

Contexte : La pollution, une dégradation de notre écosystème environnemental

L'état actuel de pollution des eaux environnementales par les rejets industriels, les produits phytosanitaires et les médicaments est une réelle préoccupation de santé publique. Traditionnellement, les analyses réglementaires sont réalisées sur des spectromètres de masse de type triple quadripôles en mode MRM (Multiple Reaction Monitoring). Bien que ces appareils soient sensibles, spécifiques et quantitatifs, le nombre de molécules détectées en une seule analyse est rarement supérieure à 200. Ces analyses sont restreintes à une liste préétablie de molécules cibles et par ailleurs ne se préoccupent peu ou pas des résidus médicamenteux ou de métabolites. Les approches métabolomiques, avec l'aide de la spectrométrie de masse à ultra-haute résolution pourraient permettre une analyse exhaustive des polluants.



Objectif : Utiliser la métabolomique par spectrométrie de masse haute résolution pour la réalisation d'une empreinte globale

- Haute résolution = richesse d'informations

- Recherche ciblée large spectre
- Recherche de molécules inconnues ou inattendues
- Analyse globale : recherche de signaux suspects

Plusieurs fouilles de données successives

Démarche : Développement de l'analyse ciblée

- Achat des standards**
 - 820 molécules sélectionnées parmi les plus préoccupantes : pesticides, médicaments, perturbateurs endocriniens
- Réalisation d'une banque de données spectrales MS et MSMS (technologie Orbitrap™)**
 - Passage individuel des molécules solubilisées en FIA-HRMS
 - Recensement des ions principaux : adduits et fragments en source
- Sélection de la colonne chromatographique**
 - 4 colonnes testées : Waters BEH C18, HSS T3 et HSS PFP et Thermo Hypersil Gold C18
 - Optimisation des conditions de pH des solvants
- Sélection d'une cartouche de pré-concentration en ligne**
 - Utilisation de la cartouche Oasis HLB (seule disponible sur le marché en haute pression >1000 bars)

5. Retraitement des données : exemple d'annotation automatique confirmée pour 2 molécules

10 réplicats analytiques

Traitement du signal → XCMS

Peaktable

Annotation
Ion principal

Confirmation
Adduits
Fragments
Massif isotopique

Critères de sélection :

- ✓ Nombre de molécules retrouvées
- ✓ Répétabilité
- ✓ Sensibilité

Molécule 1

Molécule 2

Développement d'une méthode permettant l'analyse de 560 molécules en 36 minutes sur 5mL d'eau

Résultats : exemple d'une analyse réalisée sur 30 eaux du robinet de la région parisienne

Lieu de prélèvement

Nombre de molécules retrouvées

Nombre de pesticides retrouvés

- Atrazine-desethyl
- Atrazine
- Atrazine-2-hydroxy
- Hexazinone
- Propazine
- Oxadixyl
- Simazine
- Terbutylazine
- Terbutylazin-desethyl
- Tebuthiuron
- Metolachlor
- Metaxyl
- Metazachlor

Nombre de médicaments retrouvés

- Valsartan
- Verapamil
- Carbamazepine
- Spiramycin
- 10-11-Epoxycarbamazepine
- Clotriazole
- Ketoprofen
- Zolpidem
- Quetiapine

Chemical structures and names:

- Atrazine: CC1=NC2=C(N1)N=CN=C2N (Herbicide, interdit depuis 2003)
- Metolachlor: CC1=CC=C(C=C1)C(=O)N2C=CC=C2Cl (Herbicide, interdit depuis 2003)
- Valsartan: C1=CC=C2C(=C1)C(=O)N3C(=O)C=C(C2)N3 (Hypertenseur, Insuffisance cardiaque)
- Carbamazepine: C1=CC=C2C(=C1)C(=O)N3C=CC=C23 (Antiépileptique)
- Zolpidem: CC1=CC=C(C=C1)C2=CC=C(C=C2)N3C(=O)C=C(C3)N (Sédatif - Hypnotique)

- ✓ Toutes détectées en dessous des limites réglementaires (0.1µg/L/molécule)
- ✓ Interrogation quant à l'effet cocktail
- ✓ Présence de métabolites
- ✓ Présence de molécules interdites depuis 10 ans

Conclusion - Perspectives

Le développement d'une méthode d'analyse de l'eau basée sur les approches métabolomiques permet la détection simultanée de 560 molécules (308 médicaments et 252 pesticides) en une seule acquisition sur un échantillon de 5 mL. Les premiers résultats acquis sur 30 eaux du robinet de la région parisienne montrent une pollution moyenne de 15 molécules par échantillon dont 20% de résidus de médicaments et 80% de pesticides. Cette méthode est en cours de validation en vue d'une accréditation pour un nombre total qui devrait atteindre 800 molécules cibles. En parallèle, l'analyse sans *a priori* des spectres de masse en ultra-haute résolution devrait permettre la détection de contaminations non suspectées ou accidentelles.