

Produits de transformation – un risque pour l'environnement ?

Une fois rejetés dans le milieu naturel, les produits chimiques peuvent être transformés en substances plus stables, plus solubles et parfois même plus toxiques que leur composé d'origine. L'Eawag travaille au développement de méthodes permettant une meilleure évaluation de ces produits de transformation.

La dégradation d'un composé chimique dans l'environnement ne conduit pas toujours à sa minéralisation totale et rapide mais peut au contraire donner naissance à des produits de transformation relativement stables. C'est souvent ce qui arrive aux substances dites actives comme les pesticides, les médicaments et les produits biocides qui présentent des structures relativement complexes et demandent donc une dégradation par étapes. Un suivi sur plusieurs années des produits de transformation stables des pesticides dans les eaux superficielles et les eaux souterraines des USA [1] et certaines observations faites en Suisse [2] confirment la réalité de ce phénomène.

La structure des produits de transformation est encore souvent très proche de celle de leur composé d'origine. De polarité

généralement plus élevée, ils sont cependant plus solubles dans l'eau et se déplacent ainsi plus facilement dans les eaux superficielles et souterraines. En général, les modifications structurales n'augmentent que très rarement la toxicité des composés qu'elles ont plutôt tendance à maintenir ou à faire baisser. Pour les produits de transformation stables des composés polaires comme les pesticides, les médicaments et les biocides, cette toxicité résiduelle plus ou moins forte implique d'une part qu'ils contribuent quantitativement à la pollution chimique des eaux, d'autre part qu'ajoutés aux composés de départ, ils peuvent induire une augmentation globale de l'effet toxique dans l'eau.

Ces aspects doivent être pris en compte aussi bien dans l'évaluation de la qualité chimique des eaux – par exemple dans le cadre de la directive cadre sur l'eau de l'Union européenne (UE) – que dans l'évaluation prospective des risques liés aux substances chimiques. Une lecture des textes européens révèle cependant que les directives ne contiennent, à part pour les pesticides, aucune recommandation explicite en la matière. Par voie de conséquence, les connaissances sur la nature des produits de transformation susceptibles d'être rencontrés dans nos milieux aquatiques sont tout aussi fragmentaires que sur leur contribution probable au niveau de pollution global des eaux.

Pour tenter de combler cette lacune, nous avons lancé un nouveau projet de recherche intitulé KoMet (Méthodes combinées d'analyse et de modélisation des produits de transformation des polluants dans les milieux aquatiques) pour mettre au point une série de méthodes d'analyse et de modélisation des produits de transformation. Le projet KoMet est intégré au projet « Stratégie MicroPoll » de l'Office fédéral de l'environnement OFEV.

Est-il possible de prédire la formation des produits de transformation potentiels ? Les produits de transformation des polluants peuvent se former de multiples façons dans l'environnement. En dehors de la voie chimique qui met en jeu des réactions d'hydrolyse, d'oxydoréduction ou encore de photolyse, la biodegradation par catalyse enzymatique joue un rôle important. En particulier les composés rencontrés dans le milieu aquatique, qui



Kathrin Fenner, chimiste, est chef du groupe « Chemical Fate Modeling » du département de Chimie de l'environnement de l'Eawag et maître assistante à l'ETH de Zurich. Coauteurs : Susanne Kern, Judith Neuwöhner, Heinz Singer, Beate Escher, Juliane Hollender

La détection de produits de transformation inconnus

Il n'existe aucun standard pour la plupart des produits de transformation potentiellement concevables. Or l'identification des composés chimiques dans les échantillons naturels nécessite habituellement le recours à de tels standards. Pour contourner ce problème, nous avons développé une méthode d'analyse qui livre suffisamment d'informations pour attribuer de façon assez fiable un signal donné à une structure chimique donnée. Dans la méthode de spectrométrie de masse à haute résolution, les composés sont détectés au vu de leur masse à un tel degré d'exactitude que seul un très petit nombre de structures moléculaires peut lui correspondre. D'autres indices sont cependant encore nécessaires pour s'assurer qu'un signal mesuré correspond bien au métabolite postulé. C'est pourquoi nous avons considéré deux paramètres supplémentaires : le temps de rétention en chromatographie en phase liquide, qui donne une indication de la polarité de la molécule, et les spectres des fragments en spectroscopie de masse en tandem, qui livrent des informations supplémentaires sur la structure du composé.

transitent généralement par le biais du sol ou des stations d'épuration, subissent souvent dans ces compartiments une dégradation par la flore bactérienne et/ou fongique.

Dans un projet commun avec l'université du Minnesota et l'université technique de Munich, nous travaillons au perfectionnement d'un système expert informatique [3] qui permet de prédire la formation des produits typiques de transformation microbienne. Ce système est basé sur des règles de transformation définies suite à l'observation expérimentale de processus de dégradation. Ces règles reconnaissent les unités structurales présentes dans les molécules et simulent la formation des produits de transformation possibles. Le grand nombre de règles utilisables conduit à la prédiction rapide d'une multitude de produits – dont certains n'ont jamais été observés et ne le seront probablement jamais. Pour réduire le nombre des produits de transformation prédictibles aux plus probables, nous avons défini une série de règles préalables qui fixent les priorités entre les différentes règles utilisables.

Le système expert prédit ainsi sans priorisation des règles 12 produits de transformation possibles pour l'aténolol – un bêta-bloquant qui ralentit le rythme cardiaque (Fig. 1). L'utilisation des règles de priorisation permet de réduire ce nombre à 6. La voie expérimentale permet principalement d'en identifier un, l'acide d'aténolol, qui se forme par hydrolyse enzymatique. Dans le cas de 47 autres médicaments et pesticides, le nombre de produits de transformation prédits a également pu être réduit de 16 % en moyenne sans qu'aucun produit connu n'ait été éliminé par erreur de la liste des possibles [4].

Recherche ciblée de produits de transformation. Les prédictions du système expert pourraient maintenant être utilisées pour la recherche ciblée de certains produits de transformation, que ce soit dans le cadre d'essais de biodégradation en conditions contrôlées ou dans les échantillons naturels. Une analyse de traces devient en effet possible une fois que les composés

recherchés ont été caractérisés. Mais ces techniques font aussi appel à des standards, formes ultra-pures des composés recherchés qui permettent d'étalonner la méthode analytique afin de détecter les substances correspondantes dans l'échantillon. Or il n'existe généralement pas de standards disponibles pour les produits de transformation potentiels prédits. Pour contourner ce problème, nous avons développé une méthode analytique basée sur la spectrométrie de masse à haute résolution qui se passe du recours aux standards (cf. encadré p. 15). Grâce à cette technique, nous avons déjà pu identifier pour trois médicaments quatre nouveaux produits de transformation jusque là inconnus formés, conformément à la prédiction du système expert, au sein de réacteurs contenant des boues d'épuration utilisés dans le cadre d'essais de biodégradation (Fig. 2).

Produits de transformation : une importance non négligeable dans le milieu aquatique. Mais il importe bien plus que d'identifier les produits de transformation formés au cours d'essais de laboratoire, de savoir combien d'entre eux, et lesquels, sont susceptibles d'être rencontrés dans le milieu aquatique. Pour un total de 52 pesticides, biocides et médicaments couramment utilisés en Suisse et représentant différentes classes chimiques, nous avons établi à l'aide de notre système expert une liste de près de 1800 produits de transformation possibles. 19 d'entre eux ont effectivement pu être identifiés dans 6 échantillons représentatifs prélevés dans des cours d'eau suisses de taille moyenne. Du côté des pesticides, nous avons détecté tout autant des produits de transformation bien connus (la deséthylatrazine ou le métolachlore-ESA par ex.) que des produits de transformation n'ayant jusque là été observés qu'en laboratoire ou très rarement en conditions naturelles (produits de transformation du fongicide azoxystrobine et des herbicides chloridazon, métamitron et métribuzine). Les produits de transformation détectés dans le cas des médicaments étaient généralement les mêmes que ceux habituellement générés par le métabolisme humain. Mais en plus

Fig. 1 : Produits de transformation du bêta-bloquant aténolol prédits par le système expert. La molécule sur fond orange correspond au métabolite le plus fréquemment formé dans l'environnement, l'acide d'aténolol.

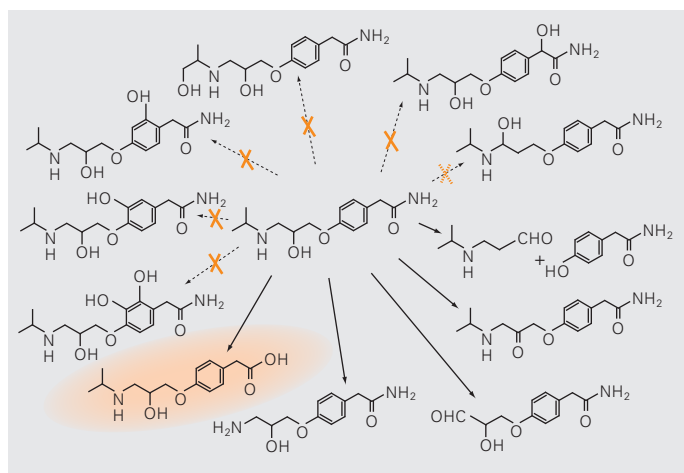
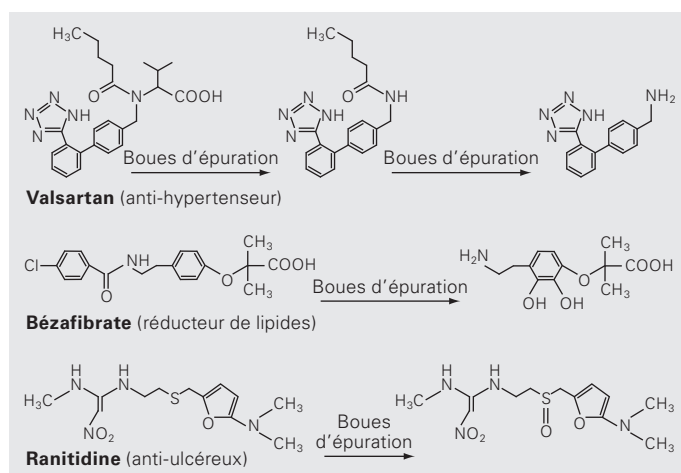


Fig. 2 : Quatre nouveaux produits de transformation de médicaments tout d'abord prédits par le système expert puis effectivement mis en évidence dans des essais de dégradation.





Prédiction de produits de transformation potentiels à l'aide d'un système expert informatique.

de cette voie, il est tout à fait possible qu'une partie d'entre eux ait été produite en station d'épuration puisque le système expert en prévoit la formation par dégradation microbienne. Dix autres produits de transformation n'ont pas été directement mis en évidence par notre méthode car présents en concentrations trop faibles, mais leur détection a été possible grâce à l'existence de standards leur correspondant.

Dans l'ensemble, notre étude montre que les produits de transformation des polluants ne sont pas présents dans les eaux superficielles suisses à une fréquence inattendue ou à des teneurs particulièrement élevées. Nous avons cependant détecté pour environ la moitié des substances actives étudiées un ou deux produits de transformation dont la stabilité et la mobilité devraient être assez importantes. Les produits de transformation des polluants constituent donc des contaminants supplémentaires non négligeables dans le milieu aquatique même s'ils ne devraient pas représenter un problème insurmontable.

Quelle est la contribution des produits de transformation à la toxicité totale du milieu? On considère souvent qu'un métabolite ne pose réellement de problème que si sa toxicité est

au moins aussi élevée que celle du polluant d'origine. Pour les 37 pesticides étudiés, seuls 30 % des produits de transformation caractérisés répondent à ce critère [5]. Etant donné, toutefois, que les produits de transformation apparaissent généralement en compagnie du composé d'origine et qu'ils présentent au moins en partie le même mode d'action, leur contribution à l'action toxique totale ne saurait être négligée.

Dans la partie de notre projet consacrée aux effets des polluants, nous avons donc cherché à savoir comment profiter du savoir disponible sur la toxicité du composé d'origine pour évaluer celle des produits de transformation. Nombre de substances actives exercent sur certains organismes une toxicité dite spécifique (interactions avec le système enzymatique, réactions avec l'ADN ou certaines protéines etc.). Cela signifie qu'ils présentent une toxicité supérieure à la toxicité minimale que chaque produit chimique développe en s'incorporant dans la membrane cellulaire des organismes dont il peut perturber les fonctions. La toxicité minimale d'un composé dépend de son degré de lipophilie (capacité à se dissoudre dans les graisses) et peut donc être facilement déduite de sa structure. Il est donc fort probable que la toxicité des produits de transformation se situe entre cette toxicité minimale

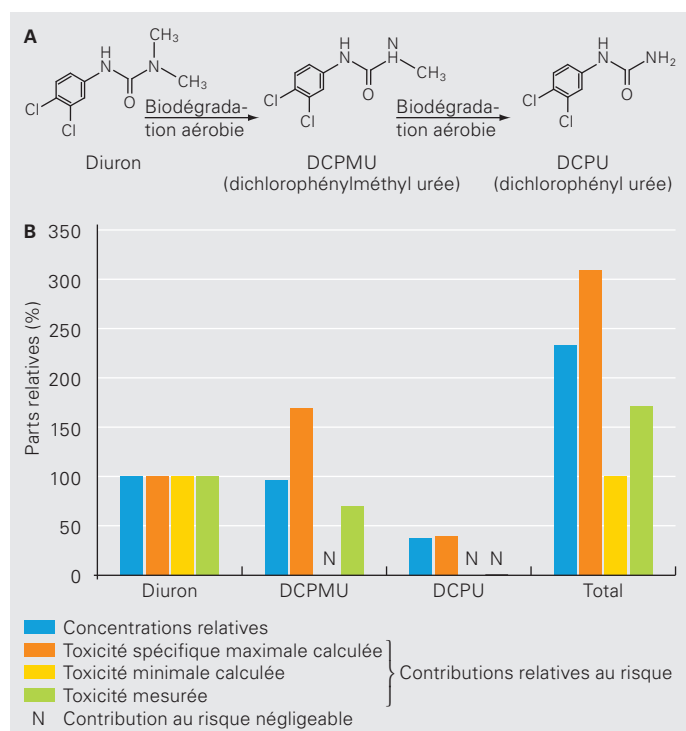


Fig. 3: (A) Formation des sous produits DCPMU et DCPU par dégradation microbienne du pesticide diuron. (B) Concentrations mesurées et contributions prédites et mesurées du diuron, du DCPMU et du DCPU au risque environnemental lors d'une pluie de septembre. Les valeurs du DCPMU et du DCPU sont exprimées par rapport à celles du diuron fixées à 100 %.

et la toxicité spécifique du composé d'origine. Il est ainsi possible, sur la base du caractère lipophile des produits de transformation, de définir un domaine probable de concentrations effectives exprimées sous la forme de CE_{50} (concentration provoquant des effets chez 50 % des organismes exposés).

Ce calcul est ici présenté dans le cas d'un herbicide, le diuron, et de deux de ses principaux produits de transformation, le DCPMU et le DCPU (Fig. 3A). En tant qu'herbicide, le diuron agit spécifiquement sur les algues et c'est donc sur ce groupe d'organismes que l'évaluation du risque environnemental a été menée. Entre le printemps et l'automne 2008, nous avons déterminé les concentrations de diuron et de ses produits de transformation dans un tributaire du lac de Morat, la Petite Glâne, au cours de fortes pluies. Nous avons alors constaté que, lors d'une pluie de septembre, les produits de transformation représentaient plus de 50 % de la concentration totale (Fig. 3B, colonnes bleues). Leur contribution au risque environnemental peut être évaluée par le quotient des concentrations mesurées et des CE_{50} prédites. Nos calculs font état d'un risque majoré de 210 % si on tient compte des produits de transformation dans l'évaluation en supposant qu'ils présentent eux aussi une action spécifique d'inhibition de la photosynthèse (colonnes oranges). Dans le cas où les produits de transformation perdent cette activité spécifique et ne conservent que leur toxicité minimale, leur prise en compte influe très peu sur

le risque environnemental estimé (colonnes jaunes). Pour vérifier la plausibilité de cette évaluation maximale ou minimale, nous avons représenté la contribution au risque à l'aide des valeurs de CE_{50} obtenues expérimentalement (colonnes vertes). L'augmentation du risque environnemental alors obtenue est de 70 %. Cet exemple montre ainsi que notre méthode contribue efficacement à l'identification des produits de transformation potentiellement dangereux et que, dans certains cas, la présence de ces produits de transformation peut considérablement accroître le risque environnemental global.

Les produits de transformation doivent être pris en compte dans l'évaluation des substances chimiques.

Dans l'ensemble, nos études ont montré que les produits de transformation des pesticides, des biocides et des médicaments n'apparaissent pas dans les eaux de surface suisses à une fréquence inattendue ni à des concentrations particulièrement élevées. Nous avons toutefois détecté pour la moitié des composés étudiés un ou deux produits de transformation qui, comme dans le cas du diuron, peuvent tout à fait contribuer à une augmentation des effets causés par les produits chimiques dans l'eau. Il est difficile d'adopter des mesures adéquates de réduction des rejets de produits de transformation puisqu'ils se forment justement lors de la dégradation souhaitée des polluants d'origine. De plus, ils présentent souvent une mobilité supérieure à leur composé d'origine et diffusent ainsi assez facilement dans les eaux superficielles et souterraines. Il est donc particulièrement important de tenir compte des produits de transformation lors de l'évaluation des substances chimiques. Alors que cette démarche est déjà courante pour les pesticides, elle doit encore être développée concrètement pour les produits chimiques industriels et les médicaments. Pour que cette évolution soit possible, il est nécessaire de poursuivre le développement des modèles jusqu'à un bon niveau d'applicabilité pratique aussi bien pour la prédiction des produits de transformation potentiels que pour l'estimation de leurs concentrations et effets dans l'environnement. ○ ○ ○

- [1] Gilliom R.J., Barbash J.E., Crawford C.G., Hamilton P.A., Martin J.D., Nakagaki N., Nowell L.H., Scott J.C., Stackelberg P.E., Thelin G.P., Wolock D.M. (2006): The quality of our nation's waters – Pesticides in the nation's streams and ground water, 1992–2001. USGS Factsheet 3028, 6 p.
- [2] Kilchmann S., Reinhardt M., Schürch M., Traber D. (2009): Résultats de l'observatoire national des eaux souterraines (NAQUA). Etat et évolution de 2004 à 2006. Office fédéral de l'environnement, Berne, 144 p.
- [3] University of Minnesota Pathway Prediction System, <http://umbdd.msi.umn.edu/predict/>
- [4] Fenner K., Gao J.F., Kramer S., Ellis L., Wackett L. (2008): Data-driven extraction of relative reasoning rules to limit combinatorial explosion in biodegradation pathway prediction. *Bioinformatics* 24, 2079–2085.
- [5] Sinclair C.J., Boxall A.B.A. (2003): Assessing the ecotoxicity of pesticide transformation products. *Environmental Science & Technology* 37, 4617–4625.