue de ces données.

L'extraction sur phase solide permet de récupérer la totalité des 26 composés étudiés pour une eau superficielle contenant jusqu'à 85mg/l de matière en suspension. Dans les conditions étudiées, nos résultats semblent autoriser l'analyse sur fraction dissoute ou sur l'échantillon brut indifféremment. D'autres publications (Projet AMPERE ; Togola, 2006) présentent des données dans lesquelles la fraction de substances dans la phase particulaire n'est plus négligeable. Cependant il semble que le type de contexte (eaux de rejets ou influence forte d'eaux de rejets sur le milieu) puisse être responsable des conclusions différentes par rapport à notre étude.

Malgré les résultats du présent rapport, et en absence de données sur les contextes de tous les sites à surveiller, nous recommandons la recherche de ces composés dans les phases dissoutes et particulières.

Mots clés (thématique et géographique) :

Eaux - Distribution -Fraction particulaire - Fraction dissoute - Matières en suspension - Stabilité - SPE - Substances pharmaceutiques - Délai

*MONITORING OF DRUG RESIDUES IN WATER - AND STABILITY IN THE SAMPLE DISTRIBUTION
FRACTION BETWEEN DISSOLVED AND PARTICULATE
S.BRISTEAU, BRGM*

ABSTRACTS

This report was prepared by BRGM for the program AQUAREF and the partnership ONEMA-BRGM for 2011, aims to take stock of the requirements for the analysis of pharmaceuticals in water. Exploratory monitoring campaigns already organized for these compounds in water will soon be launched on a larger scale. It is therefore important to clarify a few parameters for analysis conditions, particularly in terms of test portion (total / dissolved) and stability of these substances in water samples.

Stability was tested by solid phase extraction (SPE) and analysis by LC / MSMS of groundwater sample storage after 2, 4, 6 and 7 days at 4 ° C.

The distribution between particulate and dissolved phases is evaluated by several doping of natural water in suspended matter and analysis of different fractions (crude / dissolved / particulate).

The stability study of 26 pharmaceutical compounds carried out in groundwater at a concentration of 80 ng/l, shows that samples can be stored 2 days at 4 ° C in the dark. For 19 of the 26 pharmaceutical compounds, the stability is confirmed up to 7 days. According to substances, degradation is observed in the order of 12% to 45%, from a length of conservation from 2 to 7 days.

The draft of AFNOR norm on the analysis of pharmaceutical compound in the dissolved fraction water is in accordance with acquired results.

The study of the distribution of 26 pharmaceutical compounds to a surface water charge up to 85 mg / l suspended matter has to show their affinity for the aqueous phase. Filtering the water sample, prior to solid phase extraction under these conditions does not seem necessary in view of these data.

Solid phase extraction allows to recover 26 compound studied for a superficial water until suspended matter level of 85mg/l. In studied conditions, our results seem to allow the analysis on dissolved fraction or sample untreated equally.

In this conditions, filtration of water sample seem not necessary.

Other publications (AMPERE Project; Togola, 2006) present data in which the fraction of substances in the particulate phase is no longer negligible. However it seems that the context type (water discharges or strong influence of water discharges to the environment) could be responsible for the different conclusions from our study.

Despite the results of this report, and no data on the contexts of all monitoring sites, we recommend looking for these compounds in dissolved and particulate phases.

Key words (thematic and geographical area):

Water - Distribution - particulate fraction - dissolved fraction - Suspended matter - Stability - SPE - Pharmaceutical Substances - Deadline

Surveillance des résidus de médicament dans les eaux

Stabilité dans les échantillons et distribution
entre fractions dissoute et particulaire

BRGM/RP-60558-FR
Décembre 2011

S.Bristeau
Avec la collaboration de
L.Amalric, A.Togola

Vérificateur :

Nom : JP GHESTEM

Date : 19/12/11

Signature :

Approbateur :

Nom : G HERVOUET

Date : 07/02/2012

Signature :

En l'absence de signature, notamment pour les rapports diffusés en version numérique,
l'original signé est disponible aux Archives du BRGM.

Le système de management de la qualité du BRGM est certifié AFAQ ISO 9001:2008.

Mots clés : Eaux – Distribution – Fraction particulaire – Fraction dissoute - Matières en suspension – Stabilité – SPE – Substances pharmaceutiques - Délai

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

Bristeau.S (2011) – Surveillance des résidus de médicament dans les eaux - Stabilité dans les échantillons et distribution entre fractions dissoute et particulaire. Rapport final. BRGM/RP-60558-FR, 53p. 36 ill.

Synthèse

Ce rapport, rédigé par le BRGM dans le cadre du programme d'action d'AQUAREF et dans le cadre du partenariat ONEMA-BRGM pour l'année 2011, a pour objectif de faire le point sur les exigences pour l'analyse de substances pharmaceutiques dans les eaux. Des campagnes de surveillance exploratoires d'ores et déjà organisées pour ces composés dans les eaux devraient bientôt être lancées à plus large échelle. Il apparaît donc important de bien préciser quelques paramètres relatifs aux conditions d'analyses, notamment en termes de fraction à analyser (totale/dissoute) et de stabilité de ces substances dans les échantillons d'eau.

La stabilité des composés pharmaceutiques est étudiée par conservation d'une eau souterraine après 2, 4, 6 et 7 jours à 4°C. Ces eaux sont extraites sur phase solide et analysées en LC/MSMS.

La répartition entre les fractions particulières et dissoutes est évaluée par plusieurs dopages d'une eau naturelle en matière en suspension et analyse des différentes fractions (brute/dissoute/particulaire).

L'étude de la stabilité de 26 composés pharmaceutiques, effectuée dans une eau souterraine dopée à une concentration de 80 ng/l, montre que les échantillons peuvent être conservés 2 jours à 4°C à l'obscurité. Pour 19 des 26 composés pharmaceutiques, la stabilité est confirmée jusqu'à 7 jours. Les dégradations observées, à partir d'une durée de conservation de 2 à 7 jours, sont de 12% à 45% selon les substances.

Le projet de norme AFNOR sur le dosage de certains résidus médicamenteux dans la fraction dissoute des eaux est en accord avec les résultats obtenus puisqu'il est mentionné de réaliser la filtration et l'extraction dès que possible après le prélèvement et au plus tard 48 heures en conservant les échantillons à 5+/- 3°C.

L'étude de la répartition de 26 composés pharmaceutiques pour une eau superficielle chargée jusqu'à 85 mg/l en matière en suspension a permis de mettre en évidence leur affinité pour la phase aqueuse. La filtration de l'échantillon d'eau, préalablement à l'extraction sur phase solide dans nos conditions, ne semble pas nécessaire à la vue de ces données.

L'extraction sur phase solide permet de récupérer la totalité des 26 composés étudiés pour une eau superficielle contenant jusqu'à 85mg/l de matière en suspension. Dans les conditions étudiées, nos résultats semblent autoriser l'analyse sur fraction dissoute ou sur l'échantillon brut indifféremment.

D'autres publications (Projet AMPERE ; Togola, 2006) présentent des données dans lesquelles la fraction de substances dans la phase particulaire n'est plus négligeable. Cependant il semble que le type de contexte (eaux de rejets ou influence forte d'eaux de rejets sur le milieu) puisse être responsable des conclusions différentes par rapport à notre étude.

Malgré les résultats du présent rapport, et en absence de données sur les contextes de tous les sites à surveiller, nous recommandons la recherche de ces composés dans les phases dissoutes et particulaires.

Sommaire

1. Introduction	9
2. Stabilité des composés pharmaceutiques	10
2.1. CONTEXTE	10
2.2. MATERIELS ET METHODES.....	10
2.2.1. Liste des composés	10
2.2.2. Échantillonnage	11
2.2.3. Protocole expérimental	12
2.2.4. Protocole analytique	12
2.3. RESULTATS	13
2.3.1. Alprazolam.....	14
2.3.2. Aténolol.....	14
2.3.3. Bézafibrate	15
2.3.4. Bromazépam	16
2.3.5. Carbamazépine	17
2.3.6. Clotrimazole.....	18
2.3.7. Cyclophosphamide	19
2.3.8. Diazépam	20
2.3.9. Diclofénac.....	21
2.3.10. Fénofibrate.....	22
2.3.11. Acide fénofibrique	24
2.3.12. Furosémide.....	25
2.3.13. Gemfibrozil.....	26
2.3.14. Ifosfamide	27
2.3.15. Iopromide.....	27
2.3.16. Kétoprofène	28
2.3.17. Lorazépam.....	29
2.3.18. Métoprolol.....	30
2.3.19. Naproxène	31
2.3.20. O-desméthylnaproxène	32
2.3.21. Oxazépam	33
2.3.22. Paracétamol.....	34
2.3.23. Propranolol	35
2.3.24. Sulfaméthoxazole	36

2.3.25.	Triméthoprim	37
2.3.26.	Zolpidem	38
2.4.	CONCLUSION SUR LA STABILITE	39
3.	Etude de la répartition de substances pharmaceutiques entre phase solide et phase aqueuse	44
3.1.	CONTEXTE	44
3.2.	MATERIELS ET METHODES	45
3.2.1.	Liste des composés	45
3.2.1.	Echantillonnage.....	46
3.2.2.	Protocole expérimental	47
3.2.3.	Protocole analytique.....	47
3.3.	RESULTATS	48
3.3.1.	Teneurs dans les matières en suspension.....	48
3.3.1.	Comparaison des résultats entre la fraction dissoute et totale	49
3.4.	CONCLUSION SUR LA REPARTITION	54
4.	Conclusions.....	55
5.	Bibliographie	56

Liste des illustrations

Illustration 1 : Liste des composés étudiés.	11
Illustration 2 : Paramètres physico-chimiques de l'eau souterraine échantillonnée.	11
Illustration 3 : Stabilité de l'alprazolam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	14
Illustration 4 : Stabilité de l'atenolol dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	15
Illustration 5 : Stabilité du bézafibrate dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	16
Illustration 6 : Stabilité du bromazépam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	17
Illustration 7 : Stabilité de la carbamazépine dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	18
Illustration 8 : Stabilité de la clotrimazole dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	19
Illustration 9 : Stabilité du cyclophosphamide dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	20
Illustration 10 : Stabilité du diazépam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	21
Illustration 11 : Stabilité du diclofénac dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	22
Illustration 12 : Stabilité du fénofibrate dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	23
Illustration 13 : Stabilité de l'acide fénofibrique dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	24
Illustration 14 : Stabilité du furosémide dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	25
Illustration 15 : Stabilité du gemfibrozil dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	26
Illustration 16 : Stabilité de l'ifosfamide dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	27
Illustration 17 : Stabilité de l'iopromide dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	28
Illustration 18 : Stabilité du kétoprofène dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	29
Illustration 19 : Stabilité du lorazépam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.	30
Illustration 20 : Stabilité du métoprolol dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	31
Illustration 21 : Stabilité du naproxène dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	32

Illustration 22 : Stabilité de l' o-desméthylnaproxène dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	33
Illustration 23 : Stabilité de l'oxazépam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	34
Illustration 24 : Stabilité du paracétamol dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	35
Illustration 25 : Stabilité du propranolol dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	36
Illustration 26 : Stabilité du sulfaméthoxazole dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	37
Illustration 27 : Stabilité du triméthoprim dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	38
Illustration 28 : Stabilité du zolpidem dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.	39
Illustration 29 : Stabilité des composés pharmaceutiques dans une eau souterraine (Theuriet) à 4 °C (80 ng/l) sur une période de 7 jours.....	40
Illustration 30 : % de dégradation observée des composés pharmaceutiques après 4, 6 et 7 jours dans une eau souterraine conservée à 4 °C.	41
Illustration 31 : Liste des composés étudiés pour l'EIL organisé par l'AFFSA en 2009.....	41
Illustration 32 : Liste des composés médicamenteux étudiés pour l'EIL organisé par Aquaref en 2011.	42
Illustration 33 : Coefficient de partage octanol/eau et les constantes d'acidités des substances pharmaceutiques (nd : non disponible)	46
Illustration 34 : Paramètres physico-chimiques de l'eau superficielle de la Loire.	46
Illustration 35 : Dosage des MES dans les échantillons filtrés.	48
Illustration 36 : Comparaison de la teneur retrouvée dans l'échantillon brut et après filtration selon la teneur en MES pour 26 composés pharmaceutiques.	53

1. Introduction

Les substances émergentes sont de plus en plus surveillées d'abord dans le cadre de campagne d'études (NORMAN, AMPERE, Agences de l'eau...) et également de campagnes exploratoires nationales en eau souterraine (2011 et 2012) et en eau superficielle (2012). Avant d'intégrer ces composés dans les listes réglementaires et en l'absence de texte normatif, il paraît indispensable de fixer rapidement les conditions analytiques adaptées pour cette surveillance, notamment en termes de fraction à analyser (totale/dissoute) et de délai entre prélèvement et analyse.

La phase particulaire a rarement été étudiée dans l'analyse des composés pharmaceutiques compte tenu de leurs polarités; quelques projets ont toutefois traité le sujet (exemple : projet ANR Ampère, leader Cemagref). Egalement, très peu de données sont disponibles sur la stabilité des composés pharmaceutiques dans les matrices aqueuses, à l'exception d'essais inter-laboratoire réalisés par ANSES en 2009 et par le BRGM en 2011.

Pour répondre à ces questions, cette note s'appuie sur des travaux expérimentaux. Pour l'étude de la stabilité, une eau souterraine dopée en composés pharmaceutiques est conservée jusqu'à 7 jours pour simuler le délai entre l'échantillonnage et l'analyse. Pour l'étude de la fraction à analyser, une eau superficielle est dopée avec les composés et la charge en matière en suspension est augmentée jusqu'à 85mg/l.

Ce document est rédigé par le BRGM dans le cadre du programme d'action d'AQUAREF et dans le cadre du partenariat ONEMA-BRGM pour l'année 2011.

2. Stabilité des composés pharmaceutiques

2.1. CONTEXTE

La stabilité de substances pharmaceutiques entre l'échantillonnage et l'analyse est étudiée pour évaluer l'impact sur les exigences en termes de délai de transport et de démarrage des analyses au laboratoire.

Compte tenu de contraintes expérimentales (nombre important d'échantillons prélevés) ou de la non maîtrise de la date de prélèvement, il peut s'avérer indispensable de pouvoir conserver les échantillons d'eau sur une période de plusieurs jours.

La conservation de l'échantillon est testée sur une période maximale de 7 jours à la température de 4°C.

2.2. MATERIELS ET METHODES

2.2.1. Liste des composés

En fonction des études d'occurrence préalables effectuées en France (Beausse, 2004 ; Miège et al., 2006 ; Rabiet et al., 2006) et à travers le monde (Ternes, 1998 ; Kolpin et al., 2002 ; Zuccato et al., 2000 ; Ashton et al., 2004), des données 2002 et 2003 de la consommation française (CNAMTS, 2003) et de la potentielle toxicité des substances, des composés pharmaceutiques ont été choisis, représentant les principales classes thérapeutiques d'usage courant. Certains métabolites ont également été pris en compte : acide fénofibrique (métabolite du fénofibrate) et l'odesméthylnaproxène (métabolite du naproxène).

26 composés pharmaceutiques ont été sélectionnés pour cette étude (Illustration 1).

Famille	Composé	Code Sandre	Code CAS
Psychotropes	alprazolam	5370	28981-87-7
	bromazépam	5371	1812-30-2
	diazépam	5372	439-14-5
	lorazépam	5374	846-49-1
	oxazépam	5375	604-75-1
	zolpidem	5376	82626-48-0
Hypolipidémiants	gemfibrozil	5365	25812-30-0
	bézafribrate	5366	41859-67-0
	fénofibrate	5368	49562-28-9

Analgésiques	acide fénofibrique	5369	42017-89-0
	diclofénac	5349	15307-86-5
	naproxène	5351	22204-53-1
	odesméthylnaproxène	5352	52079-10-4
	kétoprofène	5353	22071-15-4
Bétabloquants	paracétamol	5354	103-90-2
	aténolol	5361	29122-68-7
	métoprolol	5362	37350-58-6
	propranolol	5363	525-66-6
Antibiotiques	sulfaméthoxazole	5356	723-46-6
	triméthoprim	5357	738-70-5
Antiépileptique	carbamazépine	5296	298-46-4
Antifongique	clotrimazole	5360	23593-75-1
Diurétique	furosémide	5364	54-31-9
Anticancéreux	Cyclophosphamide	6723	50-18-0
	Ifosfamide	6727	3778-73-2
Produit de contraste	Iopromide	5377	73334-07-3

Illustration 1 : Liste des composés étudiés.

2.2.2. Échantillonnage

La matrice utilisée est une eau souterraine prélevée au lieu-dit Theuriet (banlieue d'Orléans) par le BRGM. Les principaux paramètres physico-chimiques ont été analysés (Illustration 2). Néanmoins quelques paramètres (COT, MES) sont susceptibles d'évoluer dans notre essai suite à l'ajout de solvant organique lors du dopage de l'échantillon en composé pharmaceutique.

Paramètres	Teneur en mg/l et pH
COT (Carbone organique total)	1,7
MES (Matières en suspension)	< 2
pH (sur site)	7,6
Calcium	52,4
Chlorures	18,5
Potassium	3,4
Magnésium	6,3
Nitrates exprimés en NO ₃	18,8
Sodium	11,8
Sulfates	19
Carbonates	< 5
Bicarbonates	157

Illustration 2 : Paramètres physico-chimiques de l'eau souterraine échantillonnée.

Les composés pharmaceutiques ont été recherchés dans l'échantillon d'eau total.

La limite de quantification pour l'ensemble de ces composés est de 20ng/l. Quatre composés sont présents mais à des teneurs inférieures à cette valeur : diclofénac, oxazépam, sulfaméthoxazole et carbamazépine, à une concentration de l'ordre de 10 ng/l. Ces teneurs sont prises en compte dans le rendu des résultats

2.2.3. Protocole expérimental

La stabilité des échantillons à 4 °C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) est testée sur 7 jours pour une concentration en résidus médicamenteux de 80 ng/l.

Les flacons sont en verre ambré (certifié EPA) et aucun traitement est réalisé avant utilisation.

Le dopage des échantillons est réalisé par ajout de 1 ml (par pesée) d'une solution des 26 composés pharmaceutiques (à 80 $\mu\text{g/l}$ dans le méthanol) dans 1 litre d'échantillon. Après agitation manuelle de quelques minutes, les échantillons sont stockés à 4°C au réfrigérateur.

Cette valeur de 80 ng/l correspond à 2 ou 4 fois la valeur de limite de quantification pour la majorité des composés validés. Elle a été choisie afin de limiter la variabilité analytique dans l'exploitation des résultats.

Pour évaluer au mieux la variabilité de la méthode, les dopages sont réalisés, pour chaque délai étudié, sur 2 flacons de 1 litre et chaque flacon est extrait en duplicat (soit 4 mesures par délai). L'extraction est effectuée sur 500ml d'échantillon. Ces essais permettent de s'assurer que la diminution de la teneur en composé est provoquée par la dégradation du composé dans l'échantillon et non par la variabilité du protocole d'extraction et/ou d'analyse et de la non homogénéité de l'échantillon.

Les échantillons sont préparés 2, 4, 6 et 7 jours avant l'extraction et le jour même de la série analytique, soit 10 flacons dopés sur 5 dates et 20 extraits analysés le même jour dans une même série et dans un ordre aléatoire.

Le délai entre l'extraction et l'analyse est de 1 à 3 jours selon les échantillons, avec une conservation de l'extrait à -18°C. En parallèle de ces essais au laboratoire, la stabilité des composés dans l'extrait est vérifiée pour s'assurer que ce paramètre n'influence pas le résultat final. L'échantillon d'eau souterraine non dopée (1 litre) est extrait en SPE, l'extrait est ensuite dopé et conservé à -18°C.

2.2.4. Protocole analytique

La méthode d'analyse des résidus de produits pharmaceutiques dans les eaux est réalisée au BRGM par extraction sur cartouche Oasis HLB (Waters®) puis analyse par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse triple quadripôle (Quatro Premier XE, Waters®).

Le protocole d'extraction est celui défini dans la fiche de méthode Aquaref MA14.

L'analyse se fait en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring) en ionisation électrospray, en mode positif (ESI +) ou mode négatif (ESI-) selon les molécules.

Trois traceurs sont ajoutés à l'échantillon pour s'assurer du bon déroulement du mode opératoire : diazépam d5, ibuprofène d3 et sulfaméthoxine d6.

Le standard interne oxazépam d5 est ajouté à l'extrait avant l'analyse.

2.3. RESULTATS

Pour évaluer la stabilité du composé dans les échantillons d'eau, les résultats sont exprimés en comparant les concentrations moyennes (n=4, 2 flacons de 1 litre et chaque flacon extrait en duplicat) mesurées après 2, 4, 6 et 7 jours par rapport à la concentration moyenne (n=4) mesurées au temps 0 :

$$\text{Ratio jour } J = \frac{\text{Moyenne des concentrations mesurées au jour } J}{\text{Moyenne des concentrations mesurées au jour } J_0}$$

Les illustrations 3 à 28 présentent les données suivantes :

- la valeur du ratio jour J à 1, correspond à la valeur ciblée à J₀ (ligne rouge),
- intervalles de confiance sur la teneur à t₀ (pointillé rouge) ; cet intervalle est calculé à partir de l'écart-type moyen de répétabilité sur l'ensemble des données,
- le résultat correspondant à la moyenne des 4 réplicats (losange bleu) avec un écart-type associé (barre d'erreur).

Une dégradation est confirmée si les intervalles de confiance ne se recoupent pas.

Les 3 traceurs sont utilisés pour vérifier le bon déroulement de l'extraction, on constate que les taux de récupération pour un échantillon au temps de conservation 7 jours sont faibles pour le flacon 1 et l'extraction 1 (71 %, 55 % et 34 % en diazépam d5, ibuprofène d3 et sulfaméthoxine d6, respectivement). Par conséquent, seuls 3 des 4 résultats seront pris en compte pour cette date.

Pour la totalité de ce rapport, le terme « dégradation » est utilisé. Cependant ce terme peut être remplacé par « perte » puisqu'il se pourrait que certaines diminutions observées des teneurs en composés pharmaceutiques soit aussi dû à leurs adsorptions sur le flacon.

2.3.1. Alprazolam

Les résultats de l'étude de stabilité pour l'alprazolam, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4°C, sont présentés dans l'illustration 3.

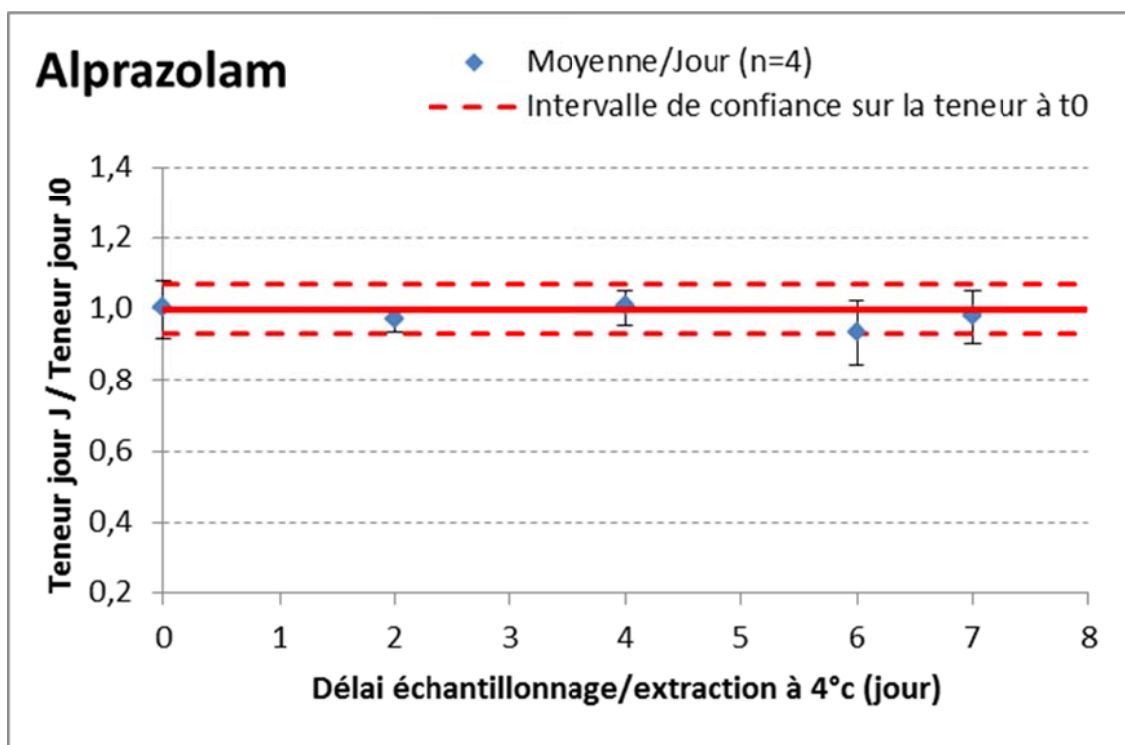


Illustration 3 : Stabilité de l'alprazolam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 7%. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,07$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4°C sur la matrice étudiée.

2.3.2. Aténolol

Les résultats de l'étude de stabilité pour l'aténolol, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 4.

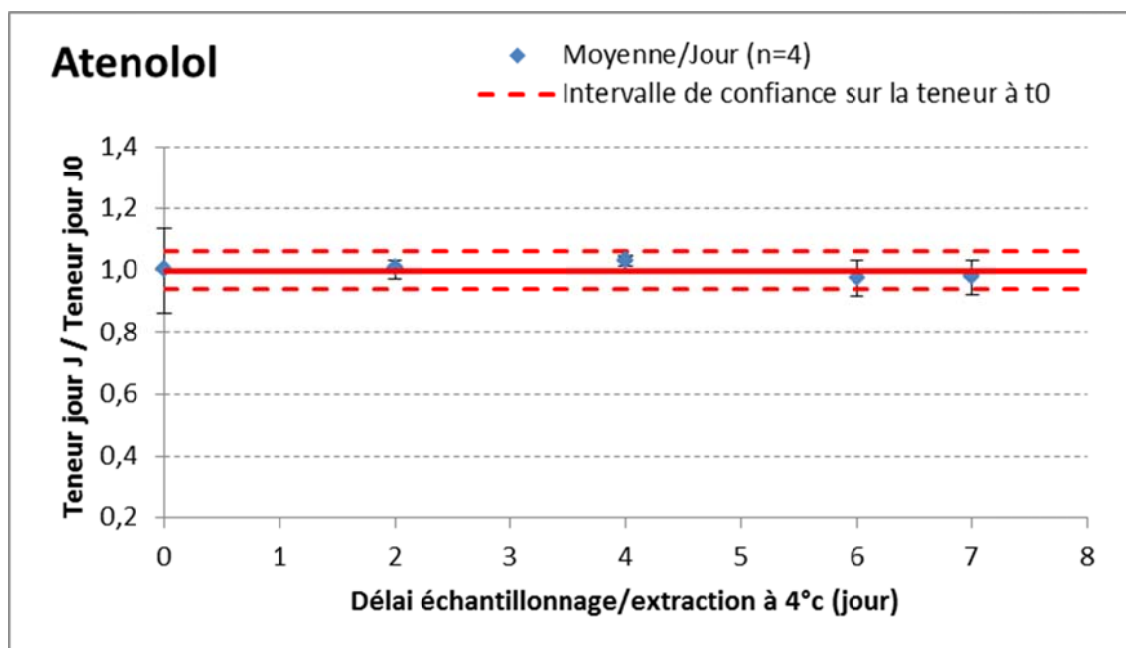


Illustration 4 : Stabilité de l'atenolol dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t₀ est évalué à 6 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,06$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.3. Bézafigrate

Les résultats de l'étude de stabilité pour le bézafigrate, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 5.

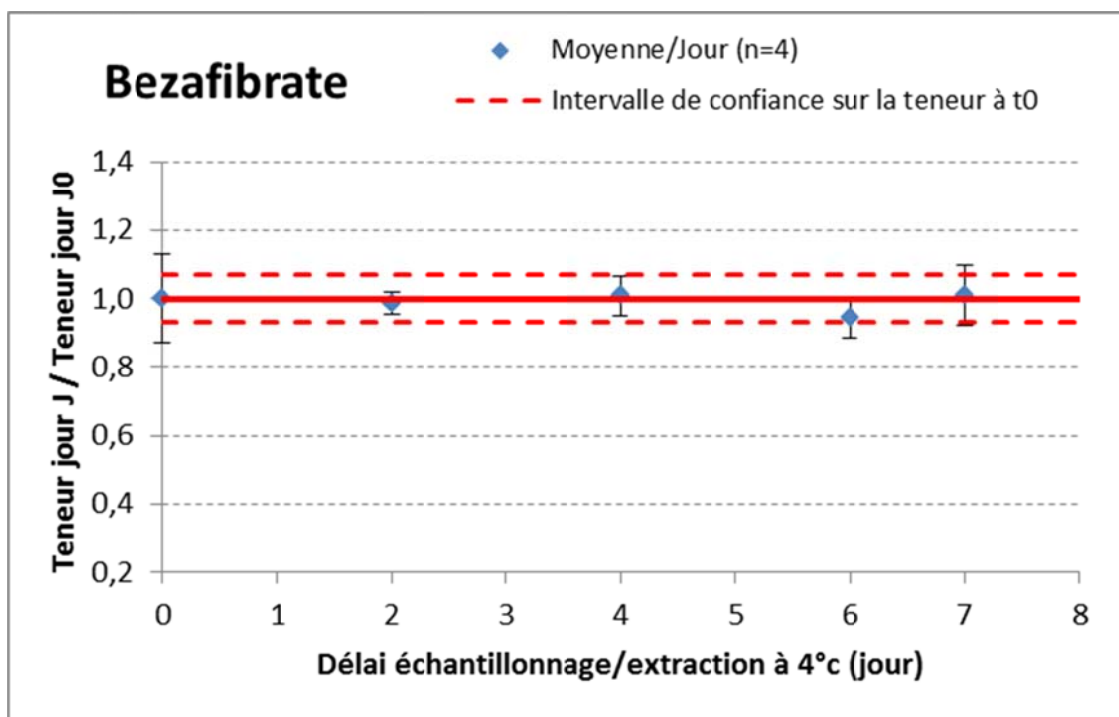


Illustration 5 : Stabilité du bézafibrate dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 7 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,07$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.4. Bromazépam

Les résultats de l'étude de stabilité pour le bromazépam, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 6.

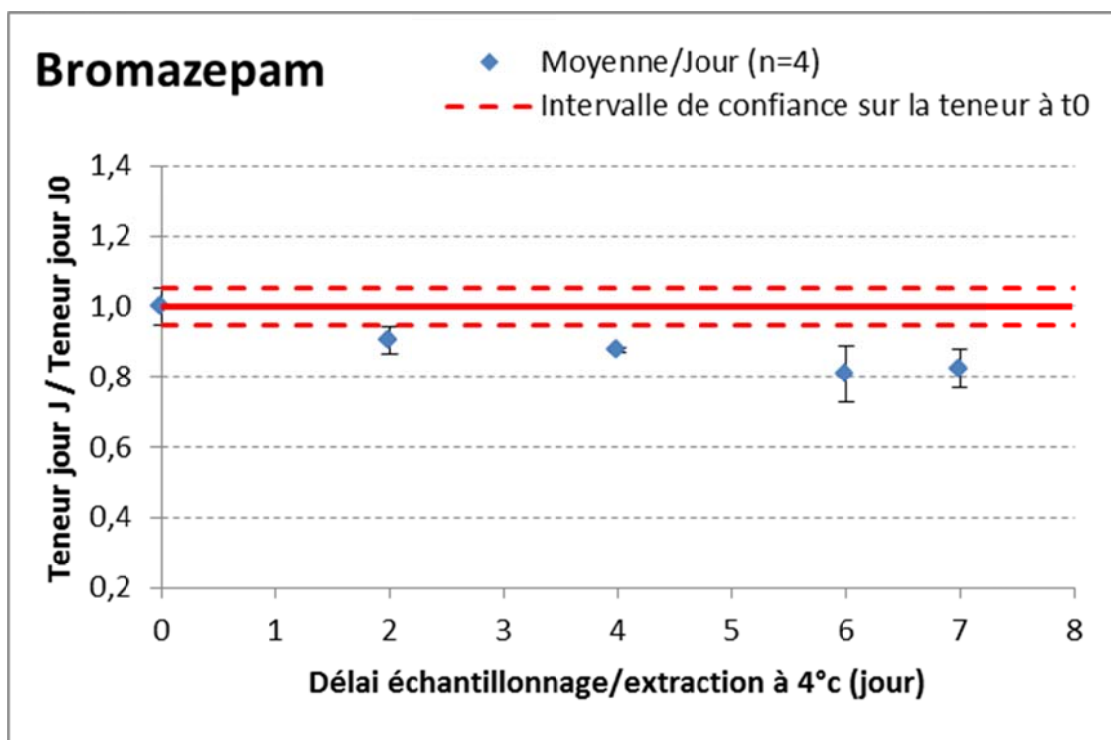


Illustration 6 : Stabilité du bromazépam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 5 %. Aucune des moyennes des teneurs (n=4) retrouvées ne sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,05$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 2 jours de 0,05 pour un ratio moyen de 0,90, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,05$.

Pour des dates de conservation de 4, 6 et 7 jours, les moyennes sont de 0,88, 0,81 et 0,82 avec un écart-type de 0,04, 0,01 et 0,08 respectivement. Compte tenu de l'intervalle de confiance, une différence est observée à partir de 4 jours.

Les dégradations observées sont de 12 %, 19 % et 18 % après 4, 6 et 7 jours, respectivement.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 2 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.5. Carbamazépine

Les résultats de l'étude de stabilité pour la carbamazépine, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 7.

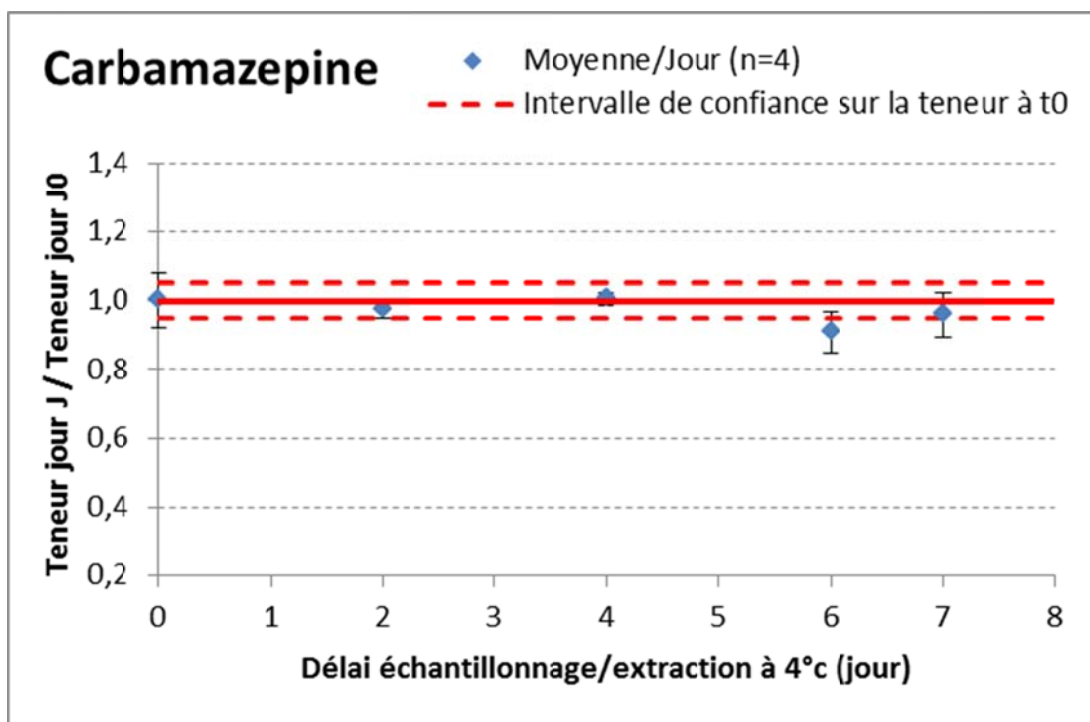


Illustration 7 : Stabilité de la carbamazépine dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 5 %. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 2, 4, et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,05$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 6 jours de 0,06 pour un ratio moyen de 0,91, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,05$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4°C sur la matrice étudiée.

2.3.6. Clotrimazole

Les résultats de l'étude de stabilité pour le clotrimazole, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 8.

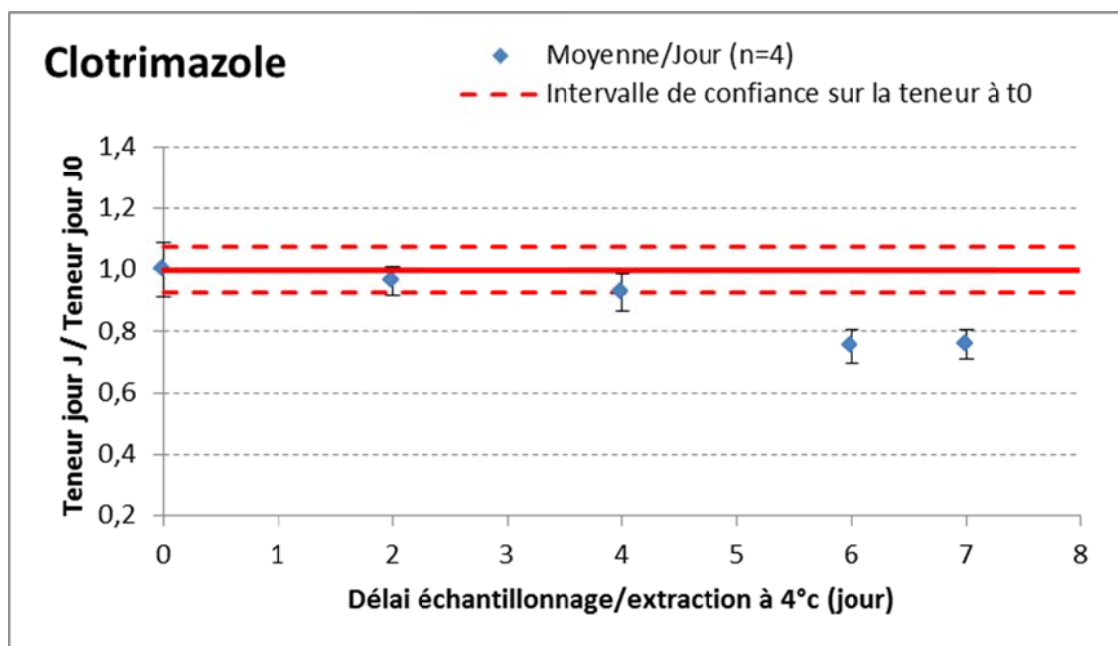


Illustration 8 : Stabilité de la clotrimazole dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 7 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates 2 et 4 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,07$.

Pour une date de conservation de 6 et 7 jours, les moyennes sont de 0,75 et 0,76 avec un écart-type de 0,06 et 0,05 respectivement. Compte tenu de l'intervalle de confiance, une différence est observée à partir de 6 jours.

Les dégradations observées sont de 25 % et 24 % après 6 et 7 jours, respectivement.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 4 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.7. Cyclophosphamide

Les résultats de l'étude de stabilité pour le cyclophosphamide, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 9.

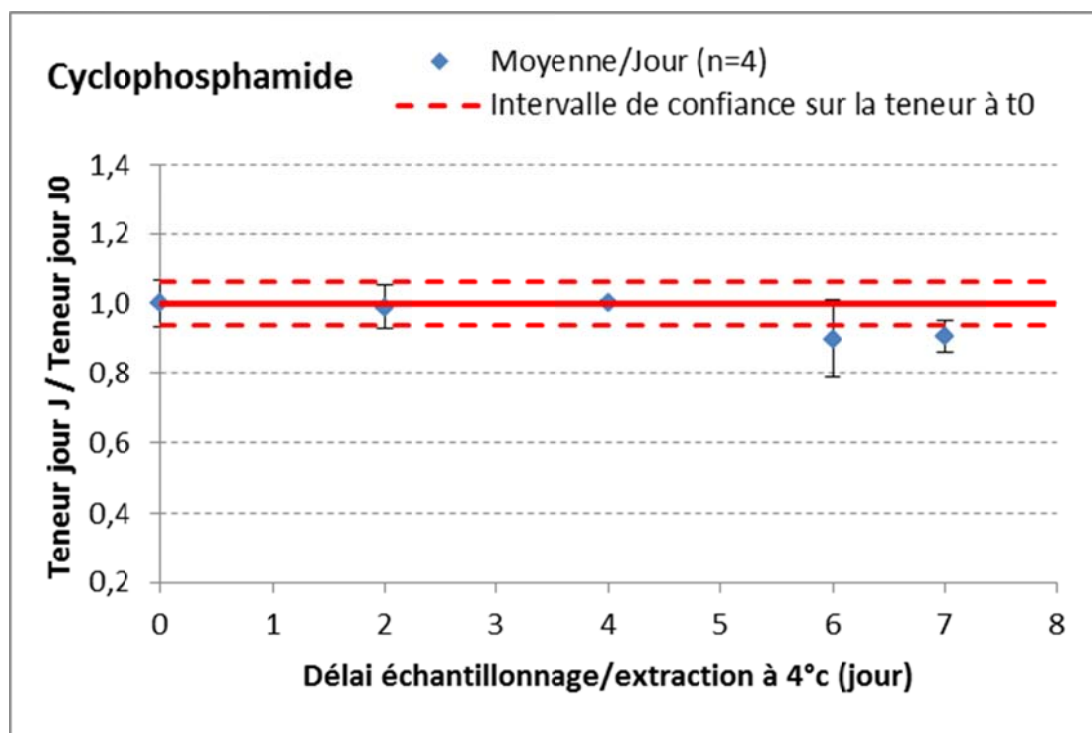


Illustration 9 : Stabilité du cyclophosphamide dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 6 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2 et 4 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,06$.

Compte tenu des écart-types observés sur les dates de 6 et 7 jours de 0,11 et 0,05 pour un ratio moyen de 0,90 et 0,91 respectivement, les valeurs ne sont pas significativement différentes de $1 \pm 0,06$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.8. Diazépam

Les résultats de l'étude de stabilité pour le diazépam, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4°C, sont présentés dans l'illustration 10.

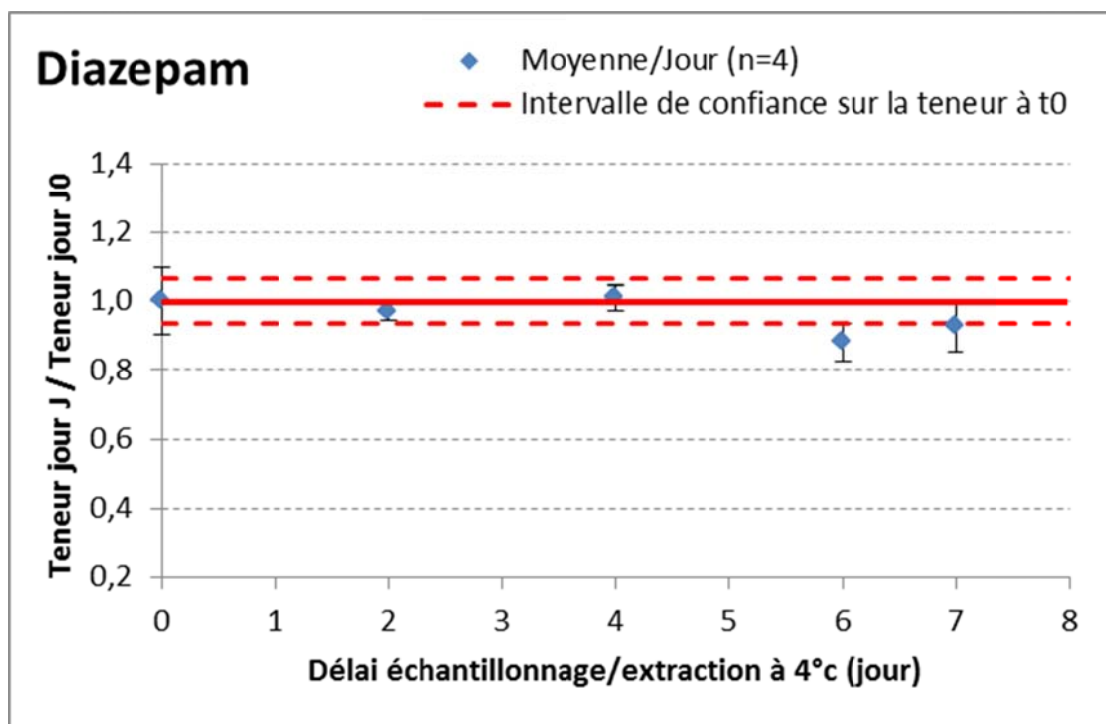


Illustration 10 : Stabilité du diazépam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 6 %. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 2, 4 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,06$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 6 jours de 0,06 pour un ratio moyen de 0,88, cette valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,06$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.9. Diclofénac

Les résultats de l'étude de stabilité pour le diclofénac, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4°C, sont présentés dans l'illustration 11.

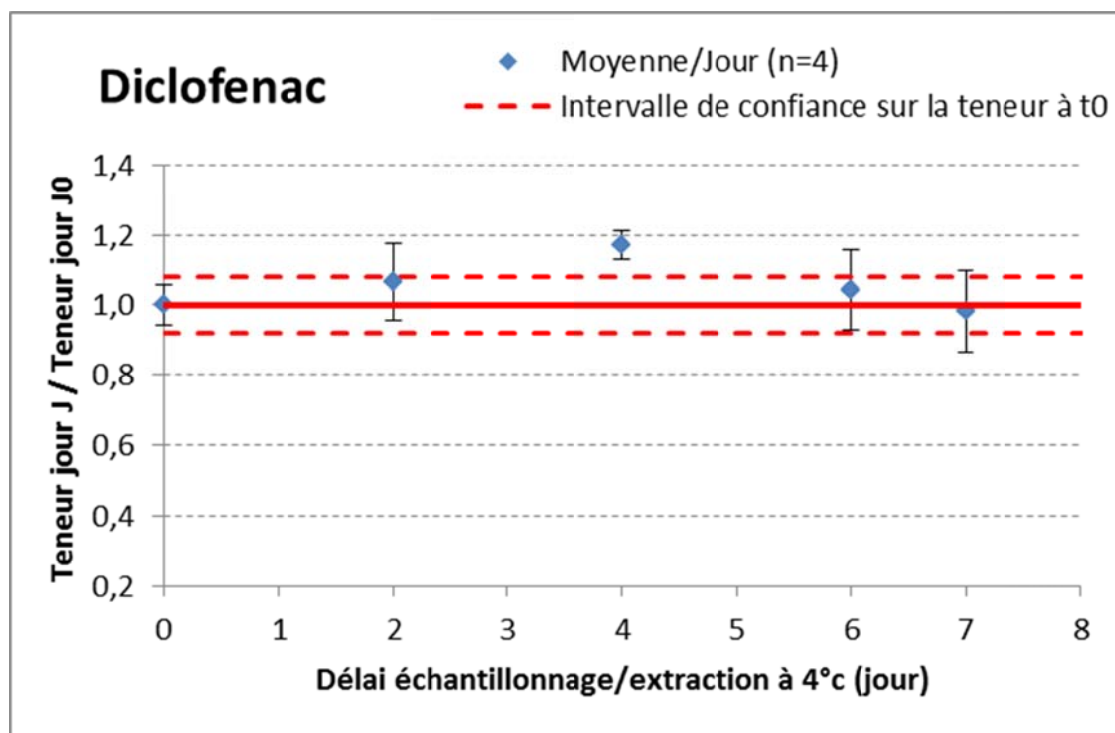


Illustration 11 : Stabilité du diclofénac dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t₀ est évalué à 8%. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,08$.

L'écart-type observé sur la date de 4 jours est de 0,04 pour un ratio moyen de 1,17. Aucun contrôle qualité ne permet de justifier cette valeur élevée.

La stabilité du diclofénac n'est pas remise en cause puisque cette valeur est supérieure à 1 et les résultats sont corrects pour un nombre de jour supérieur (6 et 7 jours).

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4°C sur la matrice étudiée.

2.3.10. Fénofibrate

Les résultats de l'étude de stabilité pour le fénofibrate, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4°C, sont présentés dans l'illustration 12.

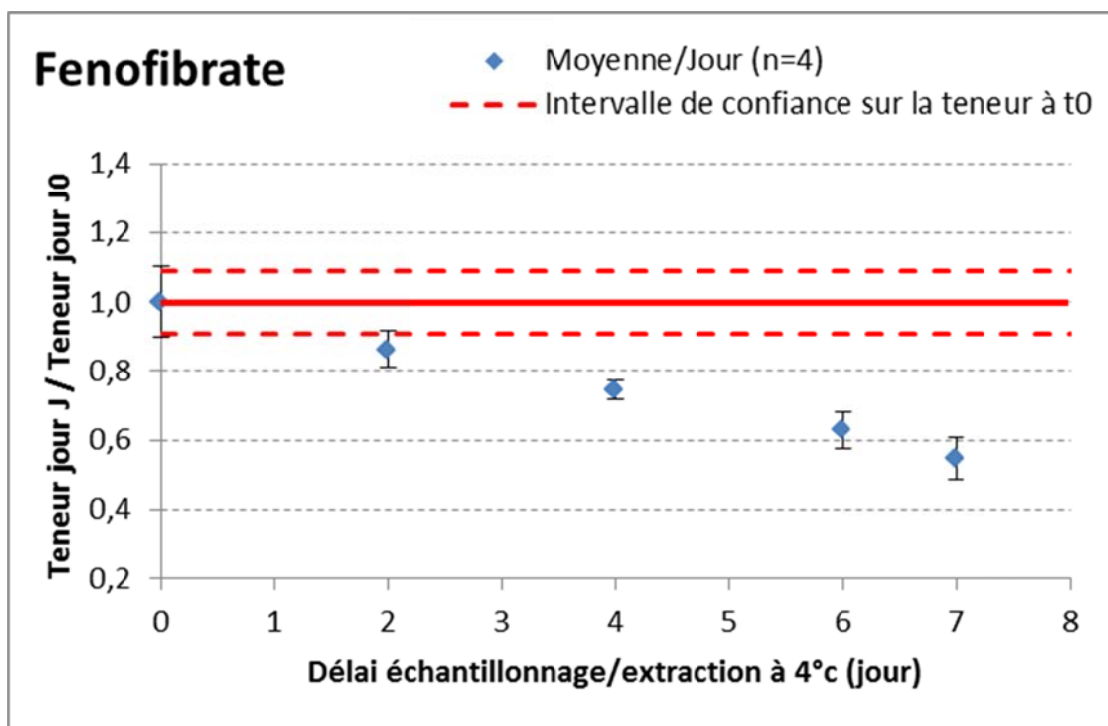


Illustration 12 : Stabilité du fénofibrate dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 8 %. Aucune des moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées ne sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,08$.

Compte tenu des écart-types observés sur la date de 2 jours de 0,05 pour un ratio moyen de 0,87, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,08$.

Pour les dates de conservation de 4, 6 et 7 jours, les moyennes sont 0,75, 0,63 et 0,55 avec des écart-types de 0,03, 0,05 et 0,06. Compte tenu de l'intervalle de confiance, une différence significative est observée à partir de 4 jours.

Les dégradations observées sont de 25 %, 37 % et 45 % après 4, 6 et 7 jours, respectivement.

Compte-tenu des essais, la dégradation du fénofibrate est rapide. Au bout de 2 jours, une dégradation est sans doute amorcée. Les essais réalisés ne permettent pas de conclure sur le plan statistique pour ce délai de 2 jours. L'écart observé au bout de 2 jours est de 15 %. L'instabilité est marquée au bout de 4 jours.

L'acide fénofibrique étant un des produits de dégradations du fénofibrate (Cermola et al., 2005 ; Elsom et al., 1976), l'étude de la stabilité de l'acide fénofibrique sera donc biaisée.

2.3.11. Acide fénofibrique

Les résultats de l'étude de stabilité pour l'acide fénofibrique, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4°C, sont présentés dans l'illustration 13.

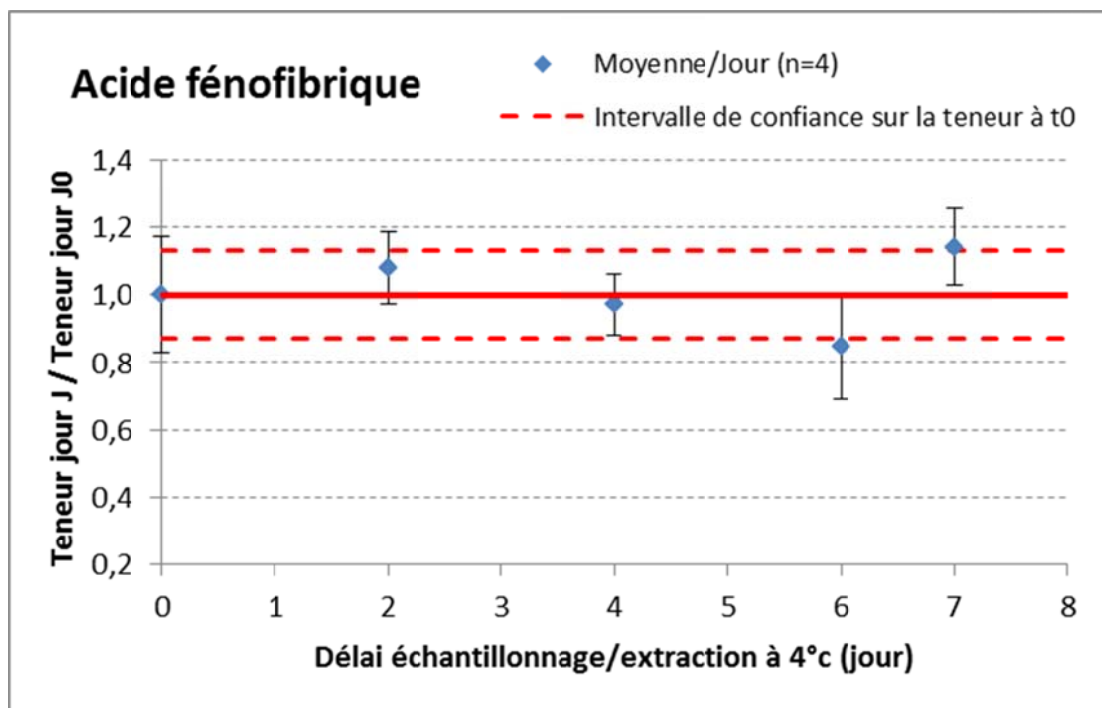


Illustration 13 : Stabilité de l'acide fénofibrique dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 13 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,13$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 6 jours de 0,16 pour un ratio moyen de 0,85, la valeur n'est pas significativement différentes de $1 \pm 0,13$.

La stabilité de l'acide fénofibrique est confirmée jusqu'à 7 jours. Cependant, compte tenu de la dégradation du fénofibrate, qui peut se transformer en acide fénofibrique, une durée maximale de conservation de 2 jours semble plus adaptée.

Aucune donnée dans la bibliographie ne permet de déterminer le pourcentage de l'acide fénofibrique provenant de la dégradation du fénofibrate. Pour évaluer la stabilité de l'acide fénofibrique, il aurait fallu doper avec ce composé sans le fénofibrate.

En considérant le pourcentage de dégradation du fénofibrate pour un délai de 7 jours, une augmentation du signal de l'acide fénofibrique aurait dû être observée jusqu'à 37 %. Cet accroissement n'est observé et pourrait s'expliquer soit par la dégradation simultanée de l'acide fénofibrique soit par une dégradation du fénofibrate en d'autres produits de dégradation.

La stabilité de l'acide fénofibrique est confirmée jusqu'à une conservation de 2 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.12. Furosémide

Les résultats de l'étude de stabilité pour le furosémide, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 14.

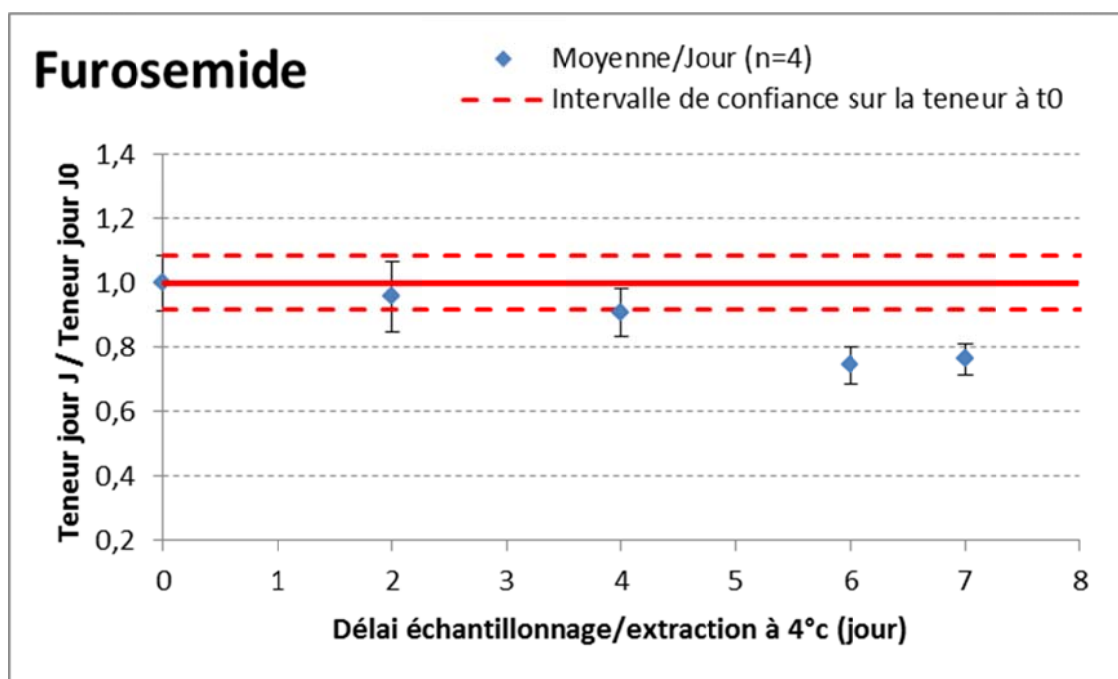


Illustration 14 : Stabilité du furosémide dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 8 %. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates 2 et 4 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,08$.

Pour une date de conservation de 6 et 7 jours, les moyennes sont de 0,74 et 0,76 avec un écart-type de 0,06 et 0,05 respectivement. Compte tenu de l'intervalle de confiance, une différence est observée à partir de 6 jours.

Les dégradations observées sont de 26 % et 24 % après 6 et 7 jours, respectivement.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 4 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.13. Gemfibrozil

Les résultats de l'étude de stabilité pour le gemfibrozil, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 15.

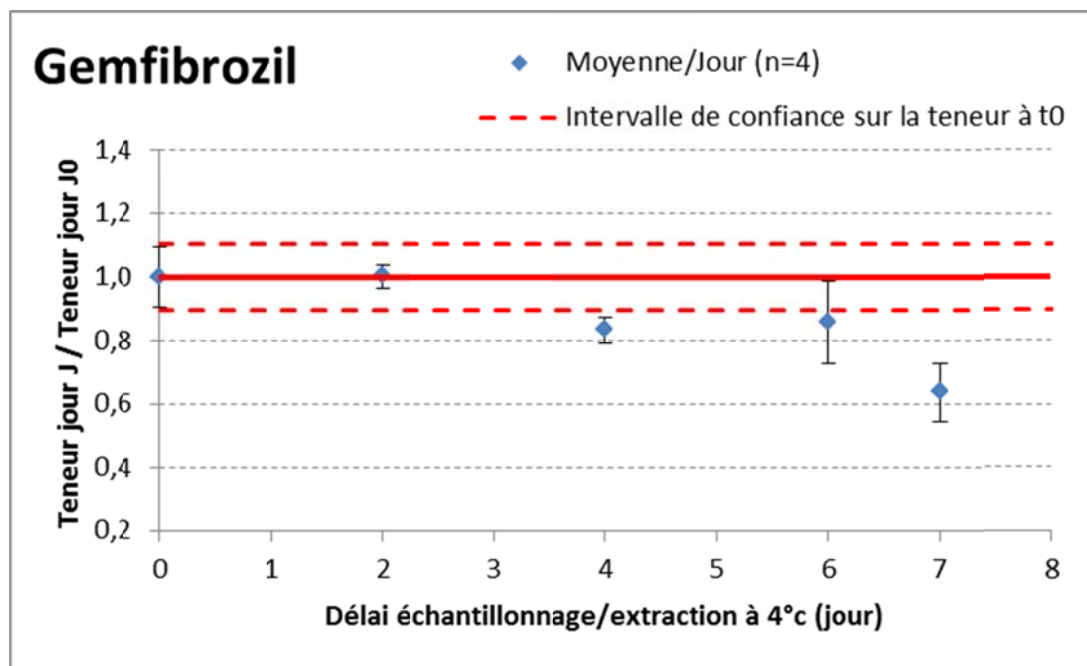


Illustration 15 : Stabilité du gemfibrozil dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t₀ est évalué à 10%. La moyenne des teneurs (n=4) retrouvée pour la date de 2 jours est comprise dans cet intervalle de $1 \pm 0,10$.

Compte tenu des écart-types observés sur la date de 6 jours de 0,13 pour un ratio moyen de 0,86, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,10$.

L'écart-type observé sur la date de 4 jours est de 0,04 pour un ratio moyen de 0,83. Aucun contrôle qualité (stabilité du système, contrôle de la préparation des solutions, taux de récupération des traceurs, réponse du standard interne) ne permet de rejeter cette valeur faible. La stabilité du gemfibrozil à cette date ne semble pas remise en cause puisque les résultats sont corrects pour un nombre de jours supérieur de 6 jours malgré la variabilité observée (15%).

Pour une date de conservation de 7 jours, la moyenne est de 0,64 avec un écart-type de 0,09. Compte tenu de l'intervalle de confiance, une différence est observée à partir de 7 jours.

La dégradation observée est de 36 % après 7 jours à 4 °C.

Aucune instabilité n'est observée pour une conservation de 6 jours à 4°C sur la matrice étudiée.

Cependant, avec les résultats obtenus sur le délai de 4 jours (résultats en dehors de l'intervalle de confiance pour un ratio de 0.83) et de la variabilité observée (± 0.13) sur le délai de 6 jours, il semblerait que le gemfibrozil ne soit pas stable après une conservation de 2 jours à 4°C.

2.3.14. Ifosfamide

Les résultats de l'étude de stabilité pour l'ifosfamide, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 16.

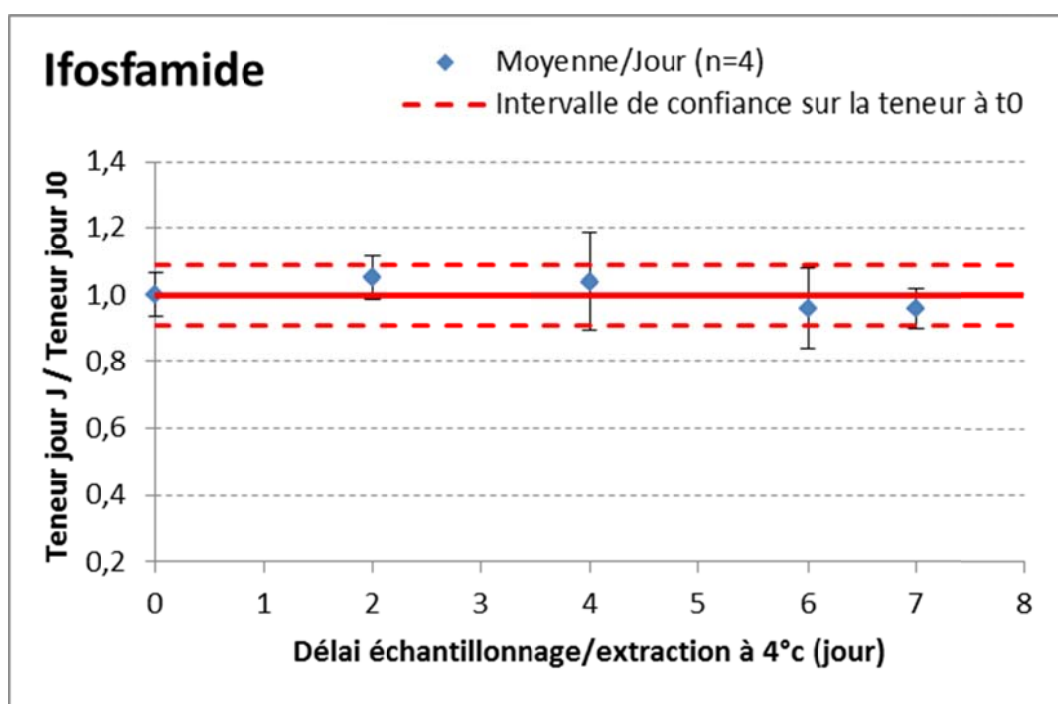


Illustration 16 : Stabilité de l'ifosfamide dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 11 %. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 2, 4, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,11$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.15. Iopromide

Les résultats de l'étude de stabilité pour l'iopromide, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4°C, sont présentés dans l'illustration 17.

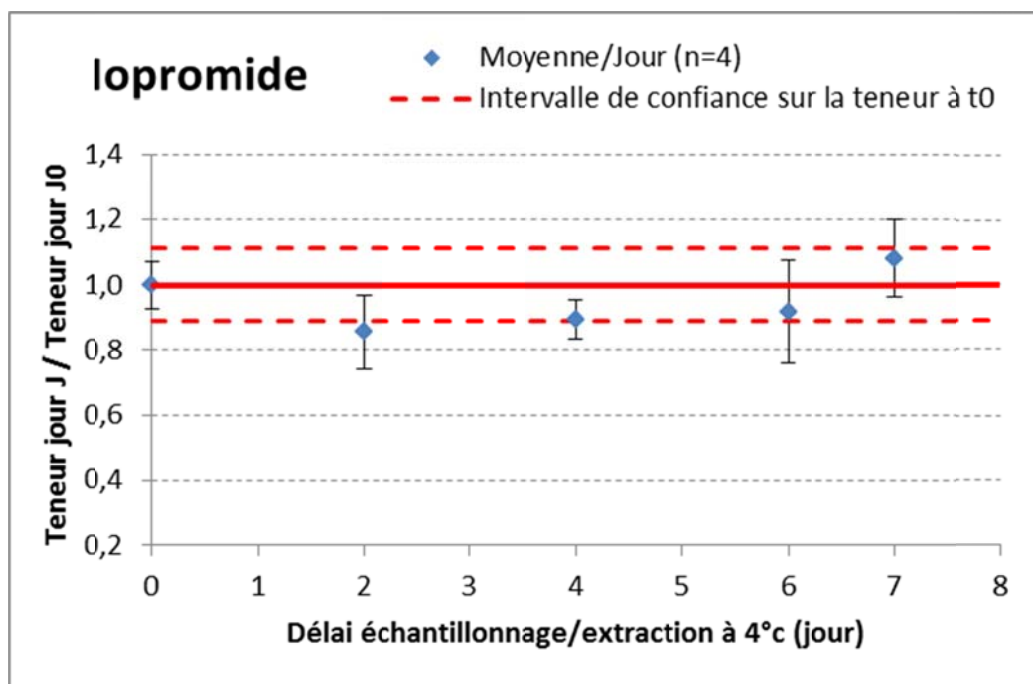


Illustration 17 : Stabilité de l'iopromide dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 11%. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 4, 6, et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,11$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 2 jours de 0,11 pour un ratio moyen de 0.86, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,11$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.16. Kétoprofène

Les résultats de l'étude de stabilité pour le kétoprofène, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4°C, sont présentés dans l'illustration 18.

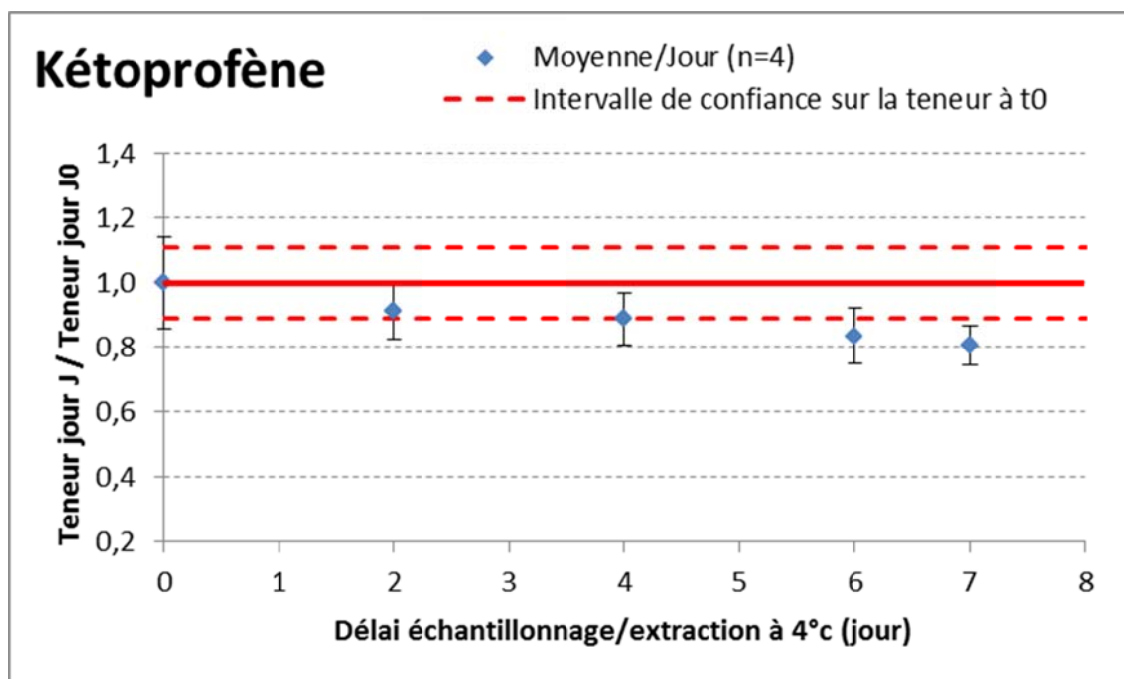


Illustration 18 : Stabilité du kétoprofène dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 11 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2 et 4 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,11$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 6 jours de 0,09 pour un ratio moyen de 0,84, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,11$.

Pour une date de conservation de 7 jours, la moyenne est de 0,81 avec un écart-type de 0,06. Compte tenu de l'intervalle de confiance, une différence est observée à partir de 7 jours.

La dégradation observée est de 19 % après 7 jours à 4 °C.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 6 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.17. Lorazépam

Les résultats de l'étude de stabilité pour le lorazépam, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 19.

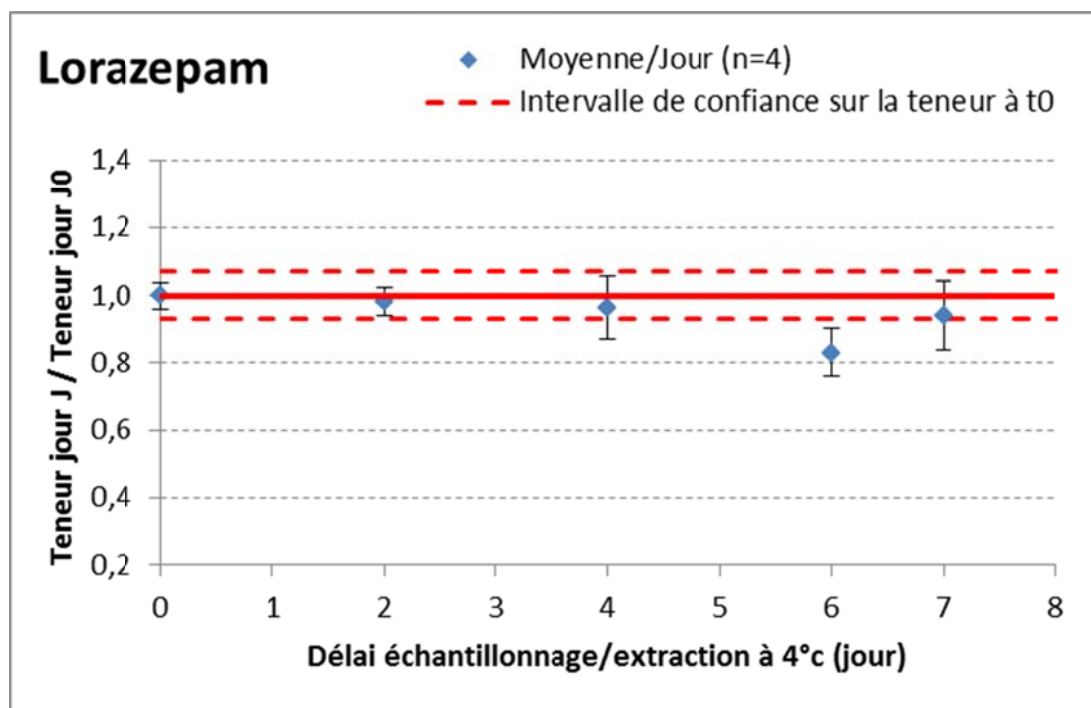


Illustration 19 : Stabilité du lorazépam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4°C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t₀ est évalué à 7 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,07$.

L'écart-type observé sur la date de 6 jours est de 0,07 pour un ratio moyen de 0,83. Aucun contrôle qualité ne permet de rejeter cette valeur faible.

La stabilité du lorazépam ne semble pas remise en cause puisque les résultats sont corrects pour un nombre de jour supérieur (7 jours).

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.18. Métoprolol

Les résultats de l'étude de stabilité pour le métoprolol, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 20.

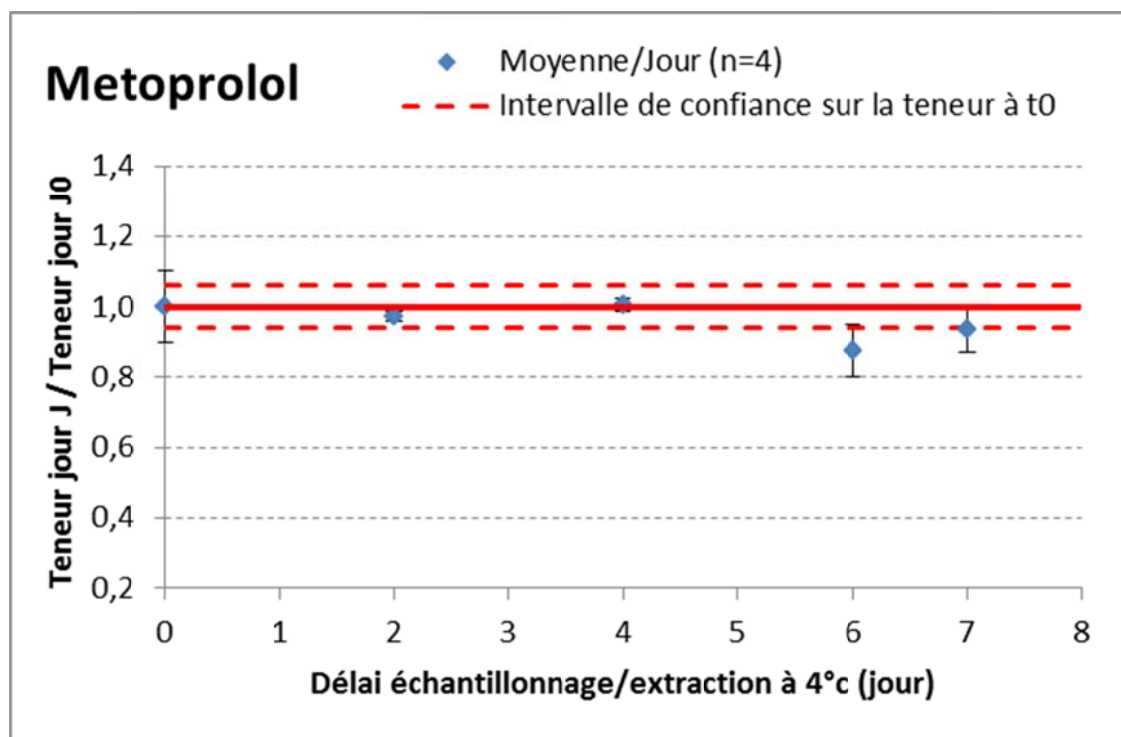


Illustration 20 : Stabilité du métoprolol dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 6 %. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 2, 4, et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,06$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 6 jours de 0,07 pour un ratio moyen de 0,87, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,06$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.19. Naproxène

Les résultats de l'étude de stabilité pour le naproxène, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 21.

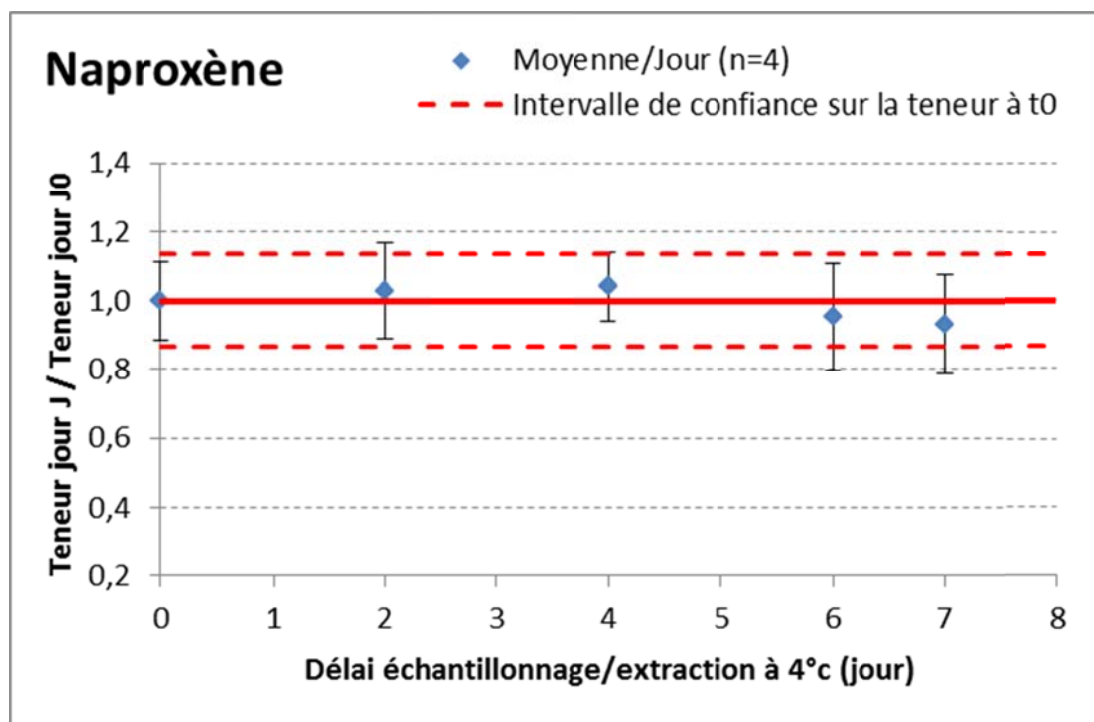


Illustration 21 : Stabilité du naproxène dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t₀ est évalué à 13 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,13$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.20. O-desméthylnaproxène

Les résultats de l'étude de stabilité pour l'O-desméthylnaproxène, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 22.

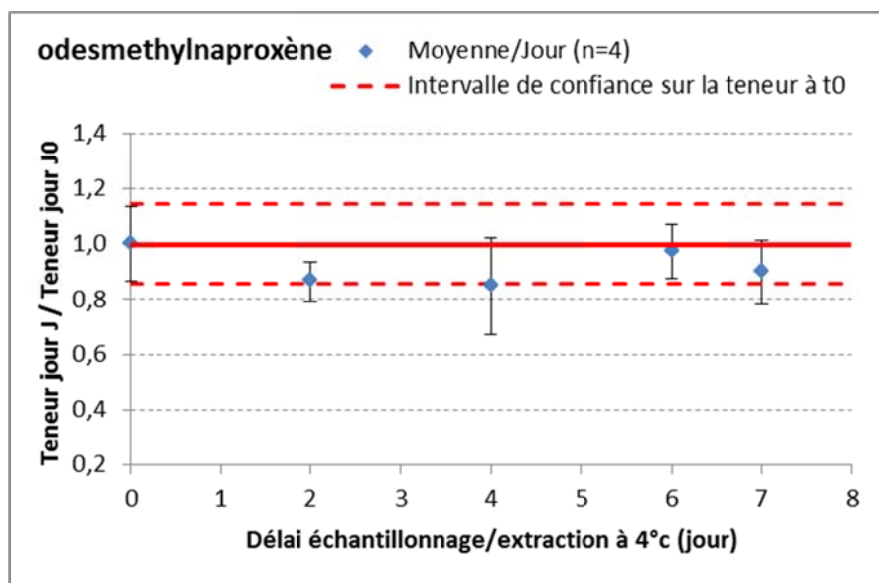


Illustration 22 : Stabilité de l' o-desméthylnaproxène dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 13 %. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,13$.

L'odesméthylnaproxène est un des métabolites du naproxène. La dégradation du composé parent n'est pas observée jusqu'à 7 jours.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.21. Oxazépam

Les résultats de l'étude de stabilité pour l'oxazépam, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 23.

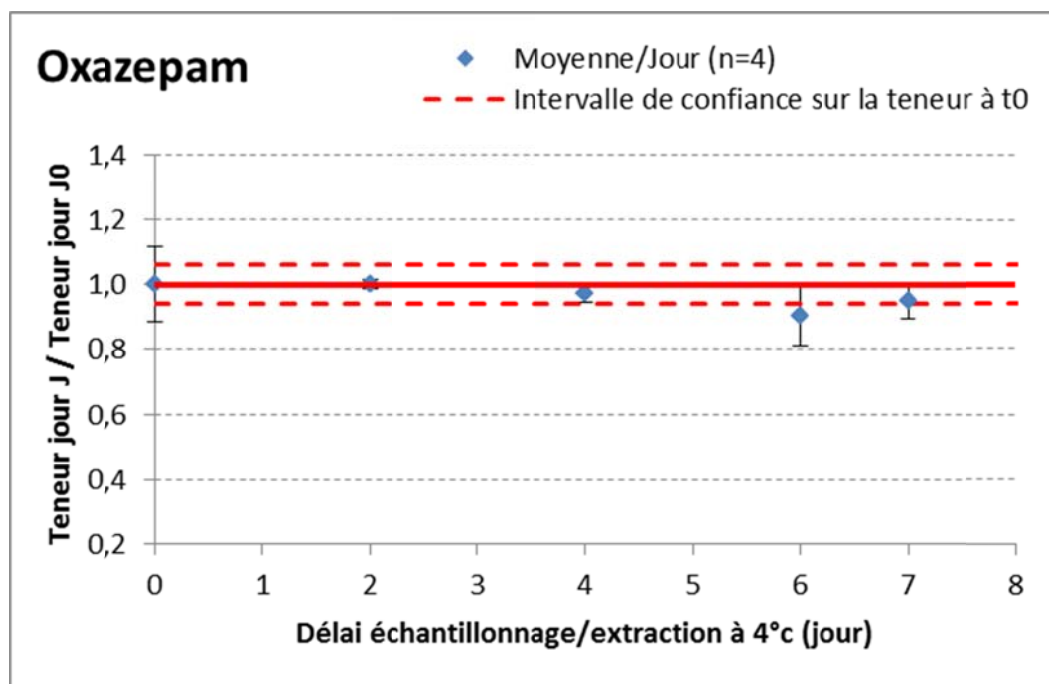


Illustration 23 : Stabilité de l'oxazépam dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 6%. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,06$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 6 jours de 0,09 pour un ratio moyen de 0,90, cette valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,06$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.22. Paracétamol

Les résultats de l'étude de stabilité pour le paracétamol, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 24.

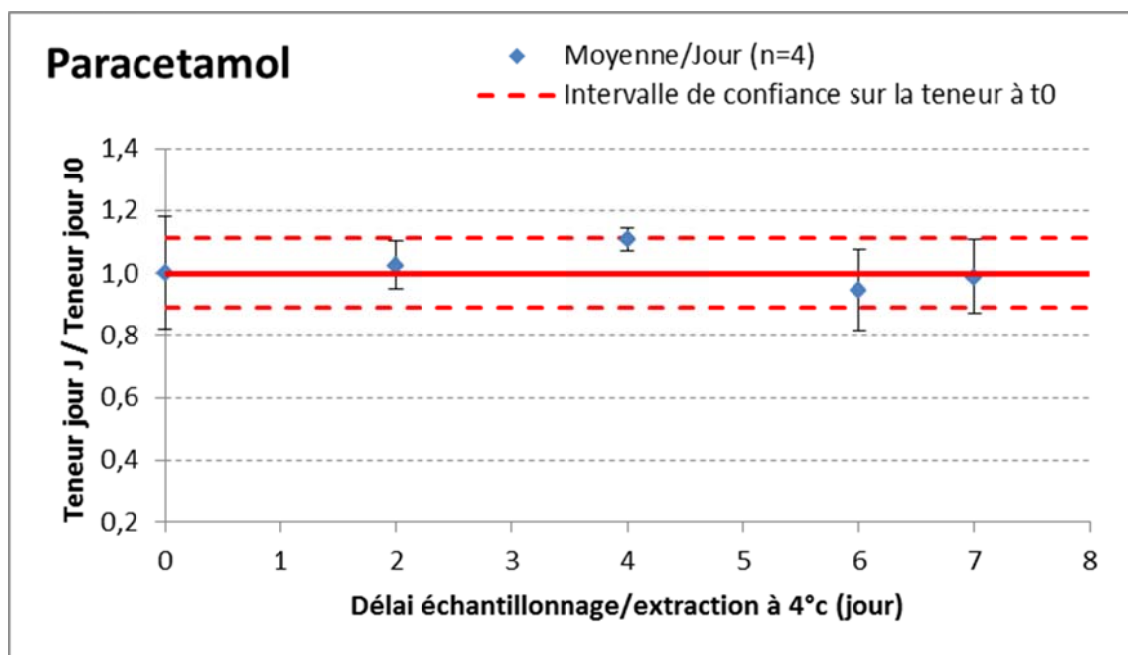


Illustration 24 : Stabilité du paracétamol dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 11%. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 2, 4, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,11$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.23. Propranolol

Les résultats de l'étude de stabilité pour le propranolol, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 25.

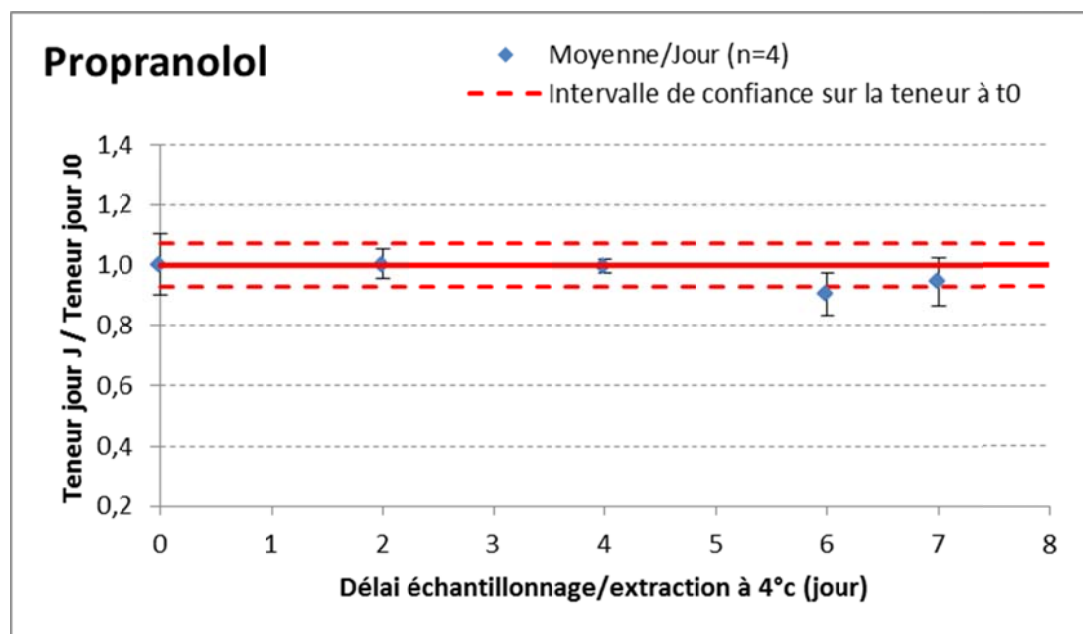


Illustration 25 : Stabilité du propranolol dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 7%. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 2, 4, et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,07$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 6 jours de 0,07 pour un ratio moyen de 0,90, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,07$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.24. Sulfaméthoxazole

Les résultats de l'étude de stabilité pour le sulfaméthoxazole, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 26.

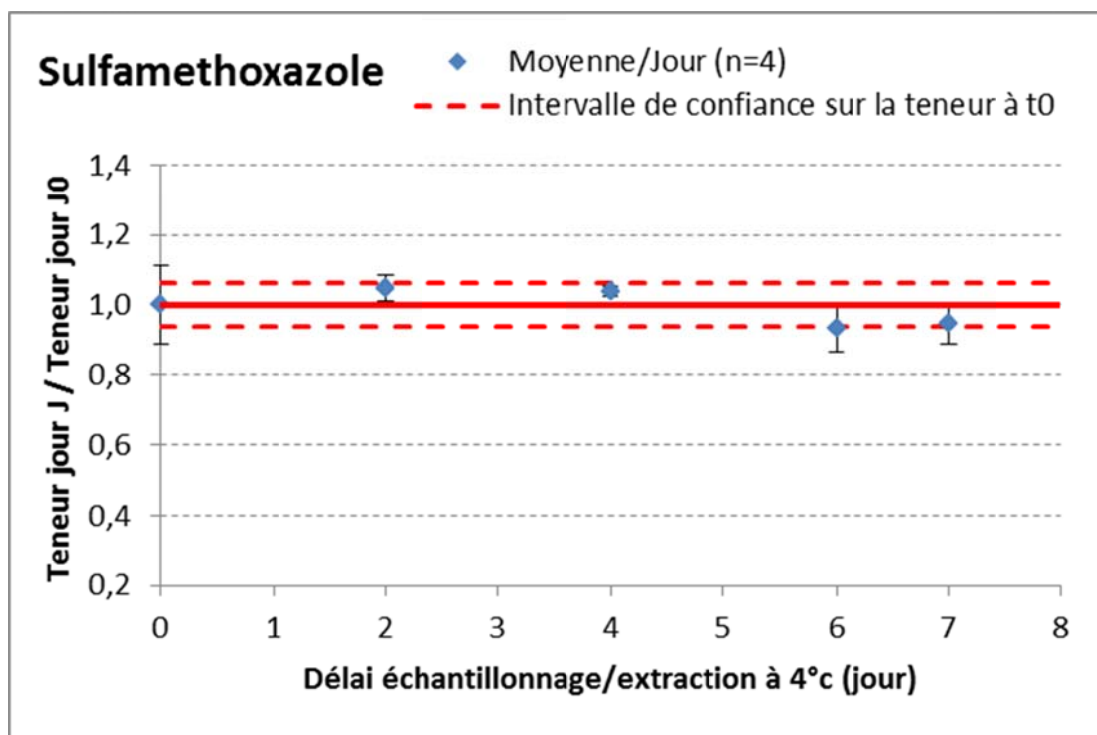


Illustration 26 : Stabilité du sulfaméthoxazole dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t₀ est évalué à 6%. Les moyennes des teneurs (n=4) retrouvées pour les dates de 2, 4, 6 et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,06$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.25. Triméthoprim

Les résultats de l'étude de stabilité pour le triméthoprim, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4°C, sont présentés dans l'illustration 27.

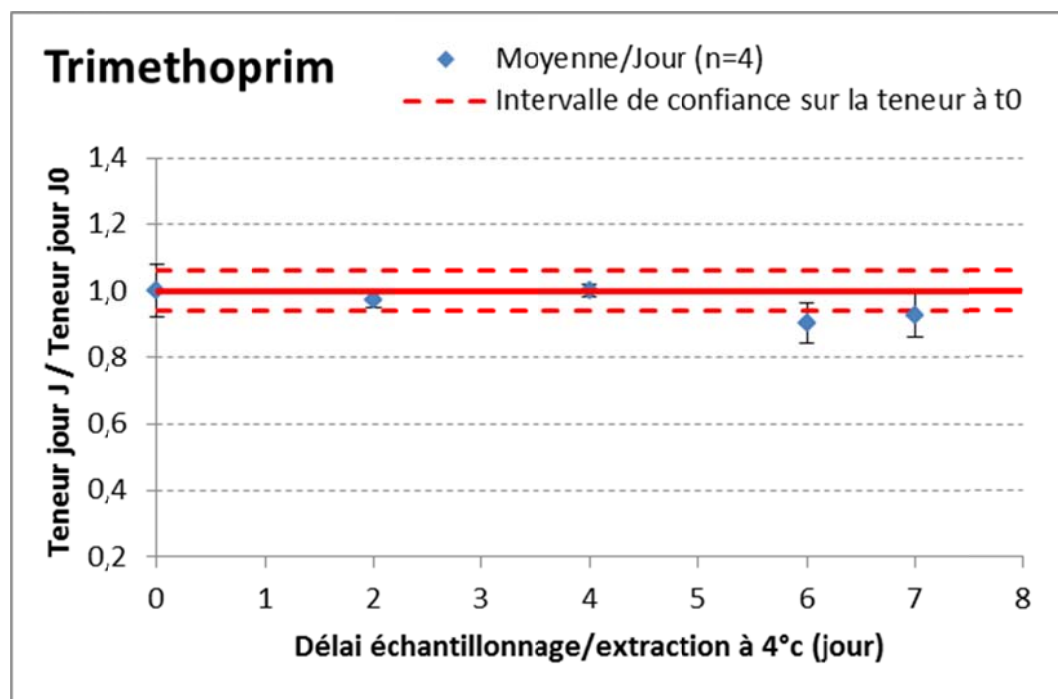


Illustration 27 : Stabilité du triméthoprim dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 6 %. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 2, 4, et 7 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,06$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 6 jours de 0,05 pour un ratio moyen de 0,90, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,06$.

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.3.26. Zolpidem

Les résultats de l'étude de stabilité pour le zolpidem, testée après 2, 4, 6 et 7 jours de conservation à 4 °C, sont présentés dans l'illustration 28.

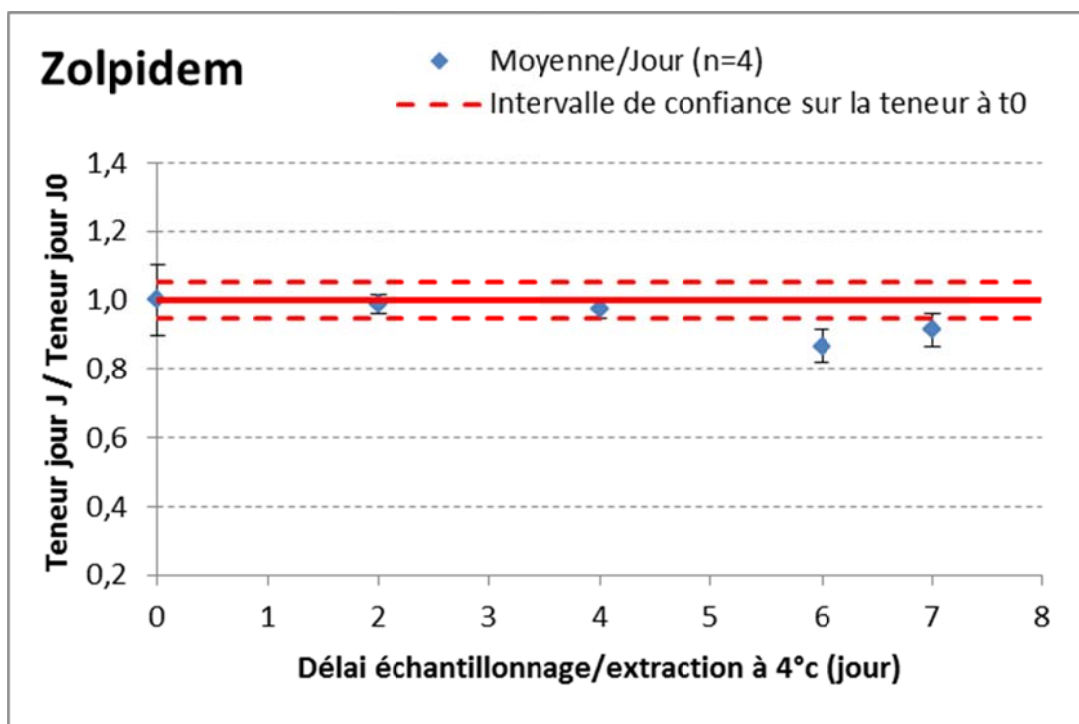


Illustration 28 : Stabilité du zolpidem dans une eau souterraine jusqu'à 7 jours de conservation à 4 °C.

L'intervalle de confiance sur la teneur à t_0 est évalué à 5 %. Les moyennes des teneurs ($n=4$) retrouvées pour les dates de 2 et 4 jours sont comprises dans cet intervalle de $1 \pm 0,05$.

Compte tenu de l'écart-type observé sur la date de 7 jours de 0,05 pour un ratio moyen de 0,91, la valeur n'est pas significativement différente de $1 \pm 0,05$.

L'écart-type observé sur la date de 6 jours est de 0,05 pour un ratio moyen de 0,87. Aucun contrôle qualité ne permet de rejeter cette valeur faible. La stabilité du zolpidem ne semble pas remise en cause puisque les résultats sont corrects pour un nombre de jours supérieur (7 jours).

Aucune instabilité n'est observée jusqu'à une conservation de 7 jours à 4 °C sur la matrice étudiée.

2.4. CONCLUSION SUR LA STABILITE

L'étude de conservation d'eau souterraine (Theuriet) dopée à 80ng/l en composés pharmaceutiques a permis d'évaluer la stabilité de l'échantillon sur une période de 7 jours à 4 °C.

Pour 19 des 26 composés pharmaceutiques étudiés, la stabilité est confirmée jusqu'à 7 jours pour une eau à faible teneur en MES. En revanche, 2 composés (bromazépam et fénofibrate) se dégradent après 48h de délai entre la préparation et l'extraction de l'échantillon (Illustration 29).

Compte tenu de la dégradation du fénofibrate de son composé parent, la stabilité de l'acide fénofibrique n'est pas indiqué dans le tableau (cf. §2.3.11).

Composés	Durée de stabilité observée à 4 °C
Alprazolam	7 jours
Aténolol	7 jours
Bézafibrate	7 jours
Bromazépam	2 jours
Carbamazépine	7 jours
Clotrimazole	4 jours
Cyclophosphamide	7 jours
Diazépam	7 jours
Diclofénac	7 jours
Fénofibrate	2 jours
Furosémide	4 jours
Gemfibrozil	6 jours
Ifosfamide	7 jours
Iopromide	7 jours
Kétoprofène	6 jours
Lorazepam	7 jours
Métoprolol	7 jours
Naproxen	7 jours
O-desméthylnaproxen	7 jours
Oxazepam	7 jours
Paracétamol	7 jours
Propranolol	7 jours
Sulfaméthoxazole	7 jours
Triméthoprim	7 jours
Zolpidem	7 jours

Illustration 29 : Stabilité des composés pharmaceutiques dans une eau souterraine (Theuriet) à 4 °C (80 ng/l) sur une période de 7 jours.

Les dégradations observées sont de 12 % à 45 % selon les substances (Illustration 30).

Une dégradation de l'ordre de 10 % n'est pas détectée par le protocole expérimental.

Composés	% de dégradation observée du composé (nd : non dégradé)		
	4 jours	6 jours	7 jours
Bromazépam	12 %	19 %	18 %
Clotrimazole	nd	25 %	24 %
Fénofibrate	25 %	37 %	45 %
Furosémide	nd	26 %	24 %
Gemfibrozil	nd	nd	36 %
Kétoprofène	nd	nd	19 %

Illustration 30 : % de dégradation observée des composés pharmaceutiques après 4, 6 et 7 jours dans une eau souterraine conservée à 4 °C.

En conclusion, pour limiter le biais lié à l'instabilité des composés, l'extraction doit avoir lieu dans un délai de 2 jours.

Si pour des raisons diverses, l'extraction ne pouvait avoir lieu en 2 jours, une sous-estimation est probable pour quelques composés.

Des tests préliminaires pour des essais inter-laboratoire (EIL) ont été organisés (AFSSA en 2009 et Aquaref en 2011) et permettent de confronter nos résultats.

L'AFSSA a organisé un EIL pour des résidus médicamenteux dans l'eau destinée à la consommation humaine (eau brute et traitée d'une station de traitement de potabilisation d'eau) (cf. Illustration 31).

Famille	Composés
ANTIBIOTIQUES	Erythromycine Ofloxacin Tylosine (vété)
AINS	Ibuprofène Diclofénac Kétoprofène
NEUROLEPTIQUE	Carbamazépine
BETA-BLOQUANT	Aténolol
DIVERS	Acétaminophène (paracétamol)

Illustration 31 : Liste des composés étudiés pour l'EIL organisé par l'AFSSA en 2009.

Le niveau de concentration testé à 25 ng/l est proche des seuils de quantification des méthodes analytiques actuelles et des niveaux de concentration susceptibles d'être retrouvés dans la matrice. Les échantillons ont été conditionnés dans des flacons en

verre brun de 1 litre sans traitement de stabilisation à l'exception de l'eau traitée (présence de thiosulfate de sodium à une teneur de 350 mg/l).

L'analyse a porté sur deux échantillons (eau minérale naturelle) analysés dans des conditions de répétabilité. La conservation a duré une semaine en chambre froide, à une température d'environ 4 °C afin de se rapprocher des conditions de transport et de la pratique des laboratoires. Le pourcentage de recouvrement (teneur retrouvée par rapport à la teneur de dopage) est compris entre 81 et 138 % entre les deux analyses. La tolérance est pour un pourcentage entre 80 et 120 % pour la prise en compte de l'incertitude de mesure. La stabilité de ces composés n'est donc pas à remettre en cause pour cette matrice et dans ces conditions de stockage.

Dans le cadre du programme Aquaref 2011, le BRGM a organisé avec d'autres partenaires un essai d'intercomparaison pour des résidus médicamenteux dans les eaux environnementales (Illustration 32).

L'étude de stabilité a porté sur une eau souterraine dopée à 2 niveaux de concentration avec 7 molécules médicamenteuses (30 ng/l et 80 ng/l).

Composés
Carbamazépine
Oxazépam
Sulfaméthoxazole
Diclofénac
Kétoprofène
Métoprolol
Aténolol

Illustration 32 : Liste des composés médicamenteux étudiés pour l'EIL organisé par Aquaref en 2011.

Les échantillons ont été stockés en chambre froide après simulation d'un transport en 24 heures. Pour chaque lot d'échantillons, deux flacons ont été extraits en double au terme d'une durée de 6 jours. Les extraits ont été stockés en vue d'être analysés à la fin de l'étude au sein d'une même série analytique (même étalonnage).

Pour les molécules médicamenteuses, les écarts entre jours sont non-significatifs et aucune tendance à la hausse ou la baisse des résultats n'est observée. Les échantillons ont présenté une stabilité suffisante sur 7 jours.

Les résultats de l'AFSSA et du BRGM sont cohérents avec notre étude.

Remarque : Pour certains composés de la famille des hormones (17- α -estradiol, 17- β -estradiol et éthinylestradiol), la stabilité dans les eaux a été étudiée dans les 2 essais d'intercomparaison (essai AFSSA et essai AQUAREF). Dans l'eau souterraine utilisée pour l'essai AQUAREF, sans stabilisation ni préparation, la stabilité des échantillons n'a pas été suffisante pour permettre une exploitation correcte des résultats

(dégradation rapide en 48h). Cependant, pour une eau minérale naturelle, la stabilité de ces hormones a été satisfaisante pour l'essai AFSSA.

Le projet de norme sur l'analyse de certains résidus médicamenteux dans la fraction dissoute des eaux est en accord avec les résultats obtenus. La norme mentionne de réaliser la filtration et l'extraction dès que possible après le prélèvement et au plus tard 48 heures en conservant les échantillons à $5 \pm 3^{\circ}\text{C}$.

3. Etude de la répartition de substances pharmaceutiques entre phase solide et phase aqueuse

3.1. CONTEXTE

Le rôle de la phase particulaire dans l'analyse des composés pharmaceutiques, peut être considéré comme négligeable compte tenu de leurs polarités. Cette caractéristique a cependant été peu étudiée.

Les composés hydrophiles correspondent à des composés dont le logKow est inférieur à 4, par opposition à un composé hydrophobe dont le log Kow est compris entre 4 et 10.

Pour les molécules non ionisées, le log Kow est un descripteur fiable du comportement vis-à-vis de la partition dans la colonne d'eau. Cependant, pour les molécules ionisables, il faut tenir également compte de leur taux de dissociation ionique dans les conditions du milieu en prenant en compte leur pKa (Kha et al., 2008). Ces 2 notions sont combinés dans un coefficient de distribution octanol/eau, noté Dow (Nowosielski et al., 1998).

Des travaux ont déjà été réalisés pour étudier la partition de ces contaminants dans des eaux naturelles et résiduaires :

- La contamination de la phase particulaire a été précédemment étudiée dans des eaux usées brutes de station d'épuration et dans des eaux traitées pour 12 composés (Projet AMPERE, Soulier et al., 2011). 9 des 12 composés étudiés dans les eaux traitées sont quantifiés principalement dans la fraction dissoute (présence supérieure à 70% des échantillons analysés). Les 3 composés quantifiés principalement dans la phase particulaire sont le bromazépam et dans une moindre mesure la terbutaline et la fluoxétine. Dans une eau usée brute, seuls 8 des 12 composés sont retrouvés dans la fraction dissoute (présence supérieure à 70% des échantillons analysés). Les substances quantifiées majoritairement dans la phase particulaire sont plus hydrophobes (log Kow compris entre 3,99 et 4,95) à l'exception du bromazépam (log Kow de 2,05).
- La partition de résidus médicamenteux dans la phase aqueuse pour des eaux superficielles a été étudiée pour certains composés pharmaceutiques : carbamazépine, diclofénac, kétoprofène, ibuprofène, diclofénac et gemfibrozil. Ces composés peuvent présenter dans certaines conditions une affinité forte pour les fractions particulières et colloïdales. Les phénomènes qui se déroulent entre ces deux phases sont d'autant plus difficiles à appréhender que la phase particulaire émise par les stations d'épuration a des caractéristiques physico-chimiques très particulières, avec une teneur très élevée en carbone organique (entre 15 et 18 mg/l selon les campagnes) et la présence d'une fraction colloïdale plus ou moins

importante qui peut modifier fortement les phénomènes d'interaction (Togola, 2006 ; AMPERE). Ainsi, dans des eaux de surface, la proximité de station d'épuration enrichit fortement le milieu en matière organique et impacte la nature des MES, ce qui peut augmenter la partition de ces molécules en faveur de la phase particulaire.

Les paramètres qui modifient la distribution dissout/particulaire sont le pH, la salinité, la température, la teneur et la nature de la matière organique (Amalric et al., 2011); c'est pourquoi l'étude est réalisée sur une même eau enrichie avec un seul type de MES, afin de faire varier le moins de paramètres possibles et n'étudier que le facteur quantité de MES. Pour le protocole testé, l'échantillon est une eau superficielle (eau de Loire).

Le rôle de la teneur en MES (5, 15, 25, 55 et 85mg/l) est étudié pour une eau dopée à 100ng/l en substances pharmaceutiques. La répartition de ces substances entre phase solide et phase dissoute est évaluée.

3.2. MATERIELS ET METHODES

3.2.1. Liste des composés

26 composés pharmaceutiques et métabolites ont été sélectionnés pour cette étude (cf. §2.2.1).

Le caractère hydrophile et hydrophobe des composés pharmaceutiques est défini par 2 paramètres : la valeur de Log Kow et de pKa (cf. Illustration 33).

Composés	Coefficient de partage octanol/eau (Log Kow)	Constante d'acidité (pKa)
Clotrimazole	6,3	nd
Fénofibrate	5,2	
Gemfibrozil	4,8	4,7
Diclofénac	4,5	4,2
Bézafibrate	4,3	3,6
Zolpidem	3,9	6,2
Propranolol	3,5	9,4
Naproxène	3,2	4,15
Kétoprofène	3,1	4,5
Diazépam	2,8	3,4
Carbamazépine	2,5	13,9
Lorazépam	2,4	1,3 et 11,5
Oxazépam	2,2	1,7 et 11,6
Alprazolam	2,1	2,4
Bromazépam	2,1	nd
Furosémide	2,0	3,9
Triméthoprim	0,9	7,1
Sulfaméthoxazole	0,9	6,0

Ifosfamide	0,9	nd
Cyclophosphamide	0,6	nd
Métoprolol	0,6	6,7
Paracétamol	0,5	9,4
Aténolol	0,0	9,2
Iopromide	-2,3	nd
Acide fénofibrique	nd	
O-desméthylnaproxène	nd	nd

Source : US National Library of medicine (<http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus/chemidlite.jsp>); nd : non disponible

Illustration 33 : Coefficient de partage octanol/eau et les constantes d'acidités des substances pharmaceutiques (nd : non disponible)

3.2.1. Echantillonnage

L'échantillon d'eau naturelle testée est une eau de la Loire, prélevé à St Jean de la Ruelle. Un volume de 45 litres d'eau est prélevé et homogénéisé pour être réparti dans des flacons de 1 litre en verre. Les paramètres physico-chimiques de cette eau figurent dans l'illustration 34. Néanmoins quelques paramètres (COT, COD, MES) sont susceptibles d'évoluer dans notre essai suite à l'ajout de 0,5 ml de solvant organique lors du dopage de l'échantillon en composé pharmaceutique.

Paramètres	Teneur en mg/l et pH
COT (Carbone organique total)	3,6
COD (Carbone organique dissous)	3,3
MES (Matières en suspension)	6
pH	8,6
Calcium	34,3
Chlorures	23,8
Potassium	4,2
Magnésium	6,5
Nitrates exprimés en NO ₃	6
Sodium	17
Sulfates	17,2
Carbonates	< 5
Bicarbonates	114

Illustration 34 : Paramètres physico-chimiques de l'eau superficielle de la Loire.

Les composés pharmaceutiques ont été recherchés dans l'échantillon d'eau : des composés sont présents à des teneurs inférieures aux limites de quantification (20 ng/l) : le diclofénac (environ 17 ng/l) et le sulfaméthoxazole (environ 11 ng/l), et à des teneurs supérieures aux limites de quantification : l'oxazépam (40 ng/l) et la carbamazépine (27 ng/l). Ces teneurs ont été prises en compte dans le rendu des résultats.

La préparation des MES utilisées pour le dopage s'est faite à partir de sédiment sur le site même du prélèvement d'eau. Ils sont prélevés sur un horizon faible de 1cm maximum. Ils sont ensuite séchés à une température inférieure à 40 °C, broyés et homogénéisés. Aucun des composés pharmaceutiques étudiés n'a été détecté. La teneur en carbone organique total est de 5.5 g/kg soit une teneur totale de 4 mg/l dans l'échantillon d'eau dopé avec 80mg de ces MES. En comparaison avec les travaux de A.Togola (2006), 15 à 18 mg/l, la teneur en COT dans nos essais est plus faible mais elle est beaucoup plus représentative de la plupart des teneurs en COT des eaux de surface.

3.2.2. Protocole expérimental

Pour étudier uniquement le rôle des particules dans la distribution dissout/particulaire, l'étude est réalisée sur une même eau enrichie avec ses propres MES.

L'eau, qui contient 6 mg/l de MES, est dopée avec plus ou moins de MES sèches en triplicat (10 mg, 20 mg, 50 mg et 80 mg), soit une teneur totale de 6, 16, 26, 56 et 86 mg/l. Le temps de contact des particules et l'eau est de 12h sous agitation.

Les échantillons sont ensuite dopés en composés pharmaceutiques avec ajout d'une quantité faible (500 µl d'une solution à 200 ng/ml dans 1 litre d'eau pour une concentration dans l'échantillon de 100 ng/l) et laissés en contact 48 h sous agitation.

Les filtres sont préalablement rincés par 250 ml d'eau ultra-pure puis conditionnés (filtres Whatman® GF/F 0.7 µm) au four à 450°C et conservés à l'étuve à 105°C jusqu'à utilisation. Les filtres utilisés sont sortis de l'étuve puis placés dans un dessiccateur jusqu'à retour à la température ambiante.

Pour chacun des 5 niveaux de concentration en MES, 2 échantillons sont préparés : le premier pour l'extraction de l'échantillon liquide brut et le deuxième pour une filtration et une extraction de l'échantillon liquide filtré et une extraction des MES récupérés lors de la filtration. Chaque condition est réalisée en triplicat, soit un total de 45 extraits générés pour ce protocole.

3.2.3. Protocole analytique

Les eaux sont extraites par une méthode d'extraction sur phase solide (SPE, cartouche Oasis HLB). Les MES sont extraites par ultrasons avec un mélange de 20 ml acétonitrile/eau (30/70 ; v/v) à pH 2 et puis une dilution à 100 ml d'eau pour une extraction sur SPE à pH 7.

La méthode d'analyse des résidus de produits pharmaceutiques dans les eaux est identique à celle réalisée pour l'étude de la stabilité (cf. §2.2.4).

3.3. RESULTATS

3.3.1. Teneurs dans les matières en suspension

Les résultats des analyses dans les MES des échantillons filtrés pour les 26 composés pharmaceutiques sont présentés à l'illustration 35. Il s'agit de la moyenne des 3 réplicats.

	Log Kow	% retrouvé dans la fraction particulaire				
		MES 5mg/l	MES 15mg/l	MES 30mg/l	MES 50mg/l	MES 80mg/l
Clotrimazole	6,3	<5 (≈3%)	<5 (≈4%)	<5 (≈2%)	<5 (≈2%)	<5 (≈4%)
Fénofibrate	5,2	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Gemfibrozil	4,8	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Diclofénac	4,5	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Bézafibrate	4,3	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Zolpidem	3,9	<5%	<5%	<5%	<5%	22%*
Propranolol	3,5	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Naproxène	3,2	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Kétoprofène	3,1	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Diazépam	2,8	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Carbamazépine	2,5	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Lorazépam	2,4	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Oxazépam	2,2	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Alprazolam	2,1	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Bromazépam	2,1	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Furosémide	2,0	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Triméthoprim	0,9	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Sulfaméthoxazole	0,9	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Ifosfamide	0,9	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Métoprolol	0,6	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Cyclophosphamide	0,6	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Paracétamol	0,5	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Aténolol	0,0	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%
Iopromide	-2,3	<20%	<20%	<20%	<20%	<20%
Acide fénofibrique	nd	<10%	<10%	<10%	<10%	<10%
O-desméthylnaproxène	nd	<5%	<5%	<5%	<5%	<5%

* retrouvé sur 1 des 3 triplicats ; nd : non disponible.

Illustration 35 : Pourcentage des composés pharmaceutiques retrouvés dans la fraction particulaire par rapport à la fraction dissoute par analyse des MES dans les échantillons filtrés.

Le clotrimazole est détecté dans chacun des triplicats pour les 5 niveaux en MES étudiés. Ces résultats sont directement corrélés aux valeurs de Log Kow puisque le clotrimazole est le composé le plus hydrophobe (log Kow de 6.3) des composés étudiés.

Seul un composé est quantifié à une teneur non négligeable dans les particules : le zolpidem. Cependant, ce composé est retrouvé uniquement dans un des 3 triplicats pour la teneur maximale à 80 mg/l en MES. Aucun contrôle réalisé pendant la série d'analyse ne laisse supposer un artefact analytique. Ce résultat est à confirmer en comparant les résultats du zolpidem dans la phase totale et aqueuse.

Pour une eau chargée jusqu'à 80 mg/l en MES, la partition des substances pharmaceutiques analysées (Log Kow compris entre -2,3 et 6,3) est majoritairement dans la fraction dissoute.

3.3.1. Comparaison des résultats entre la fraction dissoute et totale

La répartition des substances pharmaceutiques s'effectuant principalement dans la fraction dissoute pour une teneur allant jusqu'à 86 mg/l en MES, il reste à démontrer que l'échantillon peut être filtré ou non avant analyse sans que cela impacte le résultat.

Pour comparer les teneurs retrouvées entre la fraction dissoute et totale, les résultats sont exprimés en comparant les moyennes des triplicats des analyses dans la fraction dissoute par rapport au totale :

$$\text{Ratio } d/t = \frac{\text{Moyenne } (n = 3) \text{ des teneurs retrouvées dans la FRACTION DISSOUTE}}{\text{Moyenne } (n = 3) \text{ des teneurs retrouvées dans la FRACTION TOTALE}}$$

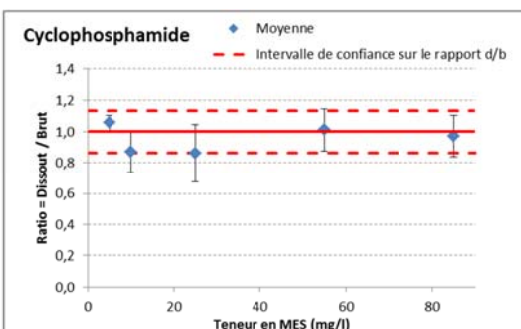
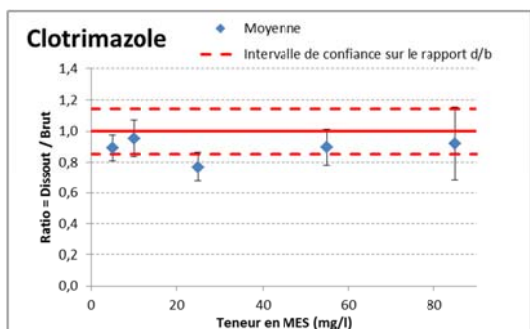
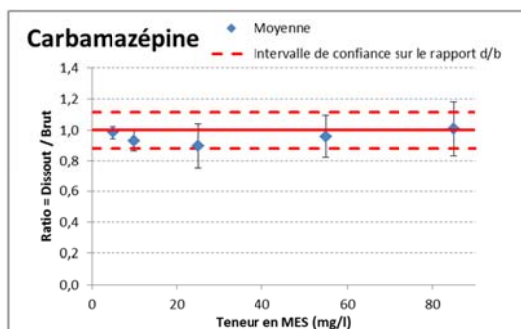
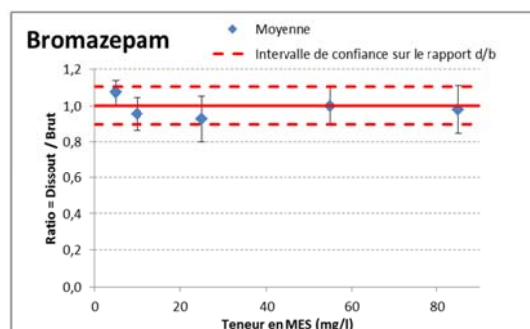
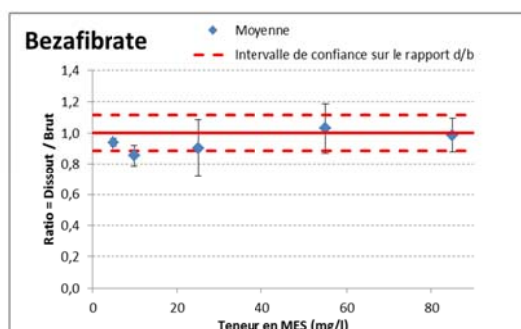
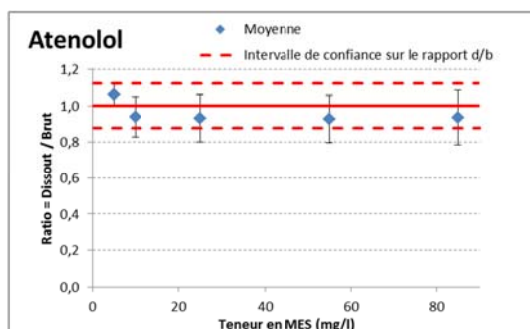
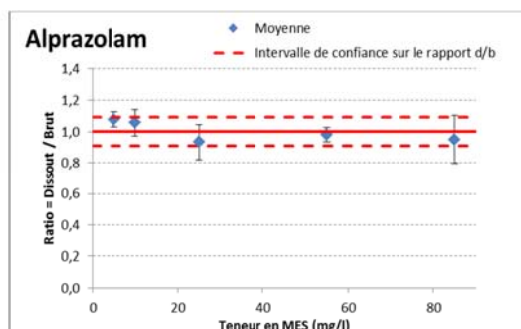
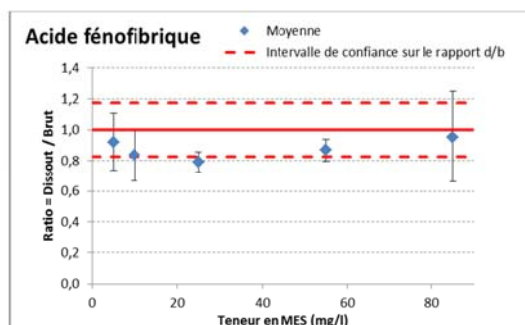
Ce ratio est calculé pour chacune des teneurs en MES.

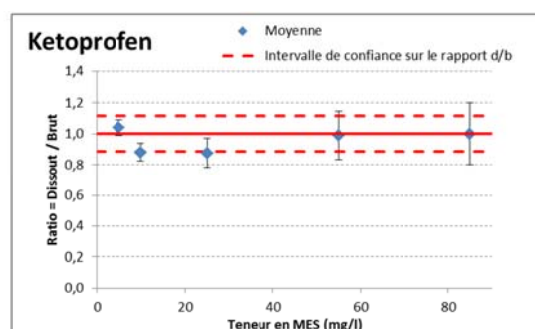
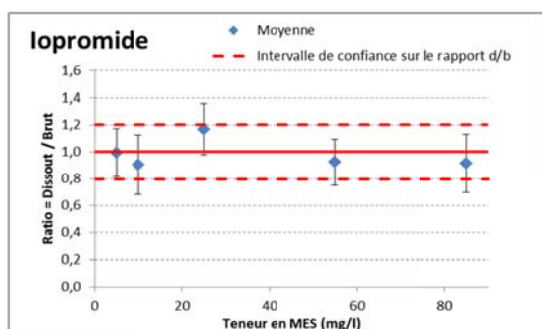
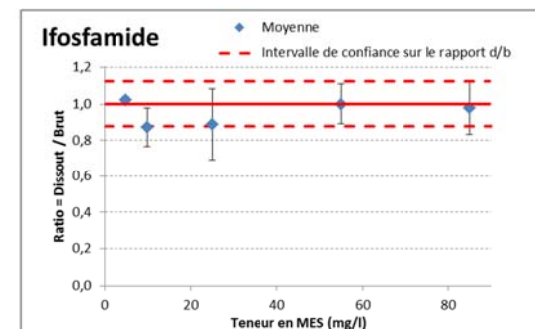
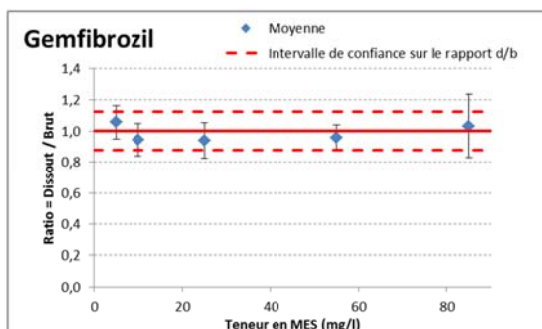
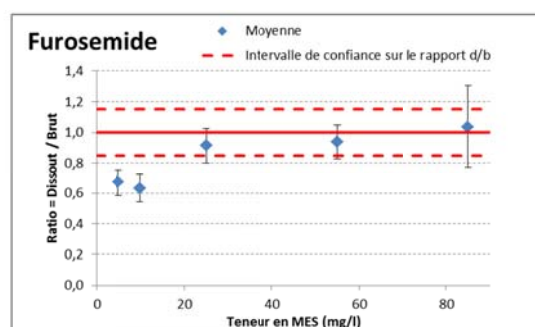
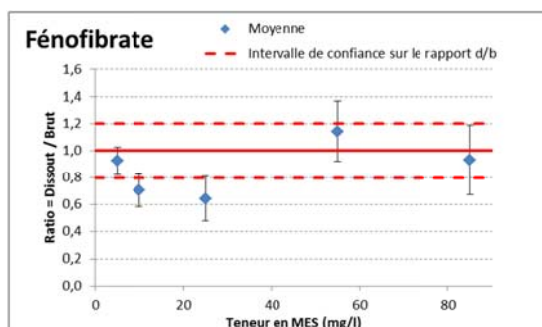
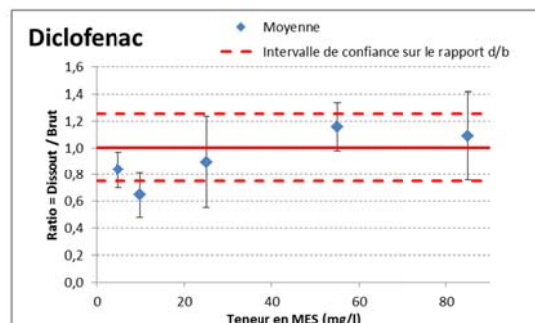
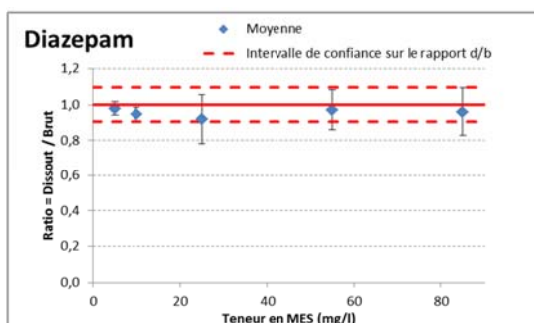
L'illustration 36 présente les données suivantes :

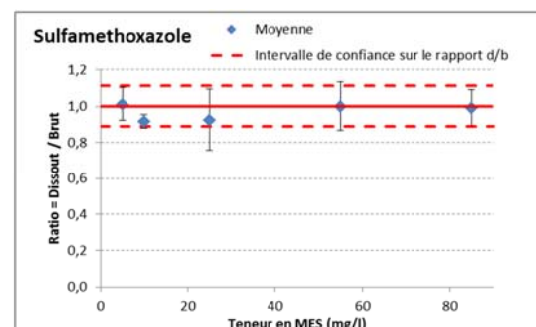
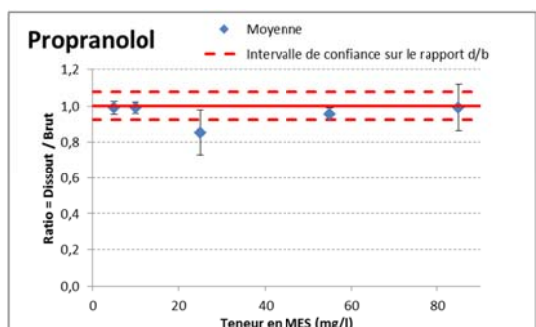
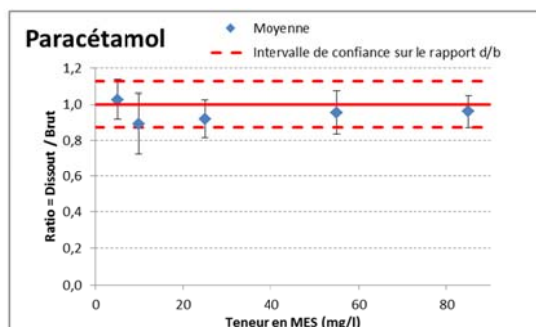
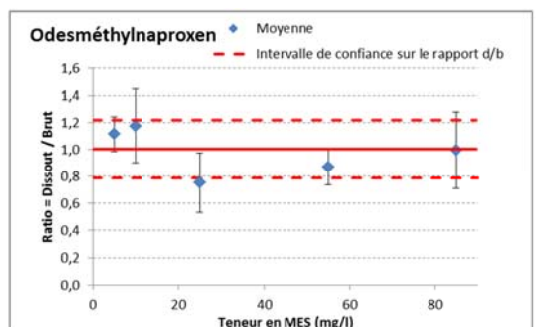
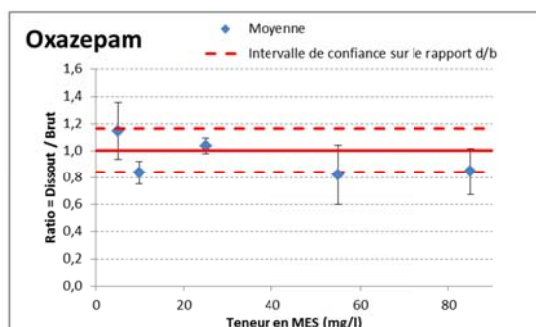
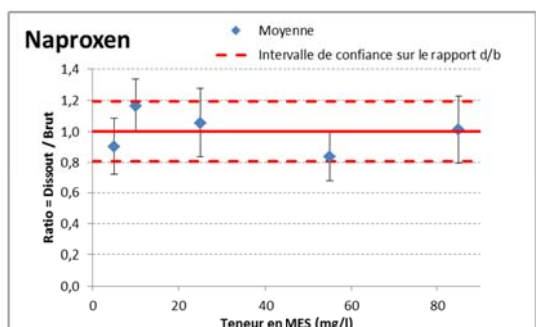
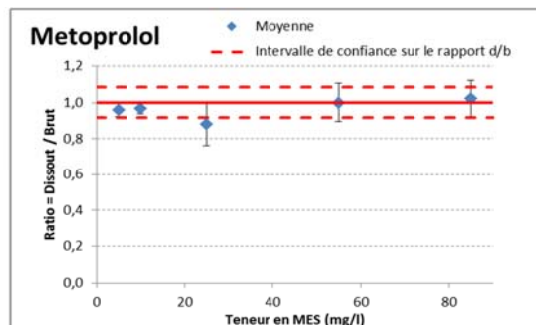
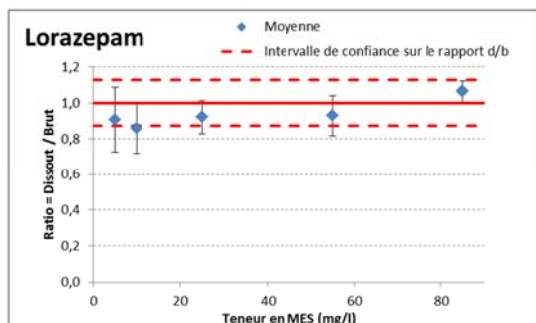
- la valeur du ratio à 1, correspond à la valeur ciblée (teneur identique dans les phases aqueuse et totale) (ligne rouge),
- intervalles de confiance sur le *rapport d/t* (pointillé rouge) ; cet intervalle est calculé à partir d'une estimation de l'écart-type moyen de répétabilité sur l'ensemble des données,
- le résultat correspondant à la moyenne des 3 réplicats (losange bleu) avec un intervalle de confiance associé (barre d'erreur).

Si les intervalles de confiance se recoupent, les différences observées ne sont pas significatives et permettront de:

- confirmer la partition du composé majoritairement dans la fraction dissoute,
- s'assurer que l'étape d'extraction, par SPE, extrait la totalité des composés dans l'échantillon brut jusqu'à une concentration en MES de 85 mg/l.







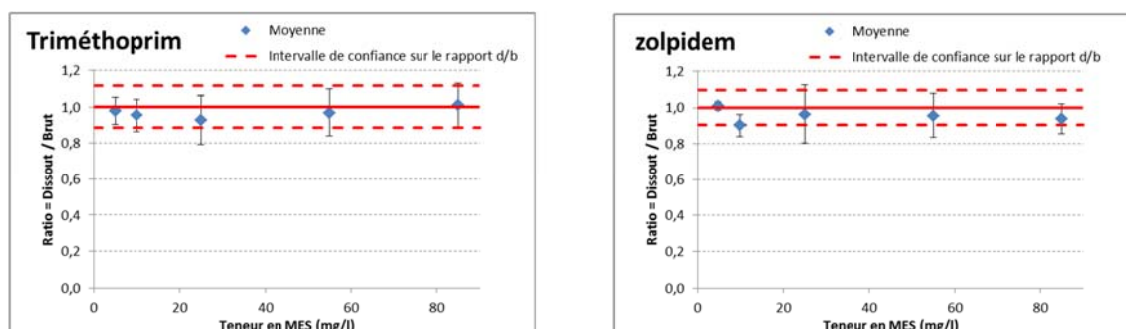


Illustration 36 : Comparaison de la teneur retrouvée dans l'échantillon brut et après filtration selon la teneur en MES pour 26 composés pharmaceutiques.

Pour la majorité des composés (25 des 26 composés), le ratio fraction dissoute/brute (avec la prise en compte de l'écart-type du triplicat) est compris dans l'intervalle de confiance pour les 5 niveaux de teneur en MES.

Pour le furosémide, le ratio est de 0,67 et 0,63 pour une teneur en MES de 5 et 15 mg/l, respectivement. La teneur retrouvée est supérieure dans l'échantillon brut par rapport à l'échantillon filtré.

Ce résultat laisse supposer une adsorption du furosémide dans la phase particulaire. Cependant, cette adsorption n'est pas vérifiée pour des teneurs en MES supérieures à 15 mg/l et ce composé n'est pas détecté dans les phases particulières. Aucun contrôle réalisé pendant la série d'analyse ne laisse supposer un problème analytique. Ces résultats sont à considérer comme aberrants.

Les teneurs en clotrimazole détectées dans la phase particulaire (cf. §3.3.1) sont trop faibles (2 à 4% dans les MES pour 1 litre d'eau, soit 2 à 4 ng/l) pour observer une différence entre les valeurs de la fraction dissoute et celles de l'échantillon brut (les teneurs retrouvées correspondrait à un ratio de 0.96 à 0.98).

Seul le zolpidem est quantifié à une teneur non négligeable (22%) dans les particules pour un des 3 triplicats pour la teneur maximale à 85 mg/l en MES. La fraction dissoute et brute de ce réplicat sont analysés pour vérifier cette teneur retrouvée dans la phase particulaire : le ratio fraction dissoute/brute est de 1,01 alors que l'on devrait obtenir un ratio de 0,78. La distribution du zolpidem dans la phase particulaire ne semble donc pas confirmée pour une teneur en MES de 85 mg/l. La valeur retrouvée de 22% dans la phase particulaire en zolpidem pour un des 3 triplicats semble considérée comme aberrante. Cependant, il est possible également que la technique SPE sur eau brute ne permette pas d'extraire le zolpidem de la phase particulaire. Ce résultat serait à confirmer dans des études ultérieures.

3.4. CONCLUSION SUR LA REPARTITION

Les 26 substances pharmaceutiques étudiées (Log Kow compris entre -2.3 et 6.3) pour une eau chargée jusqu'à 85 mg/l en MES se retrouvent principalement dans la fraction dissoute. En raison d'une limitation à la quantification, une absorption de l'ordre de 5% n'est pas quantifiable par le protocole expérimental.

Ces résultats, pour ce contexte, confirment que l'étape d'extraction par SPE permet d'extraire correctement la totalité de ces composés avec une teneur en MES maximale de 85 mg/l sans filtration préalable.

Ces résultats semblent confirmer que, pour la matrice étudiée, les composés étudiés sont majoritairement retrouvés dans la fraction dissoute.

D'autres publications (Projet AMPERE ; Togola, 2006) présentent des données dans lesquelles la phase particulaire n'est pas négligeable. Cependant il semble que le contexte (eaux de rejets ou influence forte d'eaux de rejets sur le milieu) puisse être responsable des conclusions différentes par rapport à notre étude.

4. Conclusions

Dans ce rapport, deux études expérimentales concernant le comportement d'une vingtaine de résidus de médicaments ont été réalisées : les essais ont concerné des études de stabilité de ces composés ainsi que des essais relatifs à leur répartition entre fraction dissoute et particulaire.

Le protocole expérimental mis en place pour l'étude de stabilité permet de constater une dégradation à partir de 10% de perte. Selon les composés, on dispose d'un délai de 2 à 7 jours entre le prélèvement et l'extraction dans nos conditions expérimentales. Parmi les 26 composés pharmaceutiques étudiés, 2 composés se dégradent après 48h de délai entre la préparation et l'extraction : le bromazépam et le fénofibrate ; 2 composés après 4 jours : le clotrimazole et le furosémide et 2 composés après 6 jours : le gemfibrozil et le kétoprofène.

L'étude de la répartition des 26 substances pharmaceutiques (Log Kow compris entre - 2.3 et 6.3) pour une eau superficielle chargée jusqu'à 85 mg/l de MES a permis de mettre en évidence leur affinité pour la fraction dissoute ($< 0.7 \mu\text{m}$). Le protocole expérimental permet de constater une absorption à partir de 5%. Dans nos conditions, l'échantillon d'eau peut être filtré ou non avant analyse sans que cela impacte significativement le résultat. A la vue de ces essais (eau superficielle avec une teneur de 85 mg/l en matière en suspension), la technique d'extraction en phase solide sur cartouche (SPE) peut être appliquée pour ces composés sans que cela impacte significativement le résultat.

Cependant, selon certaines études, le contexte (eaux de rejets ou influence forte d'eaux de rejets sur le milieu) semble modifier la partition de ces molécules en faveur de la phase solide. C'est pourquoi, malgré les conclusions de notre étude, nous préconisons la recherche de ces composés dans les fractions dissoute et particulaire car sur un plan économique et pratique, il est difficile pour les laboratoires d'adapter la méthode d'extraction à chaque échantillon d'eau dont la teneur et la nature en matière en suspension varie.

5. Bibliographie

Amalric L., Cabillic J., Lardy-Fontan S., Strub M.-P. (2011) - Compatibilité des méthodes d'analyse des substances organiques avec les exigences des programmes de surveillance de la DCE. Rapport final. BRGM/RP-59499-FR, 94 p., 18 ill., 4 ann.

Ashton D., Hilton M. and Thomas K. V. (2004) Investigating the environmental transport of human pharmaceuticals to streams in the United Kingdom. *Sci. Total Environ.* 333, 167-184.

Beausse J. (2004) – Selected drugs in solid matrices: a review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. *Trends in Analytical Chemistry*, 23, p. 753-761.

Cermola M., DellaGreca M., Iesce M.R., Previtera L., Rubino M., Temussi F., Grigante M. (2005) – Phototransformation of fibrate drugs in aqueous media. *Environmental Chemistry Letters*. 3 :43-47.

CNAMTS (2003) MEDIC'Assurance Maladie : Les médicaments remboursés en 2001 et 2002 par le régime général d'Assurance Maladie.

Elsom L. F., Hawkins D.R., Chasseaud L.F. (1976) Identification of a major metabolite of the new hypolipidaemic agent, isopropyl 2-[4-(p-chlorobenzoyl)phenoxy]-2-methylpropionate (procetofene) in humans by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 123: 463-467

Kah M., Brown C.D. (2008) - Review LogD: Lipophilicity for ionisable compounds. *Chemosphere* 72, p. 1401–1408.

Kolpin D. W., Furlong E. T., Meyer M. T., Thurman M. T., Zaugg S. D., Barber L. B. and Buxton H. T. (2002) Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater compounds in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1202-1211.

Miège C., Favier M., Brosse C., Canler J.P., Coquery M. (2006) – Occurrence of betablockers in effluents of wastewater treatment plants from the Lyon area (France) and risk assessment for the downstream rivers. *Talanta*, 70, p. 739-745.

Nowosielski B.E., Fein J.B. (1998) – Experimental study of octanol-water partition coefficients for 2,4,6-trichlorophenol and pentachlorophenol : derivation of an empirical model of chlorophenol partitioning behavior. *Applied Geochemistry* 13, p. 893-904.

Py J.S (2009) - Rapport de synthèse de l'essai inter-laboratoires ; résidus médicamenteux dans l'eau destinée à la consommation humaine.

Rabiet M., Togola A., Brissaud F. Seidel J.L., Budzinski H., Elbaz-Poulichet F. (2006) – Consequences of Treated Water Recycling as Regards Pharmaceuticals and

Drugs in Surface and Ground Waters of a Medium-sized Mediterranean Catchment. Environmental Science and Technology, 40, p. 5282-5288.

Soulier C., Gabet, V., LeMenach K., Pardon P., Esperanza M., Miège C., Choubert J.M., Martin-Ruel S., Bruchet A., Coquery M., Budzinski H. (2011). Zoom sur les substances pharmaceutiques : présence, partition, devenir en station d'épuration. Techniques Sciences et Méthodes, 1/2: 63-77.

Ternes T. A. (1998) Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers . Wat. Res. 32 (11), 3245-3260.

Togola A. (2006) – Présence et devenir des substances pharmaceutiques dans les écosystèmes aquatiques. Thèse de doctorat. Université Bordeaux 1 Sciences et technologie. 391 p.

Zuccato E., Calamari D., Natangelo M. and Fanelli R. (2000) Presence of therapeutic drugs in the environment. Lancet 355, 1789-1790.



**Centre scientifique et technique
Service MMA**

3, avenue Claude-Guillemin
BP 36009 – 45060 Orléans Cedex 2 – France – Tél. : 02 38 64 34 34