
**Qualité de l'eau — Détermination
de la fraction dissoute des principes
actifs pharmaceutiques sélectionnés,
de leurs produits de transformation
et d'autres substances organiques
dans les eaux et les eaux résiduaires
— Méthode par chromatographie
en phase liquide haute performance
et détection par spectrométrie de
masse (HPLC-MS/MS ou -HRMS) après
injection directe**

ISO 21676:2018

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards> *Water quality — Determination of the dissolved fraction of selected active pharmaceutical ingredients, transformation products and other organic substances in water and treated waste water — Method using high performance liquid chromatography and mass spectrometric detection (HPLC-MS/MS or -HRMS) after direct injection*



iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 21676:2018](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/7560912d-ac0a-4dde-9a36-06fe53d41b1d/iso-21676-2018)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/7560912d-ac0a-4dde-9a36-06fe53d41b1d/iso-21676-2018>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2018

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8
CH-1214 Vernier, Genève
Tél.: +41 22 749 01 11
E-mail: copyright@iso.org
Web: www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	4
3 Termes et définitions	4
4 Principe	5
5 Interférences	5
5.1 Pendant la préparation de l'échantillon.....	5
5.2 Pendant la chromatographie en phase liquide haute performance et la spectrométrie de masse.....	5
6 Réactifs	5
6.1 Généralités.....	5
6.2 Préparation des solutions.....	6
7 Appareillage	8
8 Échantillonnage	9
9 Mode opératoire	9
9.1 Généralités.....	9
9.2 Préparation des échantillons.....	9
9.3 Chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC).....	10
9.4 Détection.....	10
9.4.1 Généralités.....	10
9.4.2 Spectrométrie de masse en tandem (MS/MS).....	11
9.4.3 Spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS).....	11
9.5 Détermination des valeurs de blanc.....	11
10 Étalonnage	11
10.1 Généralités.....	11
10.2 Étalonnage avec un étalon externe.....	13
10.3 Étalonnage avec un étalon interne.....	13
11 Calcul du taux de récupération	14
11.1 Généralités.....	14
11.2 Calcul du taux de récupération avec des échantillons.....	15
11.3 Rendement d'extraction des étalons internes.....	15
12 Évaluation	15
12.1 Vérification des substances individuelles.....	15
12.2 Calcul des résultats individuels en utilisant l'étalonnage avec un étalon externe.....	17
12.3 Calcul des résultats individuels en utilisant l'étalonnage avec un étalon interne.....	17
13 Expression des résultats	17
14 Rapport d'essai	18
Annexe A (informative) Données de performance	19
Annexe B (informative) Exemples de taux de récupération	25
Annexe C (informative) Exemples de colonnes HPLC et de chromatogrammes	27
Annexe D (informative) Exemples de détection	33
Annexe E (informative) Exemples d'extension de la méthode	36
Bibliographie	37

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir www.iso.org/directives).

L'attention est attirée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir www.iso.org/brevets).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir www.iso.org/avant-propos.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 147, *Qualité de l'eau*, sous-comité SC 2, *Méthodes physiques, chimiques et biochimiques*.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse www.iso.org/fr/members.html.

Introduction

Les composés pharmaceutiques sont essentiels pour la santé humaine et animale. Au moment de l'application ou du fait d'une élimination inappropriée, les principes actifs pharmaceutiques pénètrent le cycle de l'eau, avec ou sans transformation. Cela peut se produire par le biais des eaux usées municipales, traitées dans les stations de traitement. En effet, certains principes actifs pharmaceutiques et leurs produits de transformation ne sont pas complètement éliminés des eaux usées par les traitements classiques. Les principes actifs pharmaceutiques et leurs produits de transformation sont ainsi transférés dans le sol par les boues, et pénètrent ensuite les masses d'eau par lessivage, en fonction de la nature du sol et des principes actifs. Des principes actifs pharmaceutiques et leurs produits de transformation se trouvent ainsi dans les eaux usées traitées, ainsi que dans les eaux de surface et souterraines. Le présent document spécifie une méthode par chromatographie en phase liquide avec détection par spectrométrie de masse pour la détermination de la fraction dissoute des principes actifs pharmaceutiques sélectionnés et de leurs produits de transformation.

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

[ISO 21676:2018](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/7560912d-ac0a-4dde-9a36-06fe53d41b1d/iso-21676-2018)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/7560912d-ac0a-4dde-9a36-06fe53d41b1d/iso-21676-2018>

Qualité de l'eau — Détermination de la fraction dissoute des principes actifs pharmaceutiques sélectionnés, de leurs produits de transformation et d'autres substances organiques dans les eaux et les eaux résiduaires — Méthode par chromatographie en phase liquide haute performance et détection par spectrométrie de masse (HPLC-MS/MS ou -HRMS) après injection directe

AVERTISSEMENT — Il convient que l'utilisateur du présent document connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Le présent document n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il est de la responsabilité de l'utilisateur de mettre en place des mesures de sécurité et d'hygiène appropriées.

IMPORTANT — Il est absolument essentiel que les essais effectués conformément au présent document soient réalisés par du personnel ayant reçu une qualification appropriée.

1 Domaine d'application

Le présent document spécifie une méthode de détermination de la fraction dissoute des principes actifs pharmaceutiques sélectionnés et de leurs produits de transformation, ainsi que d'autres substances organiques (voir [Tableau 1](#)), dans l'eau potable, les eaux souterraines, les eaux de surface et les eaux usées traitées.

La gamme d'application basse de la présente méthode peut varier selon la sensibilité de l'équipement utilisé et la matrice de l'échantillon. Pour la plupart des composés concernés par le présent document, la gamme est $\geq 0,025 \mu\text{g/l}$ pour l'eau potable, les eaux souterraines et les eaux de surface, et $\geq 0,050 \mu\text{g/l}$ pour les eaux usées traitées.

La présente méthode peut être utilisée pour déterminer d'autres substances organiques ou pour d'autres types d'eaux (par exemple, l'eau de process), à condition que l'exactitude ait été testée et vérifiée dans chaque cas, et que les conditions de conservation des échantillons et des solutions de référence aient été validées. Le [Tableau 1](#) indique les substances pour lesquelles la présente méthode a été appliquée. Le [Tableau E.1](#) fournit d'autres exemples de substances organiques pour lesquelles la présente méthode peut être utilisée.

Tableau 1 — Substances pour lesquelles la présente méthode a été appliquée

Nom commun Nom chimique (IUPAC ^a)	Formule brute	Masse molaire g/mol	Numéro CAS ^b
4-Acétylaminoantipyrine N-(2,3-Dimethyl-5-oxo-1-phenyl-3-pyrazolin-4-yl)acetamide	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₂	245,28	83-15-8
N4-Acétyle sulfaméthoxazole N-{4-[(5-Méthyl-1,2-oxazol-3-yl)sulfamoyl]phényl}-acetamide	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	295,32	21312-10-7
Acide diatrizoïque (acide amidotrizoïque) 3,5-Bis(acetamido)-2,4,6-triiodobenzoic acid	C ₁₁ H ₉ I ₃ N ₂ O ₄	613,91	117-96-4
Aténolol (RS)-2-[4-[2-Hydroxy-3-(1-méthylethylamino) propoxy]phényl]ethanamide	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O ₃	266,34	29122-68-7
Bézafibrate 2-{4-[2-(4-Chlorbenzamido)éthyl]phénoxy}-2-méthylpropanoic acid	C ₁₉ H ₂₀ ClNO ₄	361,80	41859-67-0
Bisoprolol (RS)-1-[4-(2-Isopropoxyéthoxyméthyl)phénoxy]-3-isopropylamino-2-propanol	C ₁₈ H ₃₁ NO ₄	325,45	66722-44-9
Carbamazépine 5H-Dibenzo[b,f]azépine-5-carbamide	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236,27	298-46-4
Clarithromycine (2R,3R,4S,5R,8R,9S,10S,11R,12R,14R)-11-[(2S,3R,4S,6R)-4-(diméthylamino)-3-hydroxy-6-méthylloxan-2-yl]oxy-5-éthyl-3,4-dihydroxy-9-[(2R,4R,5S,6S)-5-hydroxy-4-méthoxy-4,6-diméthyl-oxan-2-yl]oxy-12-méthoxy-2,4,8,10,12,14-hexaméthyl-6-oxacyclotétradécane-1,7-dione	C ₃₈ H ₆₉ NO ₁₃	747,95	81103-11-9
Acide clofibrique 2-(4-Chlorophénoxy)-2-méthylpropanoic acid	C ₁₀ H ₁₁ ClO ₃	214,70	882-09-7
Déhydro-érythromycine (anhydro-érythromycine) (érythromycine-H ₂ O) (2R,3R,4S,5S,8R,9S,10S,11R,12R)-11-{[4-(diméthylamino)-3-hydroxy-6-méthylloxan-2-yl]oxy}-5-éthyl-3-hydroxy-9-[(5-hydroxy-4-méthoxy-4,6-diméthylloxan-2-yl)oxy]-2,4,8,10,12,14-hexaméthyl-6,15,16-trioxatricyclo[10.2.1.1{1,4}]hexadécane-7-one	C ₃₇ H ₆₅ NO ₁₂	715,91	23893-13-2
Diazépam (RS)-7-Chlor-1-méthyl-5-phényl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazépine-2-on	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O	284,74	439-14-5
Diclofénac 2-[2-[(2,6-Dichlorphényl)amino]phényl]acetic acid	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	296,15	15307-86-5
10,11-Dihydro-10,11-dihydroxy carbamazépine (5S,6S)-5,6-Dihydroxy-5,6-dihydrobenzo[b][1]benzazépie-11-carboxamide	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₃	270,29	58955-93-4
^a IUPAC: Union internationale de chimie pure et appliquée.			
^b Numéro CAS: Numéro de registre du Chemical Abstracts Service.			

Tableau 1 (suite)

Nom commun Nom chimique (IUPAC ^a)	Formule brute	Masse molaire g/mol	Numéro CAS ^b
Érythromycine 6-(4-Diméthylamino-3-hydroxy-6-méthyl-oxan-2-yl)oxy-14-éthyl-7,12,13-trihydroxy-4-(5-hydroxy-4-méthoxy-4,6-diméthyl-oxan-2-yl)-oxy-3,5,7,9,11,13-hexaméthyl-1-oxacyclotetradécane-2,10-dione	C ₃₇ H ₆₇ NO ₁₃	733,93	114-07-8
4-Formylaminoantipyrine N-(2,3-Dihydro-1,5-diméthyl-3-oxo-2-phényl-1H-pyrazol-4-yl)formamide	C ₁₂ H ₁₃ N ₃ O ₂	231,25	1672-58-8
Gemfibrozil 5-(2,5-Chlorophénoxy)-2,2-méthylpropanoïque acid	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250,34	25812-30-0
Ibuprofène (RS)-2-[4-(2-Méthylpropyl)phényl]propanoïque acid	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206,28	15687-27-1
Ioméprol (±)-N,N'-Bis-(2,3-dihydroxypropyl)-5-[(2-hydroxy-acétyl)méthylamino]-2,4,6-triiodo isophtalamide	C ₁₇ H ₂₂ I ₃ N ₃ O ₈	777,09	78649-41-9
Iopamidol (S)-N,N'-Bis[2-hydroxy-1-(hydroxyméthyl)éthyl]-5-[(2-hydroxypropanoyle)amino]-2,4,6-triiodobenzène-1,3-dicarbamide	C ₁₇ H ₂₂ I ₃ N ₃ O ₃	777,08	60166-93-0
Iopromide (±)-N,N'-Bis(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-triiodo-5-(2-méthoxyacétamido)-N-méthylisophtalamide	C ₁₈ H ₂₄ I ₃ N ₃ O ₈	791,12	73334-07-3
Métoprolol (RS)-1-(Isopropylamino)-3-[4-(2-méthoxyéthyl)phénoxy]propan-2-ol	C ₁₅ H ₂₅ NO ₃	267,36	37350-58-6
Naproxène (S)-2-(6-Méthoxy-2-naphtyl)propanoïque acid	C ₁₄ H ₁₄ O ₃	230,26	22204-53-1
Oxazépam (RS)-7-Chloro-3-hydroxy-5-phényl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazépin-2-on	C ₁₅ H ₁₁ ClN ₂ O ₂	286,71	604-75-1
Phénazone 1,5-Diméthyl-2-phényl-2,3-dihydro-1H-pyrazol-3-on	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O	188,23	60-80-0
Primidone 5-Éthyl-5-phénylhexahydroypyrimidin-4,6-dione	C ₁₂ H ₁₄ N ₂ O ₂	218,25	125-33-7
Propyphénazone 1,5-Diméthyl-4-(1-méthylethyl)-2-phényl-1,2-dihydro-3H-pyrazol-3-one	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O	230,31	479-92-5
Roxithromycine (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11S,12R,13S,14R)-6-[[[(2S,3R,4S,6R)-4-(diméthylamino)-3-hydroxy-6-méthyl-oxan-2-yl]oxy]-14-éthyl-7,12,13-trihydroxy-4-[[[(2R,4R,5S,6S)-5-hydroxy-4-méthoxy-4,6-diméthyl-oxan-2-yl]oxy]-3,5,7,9,11,13-hexaméthyl-10-(2,4,7-trioxa-1-azaocétan-1-ylidène)-1-oxacyclotetradécane-2-one	C ₄₁ H ₇₆ N ₂ O ₁₅	837,05	80214-83-1
^a IUPAC: Union internationale de chimie pure et appliquée.			
^b Numéro CAS: Numéro de registre du Chemical Abstracts Service.			

Tableau 1 (suite)

Nom commun Nom chimique (IUPAC ^a)	Formule brute	Masse molaire g/mol	Numéro CAS ^b
Sotalol (RS)-4'-(1-Hydroxy-2-isopropylaminoethyl) methanesulfonanilide	C ₁₂ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	272,36	3930-20-9
Sulfaméthoxazole 4-Amino-N-(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)benzene-sulfonamide	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253,28	723-46-6
Témazépam (RS)-7-Chloro-3-hydroxy-1-methyl-5-phenyl-1,3-dihydro-2H- 1,4-benzodiazepin-2-one	C ₁₆ H ₁₃ ClN ₂ O ₂	300,74	846-50-4
Triméthoprim 2,4-Diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidine	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	290,32	738-70-5
^a IUPAC: Union internationale de chimie pure et appliquée.			
^b Numéro CAS: Numéro de registre du Chemical Abstracts Service.			

2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 1042, *Verrerie de laboratoire — Fioles jaugées à un trait*

ISO 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 4796-2, *Verrerie de laboratoire — Flacons — Partie 2: Flacons à col conique*

ISO 5667-4, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 4: Lignes directrices pour l'échantillonnage des eaux des lacs naturels et des lacs artificiels*

ISO 5667-5, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 5: Lignes directrices pour l'échantillonnage de l'eau potable des usines de traitement et du réseau de distribution*

ISO 5667-6, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 6: Lignes directrices pour l'échantillonnage des rivières et des cours d'eau*

ISO 5667-10, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 10: Lignes directrices pour l'échantillonnage des eaux résiduaires*

ISO 5667-11, *Qualité de l'eau — Échantillonnage — Partie 11: Lignes directrices pour l'échantillonnage des eaux souterraines*

ISO 8466-1, *Qualité de l'eau — Étalonnage et évaluation des méthodes d'analyse et estimation des caractères de performance — Partie 1: Évaluation statistique de la fonction linéaire d'étalonnage*

3 Termes et définitions

Aucun terme n'est défini dans le présent document.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

4 Principe

L'échantillon d'eau est injecté directement dans le système d'analyse. L'identification et la détermination quantitative sont réalisées en associant la chromatographie en phase liquide haute performance et la détection par spectrométrie de masse (HPLC-MS/MS ou HPLC-HRMS).

5 Interférences

5.1 Pendant la préparation de l'échantillon

Des pertes d'analytes peuvent avoir lieu pendant la filtration de l'échantillon à cause de la sorption.

5.2 Pendant la chromatographie en phase liquide haute performance et la spectrométrie de masse

Les traînées de pics, les diffusions frontales et/ou les pics larges indiquent un dysfonctionnement du système HPLC et/ou la présence d'interférences pendant l'analyse chromatographique. Toutefois, certains composés ont tendance à présenter davantage de traînées de pics que d'autres, en fonction des conditions chromatographiques.

Des interférences dues aux substances concomitantes (matrice) peuvent se produire à la fois avec l'ionisation positive et négative, selon le composé analysé (par exemple, le diclofénac en mode ESI négatif).

Les substances concomitantes (matrice) peuvent affecter l'ionisation des substances cibles (par exemple, suppression d'ions ou exaltation du signal). Cela peut donner lieu à une sous-estimation ou à une surestimation de la concentration lors de la quantification. Ces interférences peuvent être détectées et corrigées de manière adéquate en utilisant le taux de récupération de l'analyte (11.2 et Annexe B) et/ou un étalonnage interne (10.3 et Tableau D.3).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/7560912d-ac0a-4dde-9a36-06fe53d41b1d/iso-21676-2018>

6 Réactifs

6.1 Généralités

S'ils sont disponibles, des réactifs de qualité «pour analyse» ou «pour analyse de résidus» sont utilisés. La quantité d'impuretés contribuant à la valeur de blanc ou à l'origine d'une interférence dans le signal doit être négligeable. Cela doit être vérifié régulièrement (voir 9.5).

Les solvants, l'eau et les réactifs prévus comme agents d'élution doivent être compatibles avec la HPLC et la spectrométrie de masse.

NOTE Les qualités de solvants ultra purs applicables pour cette utilisation sont disponibles dans le commerce.

6.1.1 Eau, respectant les exigences de l'ISO 3696, de qualité 1 ou équivalente, exempte d'interférence dans le blanc.

6.1.2 Méthanol, CH₃OH.

6.1.3 Acétonitrile, CH₃CN.

6.1.4 Acide acétique, $w(\text{CH}_3\text{COOH}) = 100\%$ de la fraction massique.

- 6.1.5 Acide formique**, $w(\text{HCOOH})$ au moins 98 % de la fraction massique.
- 6.1.6 Acétate d'ammonium**, $w(\text{CH}_3\text{COONH}_4)$ au moins 99 % de la fraction massique.
- 6.1.7 Formiate d'ammonium**, $w(\text{HCOONH}_4)$ au moins 99 % de la fraction massique.
- 6.1.8 Thiosulfate de sodium pentahydraté**, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.
- 6.1.9 Gaz pour le spectromètre de masse**, conformes aux spécifications du fabricant de l'instrument.
- 6.1.10 Étalons de référence**, selon les indications du [Tableau 1](#), avec une fraction massique connue.
- 6.1.11 Étalons internes**, de préférence les composés marqués avec un isotope (voir [Tableau D.3](#)) des étalons de référence.

Les étalons internes ne doivent pas provoquer d'interférences avec les analytes (voir [9.5](#)).

6.2 Préparation des solutions

6.2.1 Généralités

Les solutions des étalons internes sont nécessaires seulement une fois que l'étalonnage et l'évaluation ont été réalisés conformément au [10.3](#) et au [12.3](#).

Tester la justesse des solutions d'étalon de référence en les comparant à un étalon de contrôle (voir [6.2.9](#)), par exemple pendant l'étalonnage (voir [10.1](#)).

NOTE Des solutions d'étalon de référence et des étalons internes sont disponibles dans le commerce.

6.2.2 Solutions mères (étalons de référence/étalons internes)

Préparer les solutions avec une concentration massique de 0,1 mg/ml de chaque substance, par exemple.

Pour cela, utiliser, par exemple, 5 mg d'une substance ([6.1.10](#)) dans différentes fioles jaugées de 50 ml ([7.2](#)), les dissoudre dans l'acétonitrile ([6.1.3](#)) ou le méthanol ([6.1.2](#)), puis ajouter du solvant jusqu'à la marque.

NOTE Sinon, il est possible d'utiliser des solutions mères des étalons de référence (ou des étalons internes) individuelles du commerce (ou sur mesure) dans un solvant organique, pour préparer les dilutions nécessaires.

Stocker les solutions à une température inférieure à -15 °C et les protéger de la lumière et de l'évaporation. Dans ces conditions, elles sont stables pendant un an.

6.2.3 Dilution intermédiaire A (étalons de référence)

Préparer une solution intermédiaire avec des concentrations massiques de 1 $\mu\text{g/ml}$ de chaque substance, par exemple.

Cela implique de transférer, par exemple, 0,5 ml de chaque solution mère d'étalon de référence (voir [6.2.2](#)) dans une fiole jaugée de 50 ml ([7.2](#)), puis de remplir la fiole d'acétonitrile ([6.1.3](#)) jusqu'à la marque.

Stocker la solution à une température inférieure à -15 °C et la protéger de la lumière et de l'évaporation. Dans ces conditions, elle reste stable pendant un an.

6.2.4 Dilution intermédiaire B (étalons de référence)

Préparer une solution intermédiaire avec des concentrations massiques de 50 ng/ml de chaque substance, par exemple.