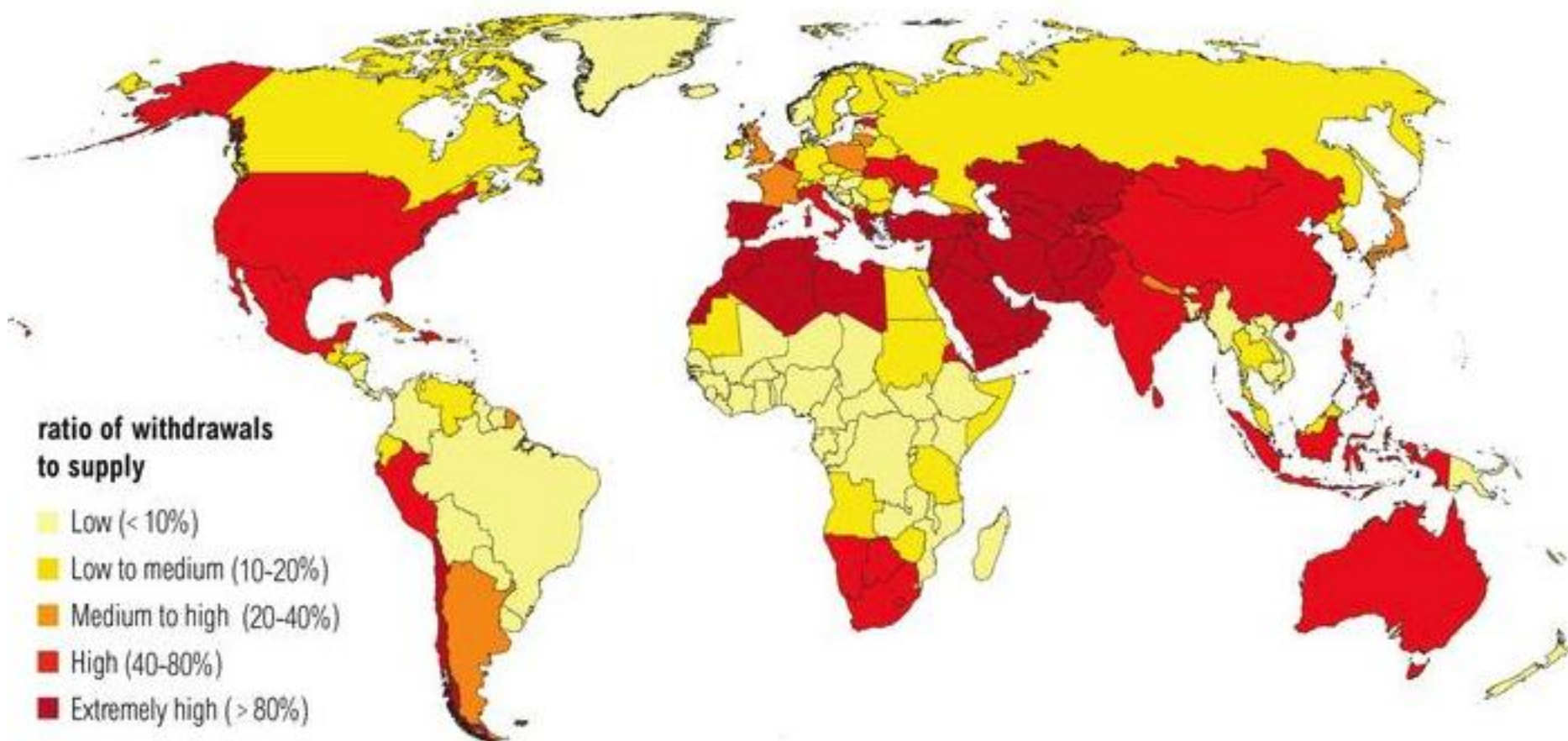


Les perturbateurs endocriniens et le milieu aquatique : enjeux de connaissances?

H. Budzinski

LPTC – EPOC- UMR 5805 CNRS - Université de Bordeaux

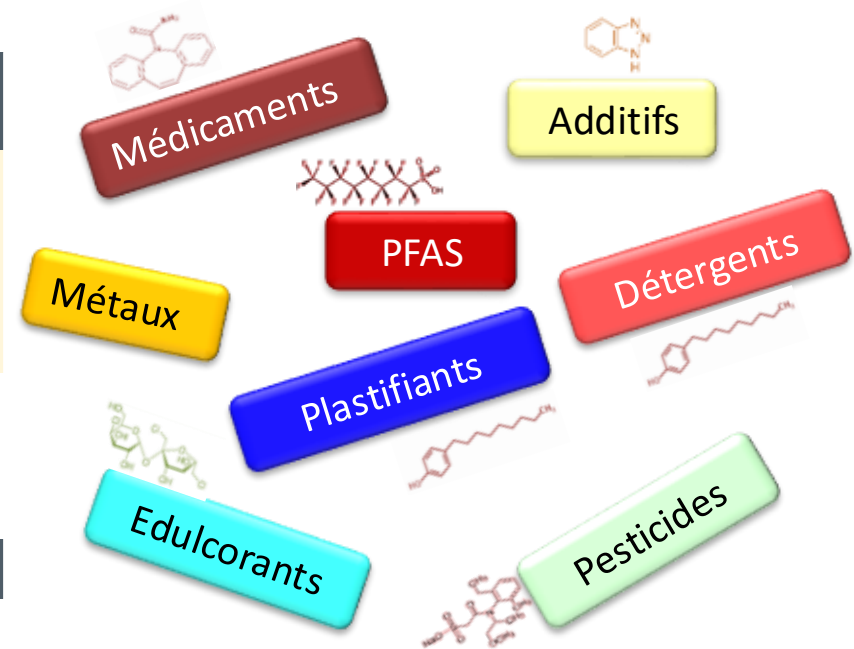
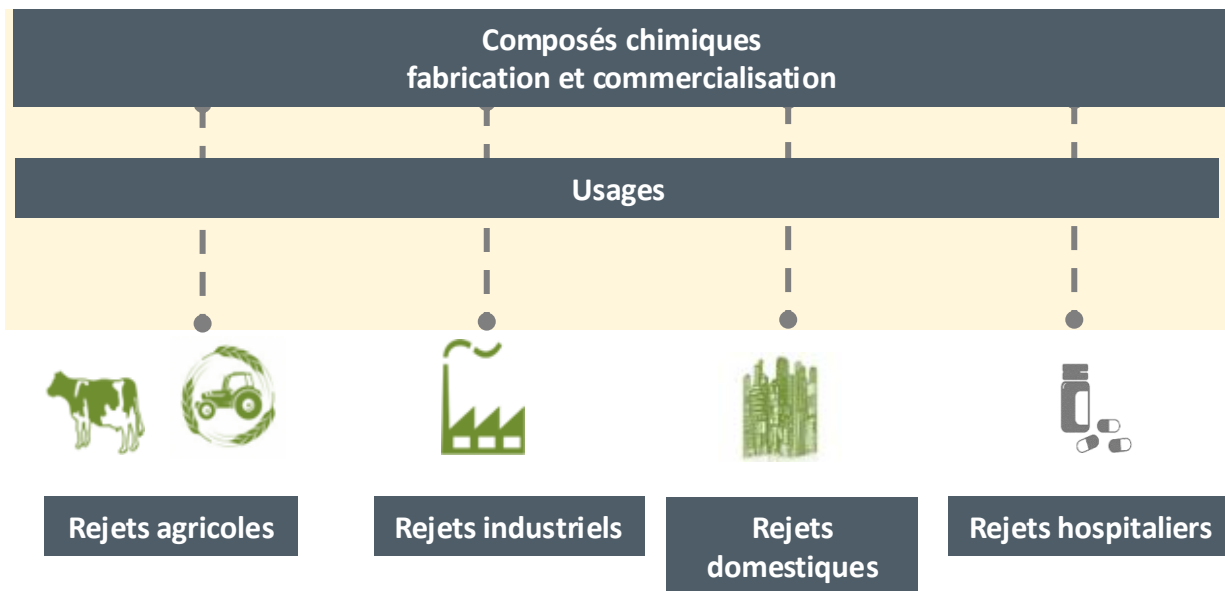
Water Stress by Country: 2040



NOTE: Projections are based on a business-as-usual scenario using SSP2 and RCP8.5.

For more: ow.ly/RiWop

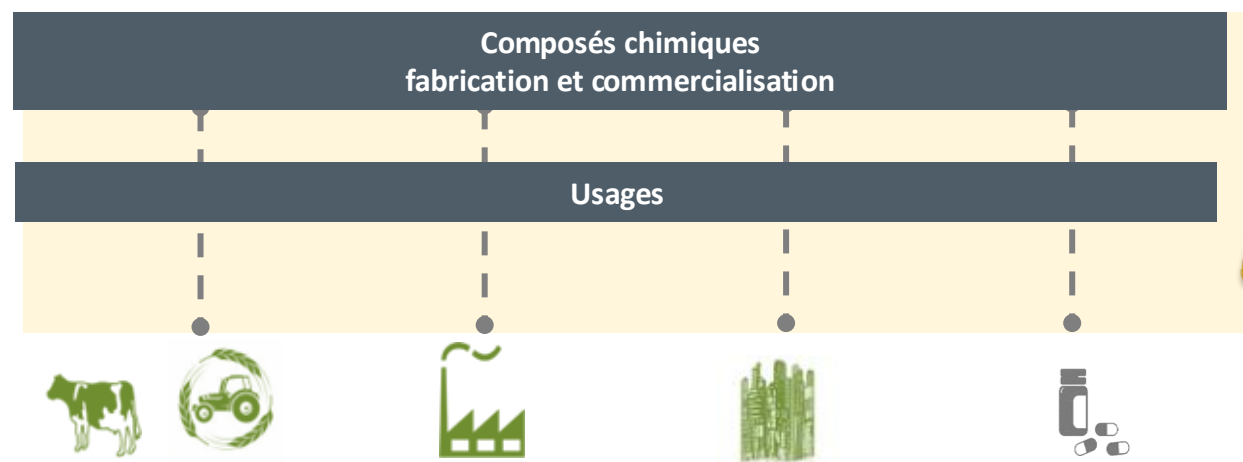
sources



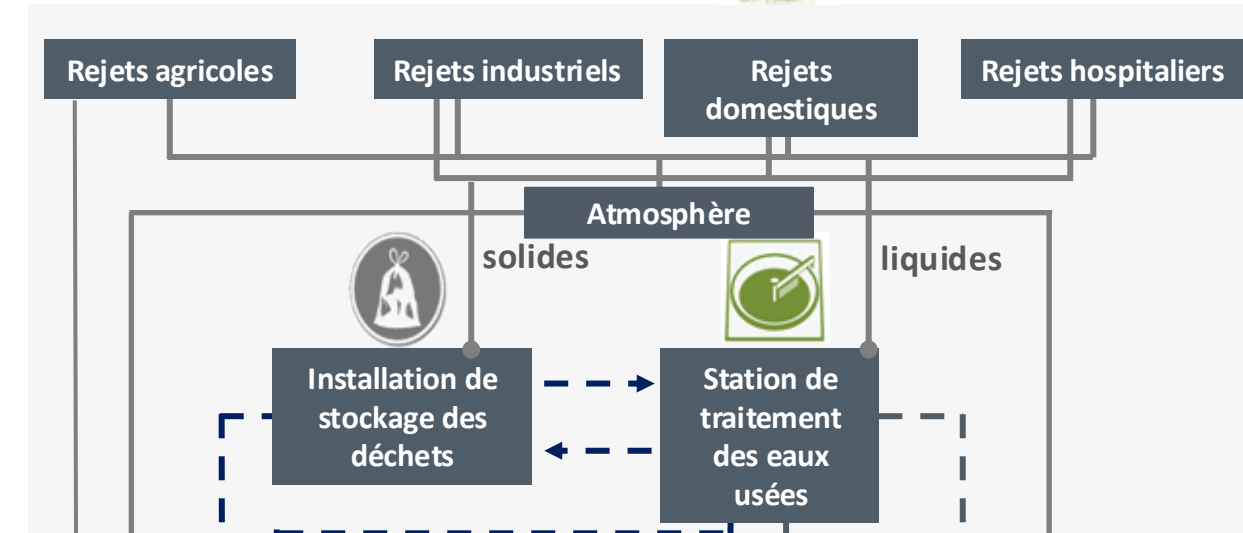
Fuster (2017)

Multi-usages – Multi-sources – Multi-classes – Multi-composés

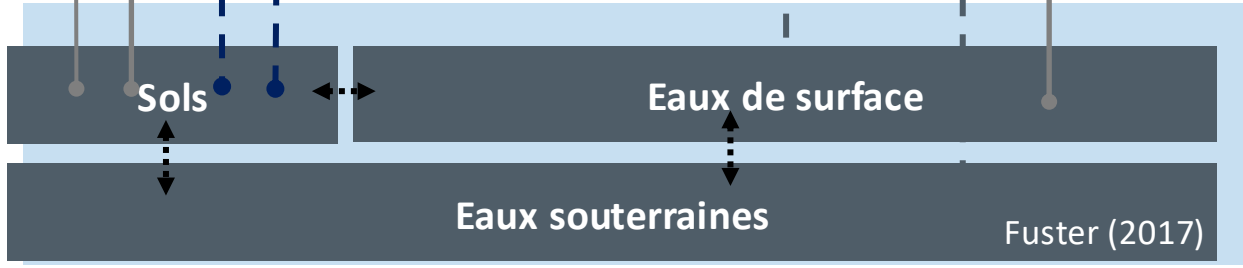
sources



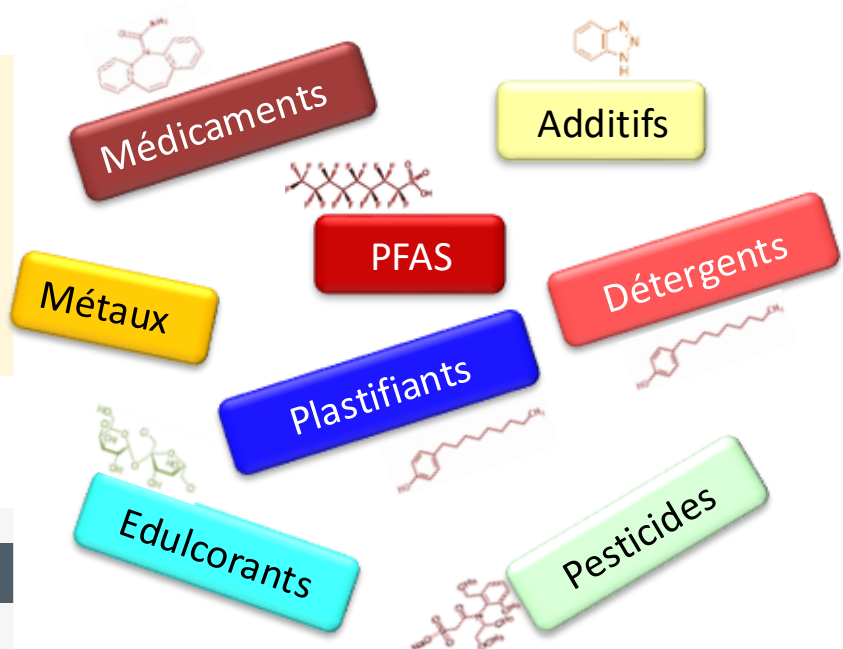
vecteurs



Récepteurs



Fuster (2017)



Composés chimiques
 Reg. 1907/2006/CE : REACH
 Reg. 1107/2009/UE : produits phytosanitaires
 Reg. 528/2012/UE : biocides
 Dir. 2001/82-89/CE : médicaments à usages vétérinaires/humains

Emissions et Rejets
 Dir. 2010/75/UE « IED » ; émissions industrielles
 Reg. 166/2006 « E-PRTR » : déclaration des rejets : 91 molécules
 Dir. 91/271/CEE « ERU » collecte, transport et traitement des eaux urbaines

Milieus
 Dir. 2000/60/CE : DCE
 Dir. 2006/118/CE : eaux souterraines
 Dir. 2008/56/EC « DCSMM » : milieu marin
 Arrêté du 08/01/98 pour épandage boue sur sol agricole

Développement des activités humaines = milliers de substances chimiques libérées dans l'environnement



- La production mondiale de substances chimiques est passée
d' **1 million** de tonnes en 1930 à plus de **400 millions** aujourd'hui.



- **plus de 60 000 substances** sont communément utilisées



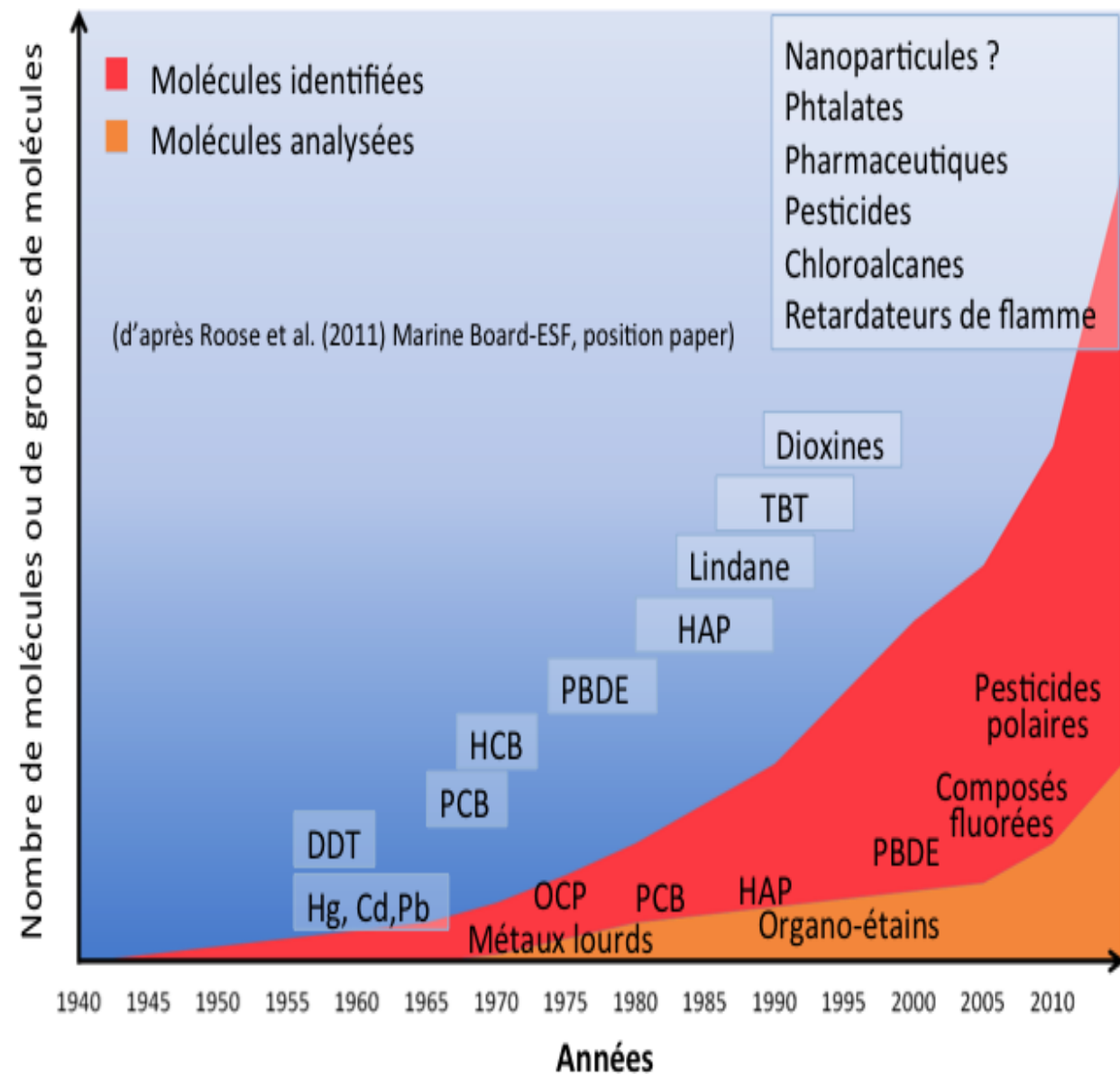
- **95 %** contiennent au moins 1 atome de C (composés organiques)



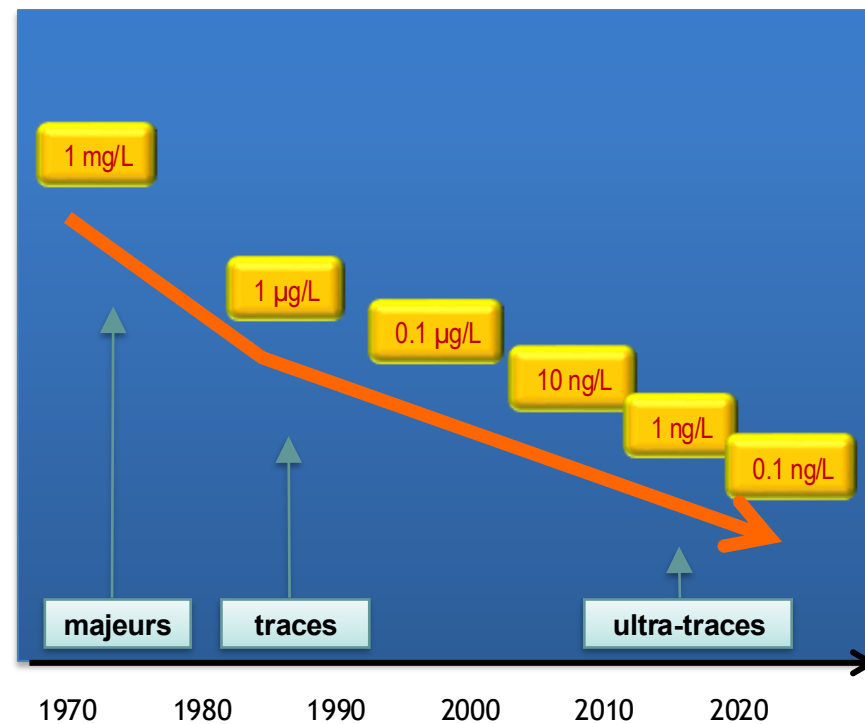
Produits chimiques – Contaminants chimiques?



Analyses ciblées :



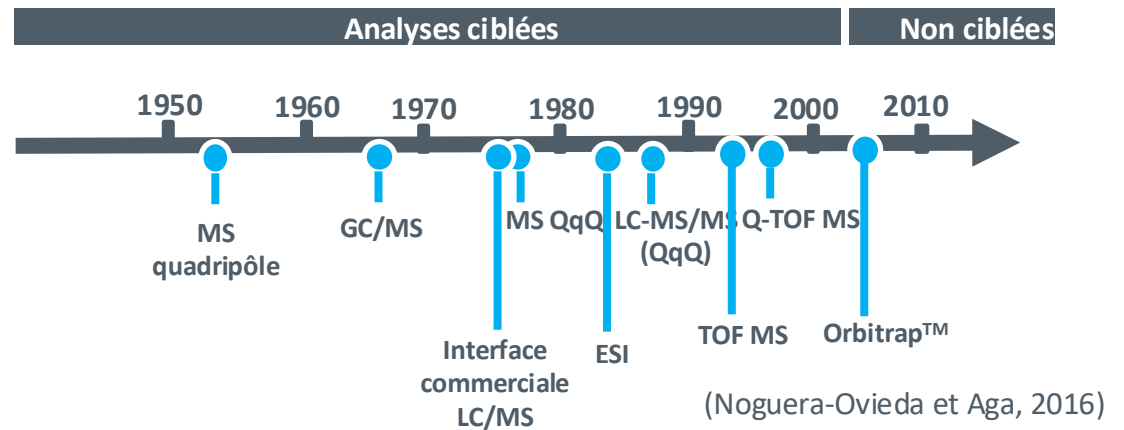
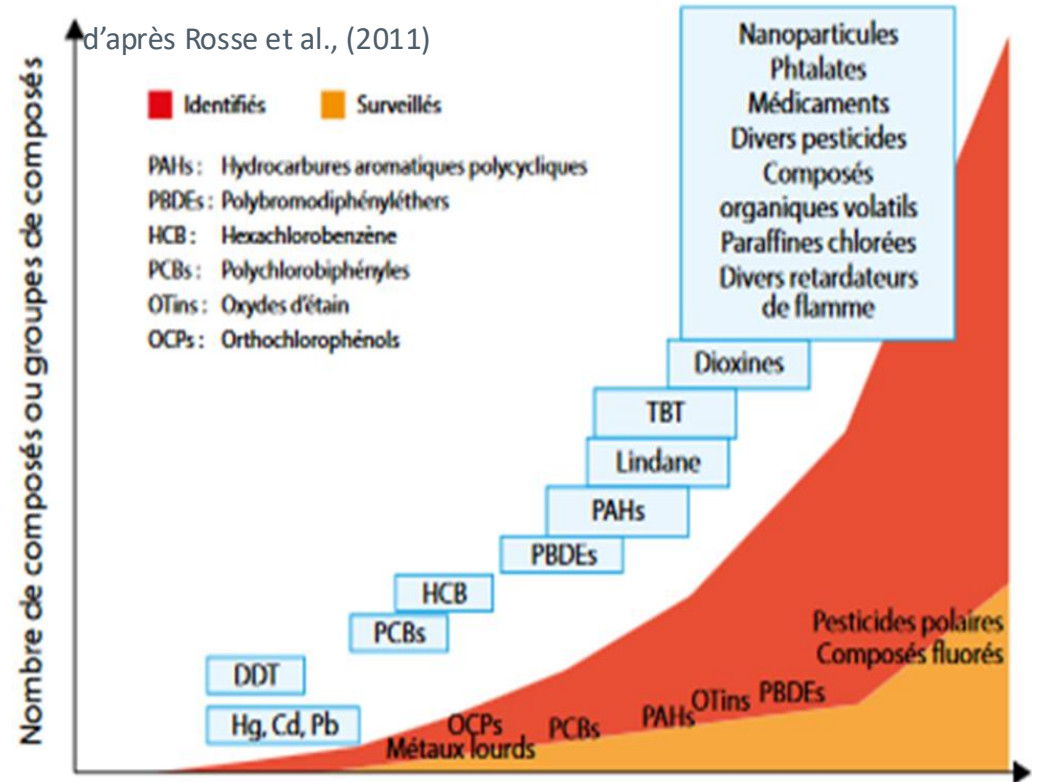
- Screening de plus en plus large
- Mise en évidence d'un grand nombre de composés
- Sensibilité améliorée de façon continue



Contaminants réglementés

Contaminants d'intérêt émergent déjà identifiés

Contaminants inconnus



Classification des contaminants chimiques

- Classifiés selon les propriétés chimiques : polaires, apolaires, hydrophobes, hydrophiles, bases, acides, ...
- Classifiés selon usages : plastifiants, retardateurs de flamme, cosmétiques, pharmaceutiques
- Classifiés selon activités/impacts toxicologiques :
cancérogènes, perturbateurs endocriniens

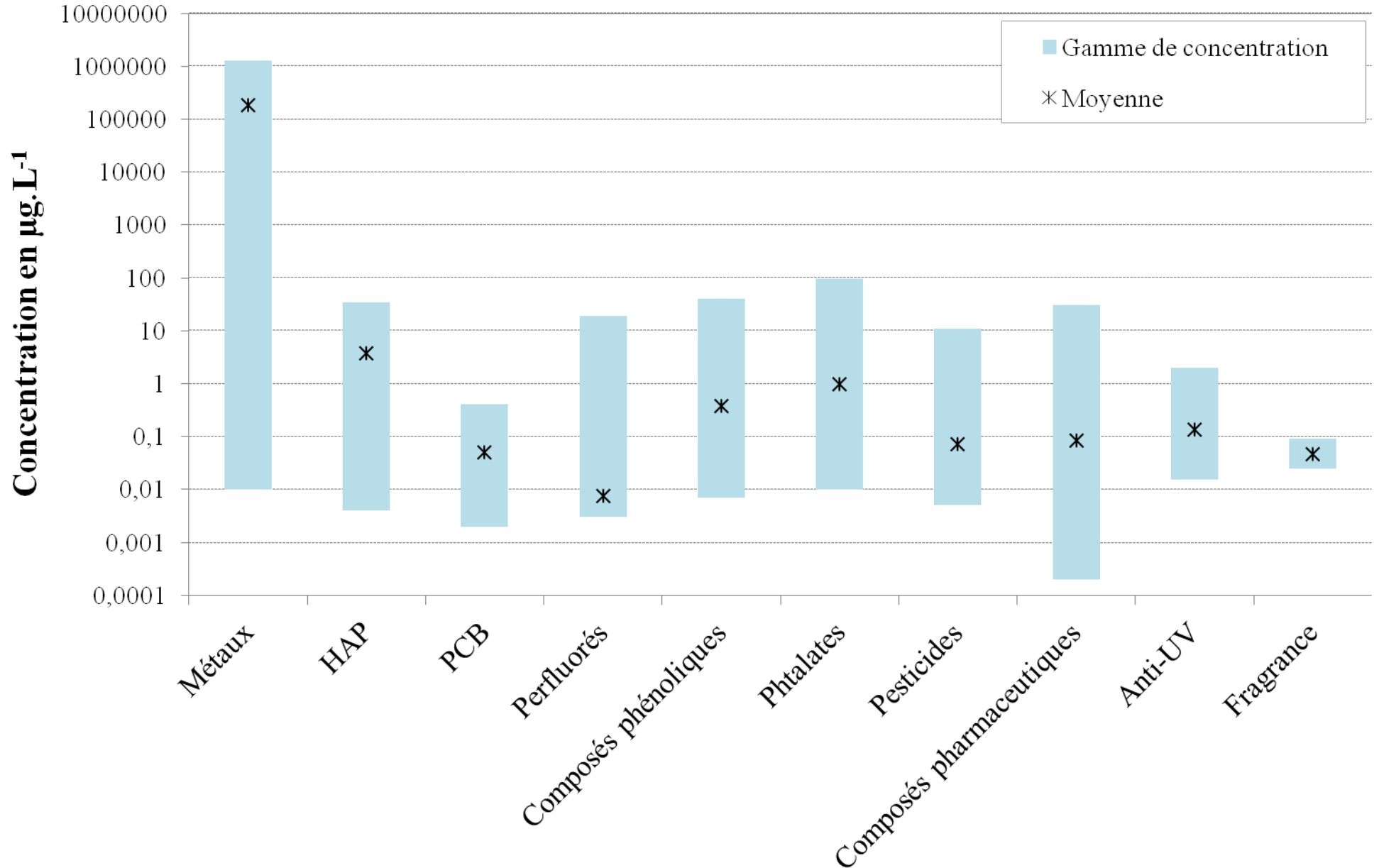
Qu'est ce qu'un PE ?

- «Un **perturbateur endocrinien** est une substance ou un mélange exogène altérant les fonctions du système endocrinien et provoquant par conséquent des effets néfastes sur la santé d'un organisme, ou de ses descendants» (OMS, 2002)
- Ces molécules agissent en mimant, bloquant ou perturbant l'action d'une hormone, ce qui perturbe le fonctionnement normal d'un organisme. Elles pénètrent dans le corps des êtres vivants qu'elles contaminent via plusieurs interfaces : les voies digestives, le système respiratoire ou la surface de la peau.

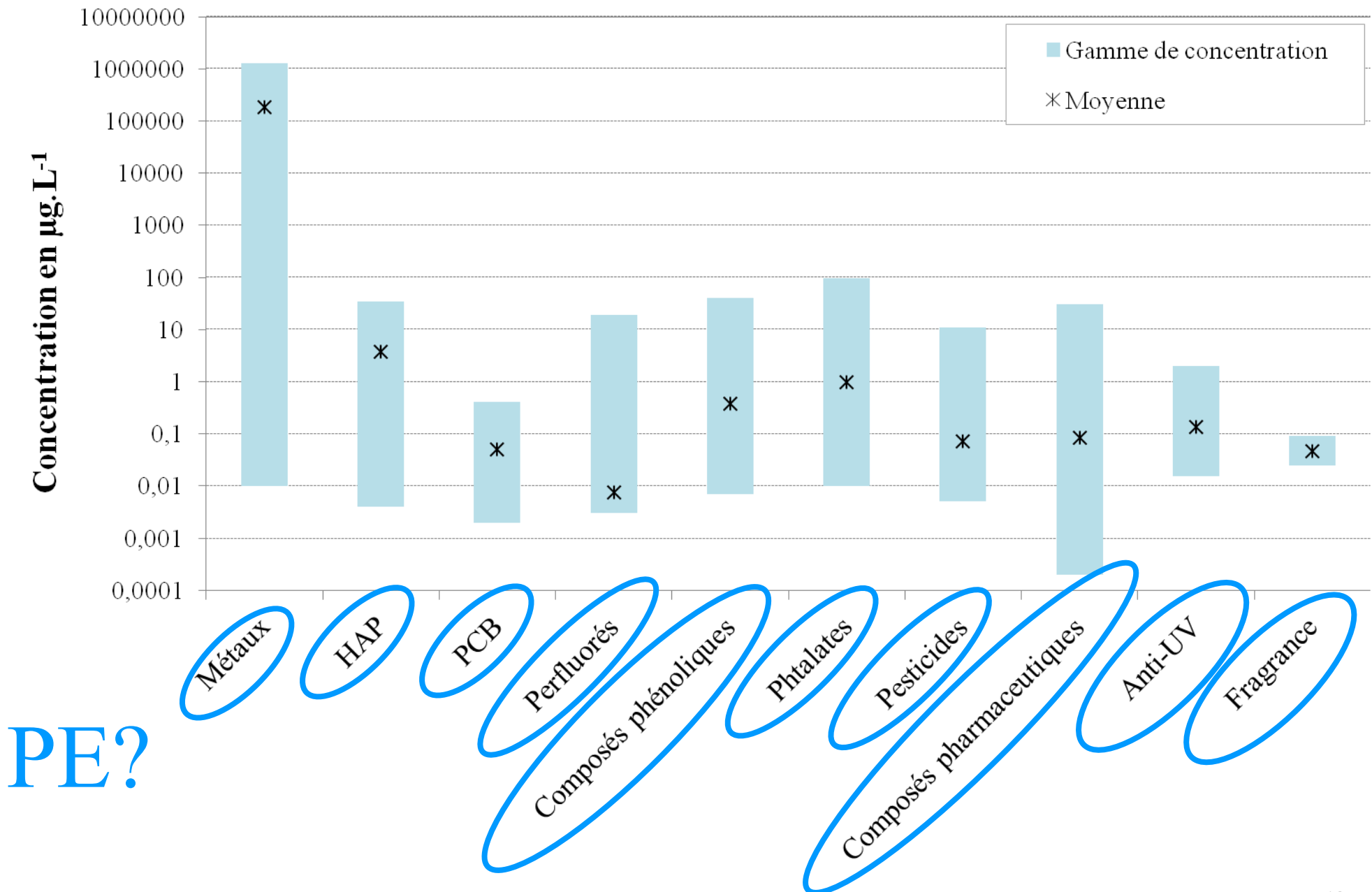
PE et polluants émergents

- Un PE fait partie des polluants émergents (cosmétiques) mais aussi des polluants historiques (PCB)
- La première mise en évidence d'oestrogènes dans l'environnement date de 1965 (Stumm-Zollinger et Fair, 1965; Université d'Harvard)
- Notion de polluant ou contaminant d'intérêt émergent
- Polluants émergents - Une « émergence » liée :
 - ✓ aux progrès analytiques (PFAS, médicaments, ...)
 - ✓ aux nouveaux dangers (PFAS, ...)
 - ✓ à un événement/enjeu sociétal (nourissons, ...)
 - ✓ et/ou à un brutal intérêt médiatique (BPA, ...)

Composés retrouvés dans les systèmes aquatiques



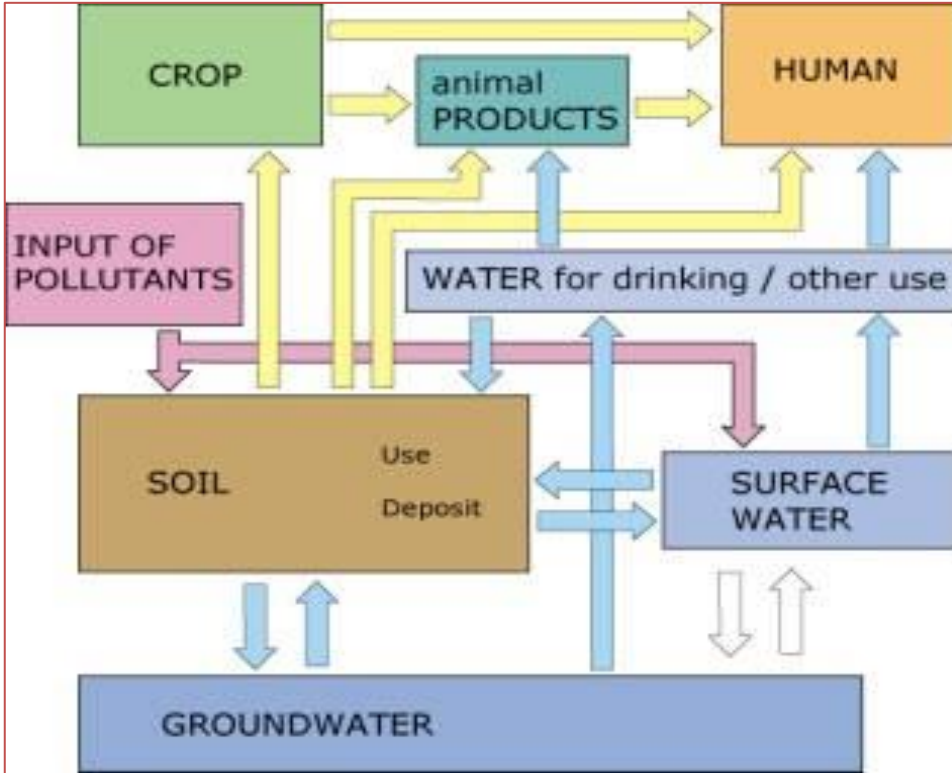
Composés retrouvés dans les systèmes aquatiques



➔ Que sont ces classes de molécules :

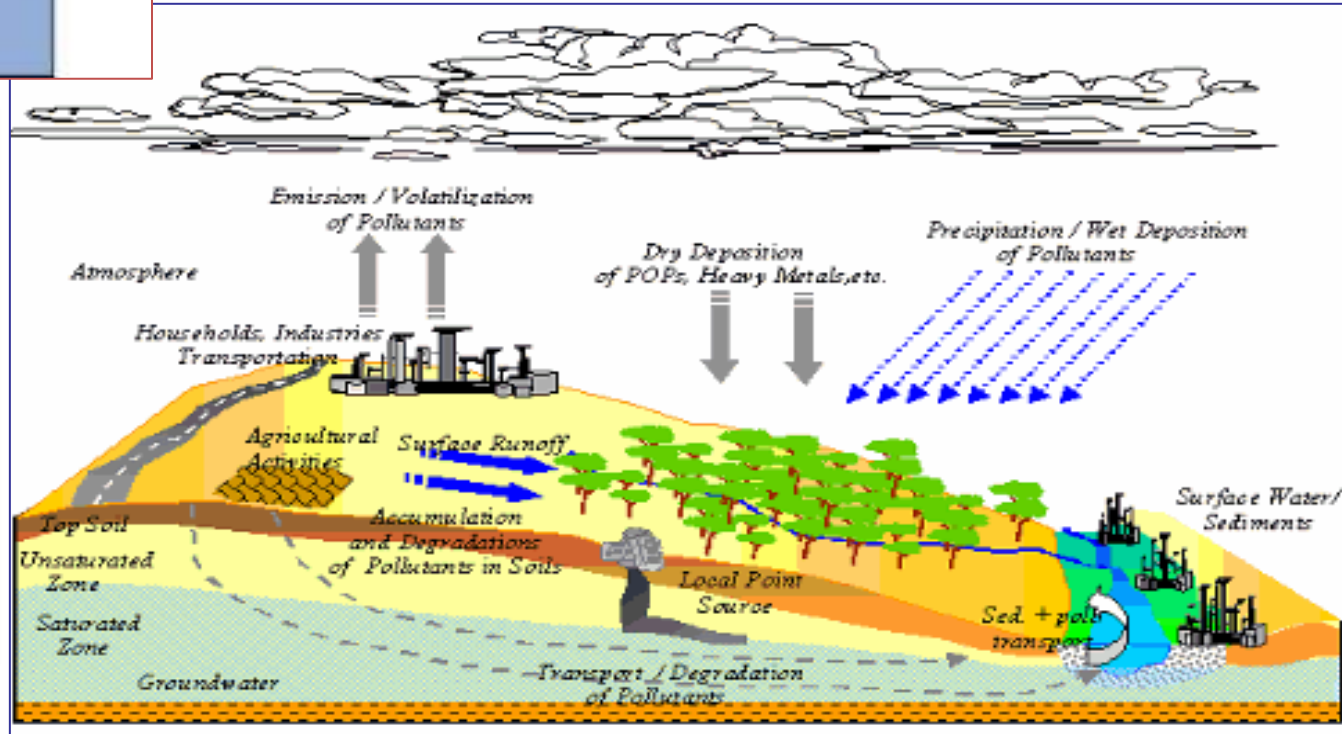
Classe	Sources
alkylphénols	Agents tensio-actifs, résines phénoliques, pesticides, adjuvants, détergents, traitement de surfaces, additifs en industrie papetière, peintures à l'eau tensioactif, désinfectants anti mousses, dégraissants...
hormones	Naturelles (sécrétion hormonale humaine, animale et végétales) De Synthèse (contraceptifs oraux, traitements hormonaux de substitution , additifs alimentaires pour animaux)
pesticides	Utilisation agricole (herbicide, anti fongiques, insecticides...) Utilisation domestique (désherbant, insecticides...) Utilisation industrielle (fabrication, entretien sites)
pharmaceutiques	Consommation humaine, production animale
phtalates	Plastifiants, cosmétiques (agents fixateurs), peintures, ...
acides perfluorés	Tensio-actifs fluorés, agents anti-salissures, anti-adhésifs...
...	...





- Sources directes et indirectes
- Sources locales/diffuses
- Interdépendances entre les compartiments environnementaux
- Transport/Transformations

- Pollutions diffuses
- Pollutions ponctuelles
- Pollution historique
- Pollution longue distance



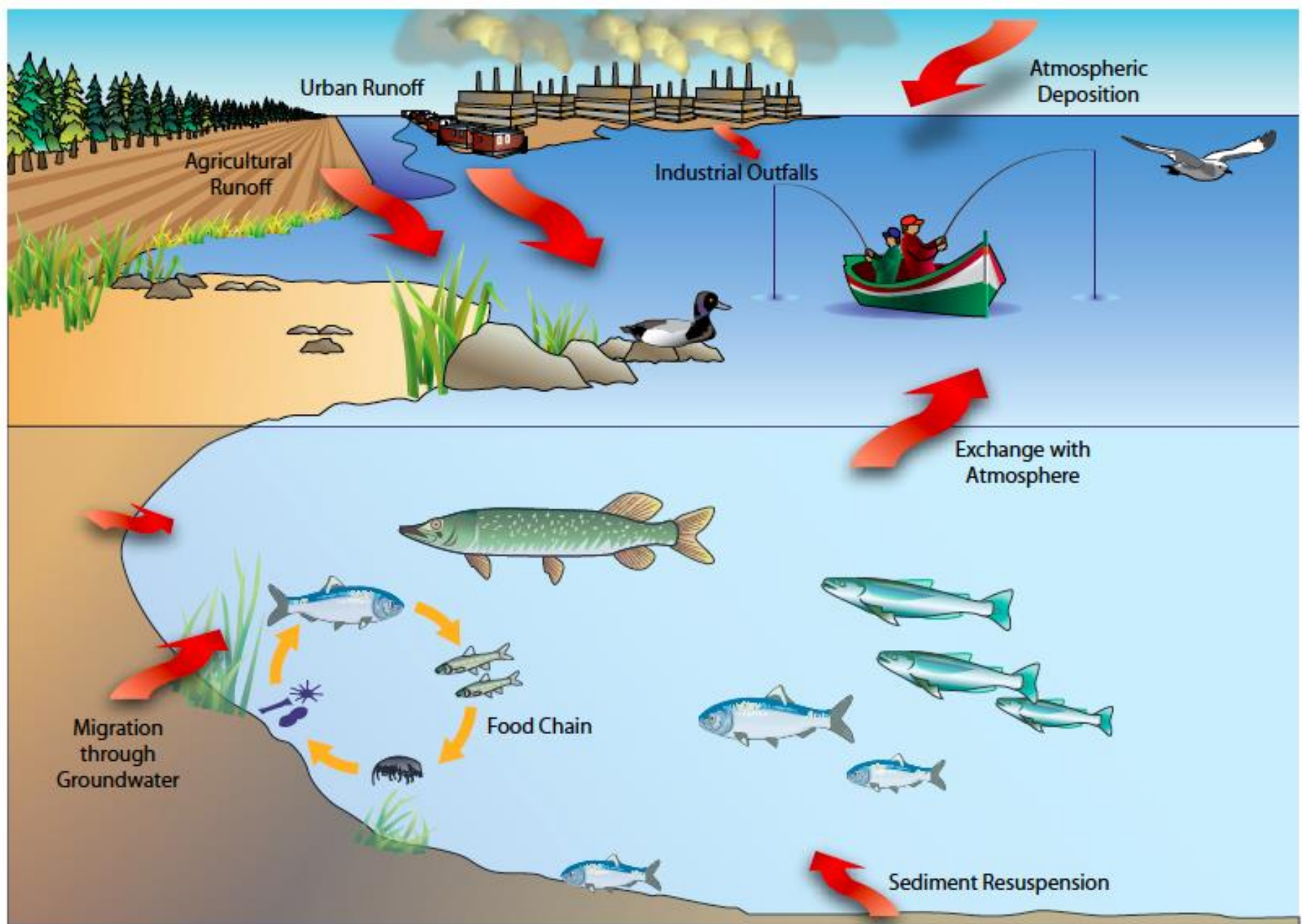
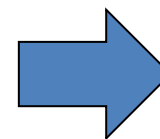
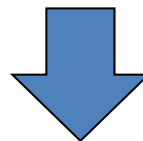
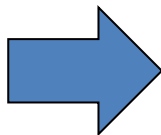


Figure 3.7. Exposure of fish and wildlife in urban regions due to continuous release of EDCs in effluents and to the atmosphere (Redrawn based on a figure from Chapter 4 of *The Great Lakes: An Environmental Atlas and Resource Book*, www.epa.gov/greatlakes/atlas/).

Sources et devenir des contaminants

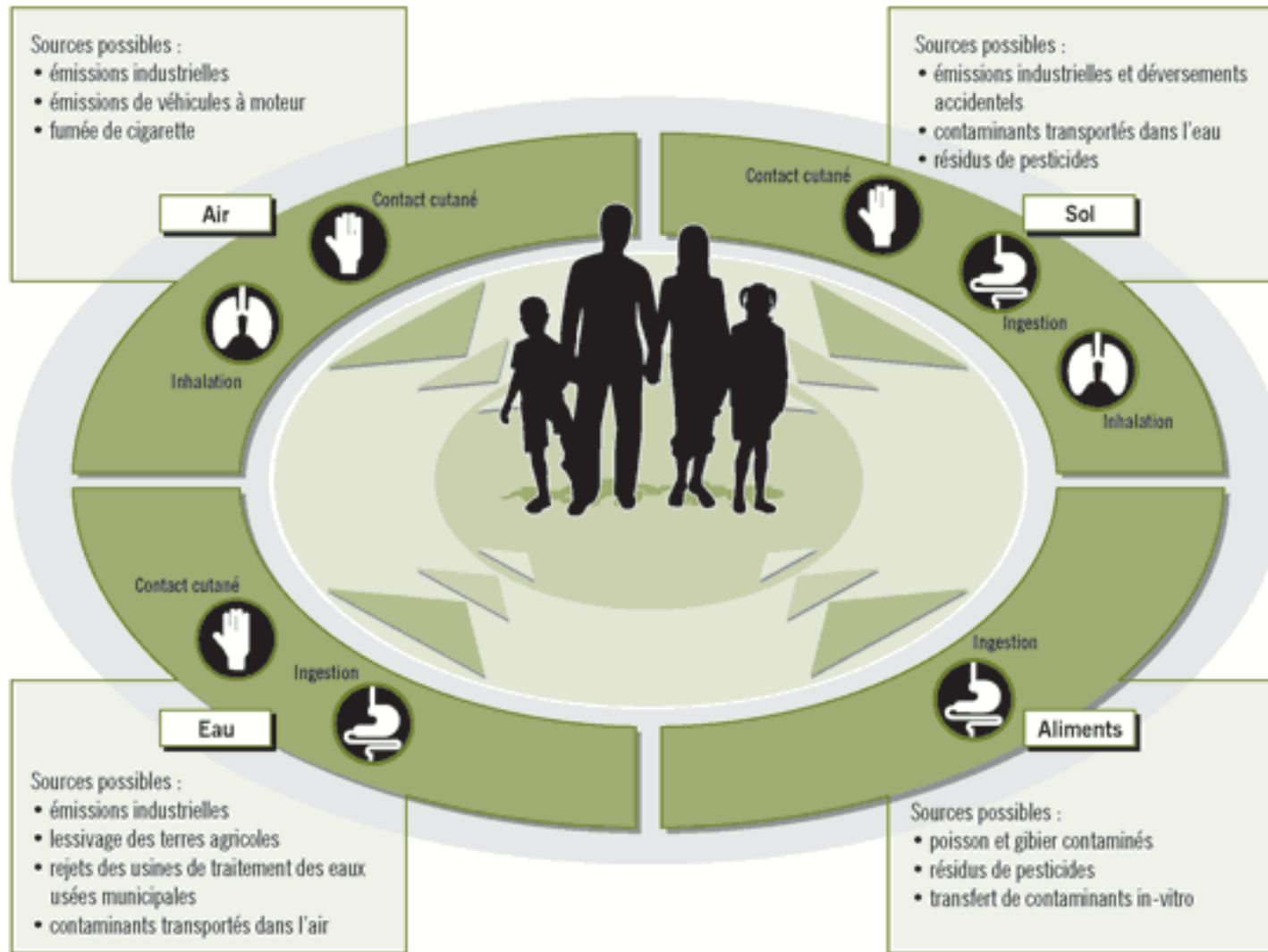
Milliers de molécules



Usage - rejet

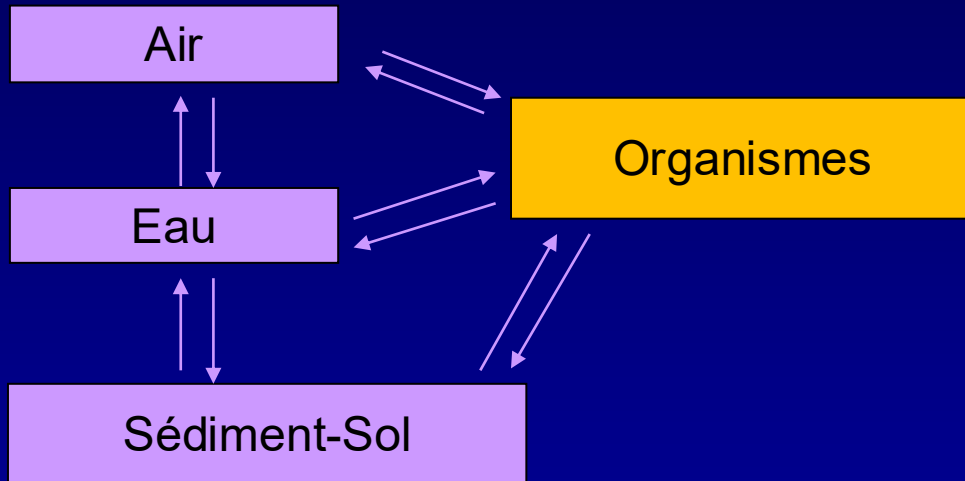
Dégradation
incomplète - rejet

Présence -
Impact ?



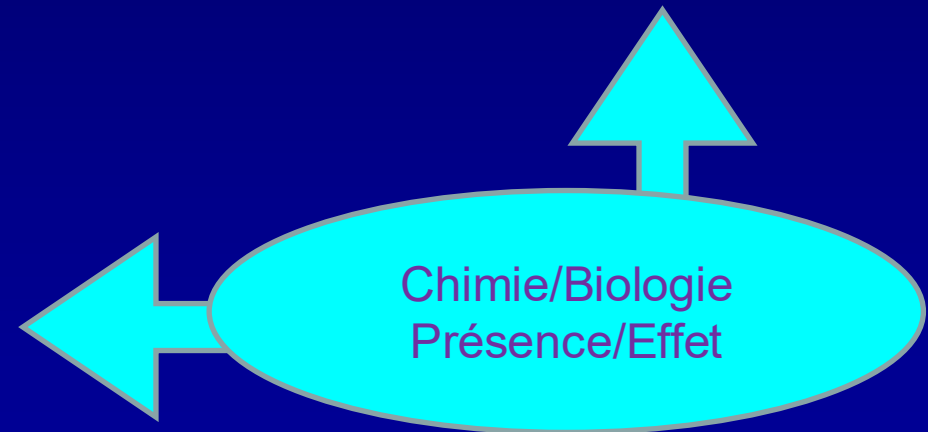
- Multiples voies d'exposition
- Fenêtres d'exposition (selon période de vie)
- Sensibilité variable

Mécanismes



- Bioaccumulation - Biotransformation
- Perturbations Fonctionnelles

- Sources - Présence - Devenir
- Biodisponibilité - Transfert



Besoins

- Caractériser l'exposition
- Caractériser l'impact
 - Caractériser les sources
 - Caractériser le milieu
 - Caractériser les transferts inter-compartiments
 - Caractériser les transferts vers le biote

Besoins

- Caractériser l'exposition (chimie)
- Caractériser l'impact
 - Caractériser les sources
 - Caractériser le milieu
 - Caractériser les transferts inter-compartiments
 - Caractériser les transferts vers le biote

Complexité de l'exposition



Plastifiants

Médicaments



Pesticides

**Détergents
Biocides**

Cosmétiques



Métaux

**Faibles doses
Diversité
Chronicité**

Solvants



Hydrocarbures

Nanoparticules

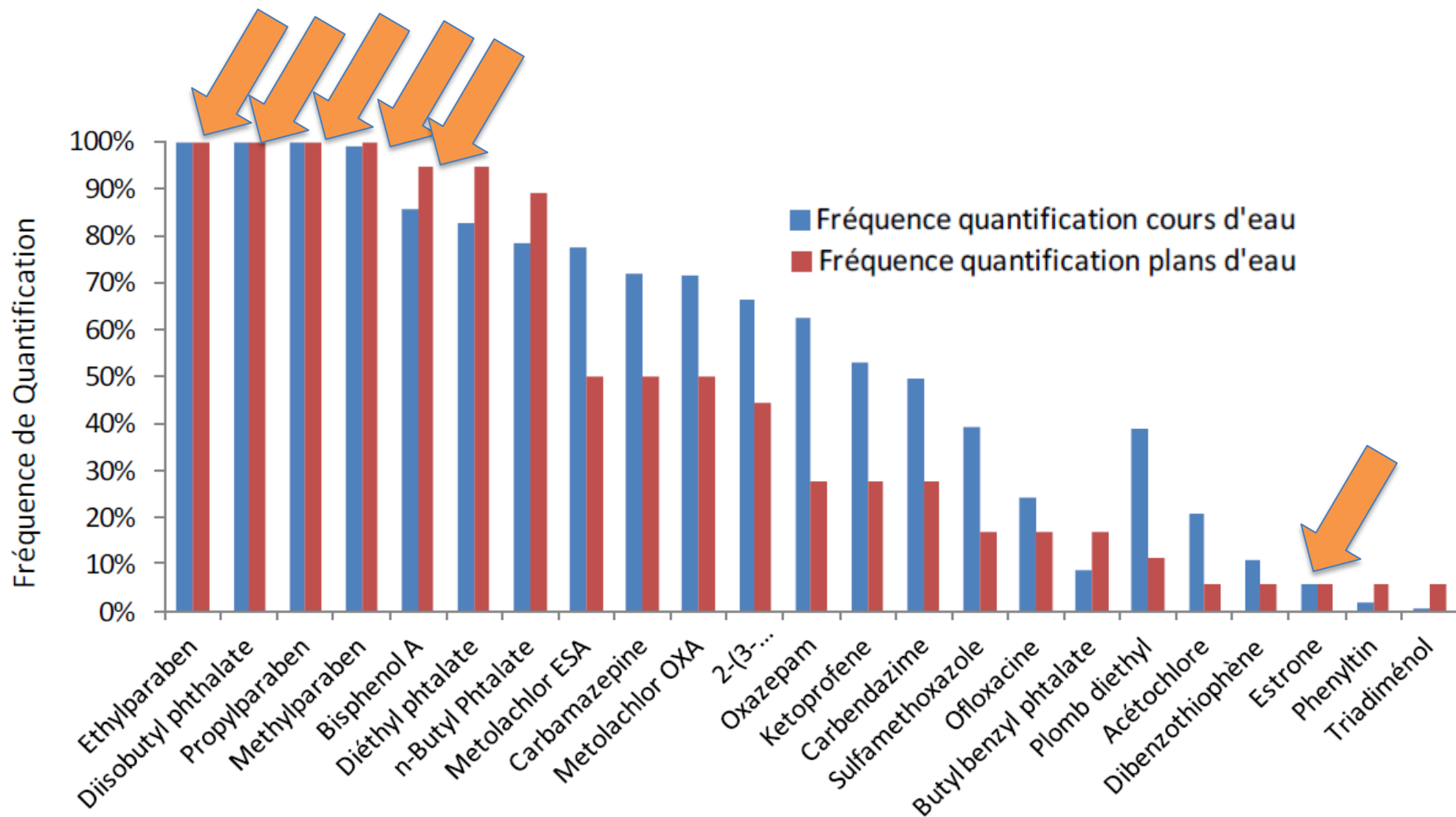


**Produits de
transformation**

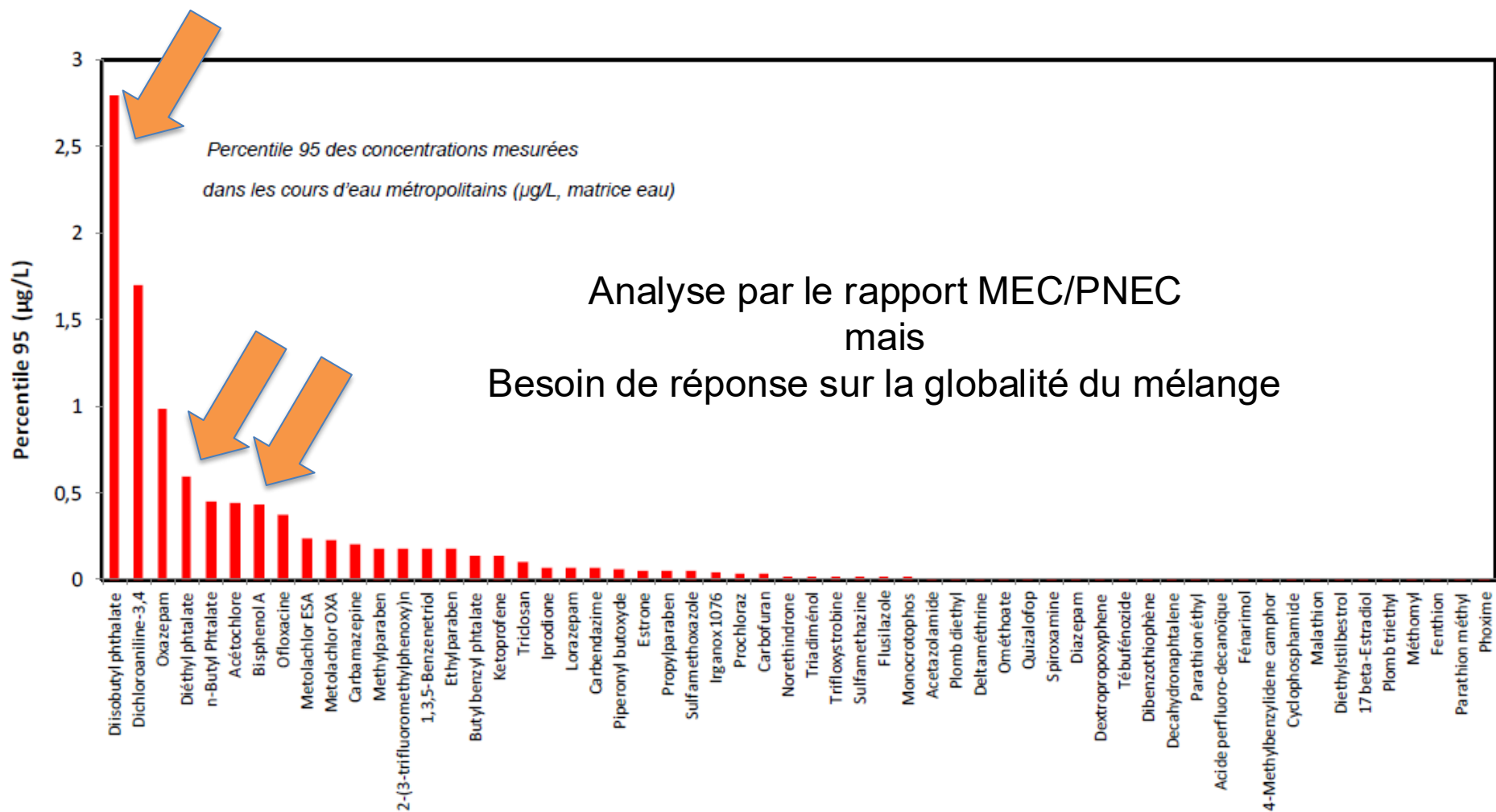
**Intermédiaires
de synthèse**



Campagne nationale contaminants émergents INERIS-ONEMA, 2014 (Eaux)

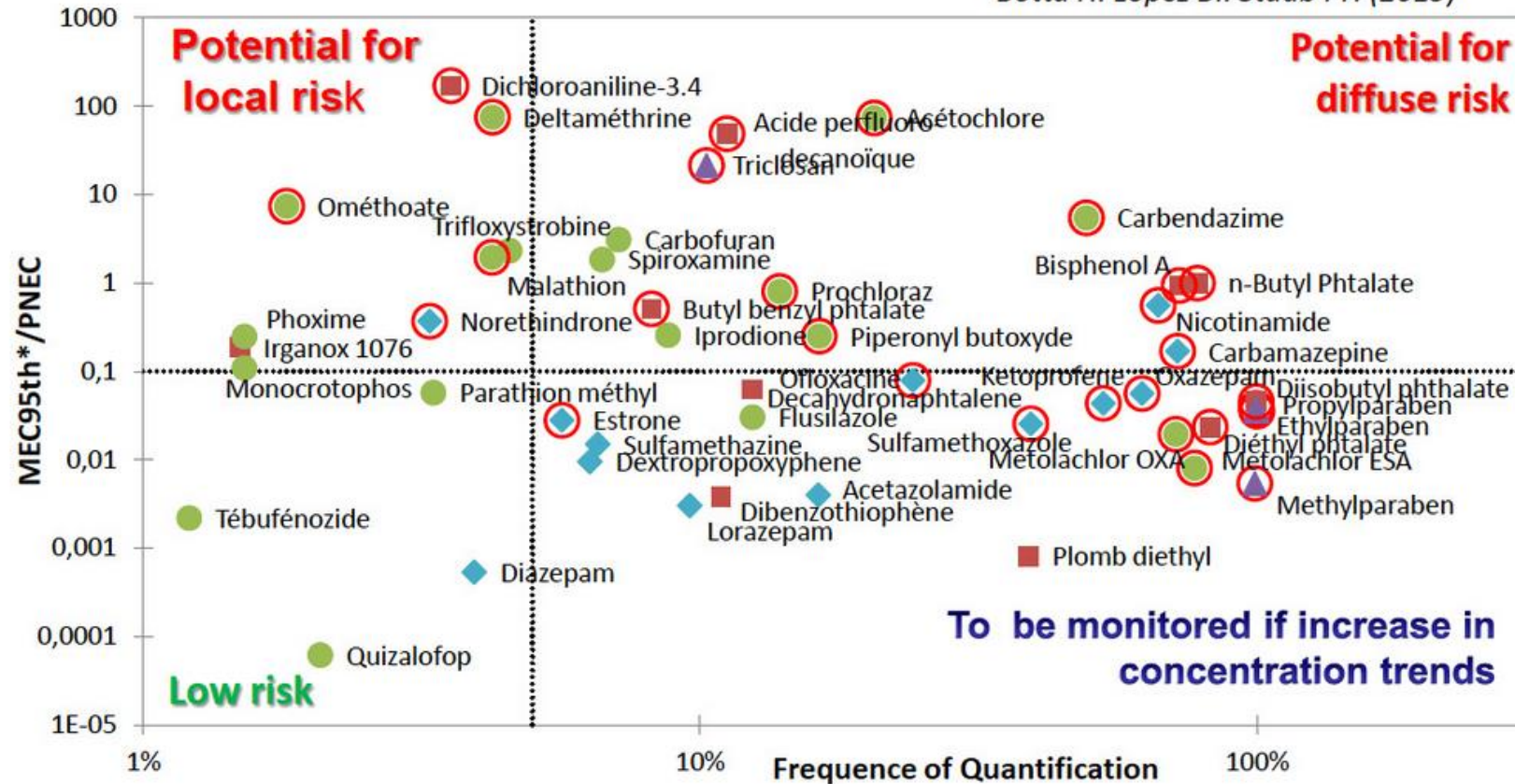


Campagne nationale contaminants émergents INERIS-ONEMA, 2014 (Eaux)



Substances pertinentes à surveiller

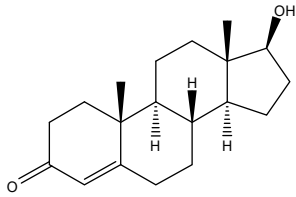
Botta F., Lopez B., Staub PF. (2015)



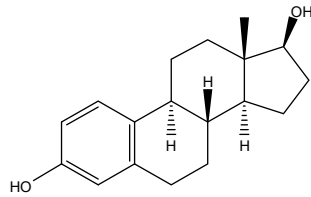
- ◆ Pharmaceuticals
- Pesticides
- ▲ Other emerging
- Industrial Chem
- A intégrer à la liste de surveillance

*MEC95 refers to the 95th percentile of all MECsite (Maximum Environmental Concentration values at a given site)

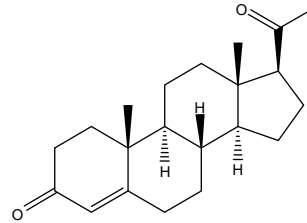
Steroid Hormones



Testosterone

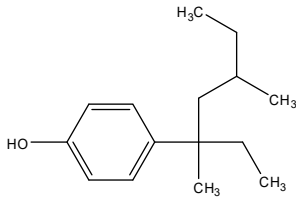


Estradiol

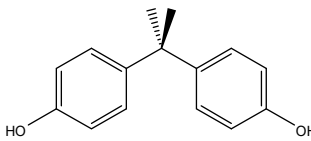


Progesterone

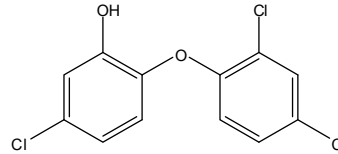
Phenols



Nonylphenol

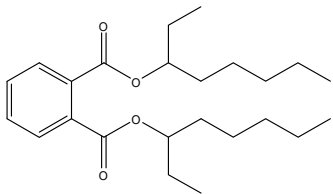


Bisphenol A

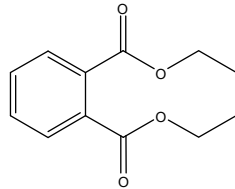


Triclosan

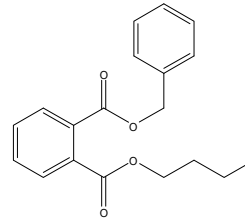
Phthalates



Diethylhexyl phthalate

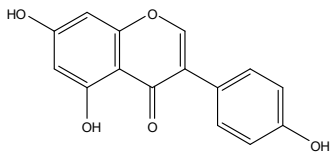


Diethyl phthalate

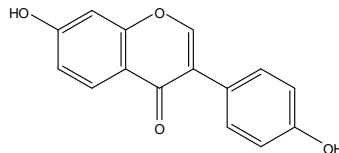


Benzylbutyl phthalate

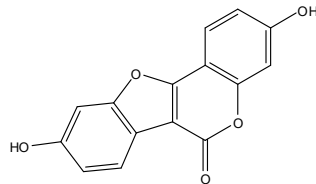
Phytoestrogens



Genistein

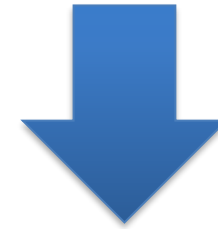


Daidzein



Coumestrol

- Classes chimiques différentes
- Classes d'usages variées
- Origines variées
- Naturelles-synthétiques



- Mélanges complexes
- Matrices complexes
- Faibles doses – long terme
- Effet cumulatif-synergique
- Lien présence/effet

BESOINS

La compréhension des effets des perturbateurs endocriniens demande d'adopter une vision intégrative en replaçant l'organisme (dont l'homme) dans son environnement, mais également de prendre en compte l'exposition de l'individu à un mélange de substances et de comprendre leurs interactions au sein de l'organisme en lien avec son environnement sur le long terme dès la période du développement foeto-embryonnaire (et la vie in utero) et ce sur plusieurs générations (ANSES, 2015)

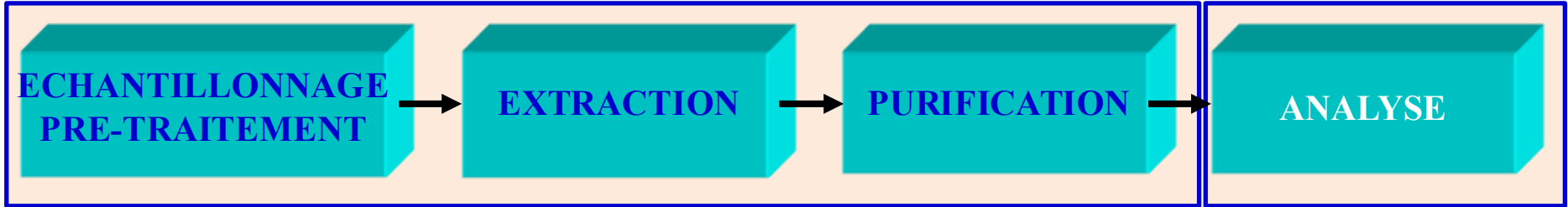
Contaminations environnementales - PE

- Faibles niveaux (ex : ng/L) - **sensibilité** – traces et ultra-traces
 - Cas des hormones stéroïdiennes : effets toxiques au ng/L
 - Normes de Qualité Environnementale (NQE) : EE2 0,035 ng/L
 - Matrices complexes et variées
 - Multi-contaminants – Mélanges
- } **sélectivité/multirésidus**
- Variabilité / **Représentativité** (spatiale / temporelle)
 - Spéciation/**transformation**
 - **Lien présence/effets toxiques**

Enjeux

- Améliorer la sensibilité
- Augmenter le nombre de composés caractérisés
- Améliorer la représentativité
- Adresser les produits de transformation
- Variabilité / Représentativité (spatiale / temporelle)
- Lien présence/effets toxiques

La procédure analytique



ECHANTILLONNAGE ET PRE-TRAITEMENT

- représentativité
- minimiser les risques associés à la contamination,
- permettre le maintien de l'intégrité des échantillons

EXTRACTION

Transférer quantitativement les analytes d'un milieu hétérogène (l'échantillon) vers un milieu homogène (solvant organique généralement)

PURIFICATION

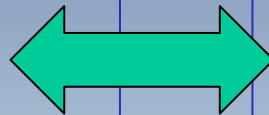
Éliminer les composés co-extraits qui pourraient interférer durant l'analyse et séparer différentes classes de composés avant analyse

ANALYSE

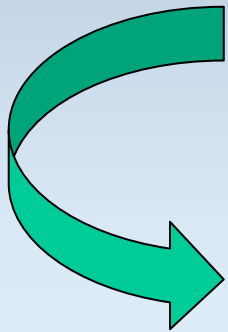
Séparer, identifier et quantifier les analytes individuels dans l'échantillon

Problématique environnementale

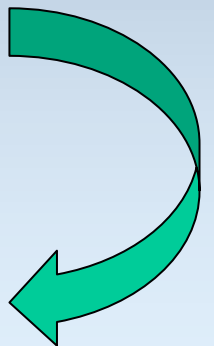
- Faibles concentrations
- Mélange
- Effets matrice
- Variabilité
- Lien présence-effets



- Sensibilité
- Sélectivité
- Identité
- Rapidité
- Automatisation



- Préparation de l'échantillon
- Spectrométrie de masse et techniques couplées



Enjeux

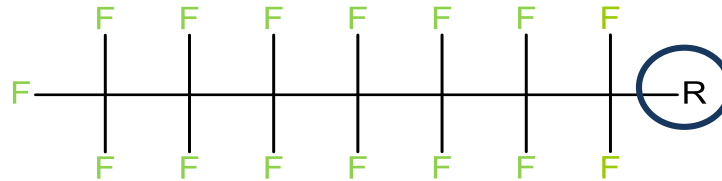
- Améliorer la sensibilité
- Augmenter le nombre de composés caractérisés
- Améliorer la représentativité
- Adresser les produits de transformation
- Variabilité / Représentativité (spatiale / temporelle)
- Lien présence/effets toxiques



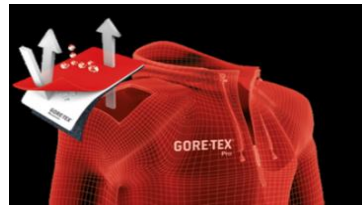
- SPE en ligne/LC/MS/MS

- Sensibilité
- Automatisation
- Miniaturisation – faible volume
- Spécificité
- Grand nombre d'échantillons
- Logistique simplifiée

Fluoroalkylated compounds (PFAS) (G. Munoz)



- ✓ Fluorinated alkyl chain + polar functional group
- Excellent surface-active properties, thermal and chemical stability
- ✓ Diversified uses

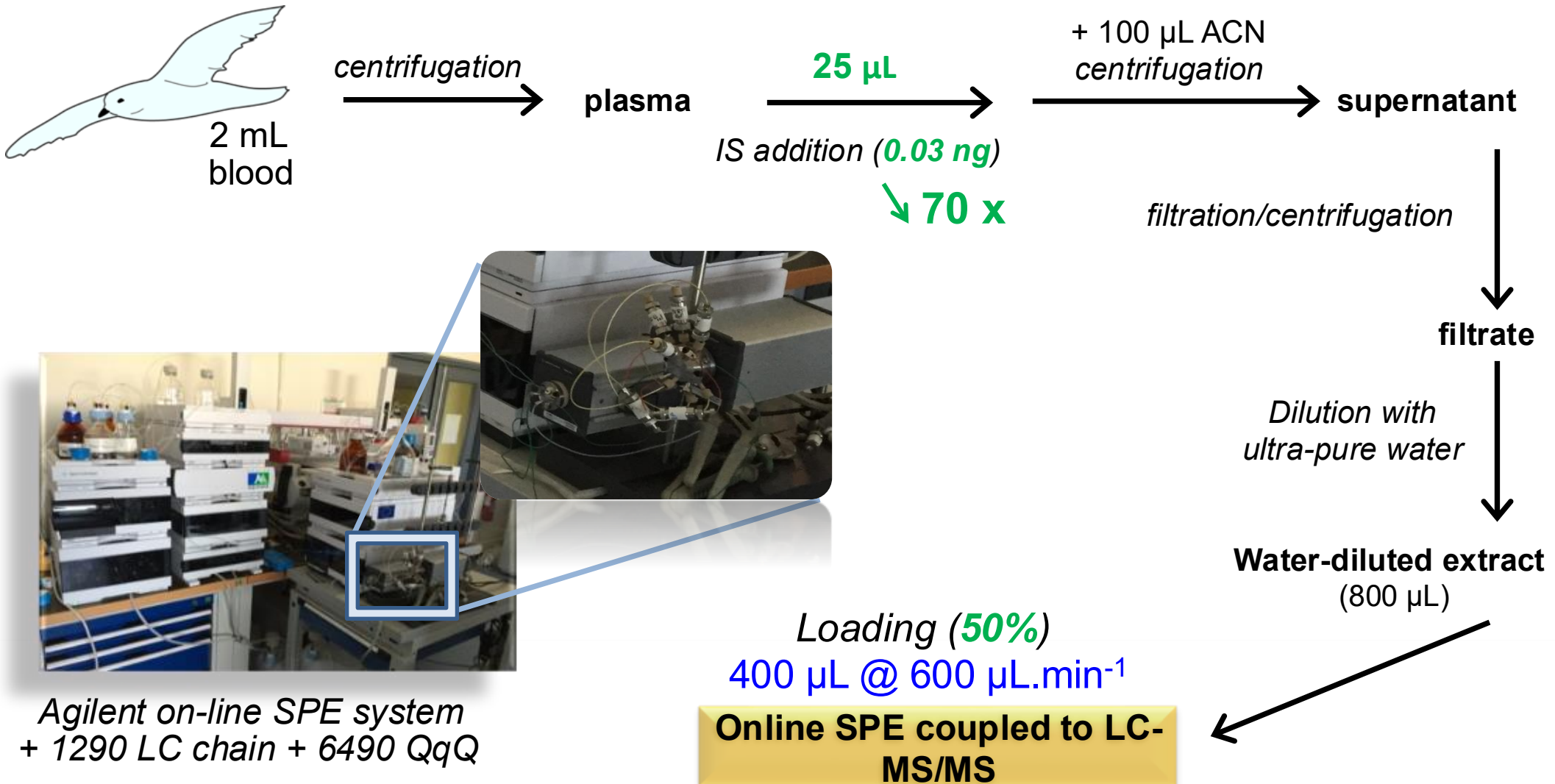


- ✓ Sources : industrial discharges, wastewater, atmospheric deposition
- ✓ Extremely persistent (carboxylic and sulfonic acids)



A DOUBLE ORIGIN: DOMESTIC AND INDUSTRIAL

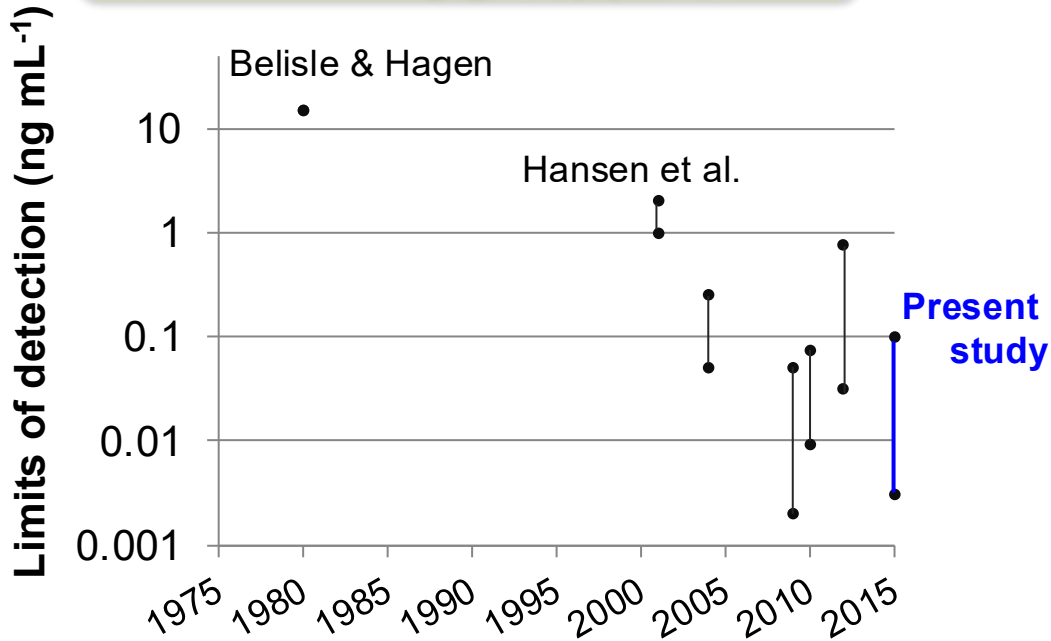
Online SPE workflow



Online SPE: method validation

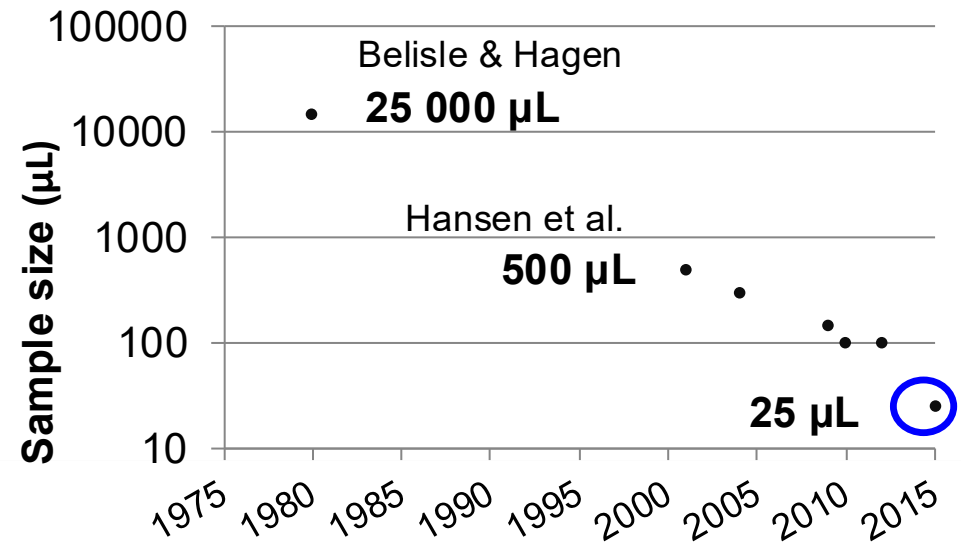
Limits of detection

LOD range:
0.003–0.1 ng g⁻¹ eq. plasma



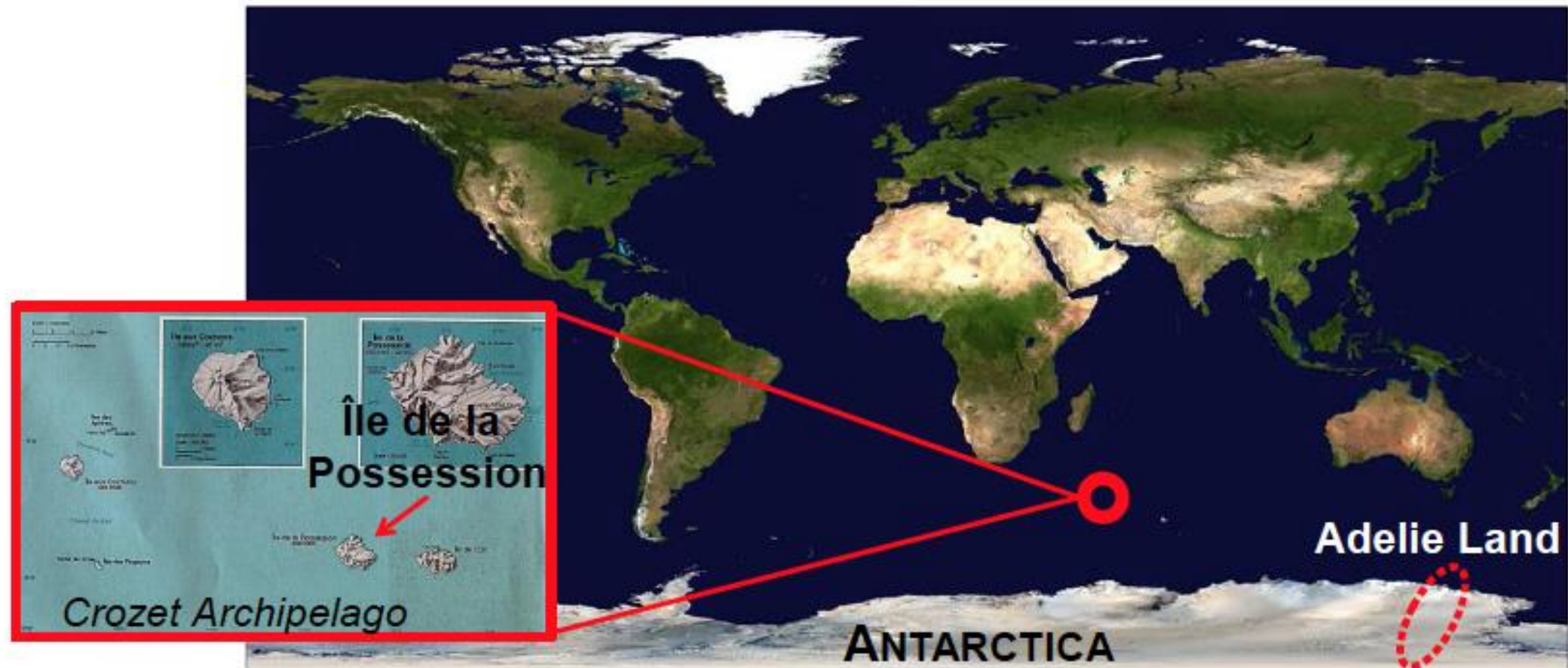
Sample size

25 µL



*Belisle & Hagen, 1980
(PFOA by GC-ECD)

Study area



- Ile de la Possession (French Antarctic Territory Crozet Island, Subantarctic Islands)
- Adélie Land (French Antarctic Territory Terre Adélie, Antarctica)

Sampling strategy

Crozet island



King Pinguin (*Aptenodytes patagonicus*)

Adelie Land



South-Polar Skua (*Stercorarius maccormicki*)

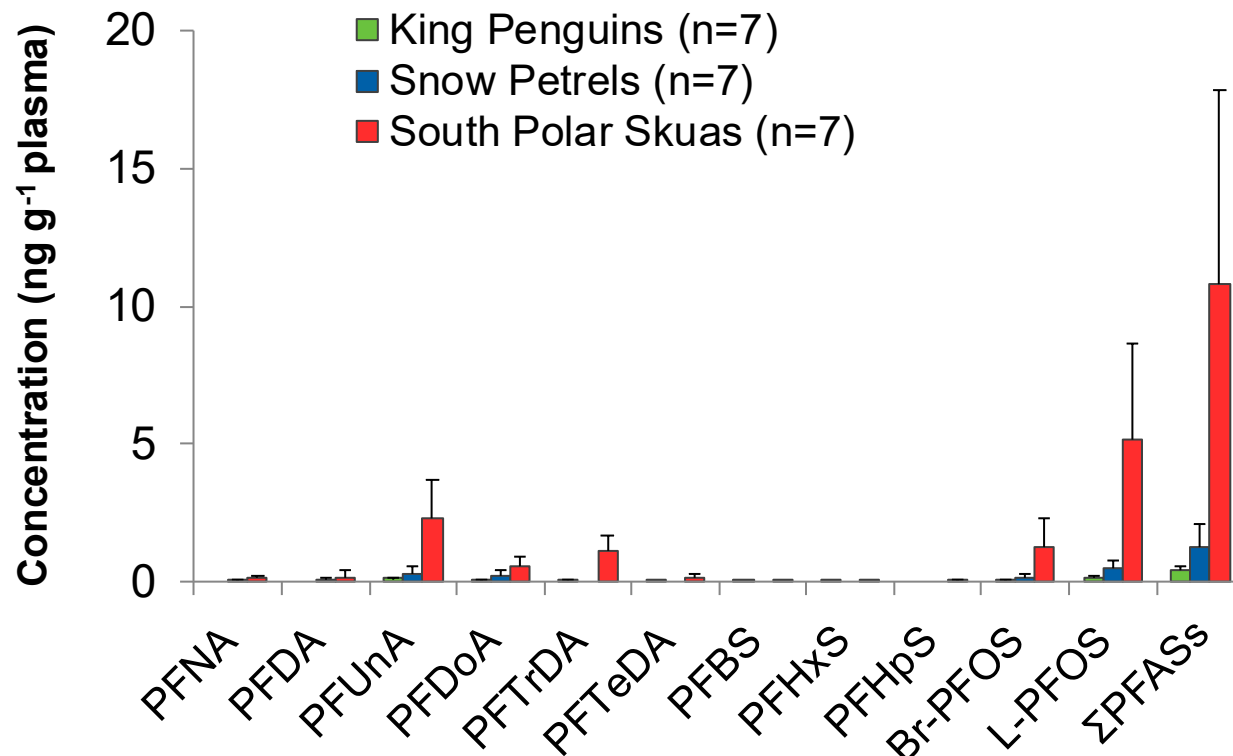


Snow Petrel (*Pagodroma nivea*)

- 2 mL of blood collected with a heparinized syringe
- Blood samples centrifuged and plasma recovered
- Plasma samples stored at -20°C until further analysis

Online SPE: method demonstration

e.g., PFAS levels in Antarctic seabird plasma (targeting chicks)



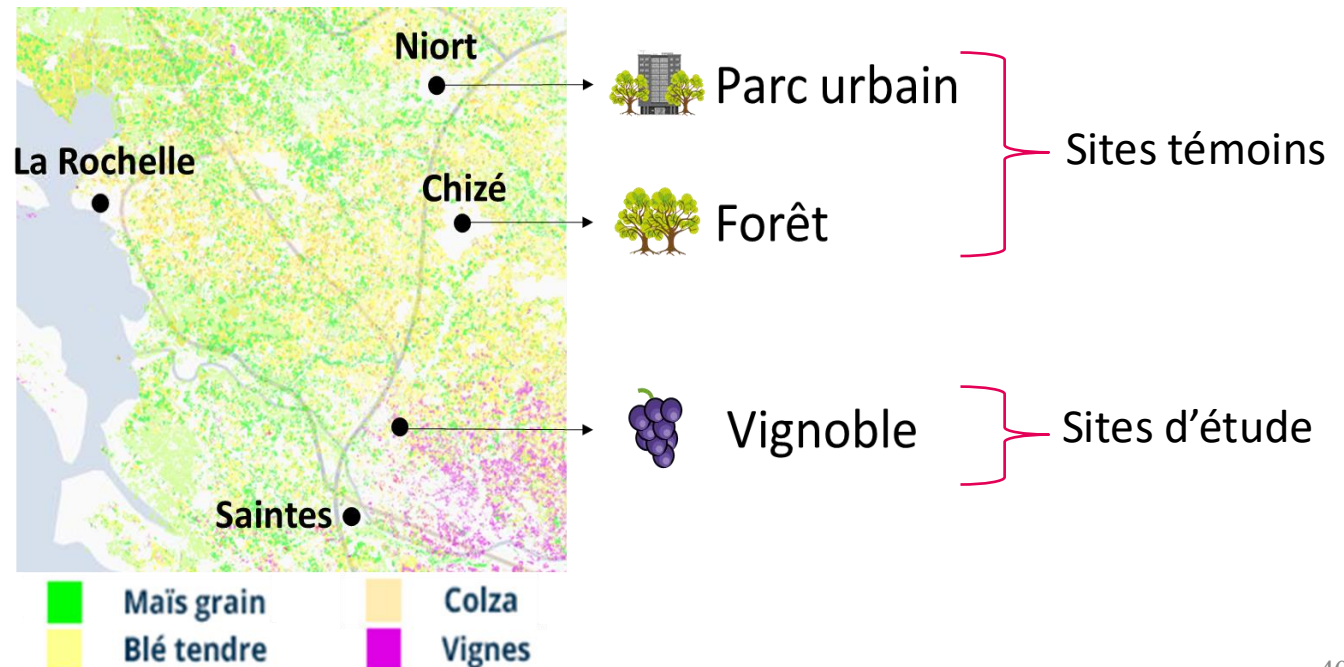
- ▶ 11/26 target PFASs detected in seabird plasma
- ▶ small sample size required (25 μ L)

- ▶ Different diets and trophic levels
- ▶ Different migratory behavior

Développement d'une méthode analytique de dosage des triazoles (fongicides) par SPE en ligne LC-MS/MS dans de faibles volumes de plasma de merle noir (L. Prouteau)

- Merle noir, *Turdus merula*, l'espèce sélectionnée pour l'étude :
 - Non-cible et pourtant exposée aux fongicides en zone viticole
 - Commune à différents milieux
 - Bio-indicatrice avec territoire restreint
 - Facile à suivre
 - Période de reproduction coïncide avec période de traitement des fongicides
 - Triazoles bloquent le synthèse enzymatique de l'aromatase (balance hormonale)

- 75 merles noirs capturés d'avril à juillet 2016 en Nouvelle-Aquitaine



- Capture et prélèvement



- caractéristiques (sexe, âge, lieu d'habitation, date)
- écologiques (éclosion, envol)
- biométriques (taille, masse)



Analyses physiologiques
(longueur des télomères,
taux d'hormones)

Analyses chimiques
des triazoles

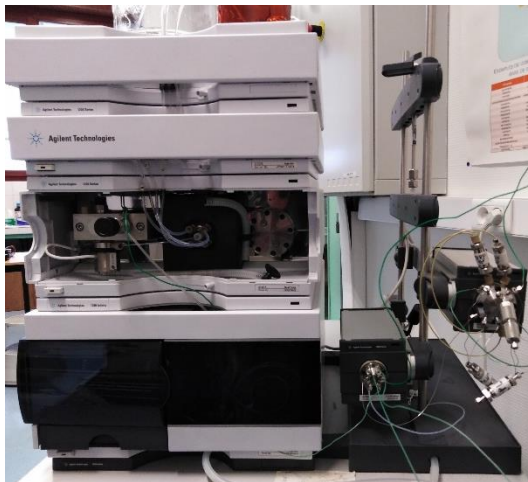


- Prélèvement sanguin : non-destructif pour l'animal
- Quelle que soit la voie d'exposition : transport *via* le sang
 - Indique l'exposition à court terme

- Matrice biologique complexe
- Volume faible d'échantillon
- Prise d'essai analytique faible (25 µL)
- Limites de quantification (LQ) faibles
- Automatisation de l'analyse pour grand nombre d'échantillons

SPE en ligne LC-MS/MS

Extraction sur Phase Solide (SPE) en ligne



+

Chromatographie en Phase Liquide (LC)



+

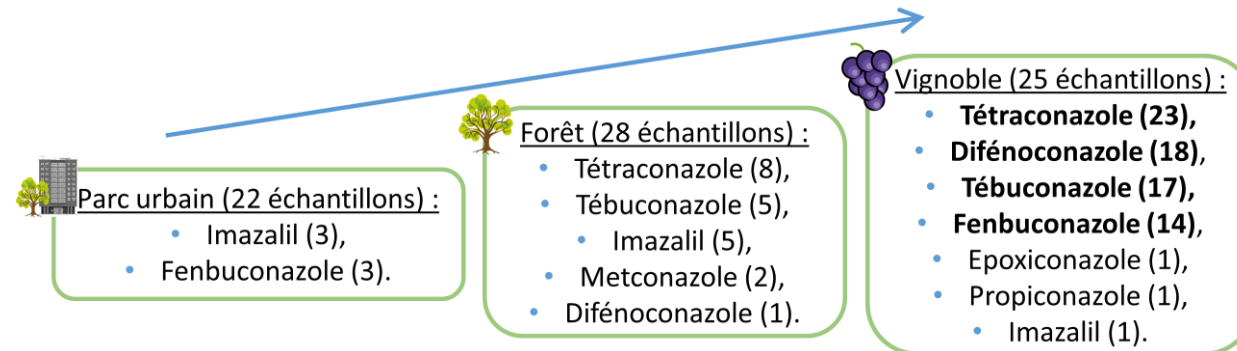
Spectromètre de masse en tandem (MS/MS) 6490 (Agilent)



- Optimisations le long de la chaîne analytique :



- 75 plasmas de merle analysés au sein de séquence incluant des contrôles qualité
- Concentrations retrouvées de l'ordre du pg/g plasma voire du ng/g plasma pour certaines molécules



Gamme de concentration (pg/g plasma)	Imazalil	Tétraconazole	Tétraconazole
		0 - 30	0 - 200

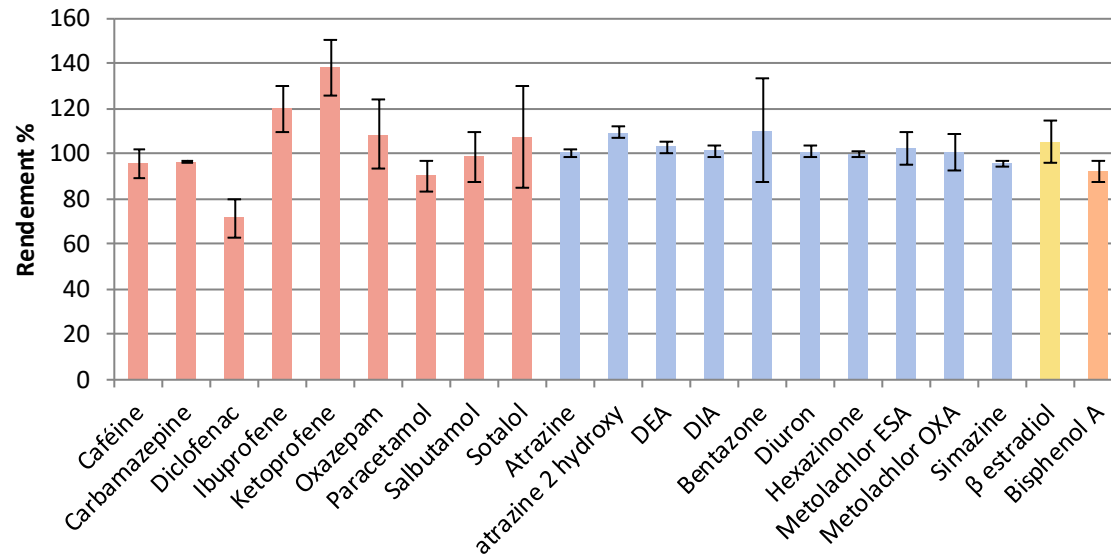
➤ Extraction SPE/HRMS : automatisation – grand volume

- Transposition du protocole utilisé en SPE manuelle
 - ✓ Phase HLB
 - ✓ Elution MeOH, MeOH/CH₂Cl₂, CH₂Cl₂
- Test effectué sur une eau minérale dopée à 10ng/L
 - ✓ Volume extrait : 10L

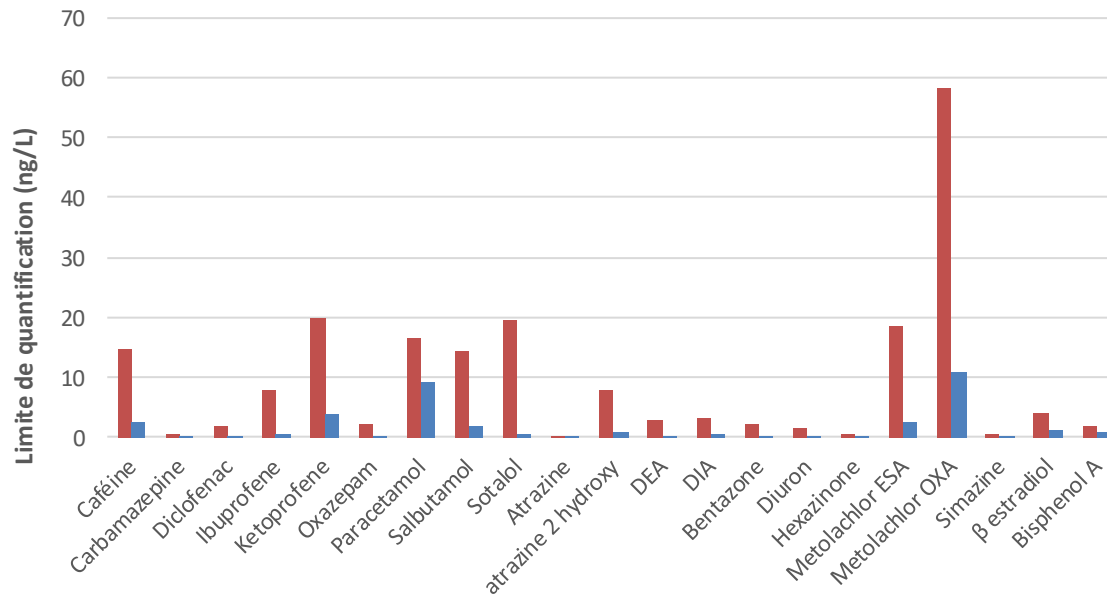


- Tester une large gamme de composés (pharmaceutiques, pesticides....)

➤ Extraction SPE/HRMS



L'extraction des composés avoisine les 100 % avec de façon générale une bonne reproductibilité (n=3)



150 mL en SPE manuelle (dopage 100 ng/L)
10 L en SPE automatique (dopage 10 ng/L)

Gain de sensibilité lié à l'augmentation de volume

➤ Application du protocole à différents types d'eaux

10L Eau du robinet

8.5L Eau de rivière avec une pression agricole

10L Eau de rivière avec une pression urbaine

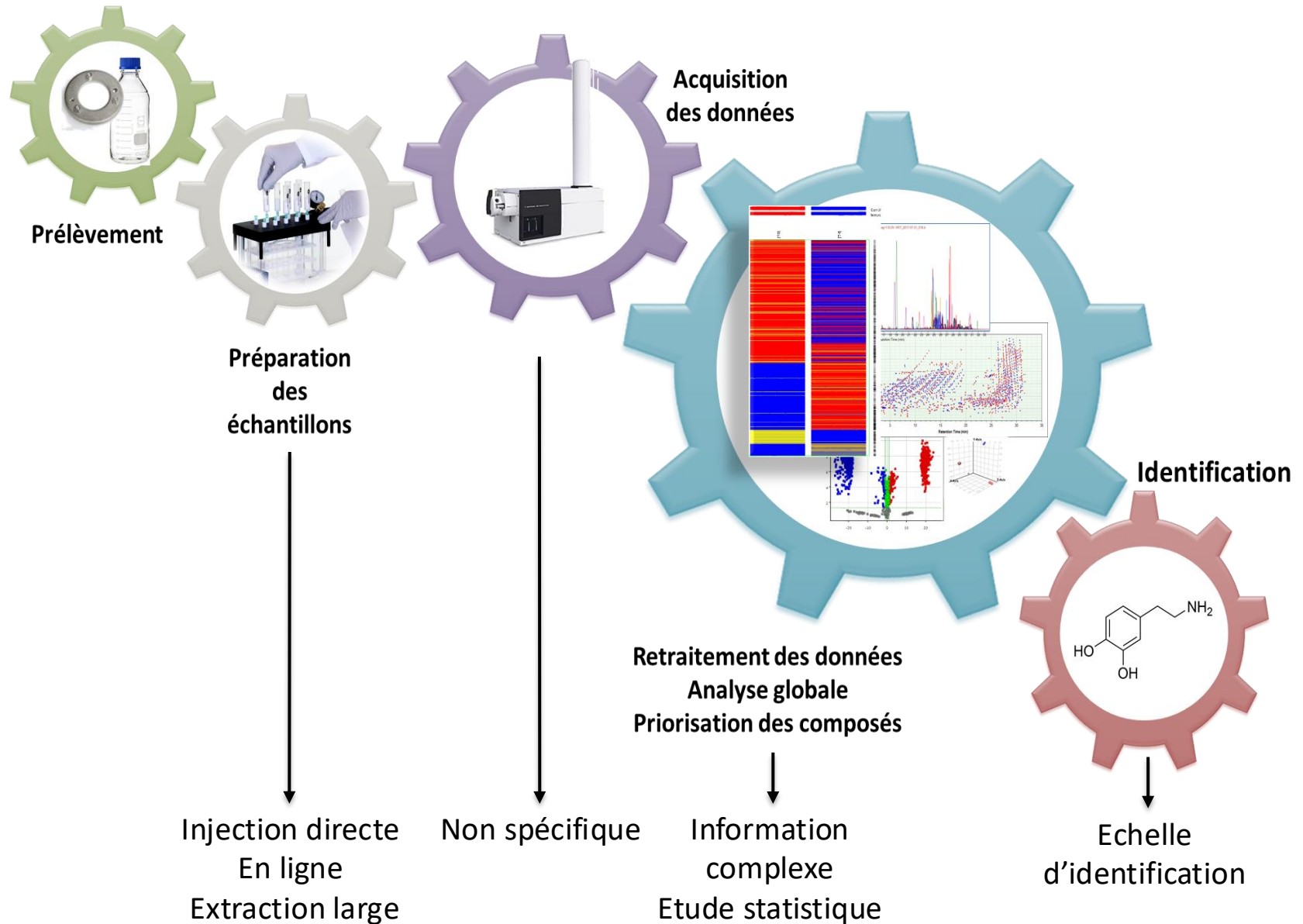
Analyse en mode « suspect » en LC-QTOF (conc. ng/L)

Famille	Composés	Eau du robinet	Rivière agricole	Rivière urbaine	
				Avant rejet de STEU	Après rejet de STEU
Composés à usages pharmaceutiques	Paracetamol	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	Caféine	<LOD	28.1	114.2	158
	Carbamazepine	<LOD	<LOQ	3.7	46
	Diclofenac	<LOD	<LOD	21.9	151
	Ibuprofene	<LOD	5.1	<LOD	<LOD
	Oxazepam	<LOD	2.1	11.2	100
	Paracetamol	<LOD	<LOD	9.9	97
	Salbutamol	<LOD	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	Sotalol	<LOD	8.5	5.9	6.2
Pesticides	Atrazine	<LOD	0.2	2.1	2.5
	atrazine desethyl (DEA)	<LOD	<LOD	<LOQ	<LOQ
	atrazine desisopropyl (DIA)	<LOD	2.5	<LOQ	0.6
	Diuron	<LOD	<LOQ	<LOD	<LOD
	Hexazinone	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	Metolachlor ESA	<LOD	<LOD	57	48
	Metolachlor OXA	<LOD	4.4	91	170
	Simazine	<LOD	0.7	22	151
Hormones	β estradiol	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
Bisphenols	Bisphenol A	<LOD	10.0	<LOD	<LOD

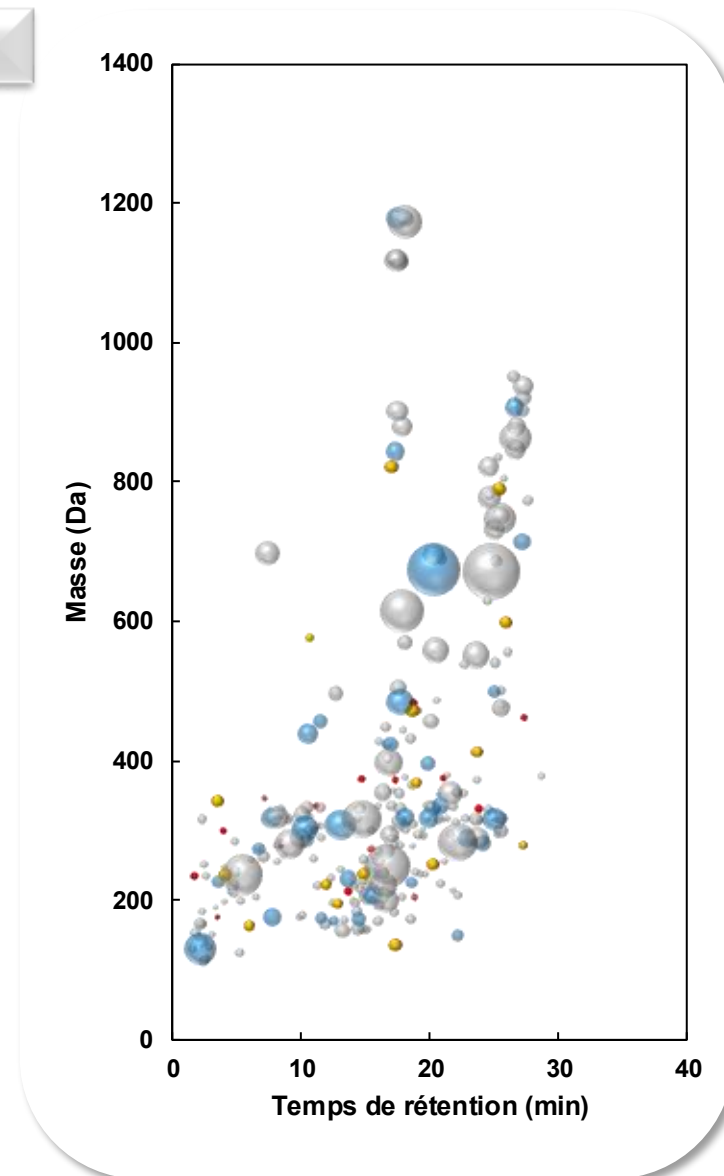
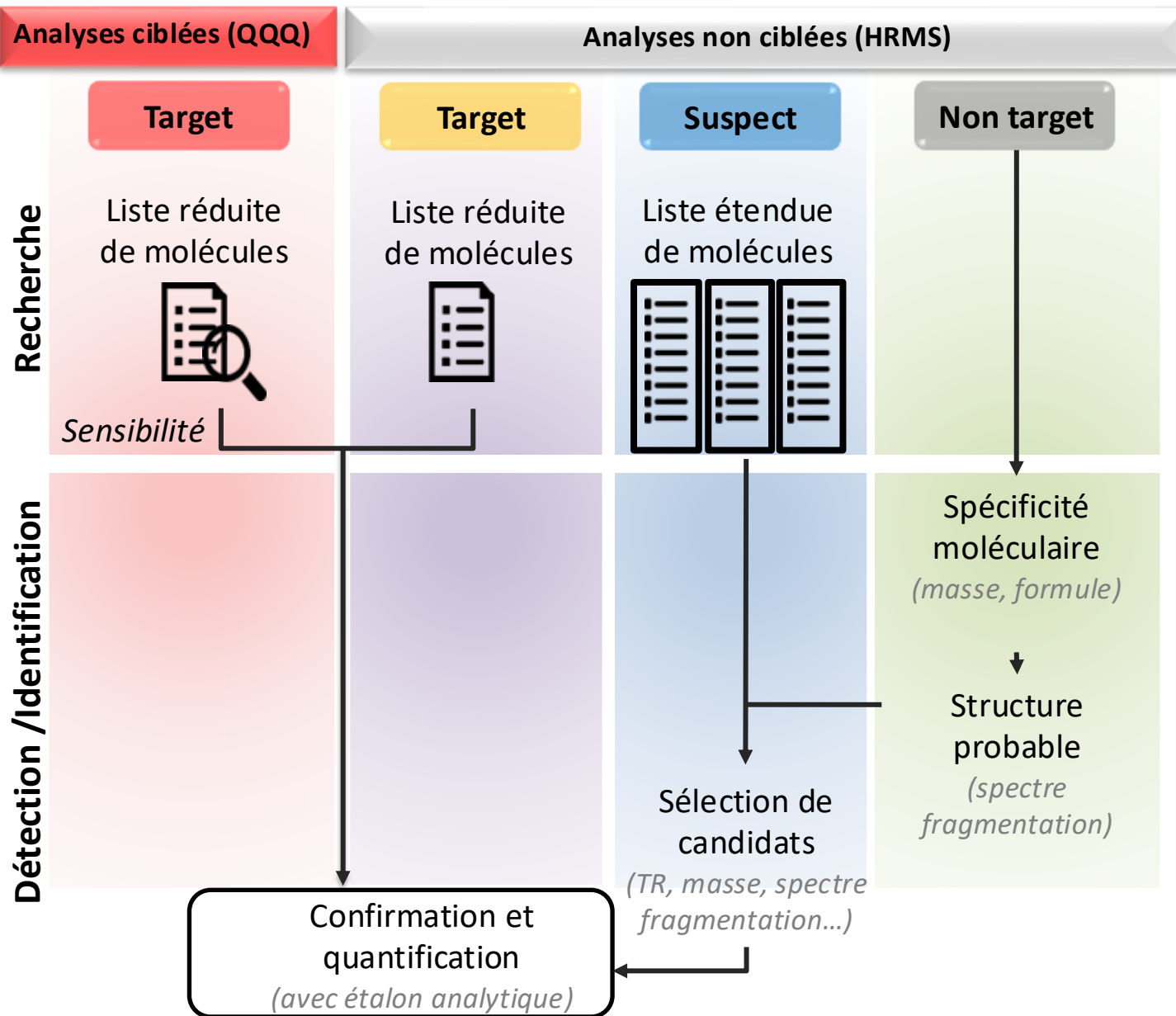
Enjeux

- Améliorer la sensibilité
- Augmenter le nombre de composés caractérisés
- Améliorer la représentativité
- Adresser les produits de transformation
- Variabilité / Représentativité (spatiale / temporelle)
- Lien présence/effets toxiques

Adaptation de la méthodologie

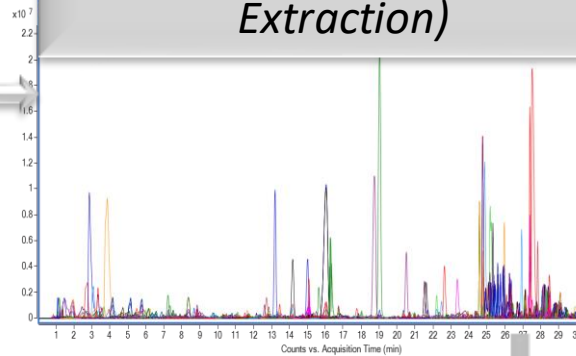


Stratégies analytiques



Acquisition et traitement des données HRMS

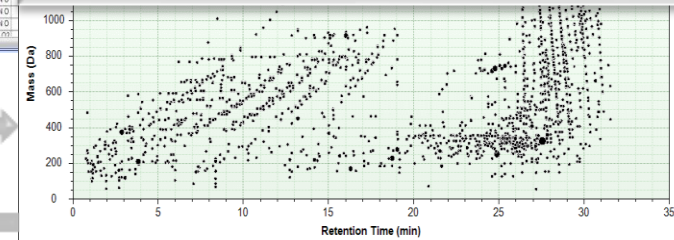
Criblage moléculaire
(*Molecular Feature
Extraction*)



Spécificité des molécules

Id	CpId	File	ID	Source	Name	Formula	Saturated	RT	m/z	Mass	Score	Score(LAB)	Score(DB)
1	4	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2			0.3402	116.107	133.1103	49.81		99.6
2	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2			0.3402	116.107	133.1103	49.81		99.6
3	5	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
4	494	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
5	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
6	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
7	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
8	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
9	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
10	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
11	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
12	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
13	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
14	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
15	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
16	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
17	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
18	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
19	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
20	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
21	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
22	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
23	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
24	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
25	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
26	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
27	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
28	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
29	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
30	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
31	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
32	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
33	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
34	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								
35	496	20120627_L1	DESearch	Be (2-Hydroxypropr...	CE H15 N O2								

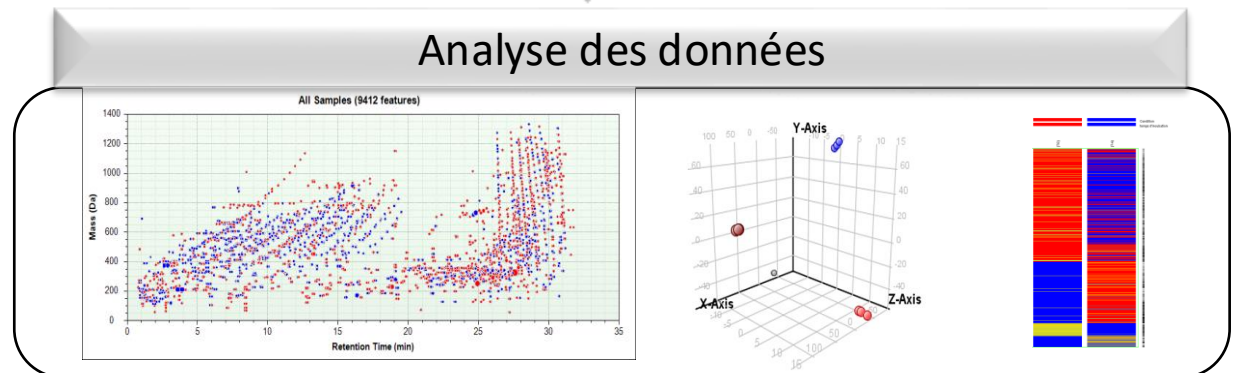
Empreinte moléculaire de
l'échantillon
(*Mass Profiler*)



Mass spectrometer:
Agilent 6540 Q-TOF LC/MS

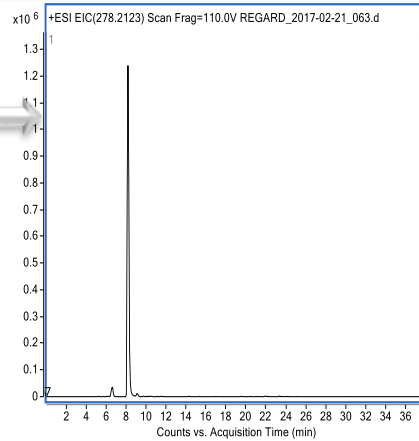
Gamme de masse : 100-1700 m/z
Mode ionisation : ESI +, ESI-
Mode d'acquisition : MS

Analyse des données

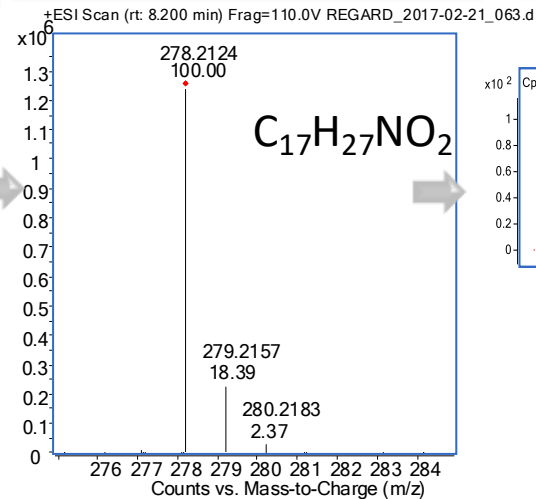


Identification moléculaire

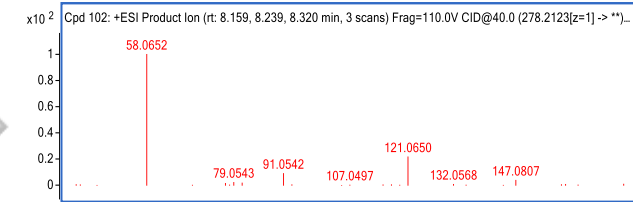
TR et aire du composé d'intérêt
(Extract ion chromatogram)



Massif isotopique



Spectre de fragmentation



Comparaison des spectres obtenus à ceux disponibles dans les bibliothèques spectrales
(internes, commerciales)

Correspondance:
Structure probable

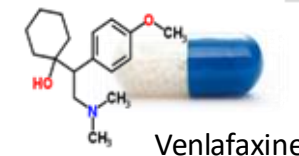
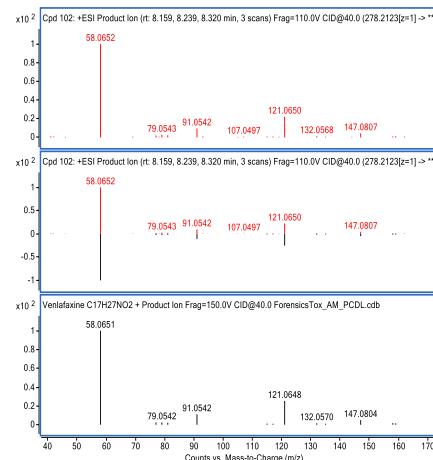
Pas de correspondance:

- Recherche de structure par :
- logiciel in silico (Metfrag)
 - Propriétés physico-chimique
 - Référence bibliographique...

Achat du composé:
si disponible dans le commerce

Liste de structure probable

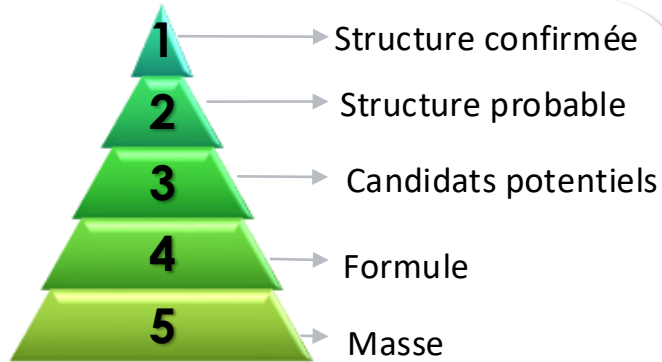
Confirmation



Spectromètre de masse :
Agilent 6540 Q-TOF LC/MS

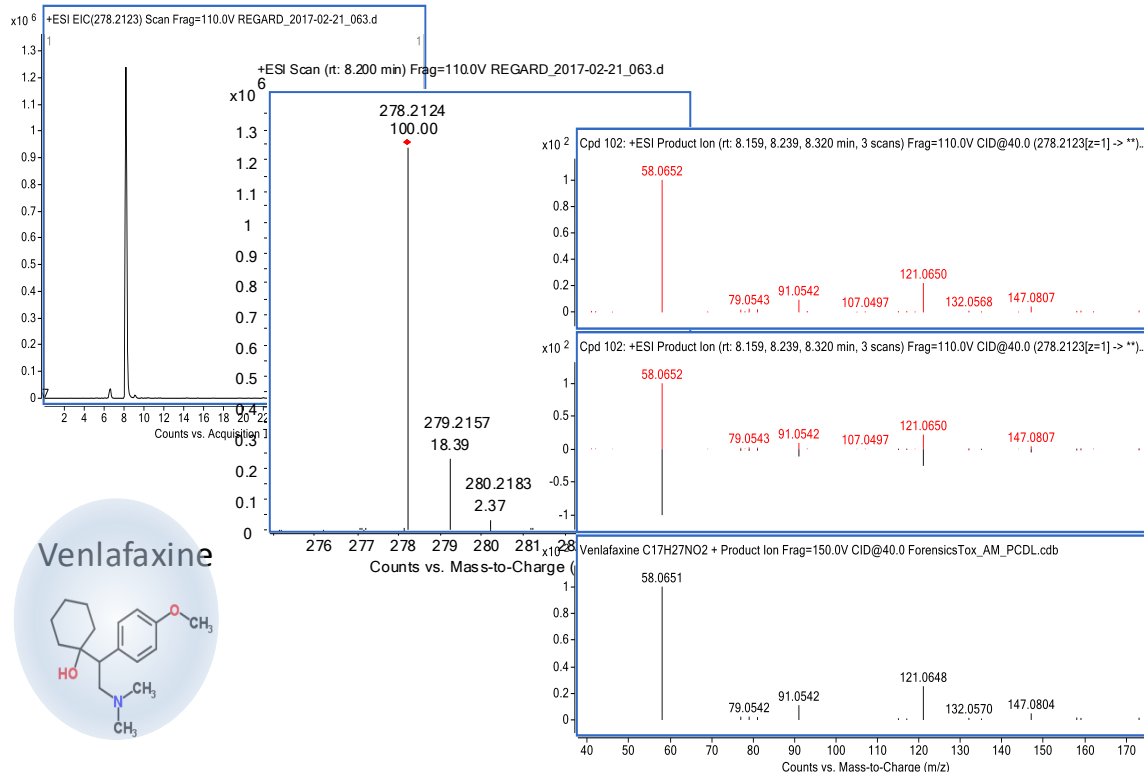
Mode d'acquisition :
Target MS/MS
Auto MS/MS (Data Dependent Acquisition)

Niveau d'identification

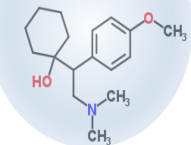


(Schymanski et al, 2014)

- ✓ La recherche d'inconnus est complexe
 - ✓ La confiance à accorder aux données est relative et abstraite
- Proposition d'une échelle d'identification pour hiérarchiser les résultats
 - Nécessiter de disposer *in fine* d'étalons analytiques



Venlafaxine



1 : Venlafaxine		<i>Le plus référencé :</i> 1418 ref contre 23 pour le 2nd
2 :		
3 : Critères de sélection 2123		$2 < \text{Log Kow} < 3$
4 : Profil : C ₁₇ H ₂₇ NO ₂		13933
5 : 277.2042 Da		13935

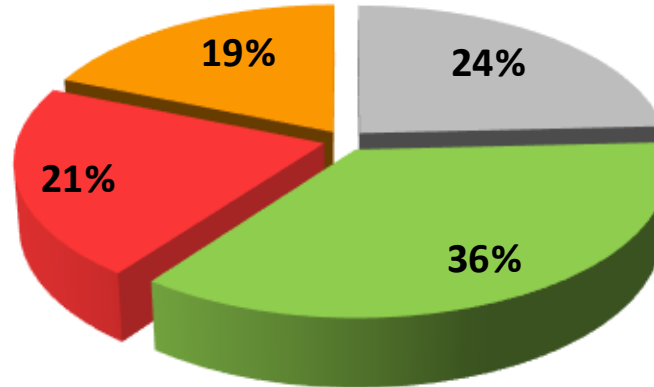
Nb de composés (Chempider)

Sources : station de traitement des eaux usées (STEU)

AMPERE et ARMISTIQU

30% < Efficacité < 70%
Médicaments (roxytromycine...),
Plastifiants (Bisphénol A), Autres...

Efficacité < 30%
Pesticides (glyphosate...),
Médicaments (carbamazépine...),
Autres...



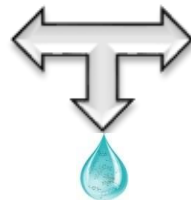
Efficacité non évaluée
PBDE, Pesticides (DDT...)
Autres...

Efficacité > 70%
PAHs, AKP (NP...), Médicaments
(paracétamol...), Hormones
(β E2...), Autres...

Choubert et al., 2012

Partiellement efficace

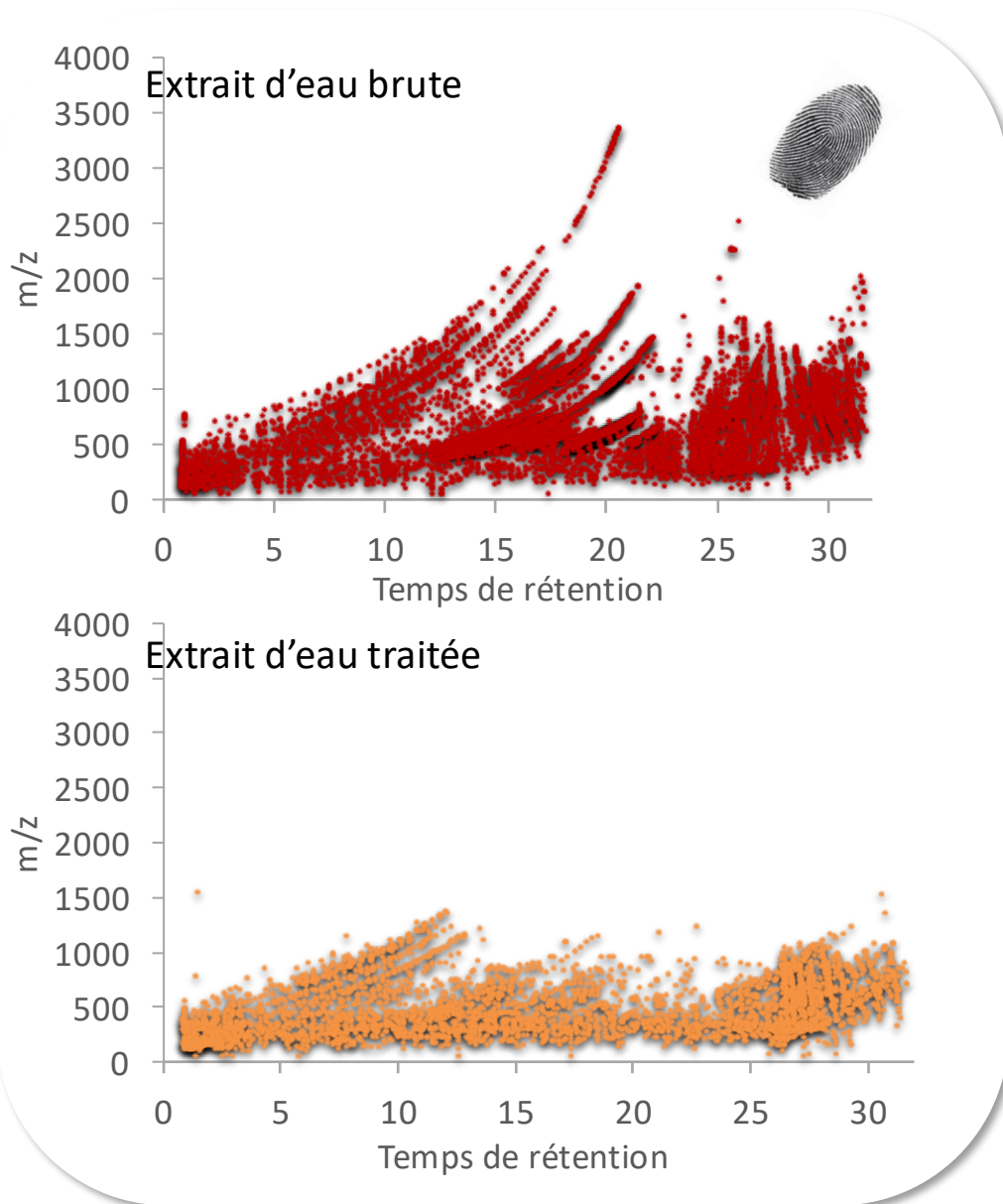
Production de produits de transformation



Composés introduits dans l'environnement

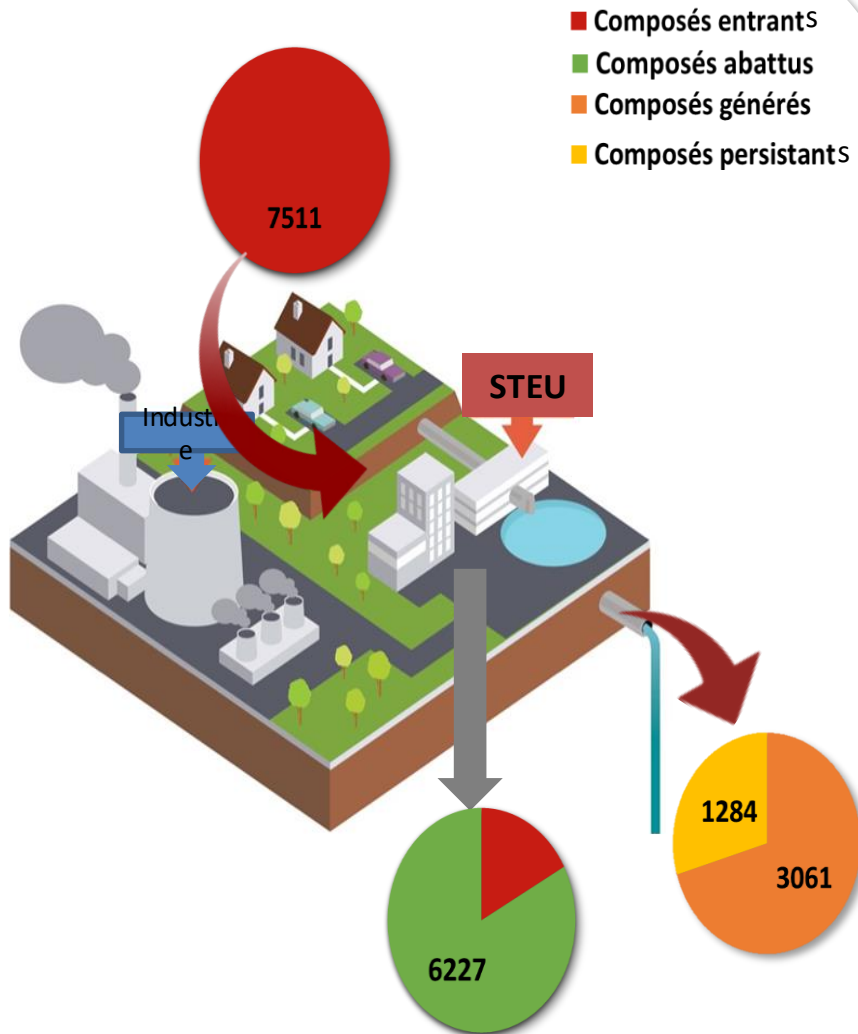
➤ **Impacts environnementaux?**

L'analyse globale - station de traitement des eaux usées



- Empreinte chimique de chaque échantillon
- Plusieurs milliers de composés
 - ✓ Impossible de tous les identifier (à l'heure actuelle)
 - ✓ Possibilité d'analyser dans sa globalité l'information

L'analyse globale - station de traitement des eaux usées



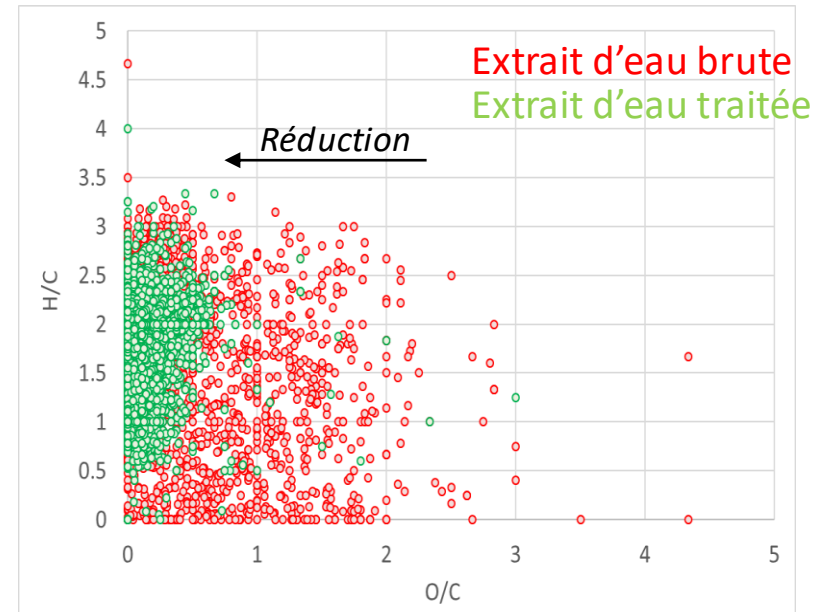
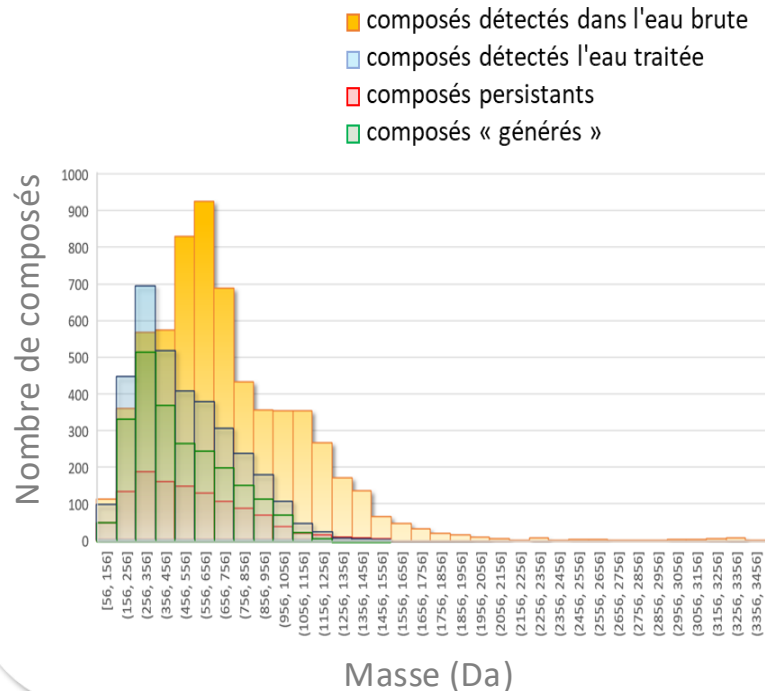
- Empreinte chimique de chaque échantillon
- Plusieurs milliers de composés
 - ✓ Impossible de tous les identifier (à l'heure actuelle)
 - ✓ Possibilité d'analyser dans sa globalité l'information

Efficacité des STEU:

Composés persistants	17%
Composés abattus	83%
Composés générés	70% des composés sortants

Produits de transformation ?

De l'analyse globale vers l'identification

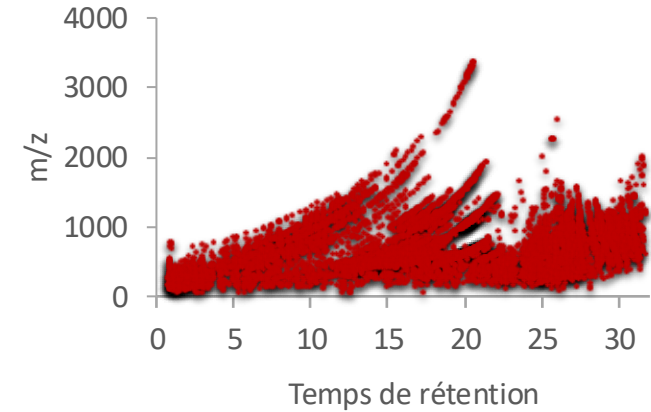


- Les composés abattus sont ceux ayant des masses > 450Da : potentiellement antibiotiques, surfactants
- Composés de masses plus petites dans l'eau traitée (perte de groupement chimique...)

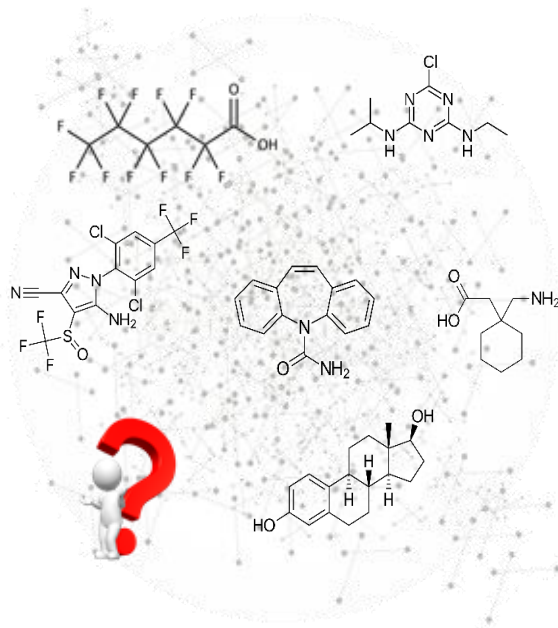
➤ Mise en évidence de produits de transformation

Déconvoluer l'information

- L'identification individuelle de chaque composé est très chronophage
 - Voir impossible pour des échantillons très complexes
- Besoin d'établir des stratégies d'identification



Recherche des composés connus
Analyse en suspect



L'identification – La recherche de suspects

- En une analyse recherche de plusieurs centaines de molécules

- Gain de temps d'analyse
- Diminution des solvants

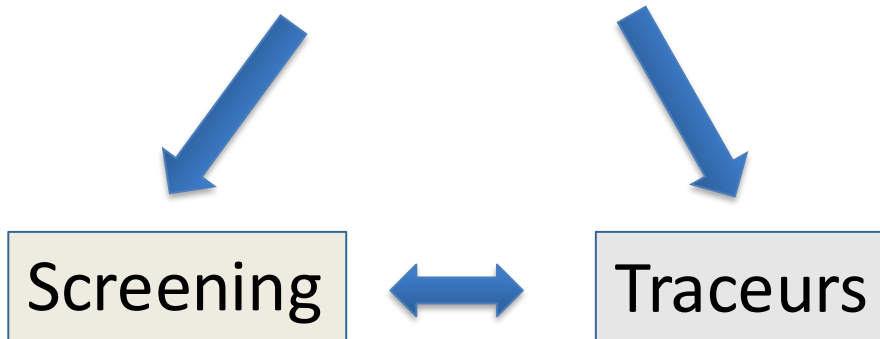
- Listes de « suspects » pouvant être axées sur des thématiques

Exemple: *Liste REACH*

Liste usages

Liste activités biologiques (ex : PE...)

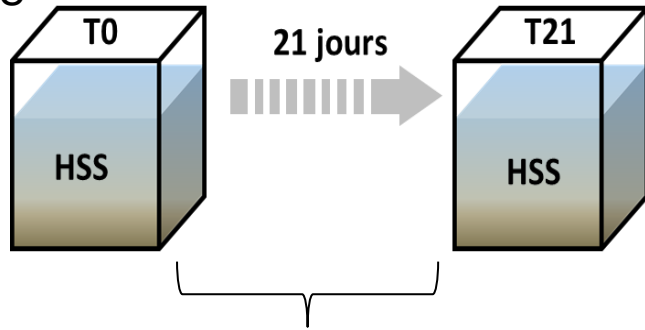
Liste NORMAN



abacavir	2-hydroxy-atrazine	testostérone	6:2 FTSA
acébutolol	acétochlore ESA	17alpha-hydroxyprogesterone	8:2 FTSA
acide 4-chlorobenzoïque	AMPA	atrazine	EtFOSAA
acide clofibrique	azoxystrobine	17 alpha ethynyl estradiol	FOSA
acide fénofibrique	bifenthrine	18 alpha ethynyl estradiol	FOSAA
acide salicylique	carbendazime	6alpha-Me prednisolone	MeFOSAA
amitriptyline	chlorfenvinphos	androstenedione A	PFBA
aspirine	chlorotoluron	chlorpyrifos-ethyl	PFBS
aténolol	cyfluthrine	canrénone / spironolactone	PFDA
atrovastatine	cyperméthrine	cortisone	PFHpA
bézaflibrate	DCPMU	de xamethasone	PFHpS
bisoprolol	DEA	DHA	PFHxA
caféine	DIA	DHEA	PFHxS
carbamazépine	diazinon	dihydrotestostérone DHT	PFNA
cétirizine	dichlorvos	hydrocortisone	PFOA
cloprogrel	difencozazole A B	hydroxydihydroprogesterone DHP	PFOA
diclofénac	diflufenican	hydroxyprogesterone OHPn	PFPeA
disopyramide	diméthachlore	No rethindrone	
fluoxétine	diuron	Levonorgestrel	
gabapentine	DMSA	norgestimate	
gemfibrozil	DMST	OH-progesterone-cap	
hydroxy-ibuprofène	endosulfan	prednisone	
ibuprofène	epoxiconazole	pregnenolone Pn	
kétoprofène	esfenvalerate + fenvalerate	progesterone Pg	
lamivudine	famoxadone	4-nonylphénol (mélange isomères)	
levetiracetam	fenbucoazole	4-tercylphénol	
lorazépam	fipronil	NP1EC	
losartan	fipronil desulfanyl	NP1OE	
méprobamate	fipronil sulfide	NP2OE	
métoprolol	fipronil sulfone	OP1OE	
naproxène	flazasulfuron	OP2OE	
naproxène	fluquincoazole	4MBC	
névirapine	flutriafol	avobenzone	
nor diazepam	glyphosate	EHMC	
oxazépam	hexazinone	octocrylene	
paracétamol	hexazinone	ODPABA	
pravastatine	hydroxy-simazine	oxybenzone	
primidone	imidacopride	benzyl paraben	
propranolol	isoprotruron	butyl paraben	
ranitidine	lambda-cyhalothrine	ethyl paraben	
ritonavir	linuron	isobutyl paraben	
scotalol	mancozèbe	isopropyl paraben	
théophylline	métolachlore	methyl paraben	
zidovudine	métolachlore ESA	pentyl paraben	
di(2-éthylhexyl) phthalate	métolachlore OXA	propyl paraben	
BPA	ométhoate		
chlorhexidine	perméthrine		
triclosan	propiconazole		
	simazine		
	spiroxamine		
	tau-fluvalinate		
	tebuconazole		
	terbutylazine		
	terbutryne		
	terbutylazine desethyl		
	tetraconazole		
	trifloxystrobine		
	trifluraline		

Dégradation en milieu contrôlé

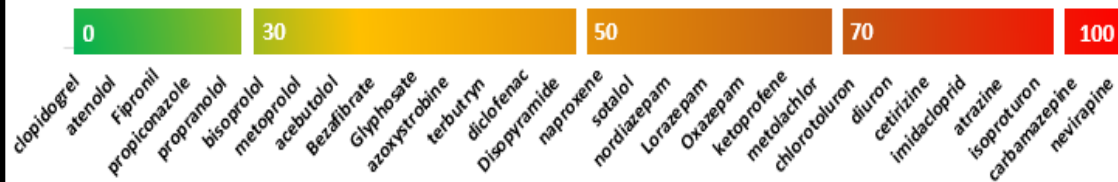
Eaux de l'estuaire de Seine (bouchon vaseux) + Effluent de STEU



Analyses ciblées



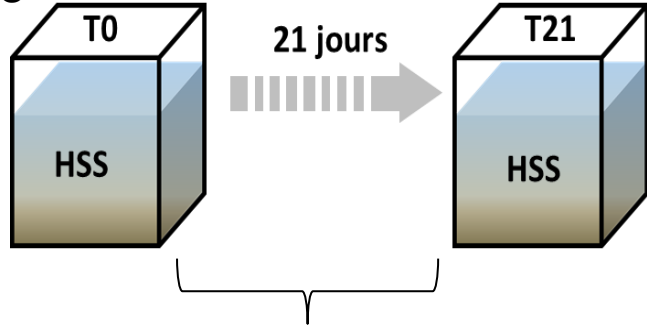
Moyenne de tous les aquariums
Echelle relative de stabilité en Seine



Persistence en phase dissoute

Dégradation en milieu contrôlé

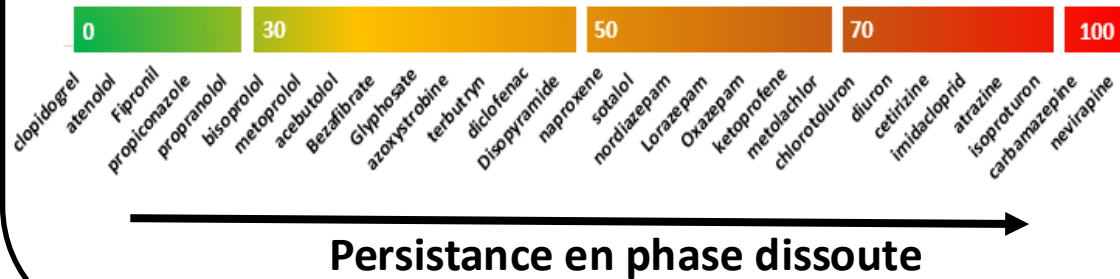
Eaux de l'estuaire de Seine (bouchon vaseux) + Effluent de STEU



Analyses ciblées



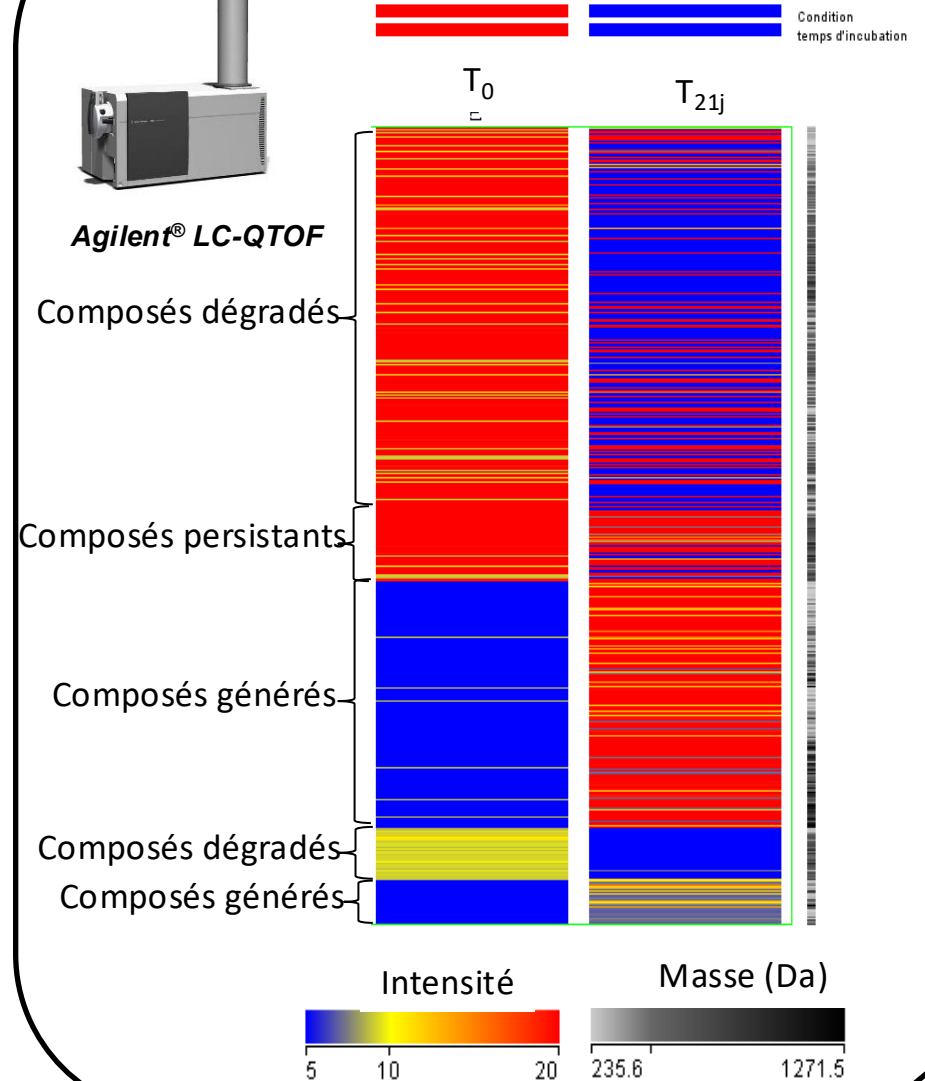
Moyenne de tous les aquariums
Echelle relative de stabilité en Seine



Analyses non ciblées



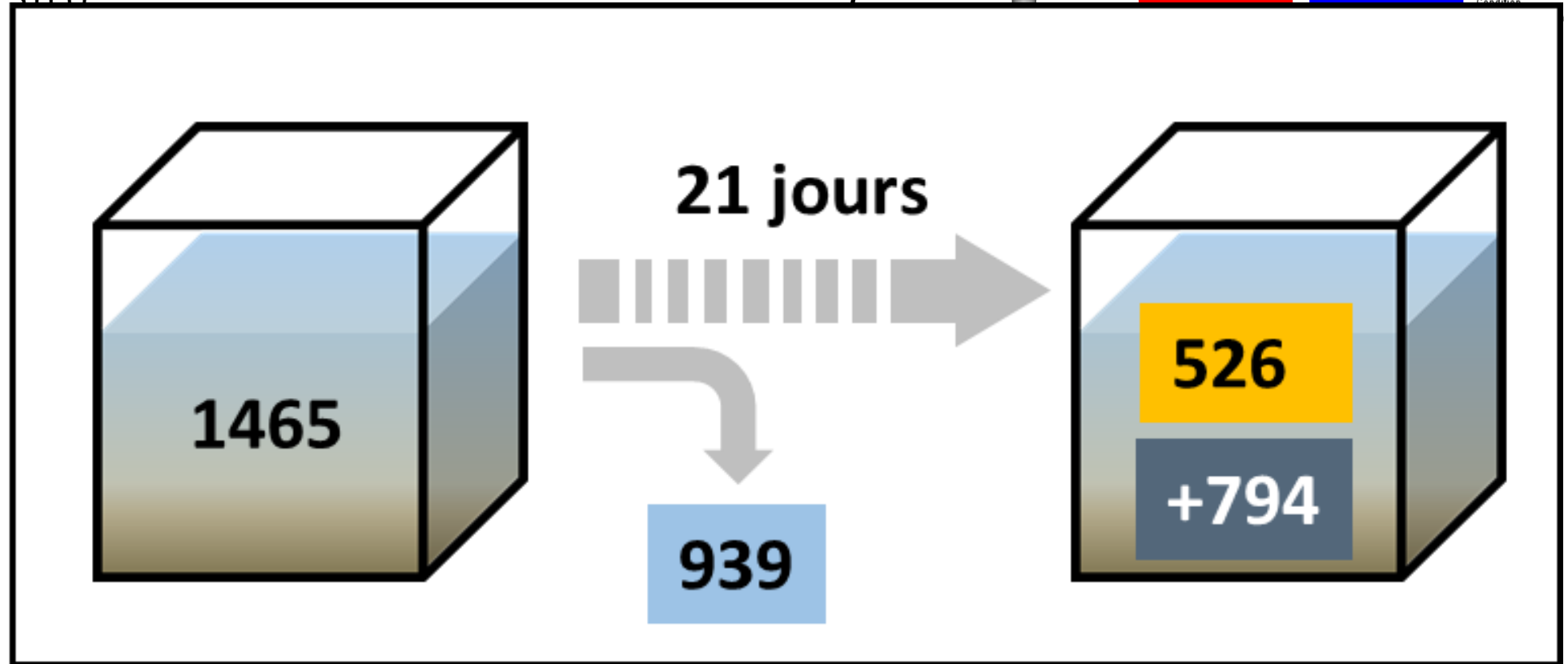
Agilent® LC-QTOF



Dégradation en milieu contrôlé

Eaux de l'estuaire de Seine (bouchon vaseux) + Effluent de STELL

Analyses non ciblées

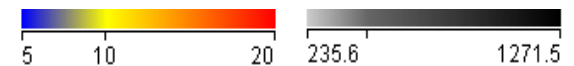


■ éliminées

■ Persistantes

■ nouvellement détectées

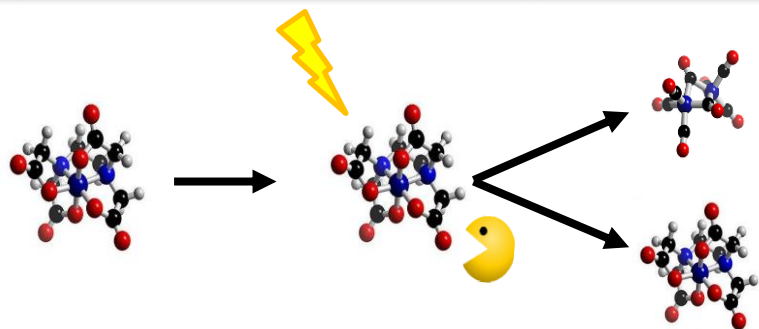
persistance en phase dissoute



L'identification – cas des produits de transformation

- Etablissement d'une liste de suspects basée sur les produits de transformation (PT) connus et référencés ou sur des transformations supposées théoriques (oxydation, hydrolyse, ...)

Recherche de PT par expérimentation et par simulation

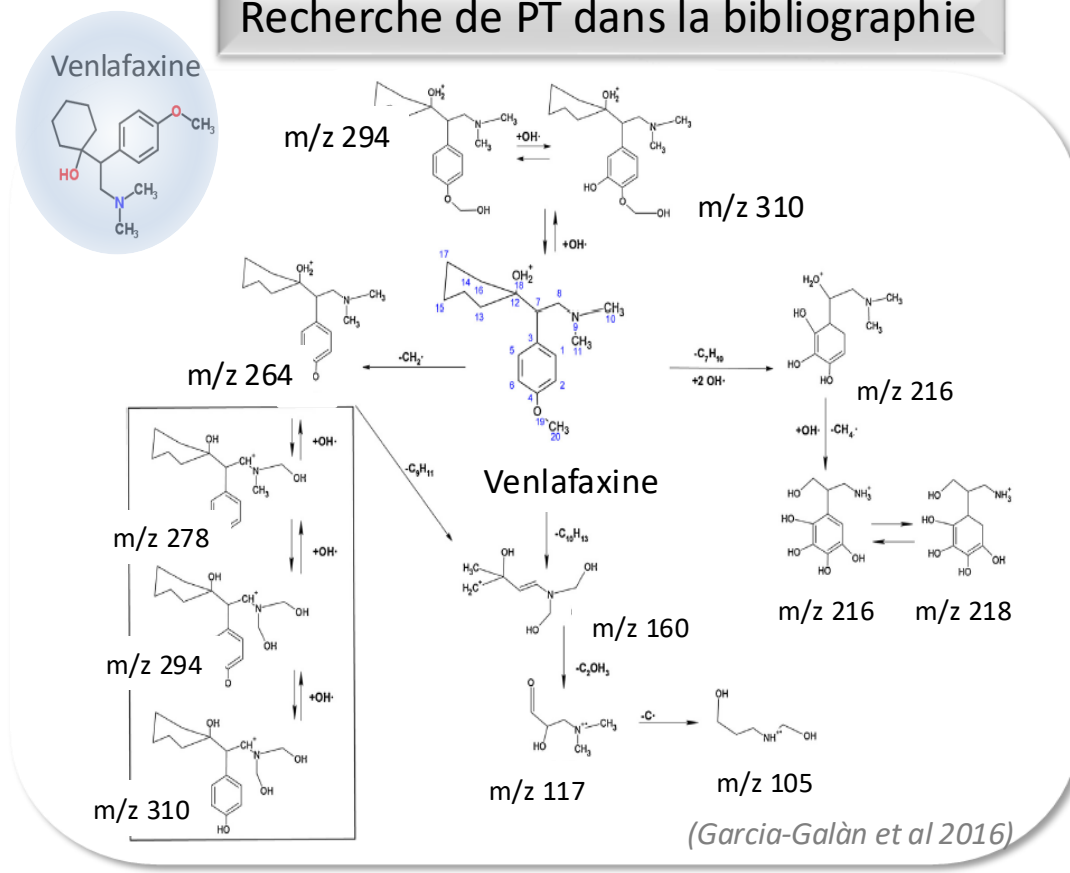


- Création de produits de transformation
- Identification de produits de transformation

Et/ou

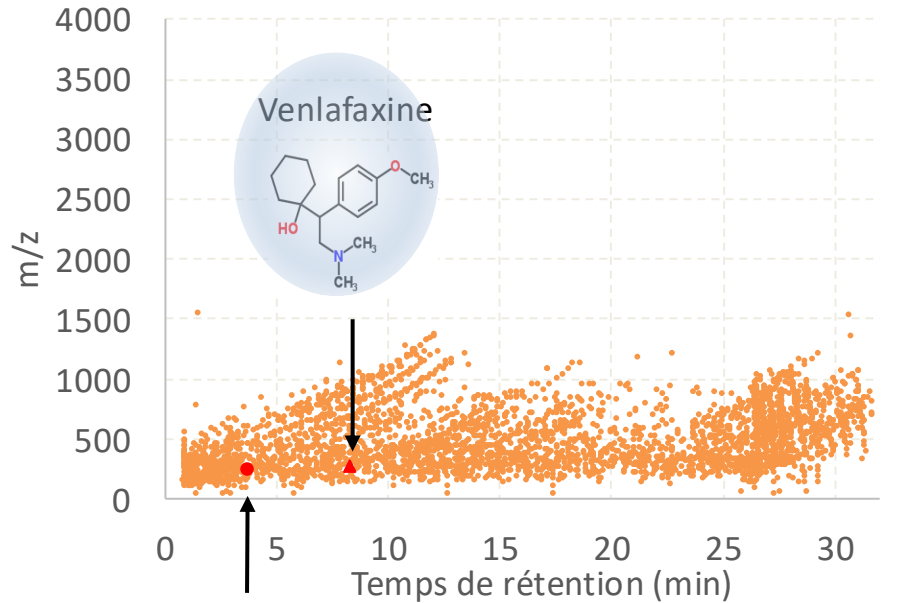
- Etablir des listes de suspects artificiels basés sur les processus de transformation

Recherche de PT dans la bibliographie

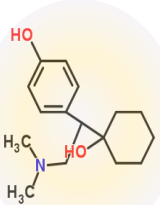
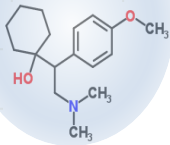


L'identification – cas des produits de transformation

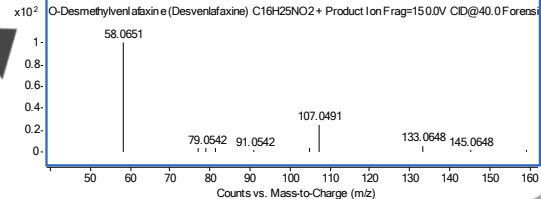
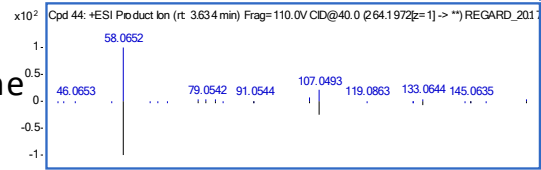
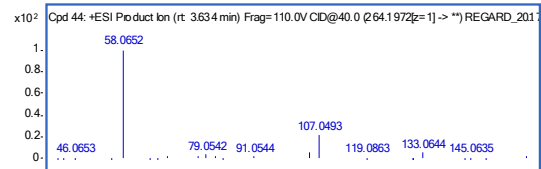
Produits de transformation suspectés



Venlafaxine



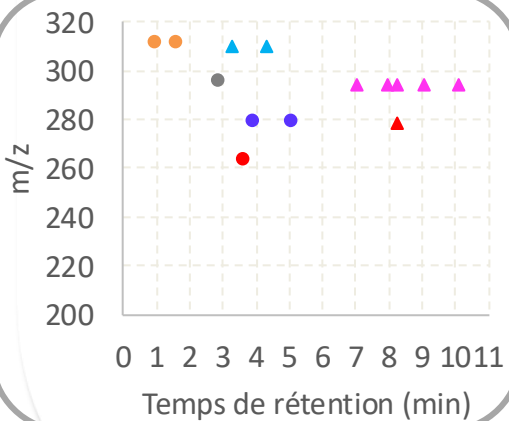
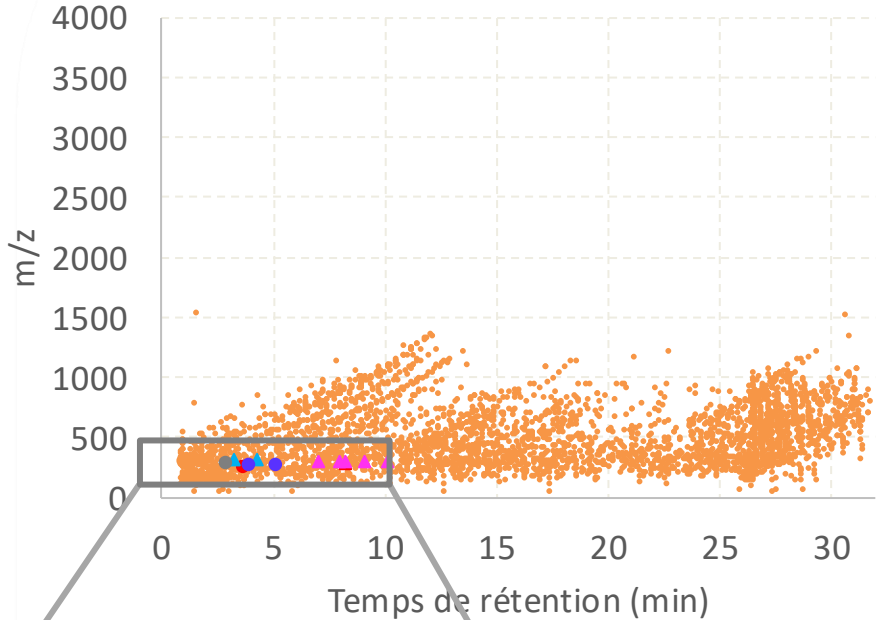
O-Desméthylvenlafaxine



- Identification de la venlafaxine et de son produit de transformation le o-desméthylvenlafaxine dans un effluent de STEU

L'identification – cas des produits de transformation

Produits de transformation suspectés

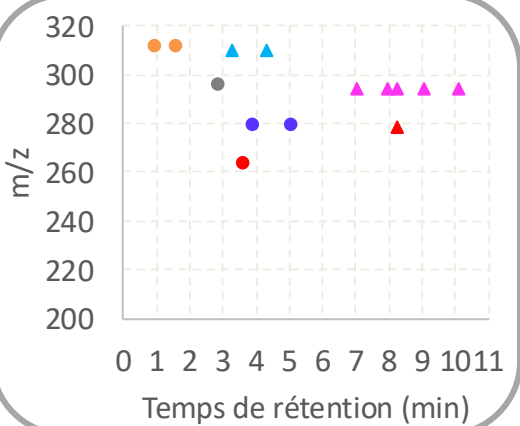
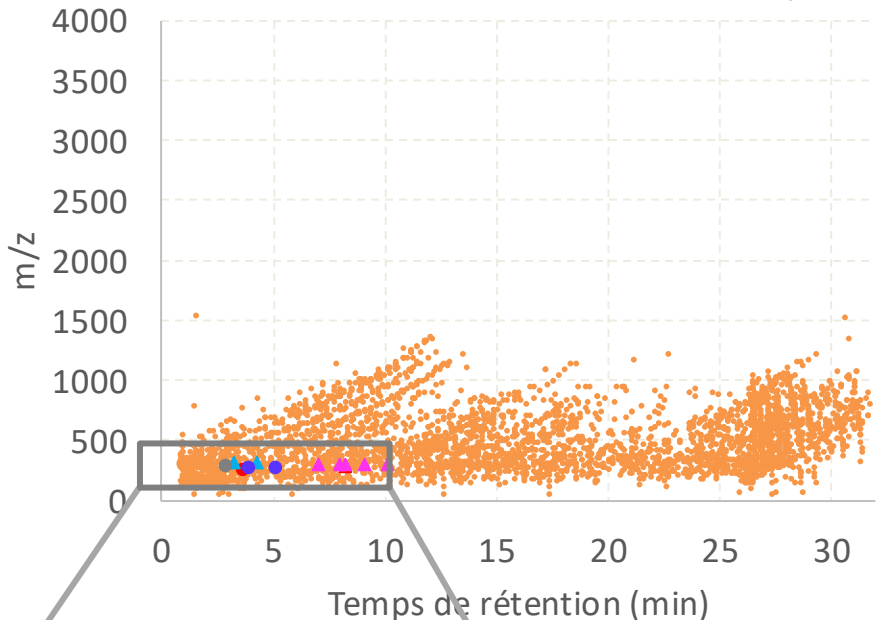


	Produits	[M+H] ⁺
Venlafaxine	DVFX	264.1958
	PT294	294.2053
	PT310	310.2008
	PT216	216.086
	PT218	218.1012
DVFX	PT280	280.1903
	PT296	296.1852
	PT312	312.1799

- Identification de la venlafaxine et de son produit de transformation le o-desméthylvenlafaxine dans un effluent de STEU
- Détection de différentes masses pouvant correspondre à d'autres produits de transformation

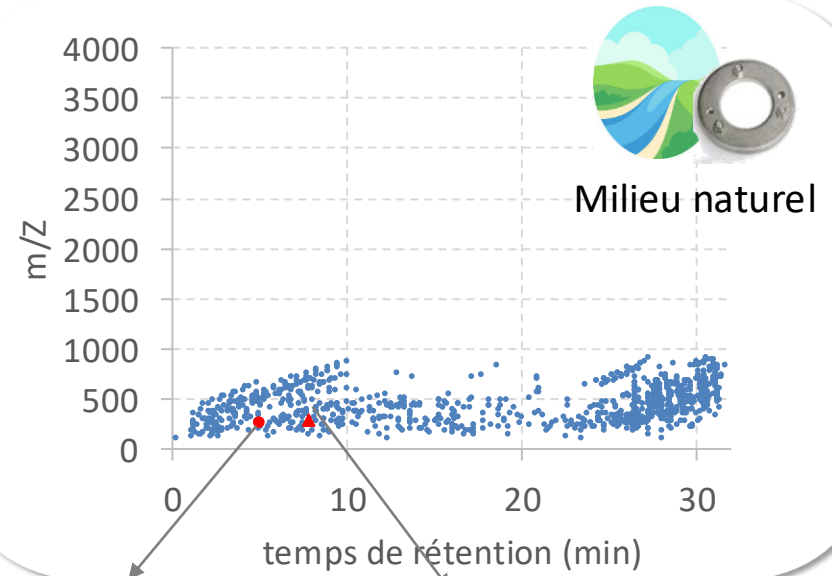
L'identification – cas des produits de transformation

Produits de transformation suspectés



	Produits	[M+H] ⁺
Venlafaxine	DVFX	264.1958
	PT294	294.2053
	PT310	310.2008
	PT216	216.086
	PT218	218.1012
DVFX	PT280	280.1903
	PT296	296.1852
	PT312	312.1799

- Identification de la venlafaxine et de son produit de transformation le o-desméthylvenlafaxine dans un effluent de STEU
- Détection de différentes masses pouvant correspondre à d'autres produits de transformation
- Détection des deux composés dans le milieu naturel



m/z 264
(O-desméthylvenlafaxine)

m/z 278 (venlafaxine)

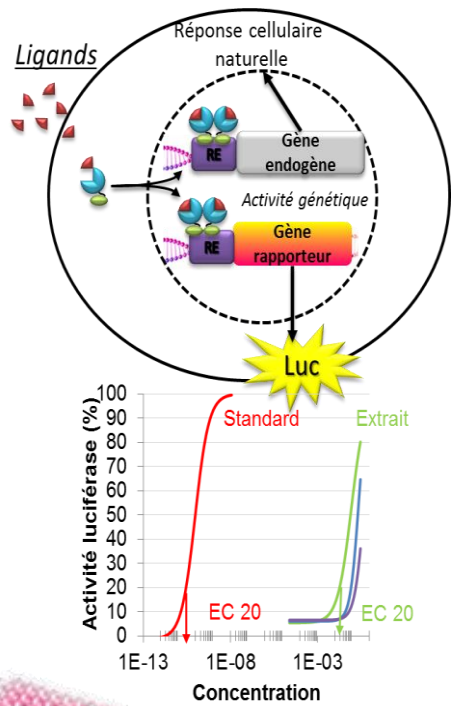
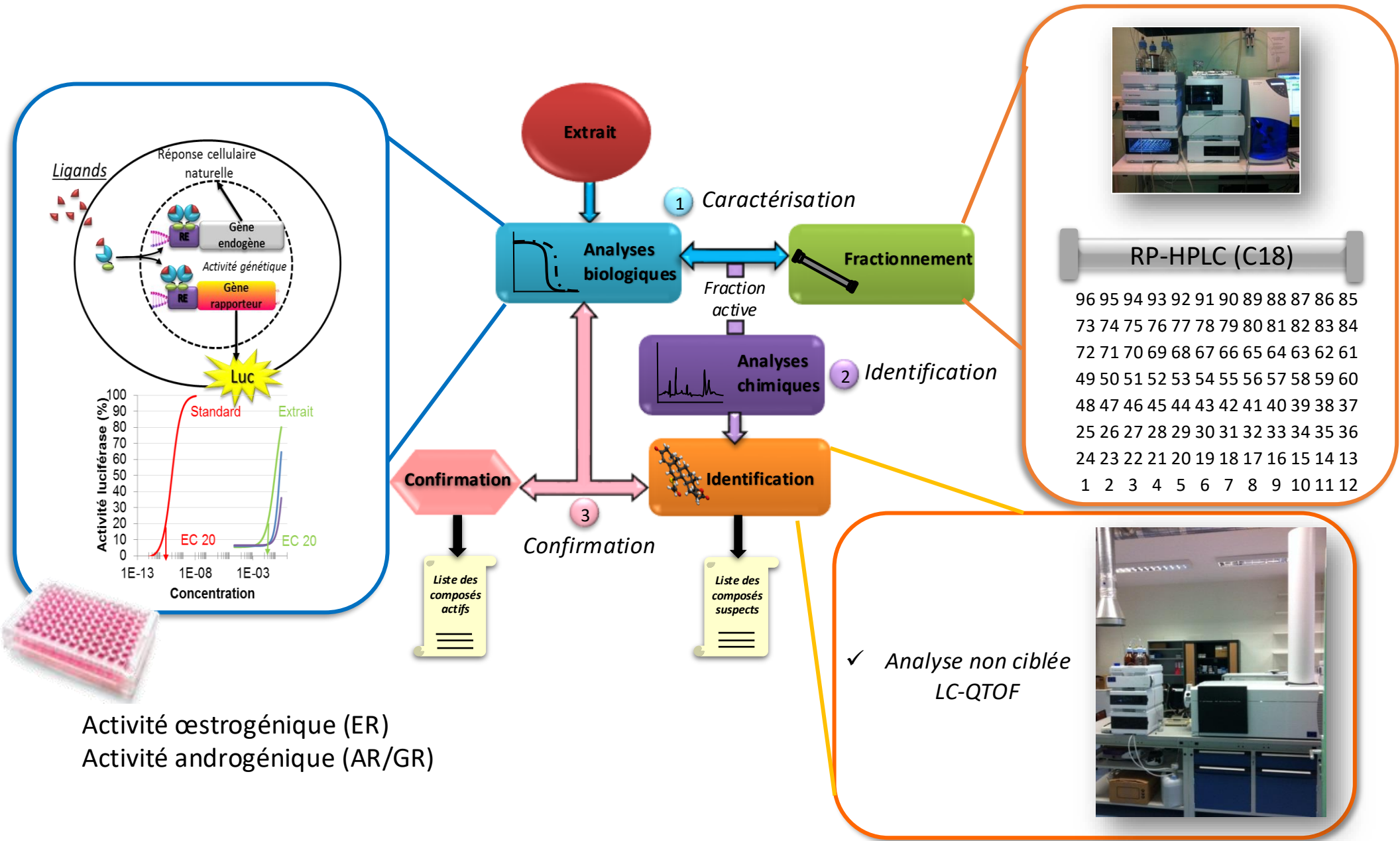
CONCLUSION ET BESOINS

- Mise en évidence d'un grand nombre de composés (de + en +)
- Généralisation de la contamination
- Caractérisation de mélanges de plus en plus complexes
- Capacité d'adresser les faibles concentrations

Mais

- Impossible de tout caractériser – Effet mélange
- Produits de transformation
- Variabilité
- Long terme - Fenêtre d'exposition
- Lien présence/effet?

Approche EDA (Effect Directed Analysis)



Activité œstrogénique (ER)
 Activité androgénique (AR/GR)



Merci pour votre attention

LA RÉDUCTION DE LA POLLUTION À LA SOURCE
ÇA MARCHE JAMAIS ...

