

2019

Kvalita vod – Stanovení rozpuštěné frakce vybraných léčivých přípravků, jejich metabolitů a dalších organických látek ve vodách a v čištěných odpadních vodách – Metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí (HPLC-MS/MS nebo -HRMS) po přímém nástřiku

ČSN  
ISO 21676  
75 7599

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

Qualité de l'eau – Détermination de la fraction dissolue des ingrédients pharmaceutiques actifs sélectionnés, des produits de la transformation et d'autres substances organiques dans l'eau et dans l'eau résiduaire – Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance et détection par spectrométrie de masse (CLHP-MS/MS ou -HRSM) après l'injection directe

Tato norma je českou verzí mezinárodní normy ISO 21676:2018. Překlad byl zajištěn Českou agenturou pro standardizaci. Má stejný status jako oficiální verze.

This standard is the Czech version of the International Standard ISO 21676:2018. It was translated by the Czech Standardization Agency. It has the same status as the official version.

## Národní předmluva

### Informace o citovaných dokumentech

ISO 1042 zavedena v ČSN ISO 1042 (70 4105) Laboratorní sklo – Odměrné baňky s jednou ryskou

ISO 3696 zavedena v ČSN ISO 3696 (68 4051) Jakost vody pro analytické účely – Specifikace a zkušební metody

ISO 4796-2 zavedena v ČSN EN ISO 4796-2 (70 4320) Laboratorní sklo – Lahve – Část 2: Lahve s kuželovým hrdlem

ISO 5667-4 zavedena v ČSN ISO 5667-4 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 4: Návod pro odběr vzorků z jezer a vodních nádrží

ISO 5667-5 zavedena v ČSN ISO 5667-5 (75 7051) Jakost vod – Odběr vzorků – Část 5: Návod pro odběr vzorků pitné vody z úpraven vody a z vodovodních sítí

ISO 5667-6 zavedena v ČSN EN ISO 5667-6 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 6: Návod pro odběr vzorků z řek a potoků

ISO 5667-10 zavedena v ČSN ISO 5667-10 (75 7051) Jakost vod – Odběr vzorků – Část 10: Pokyny pro odběr vzorků odpadních vod

ISO 5667-11 zavedena v ČSN ISO 5667-11 (75 7051) Kvalita vod – Odběr vzorků – Část 11: Návod pro odběr vzorků podzemních vod

ISO 8466-1 zavedena v ČSN ISO 8466-1 (75 7031) Jakost vod – Kalibrace a hodnocení analytických metod a určení jejich charakteristik – Část 1: Statistické hodnocení lineární kalibrační funkce

Souvisící ČSN

ČSN ISO 11352 (75 7032) Kvalita vod – Odhad nejistoty měření na základě údajů z validace a řízení kvality

ČSN ISO 5725-2 (01 0251) Přesnost (pravdivost a preciznost) metod a výsledků měření – Část 2: Základní metoda pro stanovení opakovatelnosti a reprodukovatelnosti normalizované metody měření

Vypracování normy

Zpracovatel: Sweco Hydroprojekt a. s., IČO 26475081, Ing. Lenka Fremrová

Technická normalizační komise: TNK 104 Kvalita vod

Pracovník České agentury pro standardizaci: Ing. Alena Mastná

Česká agentura pro standardizaci je státní příspěvková organizace zřízená Úřadem pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví na základě ustanovení § 5 odst. 2 zákona č. 22/1997 Sb., o technických požadavcích na výrobky a o změně a doplnění některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů.

Kvalita vod – Stanovení rozpuštěné frakce vybraných léčivých přípravků, jejich metabolitů a dalších organických látek ve vodách a v čištěných odpadních vodách – Metoda vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí (HPLC-MS/MS nebo -HRMS) po přímém nástřiku

ISO 21676  
První vydání  
2018-10-01

ICS 13.060.50

Obsah

Strana

Předmluva.....	5
Úvod.....	6
<b>1.....</b> Předmět normy.....	7
<b>2.....</b> Citované dokumenty.....	9
<b>3.....</b> Termíny a definice.....	9
<b>4.....</b> Podstata zkoušky.....	9
<b>5.....</b> Rušivé vlivy.....	10
<b>5.1.....</b> Při přípravě vzorků.....	10
<b>5.2.....</b> Při vysokoúčinné kapalinové chromatografii a hmotnostní spektrometrii.....	10
<b>6.....</b> Chemikálie a činidla.....	

.....	10
<b>6.1.....</b>	
Obecně.....	10
.....	10
<b>6.2.....</b>	
Příprava	
roztoků.....	
.....	10
<b>7.....</b>	
Přístroje	
a pomůcky.....	
.....	12
<b>8.....</b>	
Odběr	
vzorků.....	
.....	13
<b>9 .....</b>	
Postup	
zkoušky.....	
.....	13
<b>9.1.....</b>	
Obecně.....	
.....	13
<b>9.2.....</b>	
Příprava	
vzorku.....	
.....	13
<b>9.3 .....</b>	
Vysokoučinná kapalinová chromatografie	
(HPLC).....	13
<b>9.4.....</b>	
Detekce.....	
.....	14
<b>9.5.....</b>	
Měření hodnoty slepého	
stanovení.....	14
<b>10 .....</b>	
Kalibrace.....	
.....	15
<b>10.1....</b>	
Obecně.....	
.....	15
<b>10.2....</b>	
Kalibrace s vnějším	
standardem.....	
. 16	
<b>10.3....</b>	
Kalibrace s vnitřním	

standardem.....	16
<b>11.....</b> Výpočet výťažnosti.....	17
<b>11.1....</b> Obecně.....	17
<b>11.2....</b> Výpočet výťažnosti analytu s použitím vzorků.....	17
<b>11.3....</b> Výpočet výťažnosti vnitřních standardů.....	17
<b>12.....</b> Vyhodnocení.....	18
<b>12.1....</b> Ověření jednotlivých látek.....	18

<b>12.2</b> ... Výpočet jednotlivých výsledků s použitím kalibrace s vnějším standardem.....	18
<b>12.3</b> ... Výpočet jednotlivých výsledků s použitím kalibrace s vnitřním standardem.....	19
<b>13</b> ..... Vyjadřování výsledků.....	19
<b>14</b> ..... Protokol o zkoušce.....	19
<b>Příloha A</b> (informativní) Statistické údaje.....	20
<b>Příloha B</b> (informativní) Příklady výtěžnosti.....	25
<b>Příloha C</b> (informativní) Příklady HPLC kolon a chromatogramů.....	27
<b>Příloha D</b> (informativní) Příklady detekce.....	32
<b>Příloha E</b> (informativní) Příklady rozšíření metody.....	35
Bibliografie.....	36

 **DOKUMENT CHRÁNĚNÝ COPYRIGHTEM**

© ISO 2018

Veškerá práva vyhrazena. Žádná část této publikace nesmí být, není-li specifikováno jinak nebo nepožaduje-li se to v souvislosti s její implementací, reprodukována nebo používána v jakékoliv formě nebo jakýmkoliv způsobem, elektronickým ani mechanickým, včetně pořizování fotokopíí nebo zveřejňování na internetu nebo intranetu, bez předchozího písemného souhlasu. O souhlas lze požádat buď ISO na níže uvedené adrese, nebo členskou organizaci ISO v zemi žadatele

ISO copyright office  
 CP 401 · Ch. de Blandonnet 8  
 CH-1214 Vernier, Geneva  
 Tel.: + 41 22 749 01 11  
 Fax: + 41 22 749 09 47  
 E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
 Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)  
 Publikováno ve Švýcarsku

# Předmluva

ISO (Mezinárodní organizace pro normalizaci) je celosvětová federace národních normalizačních orgánů (členů ISO). Mezinárodní normy obvykle vypracovávají technické komise ISO. Každý člen ISO, který se zajímá o předmět, pro který byla vytvořena technická komise, má právo být v této technické komisi zastoupen. Práce se zúčastňují také vládní i nevládní mezinárodní organizace, s nimiž ISO navázala pracovní styk. ISO úzce spolupracuje s Mezinárodní elektrotechnickou komisí (IEC) ve všech záležitostech normalizace v elektrotechnice.

Postupy použité při tvorbě tohoto dokumentu a postupy určené pro jeho další udržování jsou popsány ve směrnících ISO/IEC, část 1. Zejména se má věnovat pozornost rozdílným schvalovacím kritériím potřebným pro různé druhy dokumentů ISO. Tento dokument byl vypracován v souladu s redakčními pravidly uvedenými ve směrnících ISO/IEC, část 2 (viz [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

Upozorňuje se na možnost, že některé prvky tohoto dokumentu mohou být předmětem patentových práv. ISO nelze činit odpovědnou za identifikaci jakéhokoliv nebo všech patentových práv. Podrobnosti o jakýchkoliv patentových právech identifikovaných během přípravy tohoto dokumentu budou uvedeny v úvodu a/nebo v seznamu patentových prohlášení obdržných ISO (viz [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Jakýkoliv obchodní název použitý v tomto dokumentu se uvádí jako informace pro usnadnění práce uživatelů a neznamená schválení.

Vysvětlení nezávazného charakteru technických norem, významu specifických termínů a výrazů ISO, které se vztahují k posuzování shody, jakož i informace o tom, jak ISO dodržuje principy Světové obchodní organizace (WTO) týkající se technických překážek obchodu (TBT), jsou uvedeny na tomto odkazu URL:

[www.iso.org/iso/foreword.html](http://www.iso.org/iso/foreword.html).

Tento dokument vypracovala technická komise ISO/TC 147 *Kvalita vod*, subkomise SC 2 *Fyzikální, chemické a biochemické metody*.

Jakákoli zpětná vazba nebo otázky týkající se tohoto dokumentu mají být adresovány národnímu normalizačnímu orgánu uživatele. Úplný seznam těchto orgánů lze nalézt na adrese

[www.iso.org/members.html](http://www.iso.org/members.html).

# Úvod

Léčivé přípravky jsou nezbytné pro zdraví lidí a zvířat. Během používání nebo v důsledku nevhodné likvidace se léčivé přípravky v původní nebo transformované formě dostávají do koloběhu vody. Do tohoto koloběhu se mohou dostávat z městských odpadních vod, čištěných v čistírnách odpadních vod. Tam nemohou být některé léčivé přípravky a jejich metabolity zcela odstraněny z odpadních vod běžnými technologiemi. Léčivé přípravky a jejich metabolity se také dostávají do kalů a potom do půdy a následně do vodních útvarů z výluhů, v závislosti na vlastnostech půdy a léčivých přípravků. Proto se léčivé přípravky a jejich metabolity vyskytují jak v čištěných odpadních vodách, tak v povrchové a podzemní vodě. Tento dokument specifikuje metodu kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí pro stanovení rozpuštěné frakce vybraných léčivých přípravků a jejich metabolitů.



**UPOZORNĚNÍ Pracovníci používající tento dokument mají ovládat běžnou laboratorní praxi. Tento dokument neuvádí všechny bezpečnostní problémy, které se mohou vyskytnout při jeho používání. Je odpovědností uživatele stanovit náležitá bezpečnostní i zdravotní opatření.**

**DŮLEŽITÉ Je naprosto nezbytné, aby zkoušky podle tohoto dokumentu prováděli náležitě kvalifikovaní pracovníci.**

# 1 Předmět normy

Tento dokument specifikuje metodu stanovení rozpuštěné frakce vybraných léčivých přípravků a jejich metabolitů i dalších organických látek (viz tabulka 1) v pitné, podzemní a povrchové vodě a v čištěných odpadních vodách.

Dolní mez stanovitelnosti této metody se může měnit v závislosti na citlivosti používaného vybavení a na matici vzorku. U většiny látek, pro které se používá tento dokument, je rozsah ? 0,025 mg/l pro pitnou, podzemní a povrchovou vodu a ? 0,050 mg/l pro čištěné odpadní vody.

Tuto metodu je možno používat také pro analýzu dalších organických látek nebo pro jiné druhy vod (např. pro provozní vodu), pokud byla pro každý případ zkoušena a ověřena přesnost a pokud byly validovány podmínky uchovávání vzorků a referenčních roztoků. V tabulce 1 jsou uvedeny látky, jejichž stanovení bylo zkoušeno podle této metody. V tabulce E.1 jsou uvedeny příklady stanovení dalších organických látek.

Tabulka 1 - Látky, jejichž stanovení bylo zkoušeno podle této metody

<b>Obecný název</b> <b>Chemický název (IUPAC<sup>a</sup>)</b>	<b>Vzorec</b>	<b>Molární hmotnost</b> g/mol	<b>Číslo CAS<sup>b</sup></b>
4-acetylaminoantipyrin N-(2,3-dimethyl-5-oxo-1-fenyl-3-pyrazolin-4-yl)acetamid	C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	245,28	83-15-8
N4-acetyl sulfamethoxazol N-{4-[(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)sulfamoyl]fenyl}-acetamid	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S	295,32	21312-10-7
Kyselina diatrizoová Kyselina 3,5-bis(acetamido)-2,4,6-trijodobenzoová	C <sub>11</sub> H <sub>9</sub> I <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	613,91	117-96-4
Atenolol (RS)-2-[4-[2-hydroxy-3-(1-methylethylamin)propoxy]fenyl]ethanamid	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	266,34	29122-68-7
Bezafibrát Kyselina 2-{4-[2-(4-chlorbenzamido)ethyl]fenoxy]-2-methylpropanová	C <sub>19</sub> H <sub>20</sub> ClNO <sub>4</sub>	361,80	41859-67-0
Bisoprolol (RS)-1-[4-(2-isopropoxyethoxymethyl)fenoxy]-3-isopropylamino-2-propanol	C <sub>18</sub> H <sub>31</sub> NO <sub>4</sub>	325,45	66722-44-9
Karbamazepin 5H-dibenzo[b,f]azepine-5-karbamid	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	236,27	298-46-4
Clarithromycin (2R,3R,4S,5R,8R,9S,10S,11R,12R,14R)-11-[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-5-ethyl-3,4-dihydroxy-9-[(2R,4R,5S,6S)-5-hydroxy-4-methoxy-4,6-dimethyl-oxan-2-yl]oxy-12-methoxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-6-oxacyklotetradekan-1,7-dion	C <sub>38</sub> H <sub>69</sub> NO <sub>13</sub>	747,95	81103-11-9
Kyselina klofibrová Kyselina 2-(4-chlorfenoxy)-2-methylpropanová	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClO <sub>3</sub>	214,70	882-09-7
Erythromycin (bezdový) (2R,3R,4S,5S,8R,9S,10S,11R,12R)-11-[[4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy]-5-ethyl-3-hydroxy-9-[(5-hydroxy-4-methoxy-4,6-dimethyloxan-2-yl)oxy]-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-6,15,16-trioxatricyklo[10.2.1.1.1{1,4}]hexadekan-7-on	C <sub>37</sub> H <sub>65</sub> NO <sub>12</sub>	715,91	23893-13-2

Tabulka 1 – Látky, jejichž stanovení bylo zkoušeno podle této metody (*pokračování*)

<b>Obecný název</b> <b>Chemický název (IUPAC<sup>a</sup>)</b>	<b>Vzorec</b>	<b>Molární hmotnost</b> g/mol	<b>Číslo CAS<sup>b</sup></b>
Diazepam (RS)-7-chlor-1-methyl-5-fenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O	284,74	439-14-5
Diclofenac Kyselina 2-[2-[(2,6-dichlorfenyl)amino]fenyl]octová	C <sub>14</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>2</sub> NO <sub>2</sub>	296,15	15307-86-5
(5S,6S)-5,6-dihydroxy-5,6-dihydrobenzo[b][1]benzazepin-11-karboxamid	C <sub>15</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	270,29	58955-93-4
Erythromycin 6-(4-dimethylamino-3-hydroxy-6-methyl-oxan-2-yl)oxy-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-4-(5-hydroxy-4-methoxy-4,6-dimethyl-oxan-2-yl)-oxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-1-oxacyklotetradekan-2,10-dion	C <sub>37</sub> H <sub>67</sub> NO <sub>13</sub>	733,93	114-07-8
4-Formylaminoantipyrin N-(2,3-dihydro-1,5-dimethyl-3-oxo-2-fenyl-1H-pyrazol-4-yl)formamid	C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	231,25	1672-58-8
Gemfibrozil Kyselina 5-(2,5-Chlorofenoxy)-2,2-methylpropanová	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>3</sub>	250,34	25812-30-0
Ibuprofen Kyselina (RS)-2-[4-(2-methylpropyl)fenyl]propanonová	C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	206,28	15687-27-1
Iomeprol (±)-N,N'-bis-(2,3-dihydroxypropyl)-5-[(2-hydroxy-acetyl)methylamino]-2,4,6-trijod	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> I <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	777,09	78649-41-9
isoftalamid Jopamidol (S)-N,N'-bis[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-5-[(2-hydroxypropanoyl)amino]-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> I <sub>3</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	777,08	60166-93-0
Metoprolol (RS)-1-(isopropylamino)-3-[4-(2-methoxyethyl) fenoxy]propan-2-ol	C <sub>15</sub> H <sub>25</sub> NO <sub>3</sub>	267,36	37350-58-6
Naproxen Kyselina (S)-2-(6-methoxy-2-naftyl)propanová	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	230,26	22204-53-1
Oxazepam (RS)-7-chlor-3-hydroxy-5-fenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on	C <sub>15</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	286,71	604-75-1
Fenazon 1,5-dimethyl-2-fenyl-2,3-dihydro-1H-pyrazol-3-on	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O	188,23	60-80-0
Primidon 5-ethyl-5-fenylhexahydropyrimidin-4,6-dion	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	218,25	125-33-7
Propyfenazon 1,5-dimethyl-4-(1-methylethyl)-2-fenyl-1,2-dihydro-3H-pyrazol-3-on	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O	230,31	479-92-5
Roxithromycin (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11S,12R,13S,14R)-6-[[[(2S,3R,4S,6R)-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyl-oxan-2-yl]oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-4-[[[(2R,4R,5S,6S)-5-hydroxy-4-methoxy-4,6-dimethyl-oxan-2-yl]oxy]-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-10-(2,4,7-trioxa-1-azaoktan-1-ylidene)-1-oxacyklotetradekan-2-on	C <sub>41</sub> H <sub>76</sub> N <sub>2</sub> O <sub>15</sub>	837,05	80214-83-1
Sotalol (RS)-4'-(1-hydroxy-2-isopropylaminoethyl) methansulfonanilid	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> S	272,36	3930-20-9
Sulfamethoxazol 4-amino-N-(5-methyl-1,2-oxazol-3-yl)benzen-sulfonamid	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub> S	253,28	723-46-6

Tabulka 1 – Látky, jejichž stanovení bylo zkoušeno podle této metody (*dokončení*)

<b>Obecný název</b> <b>Chemický název (IUPAC<sup>a</sup>)</b>	<b>Vzorec</b>	<b>Molární hmotnost</b> g/mol	<b>Číslo CAS<sup>b</sup></b>
Temazepam (RS)-7-chlor-3-hydroxy-1-methyl-5-fenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on	C <sub>16</sub> H <sub>13</sub> ClN <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	300,74	846-50-4
Trimethoprim 2,4-diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	290,32	738-70-5

<sup>a</sup> IUPAC: International Union of Pure and Applied Chemistry.

<sup>b</sup> CAS-RN: Registrační číslo služby Chemických Abstrakt.

**Konec náhledu - text dále pokračuje v placené verzi ČSN.**