

Caractérisation par spectrométrie de masse haute résolution de produits de dégradation lors de l'oxydation de micropolluants organiques

EL-MRABET Lamyae
Stagiaire en deuxième année master

Encadrants: Mme. HUYNH Nina
M. LE ROUX Julien

Introduction

- Augmentation de la consommation de produits pharmaceutiques
- Stations d'épuration ne sont pas capables d'éliminer ces substances



Objectifs

- Oxydation des produits pharmaceutiques
- Identification des sous-produits d'oxydation
- Développement des méthodes de traitement de données
- Evaluer la toxicité des eaux usées sur différents organismes

Spectrométrie de masse haute résolution

La spectrométrie de masse est une méthode physique permettant :

- La mesure du rapport masse/charge
- La détermination de la masse moléculaire
- La caractérisation des structures chimiques

Apport de la spectrométrie de masse haute résolution

D'un point de vue technique

Meilleure résolution et bonne précision en masse.

Acquisition de l'intégralité de l'information présente dans l'échantillon.

D'un point de vue « applications environnementales »

Détection de toutes les molécules.

Identification des produits de dégradation et de transformation.

Approches analytiques

Différentes approches analytiques peuvent être envisagées pour détecter et identifier les micropolluants.



Target screening ou analyse ciblée:

Une liste spécifique de composés connus dont les étalons de référence sont disponibles.

Suspect screening ou analyse en suspect :

Les composés d'intérêt ainsi que leurs propriétés physico-chimiques sont connus. Par contre, les étalons de référence ne sont pas forcément disponibles.

Non-target screening ou analyse non ciblée :

Aucune liste de composés d'intérêt n'est disponible.
Ce type d'analyse commence sans aucune information sur les composés à détecter.
L'acquisition non-ciblée par la spectrométrie de masse haute résolution permet l'analyse des micropolluants de manière non ciblée.

Approches analytiques

La confiance de données obtenues par la spectrométrie de masse haute résolution dépend du type d'analyse.

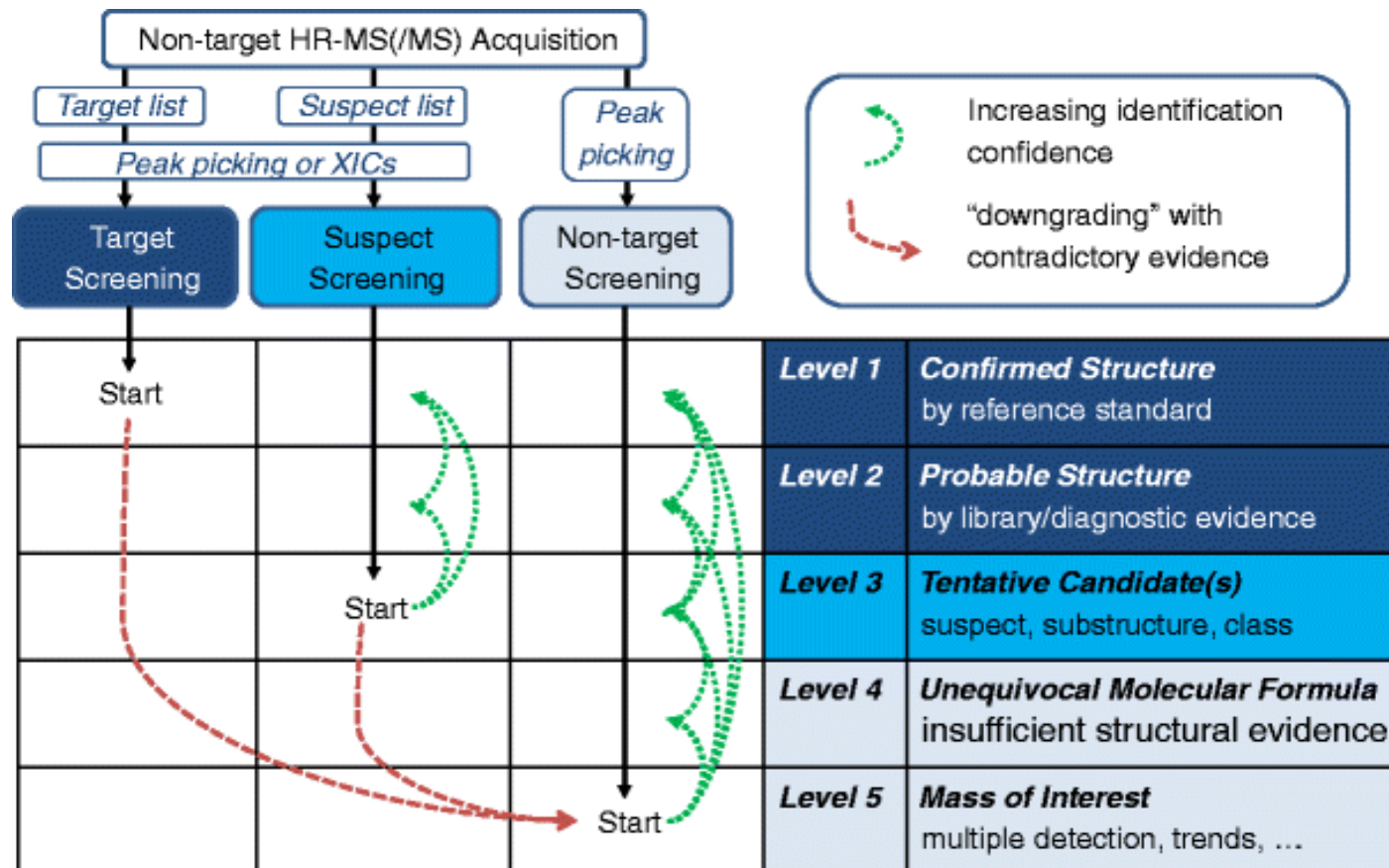
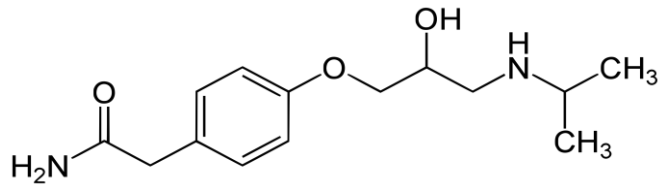


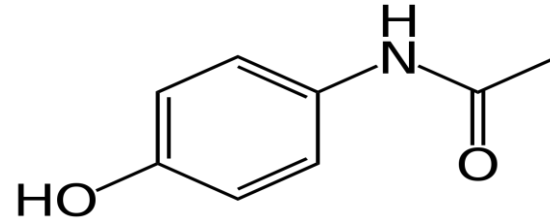
Figure 1 : 5 Niveaux de confiance pour identifier les composés par la spectrométrie de masse haute résolution.
Schymanski et al, Environ Sci Technol, 2015

Oxydation des produits pharmaceutiques

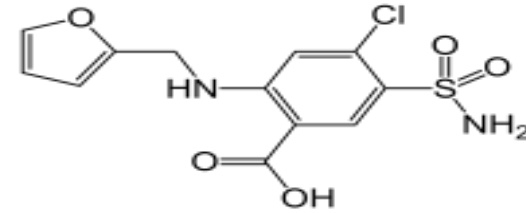
Aténolol



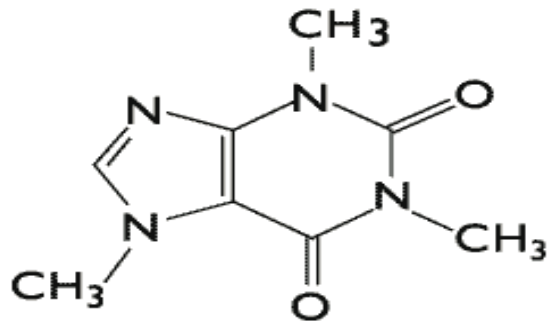
Paracétamol



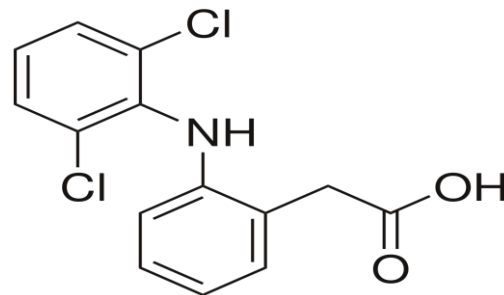
Furosémide



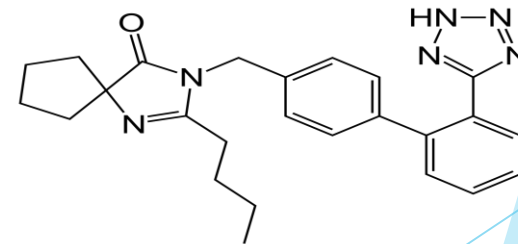
Caféine



Diclofénac



Irbesartan



Oxydation des produits pharmaceutiques

Procédés d'oxydation

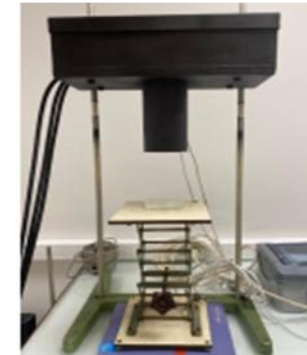
Chloration



Ozonation



UV/H₂O₂



- Chloration (temps de réaction : 24 h) : Hypochlorite de sodium (1 mM) + Produit pharmaceutique (10 μ M à 100 μ M) à pH=7
- Ozonation (temps de réaction 30 min) : Ozone (1 mg/L) + Produit pharmaceutique (1 mg/L) à pH=7
- UV/H₂O₂ (temps de réaction : 5h) : UV (254 nm) + H₂O₂ (3 mg/L)+ Produit pharmaceutique (1mg/L) à pH=7

UPLC-IMS-QTOF

L'analyse des échantillons oxydés a été effectuée à l'aide de la chromatographie liquide ultra performance couplée à la spectrométrie de masse haute résolution.

UPLC

Colonne C18 (octadécylsilyle)

Eau ultrapure+ acide formique/ Acétonitrile + acide formique

ESI (Electrospray)

Source d'ionisation en mode positif et négatif

IMS (Spectrométrie de mobilité ionique)

Séparation des ions en fonction de leur taille et leur forme.

QTOF

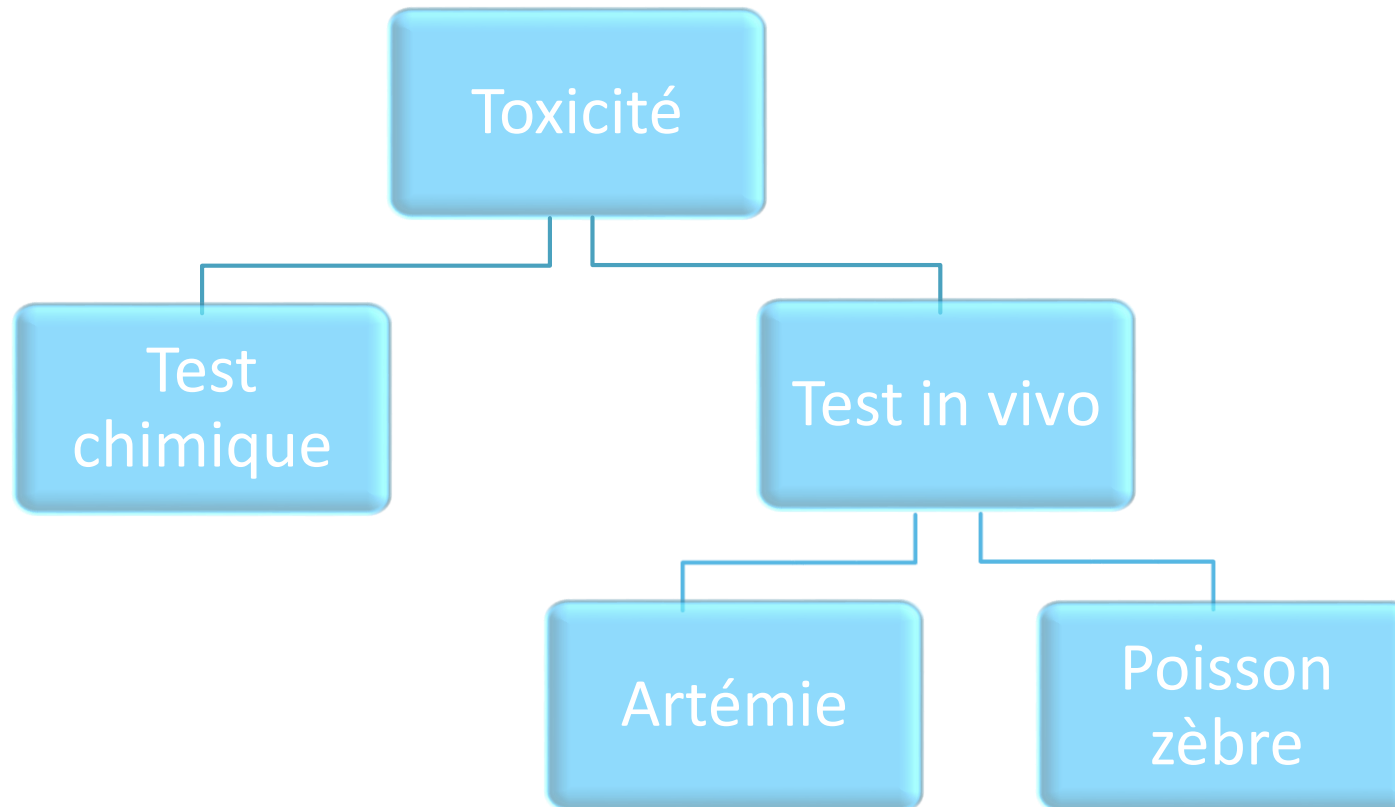
Couplage de deux analyseurs Q (Quadripôle) et TOF (Temps de vol).

Le traitement de données a été réalisé à l'aide du logiciel unifi.



Tests d'écotoxicité

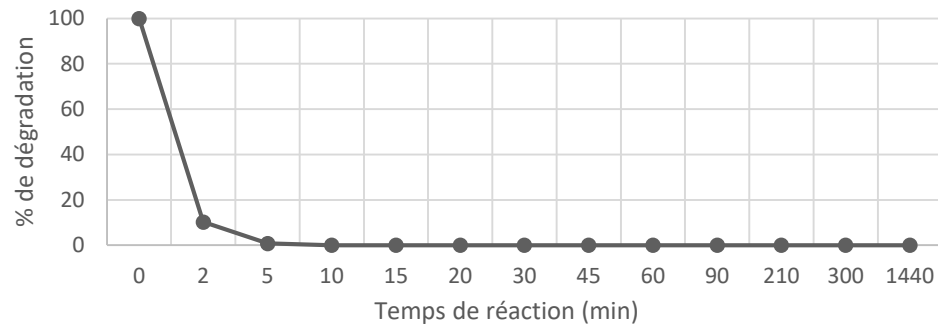
Différents tests d'écotoxicité ont été testés sur différents organismes pour évaluer la toxicité des eaux de rejet.



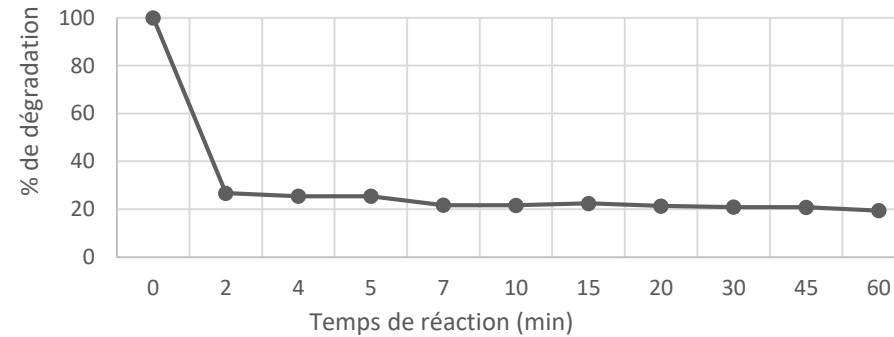
Cinétique de dégradation des produits pharmaceutiques

L'analyse des échantillons oxydés par UPLC-IMS-QTOF a permis le suivi de la cinétique de dégradation des produits pharmaceutiques.

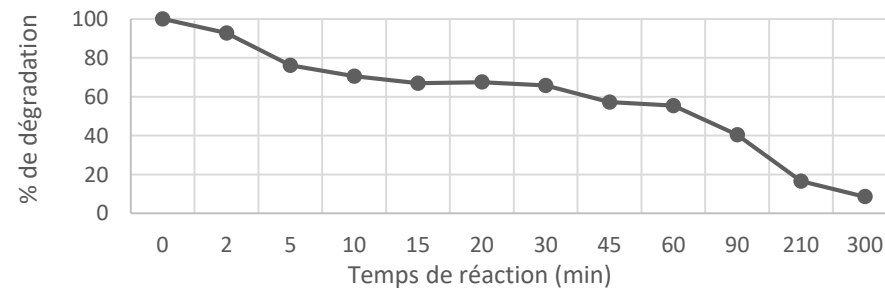
Cinétique de chloration du furosémide



Cinétique d'ozonation du furosémide



Cinétique d'oxydation du furosémide par UV/H₂O₂



Identification des sous-produits de dégradation (SP)

Méthode 1 : Identification manuelle des SP

→ Consiste à comparer l'échantillon (t=0) et les échantillons oxydés.

~~Diclofénac C₁₅H₉Cl₂NO₂~~
Tableau 1. Résultats de la méthode 1

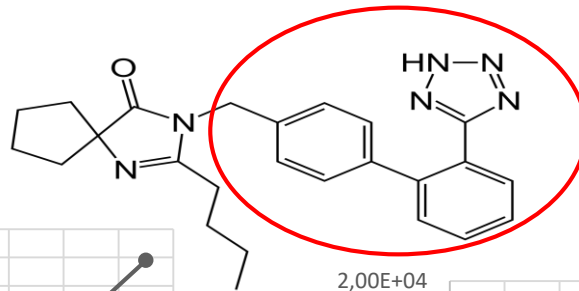
	Chloration	Ozonation	UV/H ₂ O ₂
Aténolol	4	0	1
Caféine	0	0	0
Diclofénac	3	0	0
Furosémide	1	0	0
Irbesartan	1	0	0
SP 1 : C ₁₃ H ₁₀ Cl ₂ NO	SP 2 : C ₁₂ H ₇ Cl ₂ NO ₋₁₀	SP 3 : C ₁₄ H ₁₂ Cl ₂ NO ₂	
Paracétamol	1		

Chemical structure of Diclofenac is shown with arrows pointing to the chlorination and ozonation columns. The structure is a benzene ring with a chlorine atom at position 2, an NH group at position 1, and a propionic acid side chain at position 4.

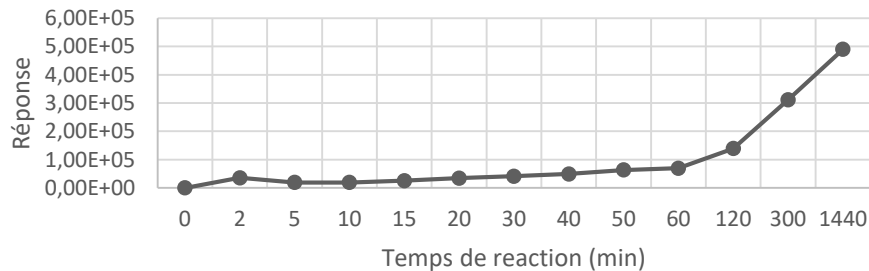
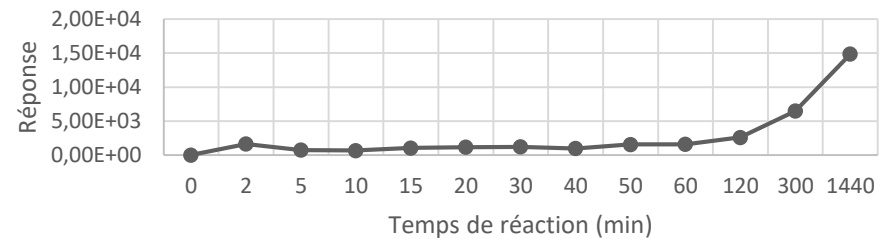
Identification des sous-produits de dégradation (SP)

Méthode 2 : Identification des SP à l'aide d'une liste de mécanismes de dégradation

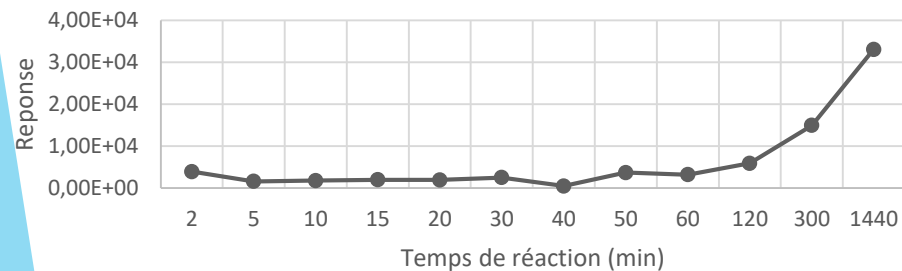
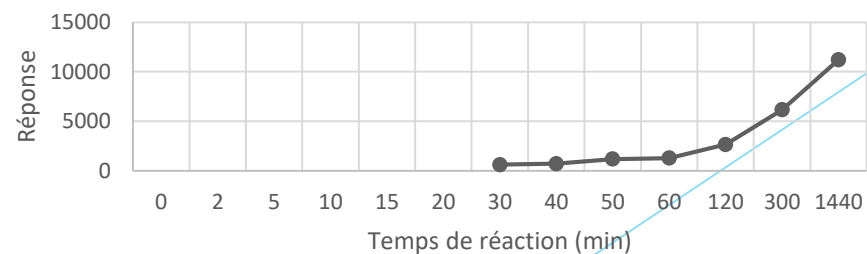
→ Une liste prédéfinie de mécanismes de réaction (Oxydation +O, Réduction +H₂, Déshydratation -H₂O et Désaturation -H₂) a été utilisée.



Irb+O

Irb +O-H₂

Irb+2(+O)

Irb - C₁₄H₁₀N₄+O

Identification des sous-produits de dégradation (SP)

Méthode 3 : Identification en suspect des SP

→ Consiste à chercher en suspect certains sous-produits de dégradation connus dans la littérature.

Cette méthode a permis l'identification de certains sous-produits trouvés dans la littérature.

Paracétamol $C_8H_9NO_2$

Tableau 2: Résultats de la méthode 3.

	Chloration	Ozonation	UV/H ₂ O ₂
Aténolol	0	1	1
Caféine		-	0
Diclofénac	1	0	1
Furosémide			
Irbesartan			
Paracétamol	2		

Test d'écotoxicité sur les artémies

Différents facteurs de concentration ont été testés pour évaluer la toxicité des eaux usées sur des artémies.

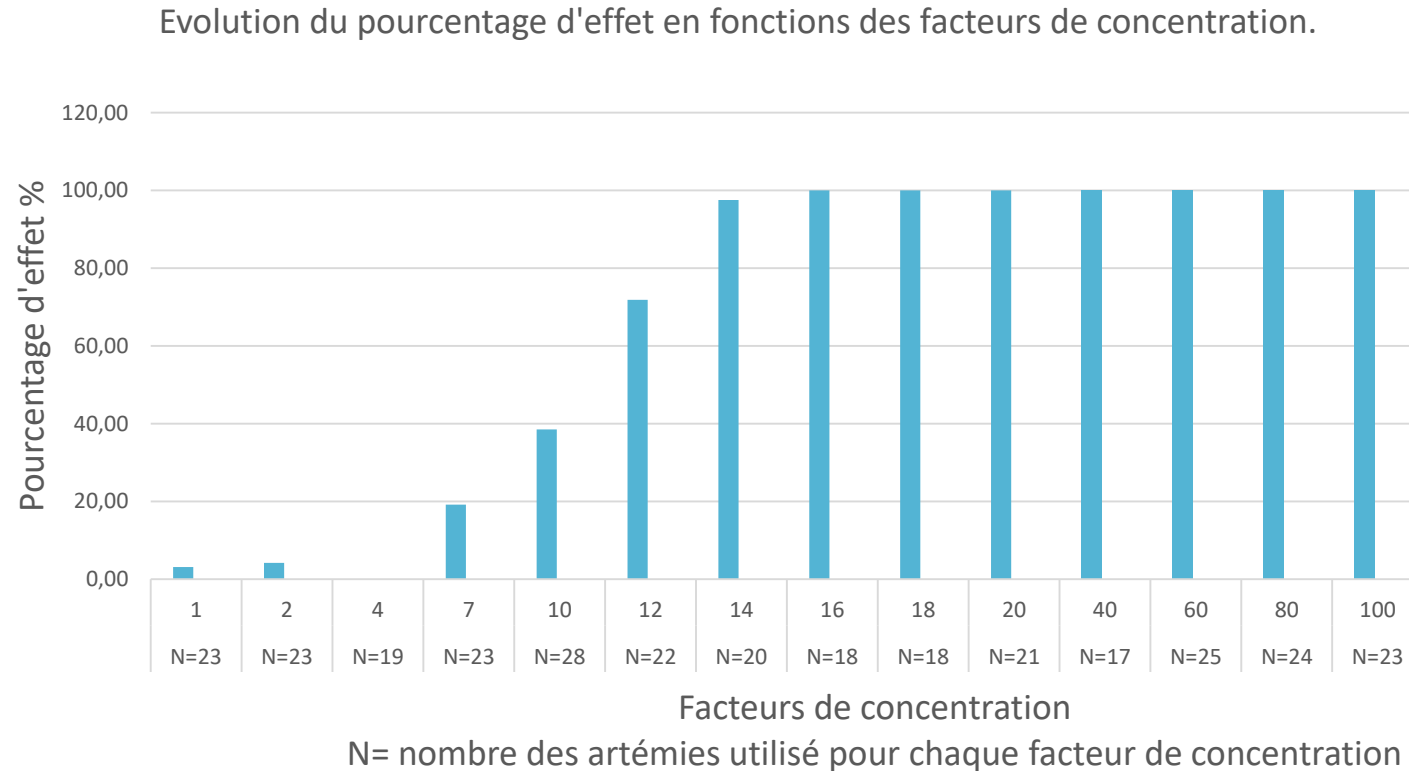


Figure 2: Résultats du test aiguë sur les artémies.

➔ Effet observable à partir d'un facteur de concentration de 7.

Tests d'écotoxicité sur les poissons

Test de fuite ou d'évitement

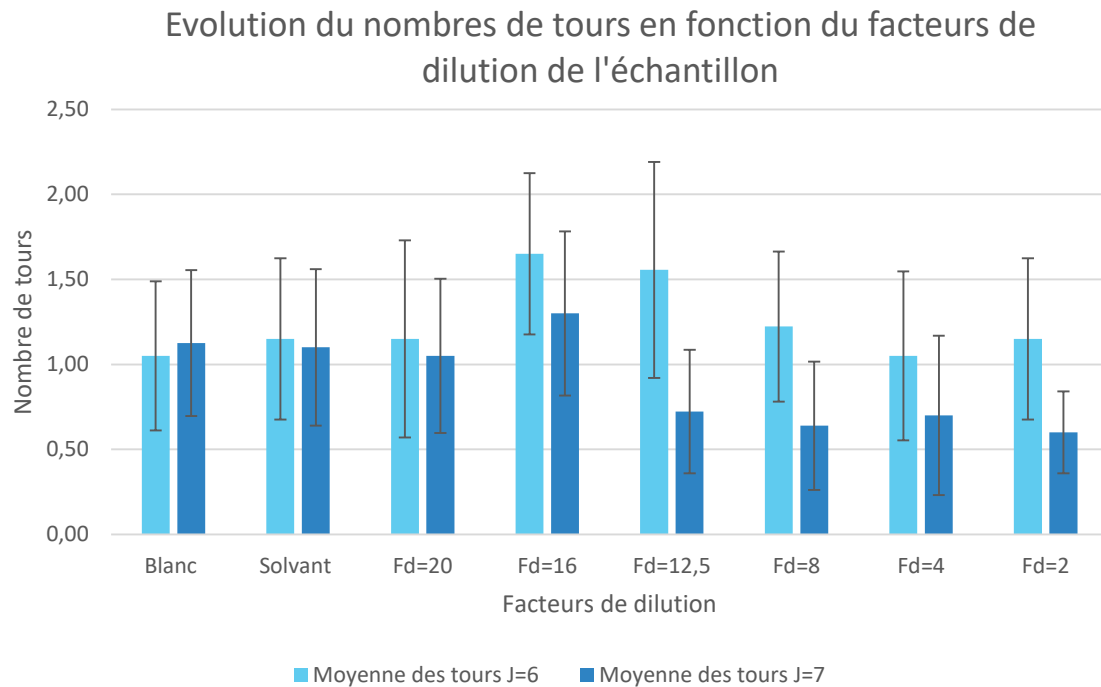


Figure 3: Résultats du test de fuite sur les poissons.

Test de stress (lumière/ obscurité)

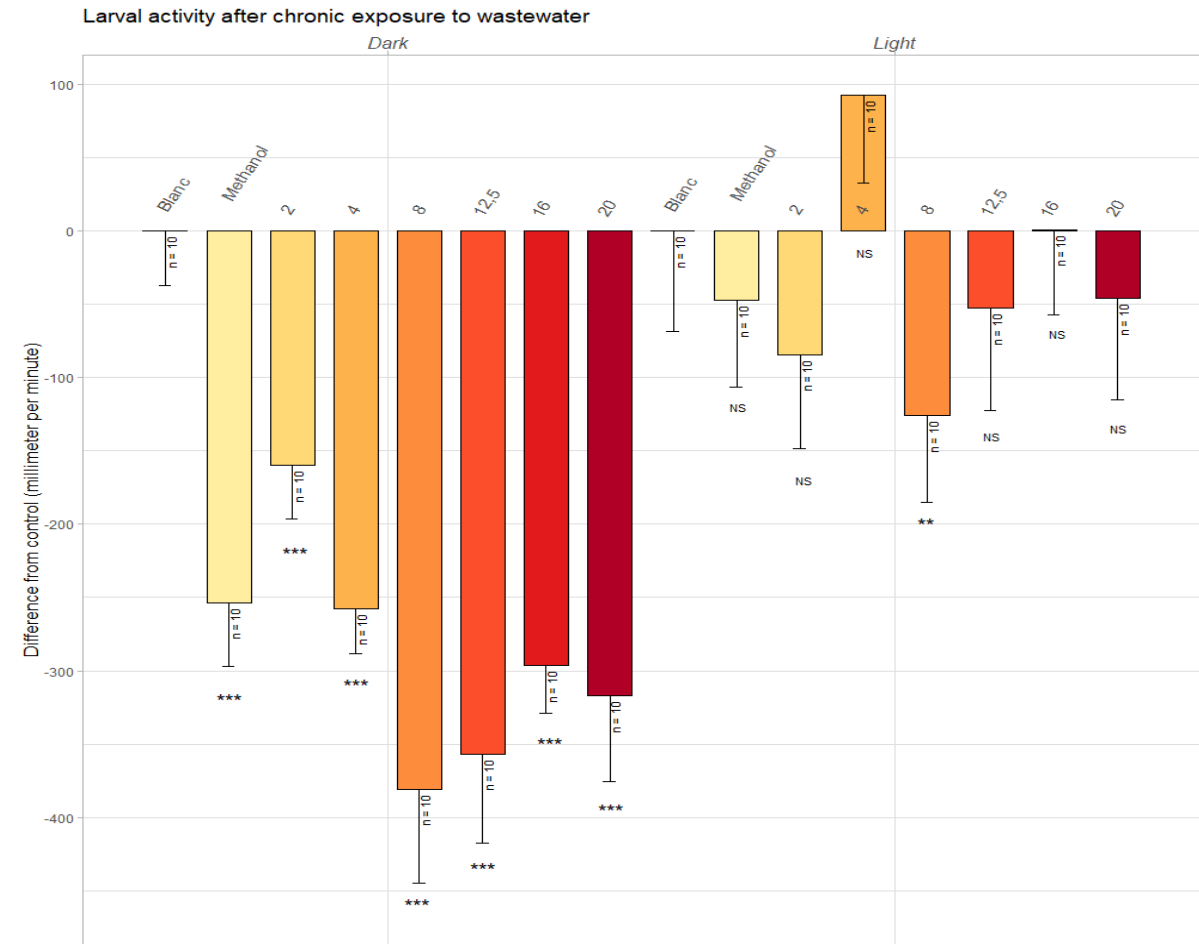


Figure 4: Résultats du test de stress sur les poissons.

Conclusion et perspectives

Combinaison des méthodes de traitement {
- : Les méthodes sont longues.
+ : Grand nombre de SP.

Les résultats obtenus seront comparés

Résultats obtenus après
l'oxydation dans une matrice
complexe

Résultats obtenus par une
méthode automatisée

Les tests d'écotoxicité sur les poissons seront répétés.

Merci de votre attention !