

**ÉTUDE DU DEVENIR DES COMPOSÉS PHARMACEUTIQUES CONTENUS DANS LES
EFFLUENTS D'HÔPITAUX APRÈS TRAITEMENT PAR OXYDATION EN VOIE HUMIDE**

par

Cassandra Guérette

Mémoire présenté au Département de chimie en vue
de l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, Novembre 2021

Le 26 novembre 2021

*le jury a accepté le mémoire de Madame Cassandra Guérette
dans sa version finale.*

Membres du jury

Professeur Pedro A. Segura
Directeur de recherche
Département de chimie

Professeure Gessie Brisard
Évaluatrice interne
Département de chimie

Professeur Jean-Philippe Bellenger
Président-rapporteur
Département de chimie

« Rien ne se perd, rien ne se crée : tout se transforme. »
- Lavoisier (1743-1794) -

SOMMAIRE

La présence de produits pharmaceutiques dans les eaux de surface, les eaux souterraines et l'eau potable est une problématique d'intérêt mondial. En effet, il est connu que de nombreuses molécules, utilisées à des fins thérapeutiques, possèdent une toxicité caractéristique, notamment pour la santé des écosystèmes aquatiques, ce qui peut entraîner des répercussions non négligeables, comme l'augmentation ou la diminution de la fécondité chez les poissons ainsi que la résistance aux antibiotiques chez les bactéries. En plus de la contribution vétérinaire et agricole, ce type de contaminants est introduit dans les points d'eau par le biais des stations d'épuration municipales, qui regroupent les effluents domestiques, hospitaliers et industriels. Effectivement, les stations de traitement actuelles ne permettent pas l'élimination complète de ces molécules, puisqu'elles n'ont pas, à l'origine, été conçues à cet effet. Il a été constaté précédemment que les eaux usées d'hôpitaux ont une charge de contaminants plus spécialisée et complexe, en contenant notamment, des résidus de médicaments et leurs métabolites, des microbes pathogènes, des produits radioactifs, des métaux lourds, des produits désinfectants ainsi que plusieurs autres. Il serait donc préférable de traiter plus adéquatement ces effluents avant de les acheminer vers les stations d'épuration municipales, afin de préserver davantage les écosystèmes aquatiques.

Les procédés d'oxydation avancée (en anglais, *Advanced Oxidation Processes*, AOP), dont l'oxydation en voie humide (OVH), sont actuellement parmi les solutions les plus prometteuses en développement pour l'élimination des contaminants contenus dans les eaux usées. Ce type de procédé permet la production d'oxydants puissants, comme le radical hydroxyle ($\text{HO}^\bullet$), à partir de réactifs oxydants primaires (exemples : ozone, peroxyde d'hydrogène et etc.). L'oxydation en voie humide (OVH), à l'étude dans ce mémoire, est un procédé d'oxydation avancée qui utilise seulement l'air comme oxydant et la matrice aqueuse comme milieu réactionnel, sous de hautes pressions et températures. Il a été démontré récemment qu'il est possible d'éliminer des composés pharmaceutiques à un haut rendement ($> 90\%$) avec ce type de traitement. Cependant, des augmentations de toxicité pour les effluents traités ont été observées chez le crustacé *Daphnia magna* et la bactérie *Aliivibro fischeri* dans cette précédente étude. La cause de cette toxicité reste inconnue, puisqu'il y a peu d'informations sur le devenir des composés après traitement pour ce type d'échantillon.

Pour faire suite aux conclusions des précédents travaux, les résultats présentés dans ce mémoire font partie d'une première étape dans la compréhension du devenir des contaminants contenus dans les effluents hospitaliers après un traitement par OVH. En effet, d'un point de vue technico-économique, il serait erroné d'utiliser des conditions menant à la minéralisation complète directement à la sortie des hôpitaux. Ceci nécessiterait, notamment, des temps de traitement plus longs ainsi que des températures plus élevées menant à des coûts plus importants. Néanmoins, il a été démontré que l'utilisation de l'OVH, dans des conditions acceptables d'un point de vue technico-économique et où les composés pharmaceutiques sont rapidement éliminés, reste une solution tout à fait pertinente dans un contexte de prétraitement en éliminant des molécules réfractaires aux traitements actuels.

Afin de mieux caractériser le contenu des eaux après traitement par OVH, le premier objectif de ce projet est de développer et d'appliquer une méthode quantitative d'acides carboxyliques à courte chaîne pour faire le suivi du carbone non minéralisé. Quatorze acides carboxyliques (C₁-C₆), identifiés précédemment comme produits lors du traitement par OVH de d'autres types de contaminants organiques, ont été ciblés. Dans cette présente étude, les acides ont été analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) après une dérivation avec l'agent dérivant *N,O*-bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide et le triméthylchlorosilane comme catalyseur (BSTFA + 1 % TMCS). Les méthodes d'analyse ont préalablement été optimisées et ensuite validées à partir des valeurs de limites de quantification (LOQ = 0,05 – 4 mg/L), de précision intra et inter-jour (RSD = 1,7 – 13 %), du recouvrement (31-119 %) et de justesse (biais relatif = -19 – 3,4 %) déterminées et considérées comme acceptables selon les conditions. Une preuve de concept a été effectuée en faisant le suivi de ces petits acides lors du traitement d'une solution concentrée d'acétaminophène dans de l'eau déionisée par OVH. Lors du traitement, 9 des 14 acides ainsi que l'élimination de l'acétaminophène ont été quantifiés selon le temps de traitement. La méthode a ensuite été appliquée avec de la matrice réelle, afin de faire le suivi des produits de transformation lors du traitement d'effluents hospitaliers également par OVH. Dans les deux cas, les analyses ont permis de démontrer que certains acides, comme les acides acétique, succinique et glycolique, étaient formés majoritairement parmi les acides quantifiés. La contribution théorique à la demande chimique en oxygène (DCO) a été également déterminée selon les concentrations des acides quantifiés par rapport aux valeurs expérimentales mesurées. Ceci a permis d'identifier de 35 à 46 % de la DCO mesurée et démontre la nécessité d'étudier davantage

les produits formés. Lors du traitement des effluents réels traités, des analyses non ciblées ont été également effectuées afin d'obtenir davantage d'informations sur les produits. Dans l'échantillon non traité, des acides aminés (alanine et glycine), de l'urée, du glycérol et de la créatinine ont été détectés et identifiés à partir de la banque de données NIST. Après seulement 10 minutes de traitement OVH à 290 °C, les composés observés étaient différents, soit l'acide glycolique, la méthénamine, l'acide benzoïque et l'acide succinique. Les résultats de cette première partie du projet ont été publiés (Cassandra Guérette et al. (2021) *Determination of short-chain carboxylic acids and non-targeted analysis of water samples treated by wet-air oxidation using gas chromatography-mass spectrometry*, Journal of Chromatography A, 1652, 462352, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462352>) et sont présentés au chapitre 3.

Considérant l'augmentation de la toxicité observée précédemment et qu'une partie de la charge organique était encore inconnue à la fin des traitements, le deuxième objectif de ce projet est de faire une étude comparative de composantes organiques et structurales lors du traitement par OVH en couplant la méthode GC-MS avec l'analyse non-ciblée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en temps de vol (LC-QToF). Afin d'avoir une sélectivité des produits issus de la structure et d'éviter les interférences, quatre composés modèles aux caractéristiques différentes, soit la gabapentine, le triméthoprim, le diclofénac et l'acide acétylsalicylique, ont été traités dans l'eau déionisée, soit sans matrice. Dans un premier temps, une méthode de quantification des composés pharmaceutiques utilisant la désorption thermique par diode-laser couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LDTD-QqQMS) a été validée. En raison d'une faible stabilité thermique, l'acide acétylsalicylique a été quantifié par GC-MS selon la méthode développée précédemment. D'autres composés, soit la benzoquinone, l'hydroquinone, l'acide salicylique et le glycérol ont été également ajoutés à la méthode GC-MS. Dans un deuxième temps, les composés pharmaceutiques ont été traités individuellement. Un suivi a été effectué lors du chauffage entre 20 à 290°C et lors de l'oxydation entre 7,5 et 60 minutes. Encore une fois, les composés majoritaires quantifiés étaient les acides acétique et succinique. Afin de recueillir davantage d'informations, des analyses non ciblées par GC-MS et chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en temps de vol (LC-QToF) ont été effectuées. Ces méthodes ont permis d'identifier d'autres produits de transformation, dont le phénol lors du traitement de l'acide acétylsalicylique et d'observer des produits plus près des molécules traitées, comme l'ajout d'un groupement fonctionnel OH sur la structure initiale.

Mots clés : Composés pharmaceutiques, oxydation en voie humide, produits de transformation, chromatographie en phase gazeuse, spectrométrie de masse, oxydation avancée.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, j'aimerais remercier le professeur Pedro A. Segura, mon directeur de recherche, qui m'a donné la chance d'évoluer tant professionnellement que personnellement au sein de son laboratoire et de m'avoir encouragée à toujours ouvrir mes horizons. Je suis très reconnaissante de son soutien et de sa disponibilité, qui m'ont grandement aidée à me dépasser et à accomplir mes objectifs.

J'aimerais également remercier les membres du jury, les professeurs Gessie Brisard et Jean-Philippe Bellenger, qui ont pris de leur temps précieux pour lire et évaluer ce mémoire.

Je tiens à remercier nos collaborateurs du Centre de transfert technologique en écologie industrielle de Sorel-Tracy (CTTÉI), Pascal Lemoine, Pedro Ramirez et Sophie Girard, qui ont su répondre à mes questions concernant l'OVH, qui m'ont aidé lors des expériences avec le réacteur et qui m'ont permis d'avoir un deuxième regard sur le projet. Du côté de l'Université de Sherbrooke, je remercie Philippe Venne, René Gagnon et Michel Trottier pour m'avoir donné de précieux conseils lors du développement analytique et des formations ainsi que François Rivard et Suzanne Lamontagne pour leur aide précieuse. Il est important pour moi de remercier tous mes collègues et stagiaires du groupe de recherche Segura ainsi qu'Annick Dion-Fortier pour les idées partagées, l'aide reçue, le soutien moral et tous les autres beaux moments que nous avons pu passer ensemble en tant qu'équipe des *Isotopes*.

Un merci tout spécial à mes parents, mon frère et mes grands-parents d'avoir cru en moi, de m'avoir toujours encouragée et soutenue tout au long de mes études. Merci également à mes amis pour leurs bons conseils et l'encouragement mutuel.

Enfin, j'aimerais souligner l'apport financier du programme FONCER-Technologies Environnementales de Décontamination et Gestion Intégrée des Eaux et Effluents Résiduaux (TEDGIEER), des Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FRQNT) ainsi que du Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), sans quoi ce projet aurait difficilement pu se concrétiser. Je remercie d'ailleurs le regroupement des écotoxicologues du Québec (ÉcotoQ) pour le complément de bourse.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	IV
REMERCIEMENTS	VIII
TABLE DES MATIÈRES	IX
LISTE DES ABRÉVIATIONS	XII
LISTE DES TABLEAUX	XIII
LISTE DES FIGURES	XIV
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1. NOTIONS SUR L'OXYDATION EN VOIE HUMIDE	8
1.1 Conditions expérimentales	8
1.2 Réactions d'oxydation	9
1.2.1 Étape d'initiation	9
1.2.2 Étape de propagation	10
1.2.3 Étape de terminaison	10
1.3 Efficacité d'élimination	11
1.4 Produits de transformation retrouvés la littérature	12
CHAPITRE 2. MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE	15
2.1 Expériences d'oxydation en voie humide	15
2.1.1 Réacteur OVH	15
2.1.2 Choix des composés pharmaceutiques	15
2.1.3 Concentration initiale des composés à traiter	17
2.1.4 Conditions de chauffage du réacteur	19
2.1.5 Oxydation des échantillons	19
2.2 Quantification des composés pharmaceutiques	19
2.2.1 Analyse de la gabapentine, le triméthoprim et le diclofénac	20
2.2.2 Analyse de l'acide acétylsalicylique	22
2.3. Analyse des produits de transformation	23
2.3.1 Analyses ciblées par GC-MS	23
2.3.2 Analyses non ciblées par GC-MS	24
2.3.3 Analyses non ciblées par LC-QToF	24
2.4 Demande chimique en oxygène	26

2.4.1 Bilan théorique de la demande chimique en oxygène (DCO).....	26
CHAPITRE 3. DÉTERMINATION D'ACIDES CARBOXYLIQUES À COURTE CHAÎNE ET ANALYSE NON CIBLÉE D'ÉCHANTILLONS D'EAU TRAITÉS PAR OXYDATION EN VOIE HUMIDE UTILISANT LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLÉE À LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE	27
Abstract.....	29
1. Introduction	30
2. Material and methods	32
2.1 Chemicals and reagents	32
2.2 Sample preparation.....	34
2.2.1 Volatile acids	34
2.2.2 Semi-volatile compounds.....	34
2.3 Gas chromatography-quadrupole mass spectrometry	35
2.4 Data processing	36
2.4.1 GC-MS acquisition and data treatment.....	36
2.4.2 Method validation and quality control.....	37
2.5 Wet air oxidation conditions	38
2.5.1 Acetaminophen spiked deionized water sample	38
2.5.2 Hospital wastewater sample.....	38
3. Results and discussion.....	39
3.1 Method optimization for volatile compounds	39
3.1.1 Liquid-liquid extraction	39
3.1.2 Heating time.....	40
3.2 Method optimization for semi-volatile compounds	41
3.2.1 Derivatization solvent	41
3.2.2 Heating time.....	42
3.3 Analytical performance of the optimized methods	43
3.4 Applications to monitor transformation products generated by WAO	46
3.4.1 Spiked acetaminophen in water	46
3.4.2 Qualitative and quantitative analysis of hospital wastewater	48
Conclusion	50
Acknowledgment.....	51

CRedit author statement	51
References.....	52
CHAPITRE 4. ÉTUDE DU DEVENIR DE LA GABAPENTINE, DU TRIMÉTHOPRIME, DU DICLOFÉNAC ET DE L'ACIDE ACÉTYLSALICYLIQUE LORS D'UN TRAITEMENT D'OXYDATION EN VOIE HUMIDE.....	54
4.1 Validation des méthodes quantitatives	54
4.1.1 Méthode d'analyse par LD TD-QqQMS.....	54
4.1.2 Composés ajoutés à la méthode GC-MS.....	55
4.2 Élimination des composés pharmaceutiques	56
4.3 Analyses quantitatives des produits ciblés par GC-MS.....	58
4.4 Contribution des produits quantifiés à la DCO.....	61
4.3 Études non ciblées de la gabapentine	64
4.3.1 Analyses non ciblées en GC-MS.....	64
4.3.2 Analyses non ciblées en QToF	66
4.4 Études non ciblées du diclofénac.....	70
4.4.1 Analyses non ciblées en GC-MS.....	70
4.4.2 Analyses non ciblées en QToF	72
4.5 Études non ciblées du triméthoprim.....	76
4.5.1 Analyses non ciblées en GC-MS.....	76
4.5.2 Analyses non ciblées en QToF	78
4.6 Étude de suivi de l'acide acétylsalicylique	83
4.6.1 Analyses non ciblées en GC-MS.....	83
4.6.2 Analyses non ciblées en QToF	85
4.7 Synthèse des informations acquises sur le devenir des contaminants organiques.....	85
4.7.1 Produits généraux observés	85
4.7.2 Influence du choix des molécules traitées.....	86
4.7.3 Pertinence de l'identification des produits intermédiaires	87
CONCLUSION GÉNÉRALE	89
BIBLIOGRAPHIE	92

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AA	Acide acétique
ACT	Acétaminophène
AOP	Procédé d'oxydation avancée (de l'anglais, <i>Advanced Oxidation Process</i>)
APCI	Ionisation chimique à pression atmosphérique (de l'anglais, <i>Atmospheric-Pressure Chemical Ionization</i>)
BSTFA	<i>N,O</i> -bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide
DCO	Demande chimique en oxygène
EI	Impact électronique (de l'anglais, <i>Electron Ionization</i>)
ESI	Ionisation par électronébuliseur (de l'anglais, <i>Electrospray Ionization</i>)
GC	Chromatographie gazeuse (de l'anglais, <i>Gas Chromatography</i>)
GC-MS	Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
LC	Chromatographie liquide (de l'anglais, <i>Liquid Chromatography</i>)
LDTD	Désorption thermique par diode-laser (de l'anglais, <i>Laser-Diode Thermal Desorption</i>)
LDTD-QqQMS	Désorption thermique par diode-laser couplée à la spectrométrie de masse triple quadripôle
MS	Spectrométrie de masse (de l'anglais, <i>Mass Spectrometry</i>)
OVH	Oxydation en voie humide
QToF	Spectrométrie de masse à temps de vol (de l'anglais, <i>Quadrupole Time-of-Flight</i>)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Exemples d'effets de composés pharmaceutiques à concentration environnementale sur des espèces aquatiques.	1
Tableau 2. Taux d'élimination de composés pharmaceutiques selon la saison par étangs aérés situé à Lakefield, Ontario, Canada ²⁰	4
Tableau 3. Produits de transformation de divers composés traités par des AOPs.	13
Tableau 4. Paramètres expérimentaux pour le traitement des composés.	18
Tableau 5. Paramètres MS de la méthode d'analyse par LDTD-QqQMS.	22
Tableau 6. Paramètres des composés ajoutés aux méthodes de quantification existantes.	24
Tableau 7. Gradient des phases A et B utilisé pour l'analyse LC-QToF.	26
Tableau 8. Performance de la méthode LDTD-QqQMS.	55
Tableau 9. Performance de la méthode GC-MS pour les composés ajoutés.	56
Tableau 10. Produits de transformation de la gabapentine détectés par GC-MS.....	64
Tableau 11. Formules moléculaires proposées selon les masses exactes observées en QToF lors du traitement de la gabapentine.....	67
Tableau 12. Produits de transformation du diclofénac détectés par GC-MS.	70
Tableau 13. Formules moléculaires proposées selon les masses exactes observées en QToF lors du traitement du diclofénac.	73
Tableau 14. Comparaison des masses exactes des produits de transformation du diclofénac aux structures proposées dans la littérature.....	74
Tableau 15. Produits de transformation du triméthoprimé détectés par GC-MS.....	76
Tableau 16. Formules moléculaires proposées selon les masses exactes observées en QToF lors du traitement du triméthoprimé.....	79
Tableau 17. Comparaison des masses exactes des produits de transformation du triméthoprimé aux structures proposées dans la littérature.	81
Tableau 18. Produits de transformation de l'acide acétylsalicylique détectés par GC-MS.	83

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Types de traitement d'eaux usées au Québec. Adaptée de ¹⁸ .	3
Figure 2. Schéma simplifié des réactions d'oxydation. Adaptée de ^{25,36,42-44} .	12
Figure 3. Structures des composés pharmaceutiques modèles étudiés.	16
Figure 4. Schéma de la source LDTD, Adapté de ⁵¹ .	20
Figure 5. Schéma du patron laser du LDTD.	21
Figure 6. Taux d'élimination des composés pharmaceutiques étudiés selon la température et le temps de résidence.	57
Figure 7. Suivi des composés ciblés lors du traitement par OVH. a) gabapentin, b) diclofénac, c) triméthoprim et d) acide acétylsalicylique.	59
Figure 8. Contribution théorique des produits de transformation à la DCO mesurée. a) gabapentine, b) diclofénac, c) triméthoprim et d) acide acétylsalicylique.	62
Figure 9. Suivi de l'aire des produits de transformation de la gabapentine observés en GC-MS non ciblée.	65
Figure 10. Suivi de l'aire des produits de transformation de la gabapentine observés en LC-ESI(+)-QToF non ciblée.	69
Figure 11. Suivi de l'aire des produits de transformation du diclofénac observés en GC-MS non ciblée.	71
Figure 12. Suivi de l'aire des produits de transformation du diclofénac observés en LC-ESI(+)-QToF non ciblée.	74
Figure 13. Suivi de l'aire des produits de transformation du triméthoprim observés en GC-MS non ciblée.	77
Figure 14. Suivi de l'aire des produits de transformation du triméthoprim observés en LC-ESI(+)-QToF non ciblée.	80
Figure 15. Suivi de l'aire des produits de transformation de l'acide acétylsalicylique observés en GC-MS non ciblée.	84

INTRODUCTION

Les produits pharmaceutiques font l'objet de préoccupations mondiales croissantes depuis les dernières années en raison de leur présence et de leur concentration dans l'environnement. En effet, plus d'une centaine de composés pharmaceutiques différents ont été détectés dans les eaux de surface, les eaux souterraines et l'eau potable en Amérique du Nord, à des concentrations de l'ordre des ng/L jusqu'aux µg/L¹⁻³. Les molécules actives des médicaments sont conçues pour être efficaces à de faibles concentrations et sont continuellement déchargées dans l'environnement, dû à l'activité humaine, ce qui pourrait avoir un effet direct sur les espèces aquatiques. Plusieurs études rapportent des effets aigus et chroniques de ces composés à des concentrations environnementales sur des espèces sélectionnées (exemples dans le tableau 1).

Tableau 1. Exemples d'effets de composés pharmaceutiques à concentration environnementale sur des espèces aquatiques.

	Hydrobie des antipodes ⁴	Poisson zèbre ⁵	Grenouille léopard ⁶
Composé pharmaceutique	17α-éthinyloestradiol (Contraceptif)	Carbamazépine (Anticonvulsivant)	Fluoxétine (Antidépresseur)
Effets et concentration	Production d'œufs : Stimulation: 1-25 ng/L Inhibition: > 25 ng/L	Diminution de la fécondité et augmentation de la mortalité à 0,5 µg/L	Retard dans la croissance et le développement des têtards à 0,1 µg/L

Toutefois, les effets de mélanges à faibles concentrations sont encore très peu connus. Afin de réduire leur présence dans les écosystèmes aquatiques et de limiter leurs impacts, il est d'intérêt de s'interroger sur les sources d'introduction des composés pharmaceutiques dans l'environnement.

Outre l'usage des médicaments lors de l'élevage en agriculture et l'enfouissement des déchets, les eaux usées industrielles, hospitalières et municipales, sont considérées comme une des sources d'introduction majeures de composés pharmaceutiques dans l'environnement. Effectivement, les eaux usées provenant des industries pharmaceutiques sont des sources localisées et spécifiques aux lieux de production. Ce type d'effluent est particulièrement préoccupant dans les régions en développement, puisque de fortes concentrations, de l'ordre de mg/L, peuvent être retrouvées dans les eaux, dû au manque de traitements appropriés^{1,7}. Au Canada, le ministère de l'Environnement

a la responsabilité d'encadrer les rejets d'origine industrielle dans l'environnement, comme les eaux usées, afin de préserver les milieux récepteurs. Ces mesures encouragent donc les industries à se préoccuper de la gestion de leurs déchets⁸.

Les effluents hospitaliers contiennent aussi une charge importante et spécialisée en composés actifs, puisque que plusieurs classes y sont utilisées et certains de ces médicaments ne sont consommés qu'à ces endroits désignés, comme des traitements contre le cancer ou les anesthésies. Plusieurs études ont été menées afin de caractériser les eaux usées d'hôpitaux, soit par leur contenu, leur toxicité et les risques associés ainsi que d'évaluer leur contribution en contaminants aux stations d'épuration. Des concentrations de l'ordre des µg/L pour près d'une centaine de composés ont été retrouvées, dont certains étaient plus présents selon la saison, le nombre de patients, la consommation d'eau et le jour d'échantillonnage^{9,10}. Les revues de littérature soulignent la présence d'une grande variété de composés et la complexité des effluents hospitaliers (ex. : utilisation de désinfectants, détergents, médicaments, métaux lourds, etc.). Différentes approches, soit celle considérant la toxicité de chaque composé individuellement et celle considérant la toxicité des effluents directement, ont été étudiées afin de déterminer l'écotoxicité de ces rejets hospitaliers¹¹⁻¹³. Les résultats soulignent qu'une forte toxicité globale est possible, mais qu'elle est dépendante de la variation du contenu des effluents.

En plus d'avoir une charge non négligeable de contaminants, les effluents hospitaliers ont généralement un index de biodégradabilité plus faible, ce qui rend le traitement par les procédés biologiques actuels plus difficile. Par exemple, les propriétés de certaines molécules pharmaceutiques, comme l'hydrophobicité, peuvent affecter leur biodisponibilité et réduire leurs interactions avec les microorganismes¹⁴. De plus, une des voies de métabolisation est la conjugaison, soit l'addition de fonctions chimiques, telles que le glutathion, l'acétate ou le méthyle sur le principe actif, et peut être réversible lors du traitement biologique en régénérant la structure initiale avant métabolisation¹⁵. Par ailleurs, les effluents hospitaliers ne sont généralement pas traités à la sortie des infrastructures et sont introduits directement dans le réseau municipal. Les auteurs s'accordent sur le fait que les effluents hospitaliers sont généralement considérés de la même nature de pollution que les eaux usées urbaines, mais devraient être traités plus spécifiquement, afin de réduire le caractère potentiellement nocif causé par les substances qu'ils peuvent contenir. Effectivement, en 2015, l'Agence de protection de l'environnement des États-

Unis (EPA) a estimé que des centaines de tonnes de médicaments sont éliminées par les éviers et toilettes chaque année et que les systèmes de traitements municipaux actuels n'ont pas été conçus pour retirer ces contaminants¹⁶. Une autre étude a démontré que les eaux usées d'hôpitaux contiennent cinq fois plus de produits chimiques dangereux et de résidus de médicaments que les effluents urbains, ce qui nécessite une attention particulière¹⁶.

Les réseaux d'égouts municipaux regroupent les effluents urbains, hospitaliers ainsi que certains industriels. Cependant, la charge en composés pharmaceutiques est plus diluée et dépend fortement de l'usage de l'eau des citoyens ainsi que la consommation de médicaments par la population. Ces derniers effluents sont traités par les stations d'épuration municipales pour être ensuite retournés dans les milieux aquatiques. En effet, vers la fin des années 1970, le Programme d'assainissement des eaux du Québec (PAEQ) a été lancé, ce qui a favorisé la construction de stations d'épuration et a permis de traiter les eaux usées provenant de 98 % de la population québécoise raccordée à un réseau d'égouts municipal¹⁷. Selon un recensement gouvernemental auprès des municipalités en date de 2015, la majorité des sites d'épuration utilisaient les étangs aérés au Québec (Figure 1).

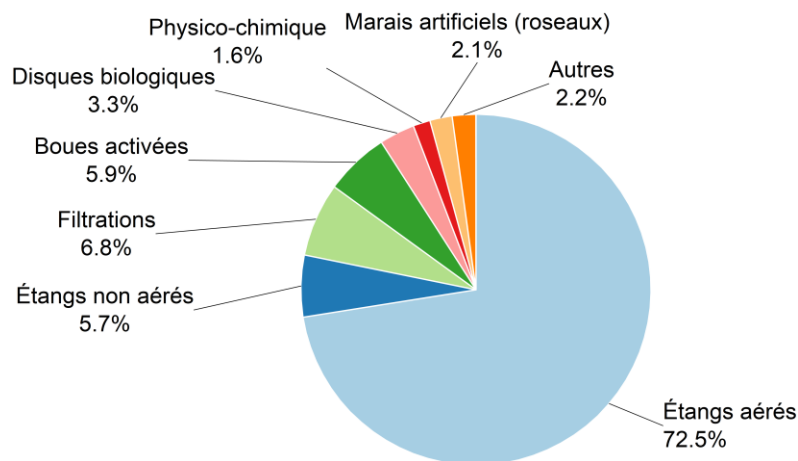


Figure 1. Types de traitement d'eaux usées au Québec. Adaptée de ¹⁸.

Le traitement des eaux usées se fait généralement en plusieurs étapes, soit (1) le dégrillage pour retirer les déchets grossiers, (2) le dessableur à vortex pour retirer le gravier et le sable au fond de la cuve ainsi que les graisses et les huiles flottant à la surface, (3) le type de traitement principal utilisé, par exemple, les étangs aérés en série, où un bullage maintient la matière en suspension pour l'oxygénation et la digestion aérobie des contaminants ainsi que (4) le bassin facultatif pour

traiter les dépôts par digestion anaérobique. Le traitement par étangs aérés nécessite un temps de rétention de l'ordre de plusieurs jours et les effluents clarifiés sont ensuite écoulés vers les milieux aquatiques.

Les stations de traitement d'eaux usées actuelles ont été conçues dans le but d'empêcher la propagation de maladies et la contamination des réserves d'eau, de lutter contre l'envasement des voies navigables ainsi que de garder les eaux assez pures pour assurer la survie du poisson et pour permettre la baignade¹⁹. L'efficacité des traitements d'eau est communément évaluée selon certains critères nécessitant peu de manipulations complexes, soit la température; le pH; l'alcalinité; la mesure des matières solides totales, en suspension et en solution; la demande biochimique en oxygène, qui est la mesure de la matière biodégradable (DBO₅); la demande chimique en oxygène, qui est la mesure de matière oxydable (DCO); la mesure du carbone organique total (de l'anglais *Total Organic Carbon*, TOC) ainsi que la mesure de l'azote et du phosphore. Avec ces mesures, l'élimination peut être caractérisée de façon générale. Toutefois, il est difficile de savoir réellement si les contaminants plus complexes sont réellement éliminés en totalité et de quoi sont composés les effluents rejetés dans l'environnement après traitement.

Certaines études ont été menées pour évaluer le taux d'élimination des composés pharmaceutiques dans les stations d'épuration actuelles²⁰⁻²³. Un exemple est présenté dans le tableau 2, pour illustrer une variation typique saisonnière selon le type de composé. Celles-ci ont révélées notamment qu'une élimination complète était plus difficile pour certaines molécules et que différents facteurs, comme la température ou la structure même peuvent influencer grandement l'efficacité du traitement.

Tableau 2. Taux d'élimination de composés pharmaceutiques selon la saison par étangs aérés situé à Lakefield, Ontario, Canada²⁰.

Composé	Élimination en été	Élimination en automne	Élimination en hiver
Carbamazépine	-9,3 %	45,8 %	-54,1 %
Sulfaméthoxazole	98,9 %	78,1 %	69,5 %
Triméthoprim	70,8 %	48,5 %	14,0 %
Gemfibrozil	-23,9 %	-45,7 %	-99,8 %
Ibuprofène	91,5 %	81,1 %	78,3 %

Le type de traitement d'eau principal utilisé est également important, puisque, contrairement à ce qui est attendu, certains procédés peuvent régénérer les composés actifs initiaux. En effet, certaines voies de métabolisation, après la consommation de médicaments, consistent à l'ajout d'une ou plusieurs fonctions sur le principe actif (conjugaison) avant d'être excrété par l'organisme. Ces métabolites, rejetés dans les effluents, sont alors traités aux stations d'épuration par des traitements de types biologiques. Ces procédés peuvent causer l'élimination des groupements fonctionnels ajoutés précédemment par le métabolisme et régénèrent le composé actif initial. Des taux d'élimination négatifs sont donc obtenus, comme dans le cas de la carbamazépine et du gemfibrozil au tableau 2.

La difficulté à éliminer complètement les contaminants n'est pas seulement pour le traitement par étangs aérés, mais un problème récurrent et d'échelle mondiale. Même si différents types de procédés sont utilisés globalement pour le traitement des eaux, il n'en reste que des concentrations de composés pharmaceutiques variant de 1 ng/L à 100 µg/L sont retrouvées dans les affluents et les effluents traités¹⁵. Il est donc important d'étudier de nouvelles alternatives aux traitements actuels afin de diminuer le risque de régénération et d'introduction de contaminants dans l'environnement.

Les procédés d'oxydation avancée (en anglais, *Advanced Oxidation Processes* ou AOP), dont l'oxydation en voie humide (OVH) étudiée dans ce mémoire, sont parmi les solutions les plus prometteuses permettant d'éliminer les contaminants potentiellement toxiques pour les espèces aquatiques, tels que les produits de soins personnels, les composés pharmaceutiques et d'autres composés organiques. Les AOPs incluent également les procédés de Fenton, d'ozonation, de photolyse, d'oxydation électrochimique avec l'utilisation de catalyseurs ou non, ainsi que plusieurs autres. Ces techniques utilisent notamment les radicaux hydroxyles ($\text{HO}^\bullet$), le peroxyde d'hydrogène, les radicaux anions superoxydes et l'ozone comme agents d'oxydation. En utilisant ces oxydants très réactifs et non sélectifs, les contaminants organiques contenus dans la solution à traiter sont transformés généralement en de plus petites molécules, soit en CO_2 , H_2O , petits acides carboxyliques et ions inorganiques. Les différents procédés utilisant l'oxydation avancée sont donc prometteurs pour le prétraitement des eaux usées à la source, en simplifiant les effluents avant d'atteindre les stations d'épuration municipales.

Une des alternatives étudiées présentement est l'oxydation en voie humide non catalytique (OVH). Ce type de procédé est avantageux, puisque seulement l'air est nécessaire comme oxydant et aucun produit chimique doit être ajouté ou retiré durant le traitement, contrairement à l'ozonation, où l'ozone doit être produit au préalable et les procédés de Fenton, où du fer et d'autres réactifs doivent être ajoutés au départ et retirés à la fin du traitement. Les conditions à de hautes températures et pressions utilisées avec l'oxygène et l'eau génèrent un milieu riche en radicaux libres, ce qui permet l'élimination des contaminants organiques. En effet, l'OVH permet la décomposition des composés d'intérêt en de molécules plus simples et peut même mener à la minéralisation complète dans les conditions optimales^{24,25}. Ce type de traitement est donc similaire à l'incinération, mais dans une matrice aqueuse. Cependant, les espèces nocives comme les oxydes nitreux (NO_x) ne sont pas générées^{24,26}. De plus, les conditions utilisées en OVH sont reconnues pour permettre le traitement des rejets qui sont trop dilués pour être incinérés, mais trop concentrés ou toxiques pour être traités par les procédés biologiques actuels^{24,26,27}.

Dans une étude précédente de Boucher et al. (2021)⁹, les résultats d'élimination, de toxicité et des analyses technico-économiques ont démontré la possibilité d'appliquer le procédé d'OVH pour éliminer les composés pharmaceutiques contenus dans les eaux usées d'hôpitaux. En effet, dix composés pharmaceutiques ont été sélectionnés selon leur fréquence de consommation et leur degré de risque lors de l'étude. Même si une diminution de la concentration pour chaque composé pharmaceutique a été observée entre 95 et 99 %, une augmentation de toxicité des échantillons après l'oxydation a été constatée chez deux espèces différentes, soit la bactérie marine bioluminescente *A. Fischeri* ainsi que le petit crustacé *D. magna*. Étant donné cette augmentation de toxicité, il est important de s'intéresser à la cause et d'investiguer sur le devenir des composés lors du traitement afin de ne pas introduire d'autres types de contaminants qui pourraient être encore plus néfastes pour les écosystèmes aquatiques.

L'objectif global de ce présent travail est d'étudier le devenir des composés pharmaceutiques en identifiant et quantifiant les produits de transformation selon la durée du traitement par oxydation en voie humide. L'hypothèse principale de ce projet de recherche est que les molécules mères sont transformées en de plus petites molécules rapidement, puisque le traitement par OVH utilise des conditions assez agressives et non sélectives. En effet, dans un contexte d'application à la sortie des hôpitaux, il serait irréaliste d'un point de vue technico-économique de considérer des

conditions optimisées pour la minéralisation complète de ces effluents. Cependant, il est raisonnable de considérer des conditions permettant l'élimination de composés pharmaceutiques plus résistants aux procédés actuels, tout en limitant le temps de traitement et les coûts associés, comme un prétraitement des effluents avant d'être introduits dans les réseaux municipaux.

Afin de mieux comprendre le devenir des contaminants et de caractériser les effluents relâchés après un prétraitement par OVH, des expériences avec un réacteur pilote ont été réalisées et les eaux ont été analysées. Le premier objectif de ce projet est donc d'étudier le devenir du carbone non minéralisé en développant et appliquant une méthode analytique visant à quantifier 14 acides carboxyliques à courte chaîne par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) sur des effluents traités par OVH. Considérant que les conditions utilisées ont été optimisées dans l'optique d'éliminer rapidement plusieurs composés pharmaceutiques et que l'oxydation en voie humide est un procédé assez agressif, de plus petits produits de transformation étaient donc à privilégier.

Pour faire suite aux précédents résultats de toxicité et de l'élimination incomplète de la charge organique à la fin du traitement, le deuxième objectif de ce projet est d'effectuer une étude comparative de composantes organiques et structurales en analysant quatre composés pharmaceutiques modèles ayant des caractéristiques différentes. Dans le but d'avoir une sélectivité des produits issus des différentes structures étudiées et d'éviter tous types d'interférences, les composés modèles, soit la gabapentine, le triméthoprim, le diclofénac et l'acide acétylsalicylique, ont été traités dans un milieu exempt de matrice, soit de l'eau déionisée. Dans un premier temps l'élimination des composés pharmaceutiques a été déterminée à partir d'une méthode d'analyse validée utilisant la désorption thermique par diode-laser couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LDTD-QqQMS). Afin d'avoir davantage d'informations sur les produits de transformation, des analyses non ciblées ont également été effectuées par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en temps de vol (LC-QToF) en complémentarité à la méthode de GC-MS.

CHAPITRE 1. NOTIONS SUR L'OXYDATION EN VOIE HUMIDE

1.1 Conditions expérimentales

Les traitements d'oxydation en voie humide d'eaux usées ou de boues sont réalisés à hautes températures, généralement entre 150 et 325 °C et à hautes pressions d'air ou d'oxygène, généralement entre 10 et 200 bars, pour une durée de 15 à 120 minutes. Ces conditions permettent la solubilisation de contaminants insolubles, augmentent la concentration de l'oxygène dissous dans la phase aqueuse et augmentent donc la surface de contact d'oxydation²⁵. Les hautes pressions limitent également la vaporisation de la phase aqueuse lors du traitement.

À moyennes et hautes températures, le procédé d'OVH peut devenir généralement autonome sur le plan énergétique avec le caractère exothermique de l'oxydation, si le taux de matière organique le permet ($> 10\,000\text{ mgO}_2/\text{L}$ de DCO)^{24,28}. Le procédé d'OVH a donc un grand potentiel de traitement pour les effluents contenant une grande charge en matière organique, soit une demande chimique en oxygène (DCO) de 10 000 à 100 000 mgO_2/L ²⁷⁻²⁹. Toutefois, une étude a démontré la faisabilité du traitement de composés pharmaceutiques à faibles concentrations avec une matrice ayant des valeurs plus basses en DCO, soit à 573 et 1 400 mgO_2/L ⁹.

L'oxydation peut également se dérouler à des conditions au-dessus du point critique de l'eau (221 bar, 374 °C). Ce procédé est donc appelé oxydation en voie humide supercritique. Les températures et pressions très élevées (400-650 °C, 250-350 bar) utilisées lors de l'OVH supercritique permettent l'élimination de composés plus réfractaires, comme l'acide acétique et l'abaissement de façon encore plus significative de la charge oxydable (DCO)^{30,31}. Cependant, la polarité de l'eau supercritique est insuffisante pour les composés ioniques polaires formés durant le traitement, ce qui cause la précipitation de sels^{31,32}. Des problèmes de corrosion des matériaux composant le réacteur sont également récurrents dans les conditions supercritiques³¹. Puisque ces conditions nécessitent plus d'énergie que l'OVH sous-critique et causent la précipitation de sels, ce dernier type de traitement n'a pas été considéré dans l'étude d'un prétraitement des eaux usées.

Plusieurs groupes de recherche se sont intéressés à l'usage de catalyseur durant le procédé d'OVH. Bien que l'ajout de catalyseur est optionnel pour le bon fonctionnement de l'OVH, ils peuvent être utilisés pour faciliter certaines réactions en abaissant l'énergie nécessaire et augmentant le taux

d'élimination des contaminants organiques variés^{27,33,34}. Différents métaux, dont le cuivre, le magnésium, le cérium, le platine et le ruthénium peuvent être utilisés pour ce type de traitement²⁶. Toutefois, ces catalyseurs peuvent être parfois coûteux et leur durabilité ainsi que leur stabilité sont moindres, dû à l'origine de son utilisation. En effet, le catalyseur peut facilement se désactiver par l'encrassement des produits intermédiaires ou l'empoisonnement des sites actifs sur la surface. De plus, ils doivent être utilisés avec précautions, puisque si le milieu est en condition acide, le catalyseur peut être dissous dans la phase liquide ou corroder le réacteur³⁴. Dans un contexte où ce type de procédé serait utilisé pour un prétraitement d'effluents à la sortie des hôpitaux, l'usage d'un catalyseur serait potentiellement moins pertinent puisqu'il amènerait éventuellement de la maintenance, des précautions et des coûts supplémentaires. Jusqu'à maintenant, peu d'études ont été menées sur le traitement de composés pharmaceutiques contenus dans les eaux usées sans l'usage de catalyseur. Il est donc encore difficile d'évaluer et justifier la pertinence de leur utilisation ou non.

1.2 Réactions d'oxydation

Même si le procédé d'OVH est en développement depuis sa découverte dans les années 1930, le mécanisme de la génération des radicaux lors d'oxydation reste encore à être confirmé et peut varier selon l'auteur. En effet, il est difficile d'identifier les radicaux libres, dû à leur grande réactivité, leur temps de demi-vie très court et leurs courtes distances de migration³⁵. Plusieurs facteurs influencent la faisabilité de chaque réaction, notamment la température, la pression ainsi que la charge organique présente dans le milieu. Cependant, les trois grandes étapes des réactions radicalaires se produisent durant le procédé, soit l'initiation, la propagation et la terminaison.

1.2.1 Étape d'initiation

L'initiation, soit la formation des radicaux, est l'étape limitante du processus puisqu'elle nécessite davantage d'énergie et des conditions optimales. Lors du procédé non catalytique, l'initiation est possible lorsque le milieu aqueux est soumis à de hautes températures et hautes pressions en l'absence d'initiateur. Selon plusieurs auteurs, la formation des radicaux s'effectue à la suite de la réaction entre l'oxygène et le lien C-H le plus faible contenu dans la matière organique comme représenté dans l'équation suivante^{25,29,36}:



où R représente le groupe fonctionnel du composé organique ou pharmaceutique dans cette présente étude. La possibilité de générer des radicaux par d'autres réactions, comme celles entre l'eau et l'oxygène, est également rapportée dans la littérature^{29,34,36,37}.



Une fois que les premiers radicaux sont formés, plusieurs espèces radicalaires se retrouvent en solution et l'étape de propagation a lieu, ce qui mène à l'étape de transformation des composés.

1.2.2 Étape de propagation

Lors de l'étape de propagation, plusieurs réactions sont possibles, puisque les radicaux formés sont non sélectifs et très réactifs ($\text{HO}^\bullet$, $\text{HO}_2^\bullet$, $\text{R}^\bullet$ et etc.). Par exemple, le radical formé à [1.1] et [1.2] ($\text{HO}_2^\bullet$) peut réagir avec une autre molécule organique afin de former le peroxyde d'hydrogène^{29,34,36} :



Les peroxydes formés sont très instables à hautes températures, soit les conditions utilisées en OVH. Conséquemment, ils sont rapidement décomposés thermiquement, formant ainsi de plus petites molécules, comme des alcools, des cétones et des aldéhydes. Par exemple, le peroxyde d'hydrogène en lui-même (H_2O_2) peut être généré lors de l'étape de propagation et peut régénérer des radicaux hydroxyles ($\text{HO}^\bullet$) lors de la dégradation thermique, ce qui contribue au maintien des espèces oxydantes durant le traitement.

1.2.3 Étape de terminaison

À la fin du traitement, les radicaux encore en solution peuvent réagir ensemble afin de réaliser les différentes étapes de terminaison²⁹, par exemple :



La fin de l'oxydation peut être facilement contrôlée en abaissant la température et la pression de la solution dans le réacteur. Selon les composés à traiter et les conditions de traitement utilisées, plusieurs produits de transformation peuvent être formés à la suite de l'oxydation.

1.3 Efficacité d'élimination

Jusqu'à présent, très peu d'études ont porté sur l'oxydation en voie humide sans catalyseur pour le traitement des composés pharmaceutiques dans les eaux usées. La performance du traitement par OVH a toutefois été évaluée pour d'autres types de composés, généralement démontrée par l'élimination de la DCO ainsi que par la diminution du carbone organique total (en anglais, *Total Organic Carbon*, TOC). Par exemple, l'élimination du phénol, un composé étudié fréquemment dans la littérature, a été observée par une diminution de 90% de la DCO après 30 minutes de traitement par OVH à une température de 230 °C et 6,9 bar d'oxygène³⁸. Le traitement d'eaux usées par OVH a également été caractérisé à quelques reprises avec un taux d'efficacité d'élimination de DCO entre 70 et 90 % après une heure de traitement à 255 °C et 10 bar d'oxygène³⁹.

Dans une étude récente de Boucher et al. (2021)⁹, le procédé OVH à l'échelle pilote a été optimisé pour l'élimination de 10 composés pharmaceutiques sélectionnés. L'élimination de ceux-ci a été caractérisée par la diminution de la DCO ainsi que l'évolution de la concentration de ces composés. Plusieurs facteurs ont été étudiés afin d'optimiser le procédé tout en considérant le coût et l'énergie nécessaire relié au traitement. Les paramètres optimaux sélectionnés étaient à une température de 290 °C et un temps de résidence (oxydation) de 20 minutes avec un excès d'oxygène. La performance du traitement peut être traduite par l'élimination de composés plus résistants, soit la carbamazépine à > 93 % et le triméthoprim à > 97 %, alors que leur élimination est de 0 à 30 % et de 0 à 69 % lors de procédés biologiques⁴⁰ et 78 % et 70 % lors d'un autre procédé d'oxydation avancé (UV/H₂O₂)⁴¹. Les résultats démontrent également une diminution de la charge oxydable de 80 % et ce, même si la charge organique initiale est plutôt faible (1 400 mgO₂/L). Le procédé est donc très prometteur pour le traitement des effluents hospitaliers ayant une charge en composés pharmaceutiques. Cependant, même s'il a été déterminé que les composés pharmaceutiques ont été éliminés rapidement en quasi-totalité et que la charge organique a diminué de façon considérable avec l'OVH⁹, une augmentation de toxicité a également été observée pour les échantillons traités. Pour les deux espèces étudiées, le petit crustacé *Daphnia magna* et la bactérie *Aliivibrio fischeri*,

une augmentation de toxicité a été observée dans les échantillons traités. Cette variation était plus prononcée dans le cas du crustacé, comparativement à la bactérie *Aliivibrio fischeri*. Étant donné que le procédé d'OVH est étudié dans l'optique d'un prétraitement des eaux avant d'être traitées aux stations municipales, la bactérie *Aliivibrio fischeri* serait donc le modèle à privilégier puisque le comportement de cette espèce pourrait possiblement suggérer les effets possibles sur les bactéries dans les boues activées des stations d'épuration. Par souci de bien caractériser les effluents traités rejetés après le prétraitement, il est d'intérêt de s'intéresser au devenir de ces composés après traitement afin de mieux comprendre cette toxicité.

1.4 Produits de transformation retrouvés la littérature

Selon les conditions d'oxydation utilisées et les contaminants contenus initialement, les produits de transformation formés sont généralement simples; soit du CO₂, des vapeurs d'eau, de l'ammoniaque, du nitrate, du sulfate, des acides halogénés ainsi que des acides organiques à courte chaîne biodégradables. Les intermédiaires, comme les hydroperoxydes, les alcools, les cétones et les aldéhydes (Figure 2) peuvent être également formés durant le traitement.

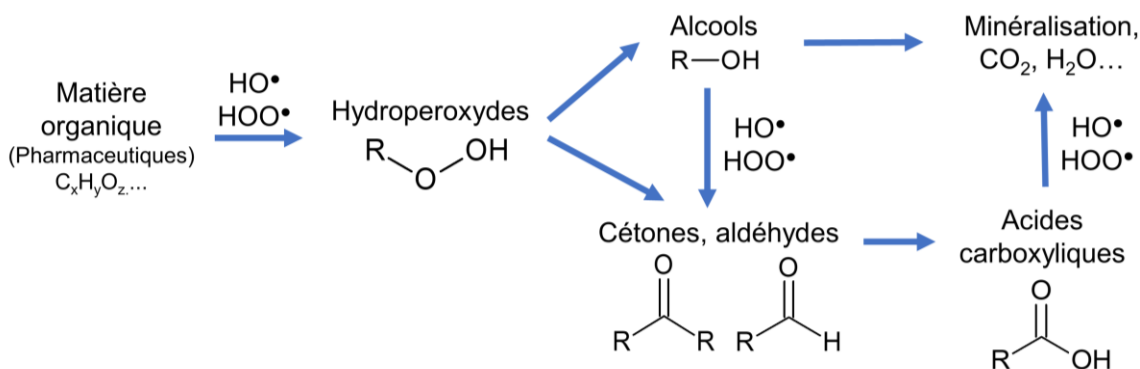
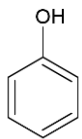
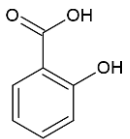
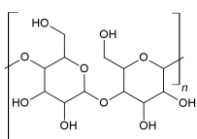
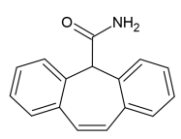
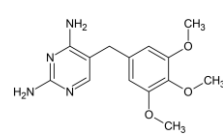


Figure 2. Schéma simplifié des réactions d'oxydation. Adaptée de ^{25,36,42-44}.

Contrairement à d'autres procédés thermiques, l'OVH ne produit pas de composés nuisibles comme les NO_x, le SO₂, le HCl, les dioxines et les furanes²⁶. Cependant, il se peut que les réactions ne soient pas complètes pour certains composés plus résistants, ce qui mène à d'autres produits de transformation. Très peu d'études ont été portées sur l'élimination des composés pharmaceutiques par OVH, encore moins sur le devenir et les produits de ceux-ci. Afin de mieux cibler les produits de transformation les plus fréquents, le devenir de plusieurs types de molécules après traitement

par procédés d'oxydation avancée avec génération de radicaux hydroxyles a été recensé (tableau 3). Certaines études de transformation ont été effectuées pour des composés modèles simples, comme le phénol. Il a été déterminé précédemment que les produits sont caractérisés, notamment, par l'ouverture du cycle aromatique avec la formation d'acides carboxyliques à courte chaîne. Dans le cas de l'étude du devenir des composés pharmaceutiques, la transformation du phénol est d'intérêt, puisqu'un grand nombre de molécules actives possèdent un ou plusieurs composés aromatiques dans leur structure.

Tableau 3. Produits de transformation de divers composés traités par des AOPs.

Composé traité					
	Phénol ^{45,46}	Acide salicylique ³⁷	Hémicellulose ⁴⁷	Carbamazépine ⁴⁸	Triméthoprim ⁴⁹
Produit de transformation	(OVH)	(OVH)	(OVH)	(UV/H ₂ O ₂)	(Électro-Fenton)
Acide acétique	X	X	X		X
Acide formique	X	X	X		
Acide fumarique	X		X	X	
Acide glycolique			X		
Acide glyoxylique	X				X
Acide lactique			X		
Acide maléique	X	X	X	X	
Acide malique			X	X	
Acide malonique	X	X		X	
Acide muconique	X	X			
Acide oxalique	X	X	X	X	X
Acide propionique	X		X		
Acide salicylique	X			X	
Acide succinique	X		X	X	X
Acide tartique				X	
Benzoquinone	X	X			
Hydroquinone	X	X			
Phénol		X			

Pour des plus petites molécules, comme le phénol et l'acide salicylique, les produits de transformation sont l'oxydation de la molécule mère avec l'ajout de groupements fonctionnels OH, comme la formation d'hydroquinone et de catéchol ainsi que de petits acides carboxyliques, dû à l'ouverture du cycle aromatique. Dans le cas de composés non aromatiques, comme l'hémicellulose, les petits acides carboxyliques sont également observés. Pour les composés plus complexes, comme la carbamazépine et le triméthoprim, peu d'études ont été menées sur leur traitement par OVH. Cependant, lors de traitement par d'autres AOPs, des variations de la molécule mère ont été observées dans un premier temps avec l'ajout de groupements fonctionnels OH ou à la suite de la fragmentation de ceux-ci selon les conditions utilisées. Au cours du traitement, ces produits sont ensuite retransformés en petits acides carboxyliques. Même si les conditions sont optimisées, certaines molécules formées sont réfractaires. Un suivi des produits de transformation est donc d'intérêt afin de mieux comprendre les voies de transformation des composés pharmaceutiques.

CHAPITRE 2. MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE

La méthodologie expérimentale de la première partie du projet, soit le développement de la méthode d'analyse par chromatographie gazeuse (GC-MS) des 14 acides carboxyliques à courte chaîne, est détaillée dans l'article transposé au chapitre 3 à la section « *Material and methods* ». La méthodologie expérimentale présentée dans la section suivante est reliée aux résultats du chapitre 4, soit l'étude du devenir de quatre composés modèles lors du traitement d'OVH à l'aide des analyses ciblées et non ciblées en spectrométrie de masse.

2.1 Expériences d'oxydation en voie humide

Dans un premier temps, une preuve de concept avec le traitement d'une solution concentrée d'acétaminophène et d'effluents réels d'hôpitaux, a été effectuée au chapitre 3. L'objectif principal de la deuxième partie du projet (chapitre 4) était d'approfondir les connaissances sur le devenir des contaminants durant un traitement par OVH de différents types de molécules. Quatre composés pharmaceutiques modèles ayant des caractéristiques structurales distinctes ont donc été choisis. Afin d'obtenir des résultats représentatifs et complémentaires, les mêmes conditions optimisées, issues de l'article de Boucher et al. (2021)⁹ et employées lors du traitement des effluents au chapitre 3, ont été utilisées pour toutes les expériences d'OVH subséquentes.

2.1.1 Réacteur OVH

Le réacteur utilisé pour le traitement OVH des quatre composés modèles est le même qui a été utilisé lors de la preuve de concept avec l'acétaminophène présentée au chapitre 3, soit le réacteur horizontal Cellule 2646.0000 conçu par TOP Industrie, (Vaux-le-Pénil, France) de 170 mL (voir le schéma du réacteur, Chapitre 3, Figure 2). Ce réacteur a été préféré puisqu'il possède une valve de prélèvement, ce qui facilite l'échantillonnage durant le traitement.

2.1.2 Choix des composés pharmaceutiques

Pour cette deuxième partie du projet, quatre autres composés modèles, présentés à la figure 3, ont été sélectionnés selon leur structure, leur composition chimique, leur solubilité dans l'eau et leur taux d'élimination par OVH selon les études précédentes.

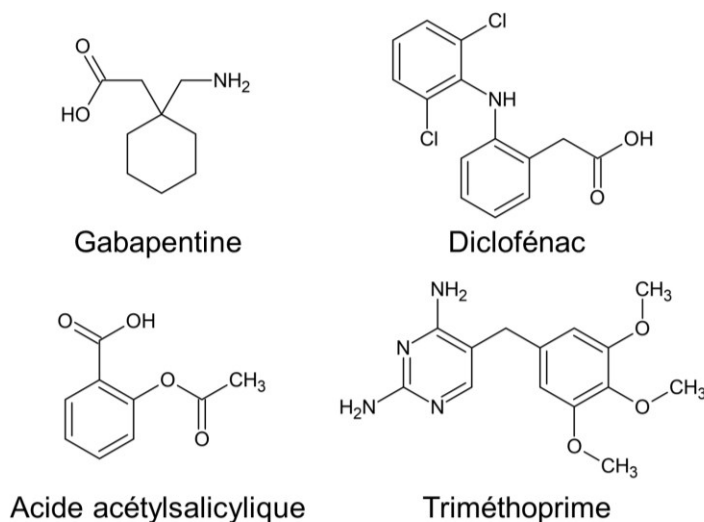


Figure 3. Structures des composés pharmaceutiques modèles étudiés.

Avec ces quatre composés, les caractéristiques générales de plusieurs molécules pharmaceutiques ont pu être représentées et leur devenir étudié. En effet, la gabapentine, un antiépileptique et antalgique, a été sélectionnée, puisqu'elle était bien éliminée par OVH⁹ et qu'elle contient une fonction amine ainsi qu'une fonction acide, mais pas de cycle aromatique. En analysant ce composé, la différence entre les produits de transformation d'un cycle aromatique et un cycle non aromatique pourrait être déterminée.

Le diclofénac, un anti-inflammatoire, a été étudié puisqu'il est composé de plusieurs groupements fonctionnels, soit d'une amine, de cycles aromatiques, d'une fonction acide et deux atomes de chlores. Dans l'étude précédente⁹, le diclofénac était rapidement éliminé par OVH même à 200 °C. L'analyse des produits de transformation lors du chauffage de la solution pourrait donc permettre d'en apprendre davantage sur l'influence de la température dans le processus de transformation du diclofénac. De plus, le diclofénac contient des chlores, ce qui pourrait former d'autres types de produits intermédiaires, soit des composés halogénés.

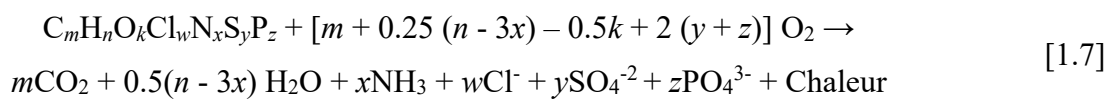
Le triméthoprim, un antibiotique, a été sélectionné, puisqu'il était éliminé plus lentement par OVH⁹, soit après 15 minutes à 290 °C. De plus, le composé était intéressant puisqu'il contenait plusieurs atomes d'azote, des fonctions esters et des composés aromatiques. Étant donné que le triméthoprim est éliminé plus lentement et qu'il est moins sensible à l'effet de la température, des produits de transformation plus près de la structure mère devraient être observés au début du

traitement, d'où l'importance de l'analyse non ciblée. La haute teneur en azote dans cette molécule augmente la probabilité de former davantage des molécules azotées comme produits de transformation.

Finalement, l'acide acétylsalicylique, un antalgique, antipyrétique et anti-inflammatoire, a été choisi puisqu'il est un des rares composés pharmaceutiques qui ne possèdent pas de fonctions azotées. Ce dernier composé n'a pas été étudié dans les expériences d'OVH précédemment, mais avait de fortes chances d'être bien éliminé selon sa basse température de dégradation (150 °C)⁵⁰. Il était pertinent de choisir une molécule composée seulement de carbones, d'hydrogènes et d'oxygène afin d'évaluer le recouvrement de ce qui peut être quantifié par la méthode développée dans le chapitre 3, comparativement aux autres composés qui possèdent également d'autres types d'atomes comme l'azote.

2.1.3 Concentration initiale des composés à traiter

Afin d'identifier et de quantifier les produits de transformation propres aux molécules à l'étude, une solution concentrée de chaque composé modèle a été traitée séparément dans le réacteur. La concentration initiale dans chaque expérience a été déterminée selon la demande chimique en oxygène (DCO) théorique des composés à traiter afin d'obtenir une DCO près de celle déterminée expérimentalement pour les eaux usées d'hôpitaux, soit $573 \pm 40 \text{ mgO}_2/\text{L}$. Cette valeur moyenne de DCO a été déterminée à partir d'échantillons réels prélevés à la sortie d'un hôpital du Québec de 166 lits et servant une population de 51 000 personnes, à trois moments différents dans l'année dans le cadre de ce projet. Considérant que la DCO peut varier de façon considérable selon différents facteurs comme l'utilisation de l'eau, le moment et le lieu d'échantillonnage, cette valeur déterminée expérimentalement précédemment a été considérée pour donner suite aux autres résultats acquis, soit ceux de Boucher et al. (2021)⁹ et ceux présentés dans l'article au chapitre 3. Cette valeur est similaire aux concentrations moyennes retrouvées en Europe et en Asie, soit de $613 \text{ mgO}_2/\text{L}$ et $591 \text{ mgO}_2/\text{L}$ ¹³. La demande chimique en oxygène théorique de tous les composés impliqués a été déterminée selon l'équation d'oxydation suivante²⁵ :



où m est le nombre d'atomes de carbone, n le nombre d'atomes d'hydrogène, k le nombre d'atomes d'oxygène, w le nombre d'atomes de chlore, x le nombre d'atomes d'azote, y le nombre d'atomes de soufre et z le nombre d'atomes de phosphore de la molécule étudiée.

Pour chaque expérience, les composés ont été introduits sous forme de poudre dans le réacteur et ont été dissous avec l'ajout d'eau déionisée par la suite, afin d'avoir une concentration finale correspondant à 600 mgO₂/L de DCO, soit les concentrations dans le tableau 4 suivant.

Tableau 4. Paramètres expérimentaux pour le traitement des composés.

Paramètres	Gabapentine	Triméthoprim	Diclofénac	Acide acétylsalicylique
Pureté	99,8 %	99,8 %	99,7 %	99,8 %
Fournisseur	Sigma Aldrich	Sigma Aldrich	Sigma Aldrich	Sigma Aldrich
DCO théorique (gO ₂ /gcomposé)	2,15	1,54	1,59	1,60
DCO visée (mgO ₂ /L)	600	600	600	600
Concentration initiale visée (mg/L)	279	389	376	375

Après l'ajout de l'eau, l'air contenu dans le réacteur a été purgé avec 10 bar d'azote. La solution à l'étude a été ensuite agitée à 250 RPM pendant 30 minutes. Puisqu'il n'était pas possible d'observer la dissolution de la solution dans le réacteur, des tests de solubilité ont été faits au préalable. Il a été déterminé que la gabapentine, le diclofénac et l'acide acétylsalicylique étaient facilement dissous à température ambiante sous agitation dans les 30 premières minutes. Cependant, le triméthoprim, qui a une solubilité dans l'eau plus basse, soit environ 400 mg/L, a nécessité une agitation de 30 minutes à 75 °C pour atteindre une dissolution complète. Après 30 minutes d'agitation, le prélèvement initial a été effectué et le volume initial contenu dans le réacteur a été ajusté à 72 mL pour toutes les expériences. Tous les échantillons prélevés lors de l'expérience ont été collectés dans des vials ambrés de 2 mL, placés immédiatement à l'obscurité et conservés à – 20 °C jusqu'au jour de l'analyse.

2.1.4 Conditions de chauffage du réacteur

Après l'ajustement du volume initial à 72 mL, la pression dans le réacteur a été fixée précisément à 10 bar d'azote. L'azote est utilisé pour purger l'air du système après avoir fait le prélèvement et ainsi éviter l'oxydation durant la période de chauffage. La solution a été ensuite chauffée à la température optimisée précédemment, soit 290 °C avec une rampe de chauffage de 3 °C/min. Lors de l'étape de chauffage, un suivi de la pression et de la température dans le réacteur a été effectué. Des prélèvements de 2 mL ont été effectués à 200 et 290 °C lors du chauffage. Le volume de prélèvement est limité, afin de réduire la variation dans le volume à traiter et la perte de gaz lors de l'ouverture du système. Ceci s'applique à tous les volumes prélevés après le début de l'expérience.

2.1.5 Oxydation des échantillons

Lorsque la température cible a été atteinte et était stable, l'agitation a été augmentée à 1000 RPM et de l'air comprimé a été injecté à un débit de 20 cm³/minute pour atteindre une pression de 140 bar dans le réacteur. Le temps de résidence (ou d'oxydation) a été calculé dès que les premières quantités d'air ont entrées dans le réacteur. Comme dans les expériences précédentes, les traitements par OVH se font en excès d'oxygène contenu dans l'air, afin de s'assurer qu'il y ait assez d'oxygène pour traiter les composés initiaux ainsi que leurs produits de transformation et que la quantité d'oxydant ne soit pas un facteur limitant durant le traitement. La quantité nécessaire d'oxygène est déterminée théoriquement à partir de l'équation d'oxydation [1.7]. Des prélèvements ont été effectués après 7,5; 15; 30 et 60 minutes de temps de résidence (oxydation). Les conditions optimisées précédemment permettaient l'élimination de tous les composés à l'étude après 15 minutes⁹. Cependant, afin d'effectuer un suivi des produits de transformation, le temps de traitement a été prolongé à 60 minutes.

2.2 Quantification des composés pharmaceutiques

Une méthode d'analyse utilisant la désorption thermique par diode-laser couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LDTD-QqQMS) a été validée pour effectuer la quantification de la gabapentine, le diclofénac et le triméthoprim. Étant donné que l'acide acétylsalicylique est sensible thermiquement, la quantification n'a pu être effectuée par LDTD-QqQMS. En effet, lors de l'analyse en mode balayage de la solution étalon, c'était l'ion correspondant à son métabolite, l'acide salicylique, qui était observé en majorité. Ce dernier composé était d'intérêt dans l'étude des produits de transformation. L'acide acétylsalicylique ainsi que son métabolite, l'acide

salicylique, ont donc été quantifiés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) selon la méthode développée au chapitre 3. Les mêmes étalons de référence, sous forme de poudre, ont été utilisés lors des traitements par OVH ainsi que pour les droites de quantification.

2.2.1 Analyse de la gabapentine, le triméthoprim et le diclofénac

La désorption thermique par diode-laser a été utilisée comme technique d'introduction d'échantillon, puisque c'est une méthode sensible et très rapide. Cette méthode consiste à déposer, sur une plaque d'analyse en acier inoxydable (appelée Lazwell), un faible volume de l'échantillon à analyser (1-10 μ L). La plaque est rapidement séchée dans un séchoir prévu à cet effet avec un léger jet d'air. Par la suite, la plaque est introduite dans le LDTD. Lors de l'analyse, la diode-laser, contrôlée de façon précise selon un patron laser défini, permet la désorption thermique indirecte de l'échantillon (Étape 1, Figure 4). Les analytes désorbés sont dirigés vers la source d'ionisation à l'aide d'un tube de transfert et d'un gaz porteur, soit de l'air comprimé contenant un faible pourcentage d'eau (Étape 2, Figure 4). Les composés sont ionisés (Étape 3, figure 4) par la source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) avant d'être analysés par le triple quadripôle (QqQMS) (Étape 4, Figure 4).

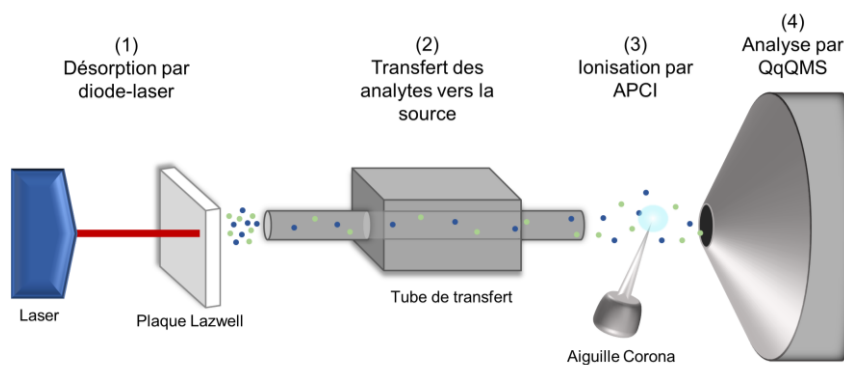


Figure 4. Schéma de la source LDTD, Adapté de ⁵¹.

Dans le cas de cette étude, les analyses ont été effectuées à l'aide d'un LDTD de modèle 960-WX (Phytronix, Québec, Canada) monté sur un analyseur triple quadripôle Xevo TQ-S micro (Waters, Royaume-Uni) équipé d'une source d'ionisation à pression atmosphérique (APCI). Le patron de la puissance du laser utilisé, illustré ci-dessous (Figure 5), a été optimisé précédemment pour des molécules similaires^{52,53}.

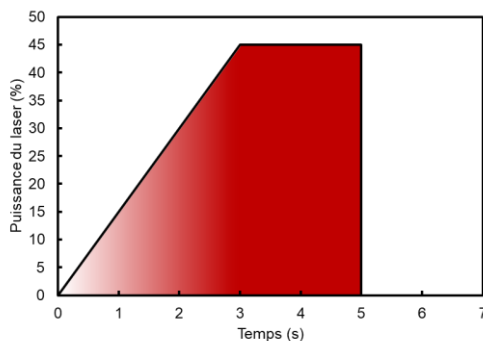


Figure 5. Schéma du patron laser du LDTD.

Le patron laser 3-45-2 est caractérisé par une montée de 3 secondes à la puissance maximale de 45 %, suivi d'un plateau de 2 secondes à 45 %, pour ensuite retourner à 0 % immédiatement. Le débit du gaz porteur, soit de l'air de grade médical (Praxair Canada, Mississauga, Canada) a été réglé à 3 L/min. L'aiguille Corona et la température du cône ont été réglés à 3 μ A et à 150 °C respectivement. Ces valeurs sont utilisées fréquemment pour les analyses par LDTD et utilisées dans les méthodes développées précédemment⁵²⁻⁵⁴.

Il a été observé dans une précédente étude de Gravel et al. (2019)⁵³ que, dans certains cas, l'ajout d'un revêtement sur la plaque d'acier inoxydable peut être nécessaire afin de favoriser la désorption. En effet, les composés ayant des fonctions plus polaires, tels que les acides carboxyliques, cristallisent différemment en présence d'un revêtement. Une couche plus homogène et mince d'analytes est formée et est plus facilement désorbée. Ces composés ont donc généralement de meilleurs signaux lorsqu'il y a dépôt d'un revêtement, généralement composé d'acide éthylènediaminetetraacétique (EDTA), au préalable⁵³. Avant de valider la méthode d'analyse, la vérification de l'influence de l'ajout d'un revêtement d'EDTA sur la variation de signal a été effectuée. Ces tests préliminaires ont révélé la nécessité de l'utilisation d'un revêtement lors de l'analyse du diclofénac seulement. Aucune différence significative n'a été observée dans le cas du triméthoprime et de la gabapentine.

La quantification des trois composés pharmaceutiques a été effectuée par étalonnage interne avec les composés deutérés correspondant, soit la gabapentine-d₁₀ (100 μ g/mL dans le méthanol, Sigma Aldrich), le triméthoprime-d₃ (99,9 %, CDN Isotopes) et le diclofénac-d₄ (98 %, CDN Isotopes). Un volume de 10 μ L de solution de travail de ces étalons internes à 5,2 mg/L dans le méthanol a

été ajouté à 200 µL d'échantillon afin d'obtenir une concentration finale de 248 µg/L. Plusieurs échantillons ont été préalablement dilués pour respecter la plage de quantification.

Pour l'analyse du diclofénac, un volume de 10 µL d'une solution de revêtement (solution de MeOH-H₂O 3 :1, v/v contenant de l'EDTA à 100 µg/mL et 1,4 % de NH₄OH, tous achetés chez Fisher Scientific Canada) a été déposé sur la plaque et séché. Par la suite, 10 µL d'échantillon dopé d'étalons internes ont été déposés, séchés et analysés. Dans le cas de la gabapentine et du triméthoprim, aucun revêtement était nécessaire donc, un volume de 10 µL d'échantillon dopé d'étalons internes a directement été déposé sur la plaque, puis a été séché et analysé. Les composés d'intérêt ont été analysés par une méthode de mesure de réactions sélectionnées (de l'anglais, *Selected Reaction Monitoring* ou SRM) selon les transitions et les paramètres décrits dans le tableau 5. Les résultats de la validation de la méthode ainsi que du suivi de la concentration des trois composés durant les traitements d'OVH sont présentés au chapitre 4.

Tableau 5. Paramètres MS de la méthode d'analyse par LD TD-QqQMS.

Composé	Polarité APCI	Type de transition	Ion précurseur (m/z)	Ion produit (m/z)	Tension du cône (V)	Énergie de collision (V)
Gabapentine	+	Quantification	172,03	137,10	10	15
		Confirmation	172,03	154,01	10	15
Triméthoprim	+	Quantification	291,20	123,01	30	25
		Confirmation	291,20	261,07	30	25
Diclofénac	+	Quantification	296,04	214,98	30	20
		Confirmation	296,04	250,03	30	20
Gabapentine-d ₁₀	+	Quantification	182,05	147,13	10	15
		Confirmation	182,05	164,13	10	15
Triméthoprim-d ₃	+	Quantification	294,22	122,92	30	25
		Confirmation	294,22	264,09	30	25
Diclofénac-d ₄	+	Quantification	299,96	218,97	30	20
		Confirmation	299,96	253,99	30	20

2.2.2 Analyse de l'acide acétylsalicylique

La méthode de chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, présentée au chapitre 3, a été utilisée pour l'analyse de l'acide acétylsalicylique. Le protocole de dérivation décrit à la section 2.1.2 de l'article a été utilisé. Cependant, puisque le composé était sensible à la température, l'étape de dérivation a été effectuée à 35 °C au lieu de 60 °C. Les transitions ont été optimisées et

les ions de quantification et confirmation étaient respectivement m/z 210 et 195 avec un temps de rétention de 12,05 minutes. L'étalon interne deutéré, l'acide acétylsalicylique- d_4 (98,7 %, CDN Isotopes) a été utilisé lors de la quantification et a été également ajouté à la méthode d'analyse (ions m/z 214 et 199, temps de rétention de 12,03 minutes). Les résultats de la validation sont présentés au chapitre 4, section 4.1.2.

2.3. Analyse des produits de transformation

Les produits de transformation peuvent être assez variés selon le type de molécule analysé ainsi que des conditions de traitement OVH utilisées. Puisque ces produits peuvent être formés à de faibles concentrations et que certains sont intermédiaires, il est d'intérêt de développer des méthodes sensibles pour les quantifier. L'analyse ciblée permet d'obtenir une meilleure sensibilité lors de la quantification. Cependant, plusieurs variances du composé mère peuvent se produire, donc les analyses non ciblées sont tout aussi pertinentes dans cette étude.

2.3.1 Analyses ciblées par GC-MS

Le développement et la validation de la méthode de quantification utilisée pour les composés ciblés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse sont présentés au chapitre 3. Les acides carboxyliques ciblés dans le chapitre 3 ont donc été également analysés pour les expériences du chapitre 4 à la suite de la dérivation par BSTFA selon la même méthode.

Cependant, certains composés, jugés pertinents, ont été ajoutés à la méthode d'analyse pour le suivi dans la deuxième partie du projet de recherche, soit la benzoquinone (pureté 99,99 %, Sigma Aldrich), le glycérol (99,9 %, Sigma Aldrich), l'hydroquinone (99,6 %, Sigma Aldrich), l'acide salicylique (>99,0 %, Sigma Aldrich) et comme mentionné à la section précédente, l'acide acétylsalicylique. La benzoquinone a été analysée selon la méthode des acides volatils présentée à la section 2.1.1 du chapitre 3. Le composé deutéré, la benzoquinone- d_4 (98,2 %, CDN Isotopes), a été utilisé comme étalon interne pour la quantification. Dû à une faible réponse de la benzoquinone, comparativement aux autres acides analysés avec cette méthode, le mode d'injection sans division de débit (de l'anglais, *splitless*) a été préféré.

Pour l'analyse des autres composés, soit le glycérol, l'hydroquinone et l'acide salicylique, la méthode d'analyse des acides semi-volatils, présentée à la section 2.1.2 du chapitre 3, a été utilisée.

L'étalon interne de la méthode initiale a été utilisé, soit l'acide succinique-d₄ (99 %, Sigma Aldrich). Les ions utilisés pour la quantification ont été ajoutés à la méthode et se retrouvent dans le tableau suivant. Les résultats de la validation de tous les composés ajoutés sont présentés à la section 4.1.2 du chapitre 4.

Tableau 6. Paramètres des composés ajoutés aux méthodes de quantification existantes.

Composé	Méthode d'analyse	Temps de rétention (min)	Ion de quantification (<i>m/z</i>)	Ions de confirmation (<i>m/z</i>)
Benzoquinone	Volatils	6,08	108	80
Benzoquinone-d ₄	Volatils	6,07	112	84
Glycérol	Semi-volatils	8,74	218	205, 147
Hydroquinone	Semi-volatils	10,39	254	239, 73
Acide salicylique	Semi-volatils	11,81	267	135

2.3.2 Analyses non ciblées par GC-MS

Selon les premiers résultats présentés dans l'article du chapitre 3, les acides quantifiés ont permis d'expliquer seulement que de 35 à 46 % de la DCO expérimentale. Il était donc pertinent d'analyser davantage les échantillons. Afin d'extraire plus d'informations sur les échantillons dérivés par BSTFA, des analyses non ciblées ont été également effectuées. Les mêmes méthodes de préparation et de séparation chromatographique ont été utilisées et l'analyse a été effectuée en mode balayage de *m/z* 50 à 450. Pour les échantillons extraits par la méthode des acides volatils, l'injection a été effectuée en mode sans division de débit («*splitless*»), à la suite des analyses de la benzoquinone, afin d'avoir davantage de sensibilité. Tous les spectres de masse des composés observables ont été comparés avec la banque de donnée NIST 08 afin de les identifier. Seulement les pourcentages de fiabilité supérieurs à 90 % ont été retenus pour l'identification des molécules.

2.3.3 Analyses non ciblées par LC-QToF

La chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse à temps de vol (LC-QToF) a été utilisée en complémentarité aux analyses précédentes, afin d'identifier d'autres types de molécules. En effet, la chromatographie a été effectuée avec une colonne de phase inverse et une source d'ionisation par électrobuliseur (de l'anglais, *Electrospray ionization* ou ESI), ce qui permet la séparation ainsi que l'analyse de molécule plus grandes, moins volatiles et qui ne peuvent être analysées en chromatographie gazeuse. Le spectromètre en temps de vol (de l'anglais, *Quadrupole Time of Flight* ou QToF), préalablement calibré, a permis d'effectuer une séparation

selon la vitesse des ions ainsi que leur rapport masse sur charge (m/z) afin d'obtenir les masses exactes des composés analysés.

Les analyses LC-QToF ont été effectuées à l'aide d'un chromatographe liquide de Shimadzu composé d'un auto-échantillonneur SIL-30AC (Nexera, Japon), des pompes LC-30AD (Nexera, Japon) et un module de colonne CTO-30A (Nexera, Japon). La colonne de phase inverse C₁₈ utilisée était de marque Acquity UPLC HSS T3 (Waters, Ireland) avec des particules de 1,8 μm et des dimensions de 2,1 x 50 mm. Le spectromètre de masse utilisé était le maXis 3G (Bruker, Allemagne). Le logiciel d'acquisition utilisé était HyStar 3.2 SR4 de Bruker Daltonics.

Pour toutes les analyses, un volume de 5 μL d'échantillon a été injecté directement après avoir été filtré au préalable avec un filtre de 0,20 μm (Millex PTFE, MilliporeSigma). La séparation chromatographique a été effectuée avec un débit de 0,5 mL/min avec la phase mobile A (Eau + 0,2 % d'acide formique) et la phase mobile B (MeOH + 0,2 % d'acide formique). L'eau, le méthanol ainsi que l'acide formique ont été achetés chez Fisher Scientific et étaient de grade Optima LC/MS. La colonne a été conservée à une température constante de 30 °C durant toute la durée des analyses. Les gradients de la phase A et B ont été optimisés selon le temps de rétention des composés initiaux analysés et sont répertoriés dans le tableau 7 à la page suivante.

Les analyses par spectrométrie de masse en temps de vol ont toutes été réalisées en mode d'ionisation positif (ESI+) pour une plage de m/z 50 à 1 200, en appliquant une tension de 2200 à 3000 V sur le capillaire, une pression au nébulisateur de 4 bar, une valeur de «End plate Offset» de 500 V et une température de 200 °C. Les formules associées aux masses exactes ont été déterminées selon MolWeightToFormula du logiciel de Bruker Daltonics. Afin de déterminer les formules moléculaires les plus probables, certains critères ont dû être satisfaits, soit un ratio signal sur bruit (S/N) supérieur à 10, une tolérance d'une différence de 10 mDa, le nombre d'atomes de carbone, d'azote et de chlore, dans le cas échant, et une valeur d'équivalents de liens doubles et cycles (de l'anglais, *Ring Double Bond Equivalents* ou RDBE) possible chimiquement.

Tableau 7. Gradient des phases A et B utilisé pour l'analyse LC-QToF.

Temps (min)	% Phase A (H ₂ O + 0,2 % A.F.)	% Phase B (MeOH + 0,2 % A.F.)
0	98	2
3	98	2
10	0	100
12	0	100
13	98	2
16	98	2

2.4 Demande chimique en oxygène

La demande chimique en oxygène (DCO) a été déterminée expérimentalement directement au Centre de transfert technologique en écologie industrielle (CTTÉI) selon le protocole du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec⁵⁵. Seulement les valeurs de DCO des échantillons prélevés au temps initial, à 290 °C et après 60 minutes ont pu être mesurées, dû à la limitation dans le volume de prélèvement.

2.4.1 Bilan théorique de la demande chimique en oxygène (DCO)

Le bilan de la demande chimique en oxygène théorique (DCO) a été effectué selon les concentrations retrouvées ainsi que les demandes théoriques calculées propres à chacune des molécules quantifiées, déterminées selon [1.7] présentée à la section 2.1.3 précédemment. Ces valeurs de contribution à la DCO théorique ont été rapportées selon les DCO mesurées expérimentalement afin d'estimer le taux de recouvrement dans l'identification des produits de transformation. Une première tentative a été effectuée dans la première partie du projet et est présentée au chapitre 3 dans la section « *Qualitative and quantitative analysis of hospital wastewater* ». Cependant, les composés responsables de la DCO initiale provenaient d'eaux usées, donc d'origines inconnues. Le pourcentage de contribution théorique à la DCO de chaque composé quantifié a donc également été évalué dans la deuxième partie du projet, où les structures des composés traités étaient connues et la composition initiale des solutions traitées était contrôlée.

CHAPITRE 3. DÉTERMINATION D'ACIDES CARBOXYLIQUES À COURTE CHAÎNE ET ANALYSE NON CIBLÉE D'ÉCHANTILLONS D'EAU TRAITÉS PAR OXYDATION EN VOIE HUMIDE UTILISANT LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLÉE À LA SPECTROMÉTRIE DE MASSE

Le premier objectif de ce projet de recherche était de développer une méthode analytique, afin de quantifier les produits de transformation généraux qui pouvaient se former durant le traitement de contaminants par oxydation en voie humide (OVH). Le choix des acides carboxyliques à courte chaîne (C₁-C₆) a été fait en fonction des produits de transformation les plus récurrents cités dans la littérature (Tableau 3 de la section 1.4). Puisque des petits acides volatils étaient ciblés, une méthode par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) a été développée et validée. Les résultats issus de ce chapitre ont été présentés à plusieurs reprises, soit par affiche scientifique lors du 33^{ème} Congrès de l'Est du Canada sur la qualité de l'eau (ACQE) le 25 et 26 octobre 2019 à Montréal ainsi que par présentations orales, dont la rencontre avec le comité « Environnement en santé ! » du CISSS-Montérégie Est (décembre 2019), lors du mini-colloque virtuel des étudiant.e.s ÉcotoQ (juin 2020), d'un webinaire de Chapitre St-Laurent – EcotoQ (disponible sur la chaîne Youtube d'ÉcotoQ) et du 1^{er} symposium virtuel de l'ACQE (novembre 2020). Les résultats de ces travaux ont été également publiés dans une revue scientifique à comité de lecture : Guérette C., Lemoine P., Ramirez P., Segura P. A. (2021) Determination of short-chain carboxylic acids and non-targeted analysis of water samples treated by wet air oxidation using gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1652:462352. doi: 10.1016/j.chroma.2021.462352.

Résumé : L'article qui suit porte sur la quantification de 14 acides carboxyliques par chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à la spectrométrie de masse avec impact électronique (EI-MS), à la suite d'une dérivation par *N,O*-bis(triméthylsilyl)trifluoroacétamide (BSTFA). Cette méthode constitue la base du projet de l'étude des produits de transformation en permettant d'effectuer un suivi général du carbone via de petits acides carboxyliques, qui sont des produits de transformation pour plusieurs types de molécules. Lors du développement de méthode, l'extraction des composés contenus dans l'eau et la dérivation des acides carboxyliques volatils et semi-volatils à courte chaîne ont été optimisées. Dans un premier temps, une preuve de concept de suivi a été effectuée avec un composé modèle bien connu, l'acétaminophène. Par la suite, la

méthode a été appliquée pour l'analyse d'échantillons réels d'effluents d'hôpitaux en effectuant un suivi selon le temps d'oxydation. En complémentarité avec les analyses ciblées, cette méthode a permis également de réaliser des analyses non ciblées en faisant l'acquisition MS en mode balayage. L'identification de composés supplémentaires a été possible grâce à la banque de données NIST.

Contribution de l'auteure : La recherche bibliographique, l'élaboration du design expérimental, les manipulations analytiques requises, le traitement de tous les résultats présentés dans l'article, la conception des figures et graphiques ainsi que la rédaction de l'article ont été effectués par la première auteure. L'étudiante a également participé à la révision de l'article en répondant aux commentaires des réviseurs, en collectant et traitant les résultats demandés en révision ainsi qu'en modifiant le texte selon les commentaires des réviseurs. Pascal Lemoine et Pedro Ramirez ont participé à la révision du manuscrit et ont prodigués des conseils sur la conception du design expérimental (partie d'oxydation en voie humide). Pedro A. Segura a participé à la révision de l'article, a donné des conseils sur la conception du design expérimental, a aidé sur la structure de l'article, à la suggestion d'un journal et a également participé à la préparation du document de réponse aux réviseurs.

Remarque de l'auteure : Le lecteur est avisé que les références mentionnées dans cet article n'ont pas été intégrées aux références du reste de l'ouvrage. Une bibliographie, propre à cette section, est insérée à la fin de ce chapitre. La numérotation des références qui suivent est donc uniquement pour le chapitre 3. De plus, les tableaux et figures n'ont pas été répertoriés dans les tables prévues à cet effet et ont une numérotation distincte du reste de l'ouvrage.

Determination of short-chain carboxylic acids and non-targeted analysis of water samples treated by wet air oxidation using gas chromatography-mass spectrometry

Cassandra Guérette ¹, Pascal Lemoine ², Pedro Ramirez ², Pedro A. Segura ^{1*}

* Tel: 1-(819) 821-7922. E-mail: pa.segura@usherbrooke.ca

¹ Department of Chemistry, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada J1K 2R1

² Centre de transfert technologique en écologie industrielle, Sorel-Tracy, QC, Canada J3R 1C2

<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2021.462352>

Keywords

Advanced oxidation process

Transformation products

Hospital wastewater

Method optimization

Non-targeted screening

Abstract

A method based on gas chromatography (GC) coupled with electron ionization mass spectrometry (EI-MS) employing *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide with trimethylchlorosilane (BSTFA + 1% TMCS) as derivatization agent was developed to quantify short-chain carboxylic acids (C₁-C₆) in hospital wastewater treated by wet air oxidation, an advanced oxidation process. Extraction from water and derivatization of volatile and semi-volatile short chain carboxylic acids were optimized and validated and limits of quantification (LOQ = 0.049 mg L⁻¹ - 4.15 mg L⁻¹), repeatability (RSD = 1.7 % – 12.8 %), recovery (31 - 119 %) and trueness (relative bias = -19.0 % – 3.4%) were acceptable. The validated method was successfully applied to monitor the

concentration of organic acids formed after wet air oxidation of water samples. Results showed that the method described herein allowed to identify 38 % and up to 46 % of the final COD chemical composition after wet air oxidation of acetaminophen spiked in deionised water and hospital wastewater samples, respectively. The developed method also allowed to perform qualitative non-targeted analysis in hospital wastewater samples after treatment. Results demonstrated that glycerol, methenamine, and benzoic acid were also present in the samples and their presence was confirmed with reference standards.

1. Introduction

Advanced oxidation processes (AOPs) are among the most promising solutions to eliminate toxic chemicals such as pharmaceuticals, personal care products, illicit drugs, and other trace organic contaminants (TrOCs) from municipal wastewater. These techniques employ reactive species such as hydroxyl radicals ($\text{HO}^\bullet$), hydrogen peroxide, ozone and superoxide anion radicals ($\text{O}_2^{\bullet-}$) with low selectivity towards organic compounds and generate CO_2 , H_2O , short-chain organic acids and inorganic ions as end products [1]. AOPs include electrochemical oxidation, Fenton processes, ozonation, photolysis, and wet air oxidation (WAO) among others.

AOPs show high removal rates for a wide range of organic compounds and the efficiency of these technologies is generally measured by the elimination of target compounds and the reduction of chemical oxygen demand (COD) [2-4]. However, these processes also generate various transformation products which may be associated with toxic effects on biota [5,6] or activated sludge [7]. During treatment by AOPs, TrOCs are usually degraded first into compounds closely related to their parent molecules with the loss or addition of a few functional groups [8-11]. These transformation products are in turn degraded further into low molecular weight compounds and since TrOCs such as pharmaceuticals are generally composed of aromatic rings, short-chain carboxylic acids are formed following aromatic ring opening if the advanced oxidation conditions allow it [12]. These acids can be produced at higher proportions compared to other transformation products since they are resistant to further oxidation [13].

Among the diverse AOPs available, WAO which uses water below its critical point and an oxidant such as air remains sparsely studied for municipal wastewater treatment despite showing high

removal efficiency for organic compounds [14-18]. Previous studies have demonstrated that organic compounds are degraded mostly into acetic acid. However, other carboxylic acids are observed such as formic, propionic, oxalic, succinic, and *p*-coumaric [19,20]. Therefore, to ensure that WAO treatment conditions are optimal and that TrOCs are completely mineralized, monitoring of short-chain carboxylic acids is of interest, especially since they may accumulate during treatment. Additionally, monitoring the formation of transformation products in WAO is critical since in some conditions, treated effluents show toxicity towards a crustacean (*Daphnia magna*) and a bacterium (*Aliivibrio fischeri*) [14].

Transformation products of organic compounds, specifically carboxylic acids have been analysed by various techniques [21], such as reversed phase liquid chromatography coupled to UV detection to quantify oxidation products of interest such as phenolic compounds and muconic acid [22], oxalic and oxamic acids [23] or formic and acetic acids [24]. Ion-exclusion chromatography coupled with electroconductivity detection has been also employed to quantify formic, acetic, propionic, lactic, succinic, malic and citric acids [13]. Methods based on gas chromatography coupled with flame ionization detection have been developed to determine diverse carboxylic acids such as acetic, formic, propionic, butyric, isobutyric, valeric, isovaleric, hexanoic and heptanoic [25-27]. Methods using UV, electroconductivity or flame ionization detection are good choices for quantification of targeted compounds, but somehow limit the information that can be obtained from samples by not allowing non-targeted analyses.

Gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) has been used with continuous solid-phase extraction (SPE) and microwave assisted derivatization to analyse acetic, propionic, oxalic, glycolic, succinic, fumaric acids and other small fatty acids [28]. However, methods using SPE or headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) [25] present a risk of compound loss due to the selectivity of the extraction medium as well as during the evaporation step done before analysis in the case of SPE. This is especially critical in the case where targeted and non-targeted analyses are performed with the same method to quantify and identify known and unknown transformation products. In such a case, a less selective sample preparation method than SPE or HS-SPME should be used to limit potential loss of analytes. Also, to adequately quantify volatile compounds, evaporation should be avoided.

All the methods mentioned above were able to meet certain specific objectives but are often limited in the number of analytes analysed which may restrict the monitoring of transformation products formed during advanced oxidation processes of specific TrOCs such as pharmaceuticals. For example, GC-MS methods for the quantification of selected volatile fatty acids in wastewater have been developed [29,30], however in the case of pharmaceuticals, only small carboxylic acids (< 6 carbons) are monitored to understand their transformation pathways, since they generally do not contain long carbon chains. Also, in some cases, previous analysis methods do not allow the identification of unknown transformation products of pharmaceuticals in the samples, which is important in monitoring of fate of these TrOCs after water treatment.

Therefore, a simple method requiring minimal sample preparation, capable of analysing semi-volatile and volatile carboxylic acids while also allowing the identification of unknown compounds in water is still lacking. For those reasons, the main objective of this study was to develop and validate a sensitive, rapid, and robust GC-MS quantitative method to monitor the formation of volatile (formic, acetic and propionic acids) and semi-volatile (lactic, glycolic, oxalic, malonic, glyoxylic, maleic, succinic, fumaric, malic, muconic and tartaric acids) carboxylic acids formed during treatment of water containing pharmaceutical residues by WAO or other AOPs. Additionally, the validated method was used to screen non-targeted transformation products. As a model case, the developed method was applied to study the fate of pharmaceuticals in hospital wastewater treated by WAO.

2. Material and methods

2.1 Chemicals and reagents

Molecular structures of target volatile and semi-volatile carboxylic acids are shown in Figure 1. Glacial acetic acid (purity 99.7 %), propionic acid (99.87 %), L-(+)-lactic acid (≥ 99.99 %), glycolic acid (99.5 %), oxalic acid (99.3 %), malonic acid (99.9 %), glyoxylic acid monohydrate (> 99.99 %), maleic acid (99%), succinic acid (99.8 %), fumaric acid (99.8 %), DL-malic acid (99.1 %), *trans,trans*-muconic acid (97.9 %) and L-(+)-tartaric acid (99.92 %) and acetaminophen (> 99.0 %) were purchased from Sigma-Aldrich Canada (Oakville, ON). Formic acid (> 99.0 %) was bought from Fisher Scientific Canada (Ottawa, ON). Dimethyl fumarate, acetic acid-d₄ (purity

99.27 %) and succinic acid-2,2,3,3-d₄ (purity 99 %) were used as internal standards and were also purchased from Sigma-Aldrich Canada.

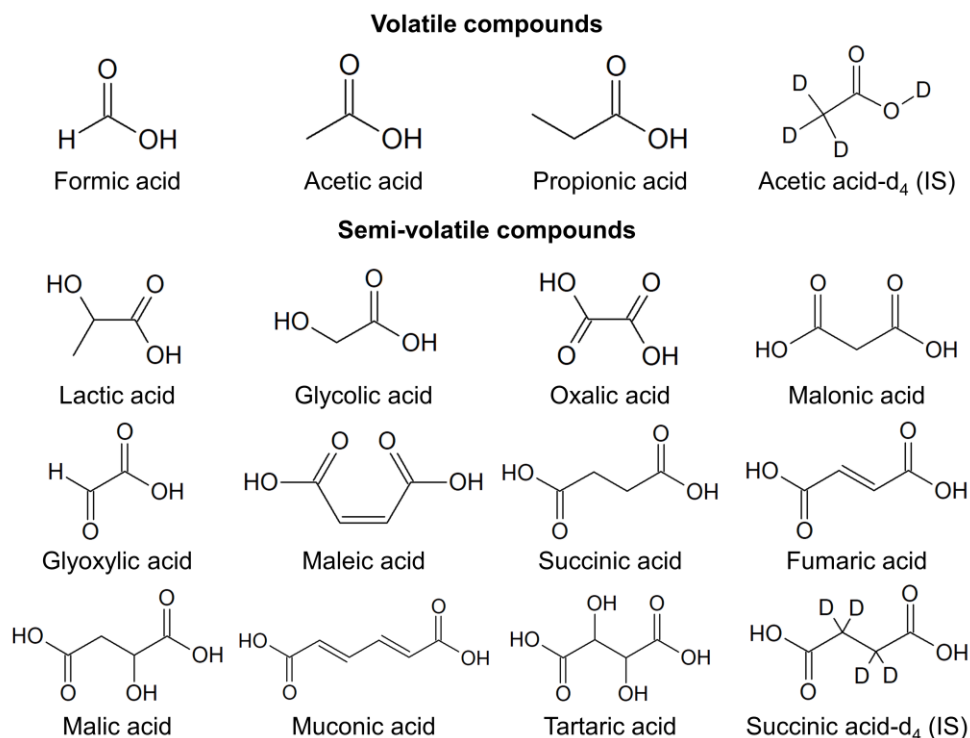


Figure 1. Molecular structures of the target analytes used in this study.

Acetonitrile (ACN) Optima LC/MS grade, methanol (MeOH) Optima LC/MS grade, methyl *tert*-butyl ether (MTBE) HPLC grade and water LC-MS grade were bought from Fisher Scientific Canada. *N,O*-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide with 1% of trimethylchlorosilane (BSTFA with 1% TMCS) made by Cerilliant, dichloromethane (DCM) HPLC Plus grade and sodium chloride (NaCl) were bought from Sigma-Aldrich Canada. Diethyl ether anhydrous ACS reagent, anhydrous sodium sulfate ACS grade (Na₂SO₄) and hydrochloric acid 12 N (HCl) were purchased from VWR International (Mississauga, ON).

Fresh stock solutions of analytical standards of formic, acetic, propionic and acetic acid-d₄ standards were individually prepared before every analysis in LC-MS grade water at 1 g L⁻¹ and were stored at 4 °C if they were used on the same day. Working solutions of volatile compounds and acetic acid-d₄ were prepared at 100 mg L⁻¹ in LC-MS grade water. Stock solutions of semi-volatile acids and succinic acid-d₄ were prepared in MeOH at 1 g L⁻¹ and stocked at -20 °C. Semi-

volatile compound working solutions were prepared in LC-MS grade water at 5 mg L⁻¹ and succinic acid-d₄ working solution were prepared in MeOH at 46.7 mg L⁻¹ before every analysis. Dimethyl fumarate solution was prepared in MTBE-ACN 1:1 (v/v) at 1 g L⁻¹. BSTFA with 1% TMCS was kept at -20 °C.

2.2 Sample preparation

2.2.1 Volatile acids

Formic, acetic and propionic acids are in liquid state at room temperature and are also highly volatile compounds. Therefore, a liquid-liquid extraction was done to separate them from the matrix (water) to avoid an evaporation step. First, samples were diluted to be in the linearity range and were extracted as follows: 200 µL of diluted samples were filtered on 0.20 µm Millex PTFE syringe filters made by MilliporeSigma (Burlington, MA) and were then transferred to a 2 mL microcentrifuge tube. Then, a volume of 25 µL of acetic acid-d₄ internal standard at 100 mg L⁻¹ in water was added. To acidify samples, 25 µL of HCl 1.2 N were added. The sample was vortexed for 20 s and 600 µL of MTBE were added for the first extraction. The solution was mixed for 1 min and centrifuged at 6000 rpm (2160 × g) for 4 min using a Fisherbrand High-Speed Mini-Centrifuge. Next, 400 µL of the organic phase were transferred in another microcentrifuge tube. A volume of 400 µL of MTBE was added in the first microcentrifuge tube to extract a second time. Then, the solution was mixed 1 min and centrifuged for 4 min again in the same conditions. Then, 400 µL were extracted and combined with the previous extract. The extracted portion was dried over with Na₂SO₄. A 500 µL volume of dried extract was filtered on 0.20 µm PTFE syringe filter and then transferred in a 2 mL vial and 100 µL of BSTFA with 1% TMCS were added for derivatization. Finally, the derivatized sample extract was injected for analysis by gas chromatography-quadrupole mass spectrometry (GC-MS).

2.2.2 Semi-volatile compounds

Samples that contain semi-volatile (i.e., in solid state at room temperature) compounds in water were evaporated and derivatized as follows: 500 µL of sample, diluted to be in the linearity range if necessary, and filtered on 0.20 µm Millex PTFE filter were added in a glass tube. Then, a volume of 30 µL of succinic acid-d₄ at 46.6 mg L⁻¹ was added as internal standard. The solution was evaporated under a N₂ stream at 60 °C until dryness. A 620 µL volume of MTBE-ACN 1:1 (v/v) and 80 µL of BSTFA with 1% TMCS were added. The solution was vortexed for 1 min and heated

for 30 min at 60°C in a heating block. Finally, the solution was transferred to a 2 mL vial and a volume of 1 µL was injected and analysed by GC-MS.

2.3 Gas chromatography-quadrupole mass spectrometry

All analyses were performed on a GC 2010 gas chromatograph coupled to a QP2010S quadrupole mass spectrometer made by Shimadzu (Kyoto, Japan). The chromatographic separation was carried out with an HP-5MS capillary column (stationary phase 5% diphenyl-95% dimethylpolysiloxane) of 30 m length, 0.25 mm internal diameter and 0.25 µm film thickness made by Agilent Technologies. The injector, ion source and the GC-MS interface temperature were set respectively to 250 °C, 250 °C and 300 °C. The flow rate of helium carrier gas was kept at 1 mL min⁻¹ with a linear velocity of 36.1 cm s⁻¹. The injection volume of the samples was 1 µL.

For volatile organic compounds analysis, samples were injected with a solvent delay time of 2.2 min and a split ratio of 50:1. Since formic, acetic and propionic acids elute in the same window as the derivatization agent and its by-products, a 50:1 split ratio of was used to limit the introduction of these compounds in the column and to preserve the detector. The initial column temperature was 40 °C and it was held for 2 min, ramped to 120 °C at a rate of 15 °C min⁻¹ and then finally ramped to 290 °C at a rate of 35 °C min⁻¹ and held 0.5 min. For analysis of semi-volatile acids, samples were injected with a 5 min solvent delay time and the splitless mode was used with a sampling time of 0.35 min. This delay avoids the unnecessary detection of BSTFA and its by-products. The initial column temperature was 70 °C and held 1 min, ramped to 200 °C with a rate of 10 °C min⁻¹ and finally ramped to 290 °C with a 35 °C min⁻¹ rate.

For the two methods, electron ionization (EI) at 70 eV was employed. MS data were acquired in selected ion monitoring (SIM) mode using the target ion $[M-CH_3]^{\bullet+}$ and confirmed by other ions that had a significant response in the standard scans (Table 1).

Table 1. SIM parameters for compounds of interest.

	Compounds	Retention time (min)	Quantitative ion (<i>m/z</i>)	Confirmation ions (<i>m/z</i>)
Volatile compounds	Formic acid	2.31	103	75
	Acetic acid-d ₄ (IS)	3.10	120	76
	Acetic acid	3.13	117	75
	Propionic acid	4.30	131	75
Semi-volatile compounds	Lactic acid	5.46	219	191, 147
	Glycolic acid	5.66	205	177, 147
	Oxalic acid	6.47	219	190, 147
	Malonic acid	7.51	233	248, 147
	Glyoxylic acid ^a	8.22	265	191, 147
	Maleic acid	8.91	245	147
	Succinic acid-d ₄ (IS)	8.97	251	147
	Succinic acid	9.01	247	147
	Fumaric acid	9.44	245	147, 73
	Malic acid	11.38	335	233, 147
	Muconic acid	12.87	271	286, 147
	Tartaric acid	13.27	423	292, 147

^a Glyoxylic acid in water is rapidly converted to a geminal diol (2,2-dihydroxyacetic acid). It is therefore in this form that glyoxylic acid was analysed.

Volatile compounds had only one confirmation ion because of their small size which does not allow further fragmentation. Maleic, succinic-d₄ and succinic acid also had one confirmation ion to maximize the chromatographic resolution and the dwell time since they were analysed in the same SIM segment.

2.4 Data processing

2.4.1 GC-MS acquisition and data treatment

GC-MS data were acquired by Shimadzu GCMS Real Time Analysis and processed using Shimadzu GCMS Postrun Analysis from GCMS Solution Version 2.50. Chromatogram peaks were integrated manually. Internal calibration with isotope-labelled compounds (acetic acid-d₄ and succinic acid-d₄) was employed and calibration curves using the least squares method were determined by Microsoft Excel 365. To determine the influence of heating time during

derivatization, the peak area differences of each analyte were considered directly without any correction with the internal standards (acetic acid-d₄ and succinic acid-d₄), which themselves could also be influenced by heating. For semi-volatile compounds, dimethyl fumarate was used as internal standard to correct any variability in the peak areas due to injection in the GC-MS since peak area changes were rather subtle. For volatile compounds, peak area changes due to heating were reproducible, so internal standard was not necessary for those tests. Dimethyl fumarate was selected because it has a similar structure to the target compounds and was not affected by the derivatization step.

Statistical analyses were carried out with OriginPro 2020. One-way analyses of variance (ANOVA) tests were performed with a significance level $\alpha = 0.05$ and equal sample size for each condition ($n = 3$). Homogeneity of variance tests were done with Levene's test. The significative differences between means were determined by Tukey's posthoc test. In some cases, the assumption of homogeneity of variances was not respected. However, since ANOVA is a robust test towards variance heterogeneity, results were considered valid [31].

2.4.2 Method validation and quality control

Limits of detection and quantification (LOD and LOQ) were determined using the selected quantitative ions m/z listed in Table 1. The LOD of each analyte were calculated from calibration curves using the formula $LOD = 3 \times s_B/a$ and for $LOQ = 10 \times s_B/a$, where s_B is the standard error of the y-intercept and a the slope of the calibration curve [32]. Linearity was verified with correlation coefficients (R^2) higher than 0.99 and the linearity range was determined between the LOQ and the highest concentration tested. Trueness was expressed as relative bias and acceptable values were between -20 % and +10 % according to the European Commission decision 2002/657/EC [33]. Intra-day and inter-day precision were determined with the relative standard deviation (RSD %). Recovery was determined by comparing the analytical response for extracted/evaporated samples at low and high concentration levels with unextracted standards (spiked solvent). Carryover was determined with the signal of a blank after analysis of the highest concentration compared to the smallest concentration of the calibration curve for each compound. This last parameter was studied to ensure that there are no cross-contamination and backflash in the injector to avoid ghost peaks and to ensure that the running parameters were adequate to keep the system clean.

2.5 Wet air oxidation conditions

2.5.1 Acetaminophen spiked deionized water sample

A volume of 40 mL of a concentrated solution of ACT (10.2 g L^{-1}) was introduced in a 170 mL horizontal batch reactor model Cellule 2646.0000 made by TOP Industrie (Vaux-le-Pénil, France) (Figure 2). The final desired volume was completed with 33 mL of deionized water added by a dosage pump. Air was purged with nitrogen to create an inert atmosphere while increasing temperature with a fast-heating ramp until 60°C and then with a ramp of 3°C min^{-1} until reaching the desired temperature value. Based on previous study, 250°C was chosen as working temperature because in those conditions, WAO exhibited good elimination rates for ACT [14]. Once 250°C was reached, air in excess at 160 bar was injected to initiate the oxidation process. Samples were taken at 20°C , 250°C and after 10, 20, 30, 60 and 90 minutes after air injection. After completing the test, samples were preserved at -20°C until GC-MS analysis.

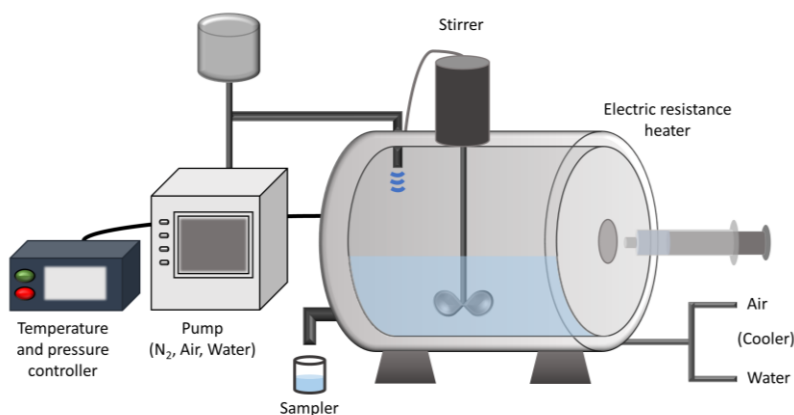


Figure 2. Simplified diagram of a WAO reactor.

2.5.2 Hospital wastewater sample

A wastewater sample was collected at a local hospital and was treated with a HA1001 model batch reactor made by TOP Industrie. Four tests with different residence times were done. For each test, a sample volume of 150 mL was introduced in the reactor and air was purged with nitrogen. Reactor was heated with a fast ramp until 60°C and then at a pace of 3°C min^{-1} until reaching the temperature previously optimized for this type of sample (i.e., 290°C) [14]. Air at 160 bar was injected in the reactor to start oxidation. WAO of hospital wastewater was performed at residence times of 10, 15, 20 and 25 min and at the end of each test, samples were collected and stored at -20°C until GC-MS analysis.

3. Results and discussion

3.1 Method optimization for volatile compounds

Since some short-chain carboxylic acids are thermolabile or do not have adequate volatility or polarity to be analysed by gas chromatography, derivatization of analytes was required. Silyl derivatives are widely used for quantification or identification and many derivatives are listed in NIST library. N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) is generally used as silylating agent with trimethylchlorosilane (TMCS) as a catalyst to enhance derivatization efficiency. However, optimal conditions may vary from one analyte to another, such as temperature, heating time and solvent. Therefore, optimization tests were necessary [34,35].

3.1.1 Liquid-liquid extraction

Liquid-liquid extraction of volatile acids was carried out in MTBE because it is required to have an aprotic solvent not miscible in water to be able to derivatize with BSTFA right after extraction. Ethyl acetate was tested, but it created interferences with acetic acid because of solvent impurities. DCM was also tested but was too volatile and evaporated during the derivatization step due to heating.

To optimize liquid-liquid extraction, the salting-out effect was tested by adding NaCl to the saturation concentration (90 mg of NaCl in 250 μ L aqueous sample). For each carboxylic acid, the addition of salt had no significant impact on signal improvement compared to no addition (Figure 3). Adding salt to the sample can improve liquid-liquid extraction by decreasing the solubility of analytes in the water phase and facilitate their transfer to the organic phase. Salt can also increase the density and viscosity of the aqueous phase, which reduces the efficiency of the dispersion of the extraction solvent, as observed by Makoś et al. (2018) [36]. The second condition tested was the acidification of samples by adding HCl so that most analytes could be in their undissociated form. Samples were under pH 2, about two pH units below the analytes' pK_a (formic: 3.75, acetic: 4.76 and propionic: 4.87). A significant signal increase was only observed for formic acid which has the lowest pK_a (Figure 3). The third condition tested was to combine salted and acidified conditions by adding NaCl and HCl. Again, only formic acid showed significant differences compared to no addition (Figure 3). Considering these findings, subsequent optimization was carried out by adding only HCl to reduce the preparation steps. After extraction, samples were

dried over with anhydrous Na_2SO_4 to improve the overall signal since silylation derivatization is affected by moisture [36,37].

3.1.2 Heating time

Heating can improve the derivatization rate by increasing analytes' solubility. For many compounds derivatization will be instantaneous while others require heating to be effective [34]. To test this condition, a 60 °C temperature was chosen to be near the boiling point of MTBE (55 °C) (Figure 4).

For each target volatile acid, heating caused a signal decrease that could be due to partial evaporation of compounds given their boiling points (acetic: 118 °C, formic: 101 °C, propionic: 141 °C). It was observed that all signals decreased significantly after 60 min of heating. Also, there were significant differences between 0 min and 30 min for formic and acetic acids and between 30 min and 60 min for acetic and propionic acids. For these reasons, the following analyses were carried out without heating.

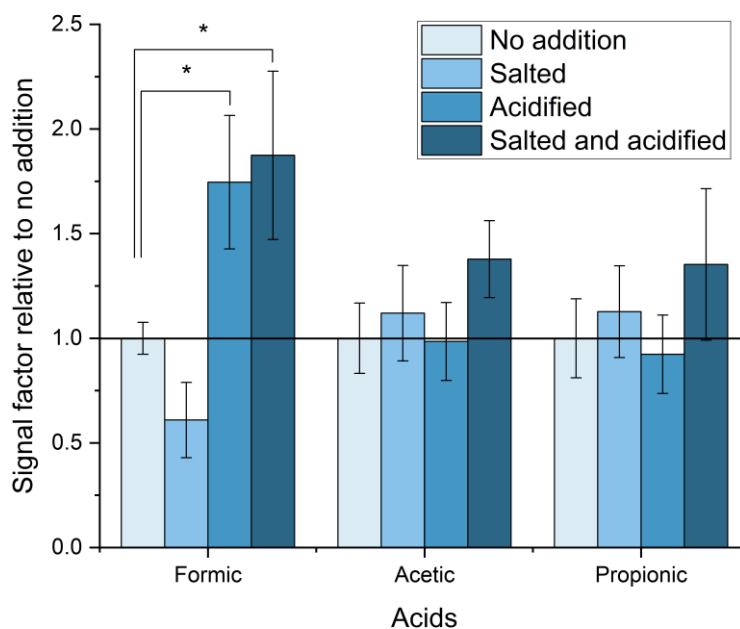


Figure 3. Signal improvement factor of liquid-liquid extraction optimization relative to unsalted and unacidified samples. Length of error bars represents ± 1 standard deviation ($n = 3$). Each compound was added at a concentration of 12.5 mg L^{-1} . The horizontal line indicates signal enhancement threshold = 1 (i.e., no change compared to unsalted and unacidified samples). Asterisks indicate statistically significant differences ($p < 0.05$) according to the ANOVA and Tukey post hoc tests.

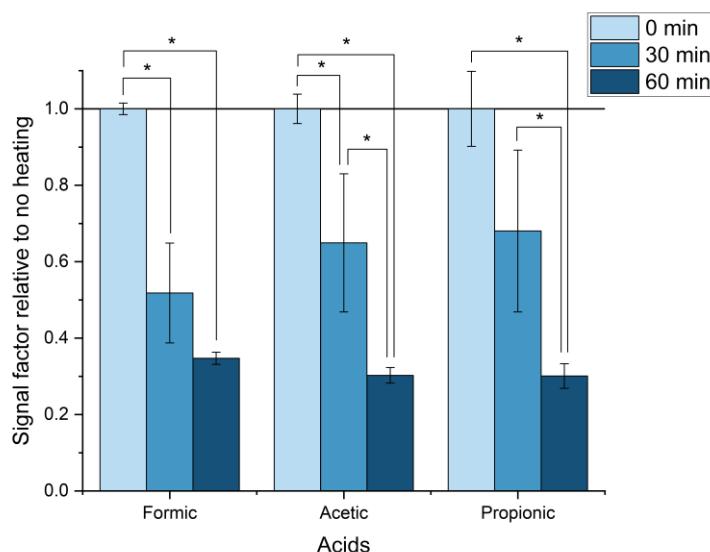


Figure 4. Signal decrease factor with heating time at 60 °C relative to room temperature for target volatile acids after adding BSTFA. Length of error bars represent ± 1 standard deviation ($n = 3$). Each compound was added at a concentration of 12.5 mg L^{-1} . The horizontal line indicates signal enhancement threshold = 1 (i.e., no change compared to room temperature samples). Asterisks indicate statistically significant differences ($p < 0.05$) according to the ANOVA and Tukey post hoc tests.

3.2 Method optimization for semi-volatile compounds

3.2.1 Derivatization solvent

Although BSTFA can be used alone as solvent, other organic solvents, which should not contain active hydrogen atoms, can be added during derivatization because aprotic organic solvents can enhance the dissolution of analytes and derivatives [34]. Less polar organic solvents such as ether are excellent solvents for the silylation reaction but do not accelerate the reaction rate unlike more polar solvents such as acetonitrile [38]. For these tests, low polarity solvents like ether and MTBE and high polarity solvents like ACN and DCM were chosen. A mixture of MTBE-ACN (1:1, v/v) was also tested. Results are shown in Figure 5.

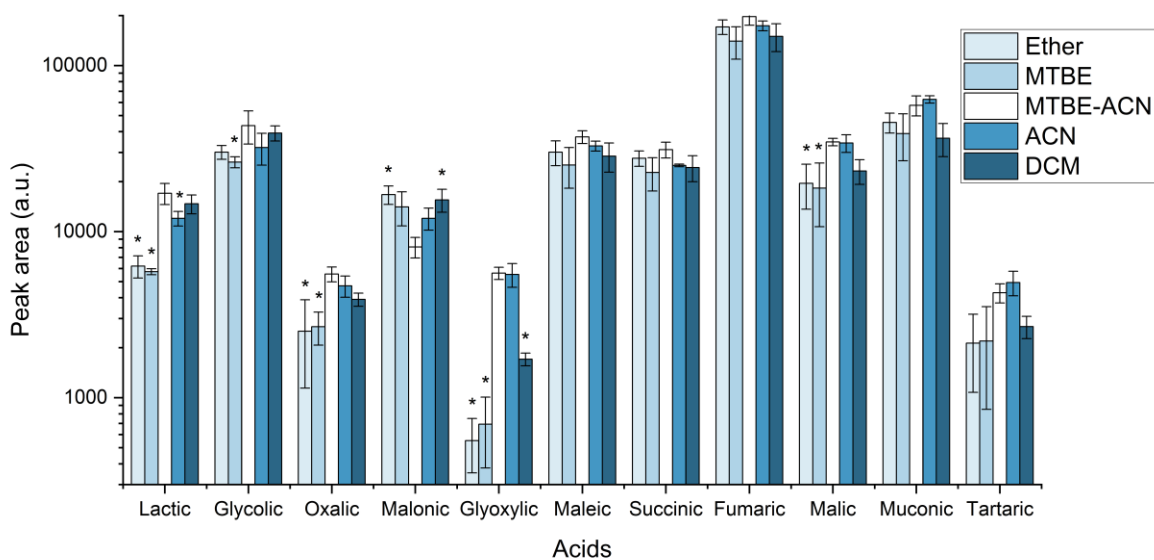


Figure 5. Effect of organic solvents added to BSTFA during derivatization of target semi-volatile acids. Length of error bars represent ± 1 standard deviation ($n = 3$). Each compound was added at a concentration of 1 mg L^{-1} . Asterisks indicate statistically significant differences with MTBE-ACN ($p < 0.05$) according to the ANOVA and Tukey post hoc tests.

According to statistical analysis, peak areas of maleic, succinic, fumaric, muconic and tartaric acids were statistically similar for all solvents. MTBE-ACN (1:1, v/v), ACN and DCM gave the best signal, especially for glycolic, oxalic, and malic acids. For lactic acid, MTBE-ACN and DCM were the best solvent choices. For malonic acid, it was DCM and ether and for glyoxylic acid it was MTBE-ACN and ACN. For the following experiments, MTBE-ACN (1:1, v/v) mixture was chosen as solvent to increase the solubility of analytes, facilitate the silylation reaction but also to limit the solvent evaporation during heating.

3.2.2 Heating time

Heating at 60°C was also tested for semi-volatile acids (Figure 6). In this test, analyte peak areas varied but no trend with significant drops was observed for volatile acids.

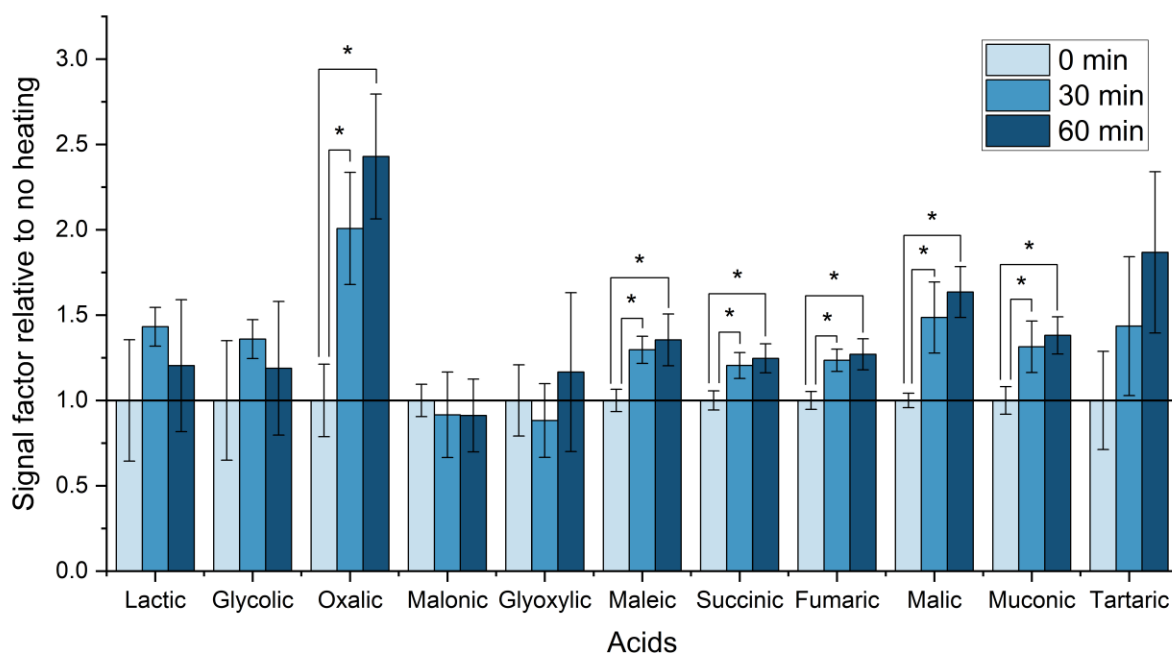


Figure 6. Signal factor with heating time at 60 °C relative to room temperature for target semi-volatile acids after adding BSTFA. Length of error bars represent ± 1 standard deviation ($n = 3$). Each compound was added at a concentration of 1 mg L⁻¹. The horizontal line indicates signal enhancement threshold = 1 (i.e., no change compared to room temperature samples). Asterisks indicate statistically significant differences ($p < 0.05$) according to the ANOVA and Tukey post hoc tests.

For six semi-volatile acids, heating caused a signal enhancement factor. Compared to volatile acids, this increase can be explained by the fact that semi-volatile acids have at least two functions to derive and require warming to improve solubility or drive the reaction to completion [38]. In all cases, there was no significant difference between 30 and 60 minutes, therefore 30 minutes of heating was chosen for further analyses.

3.3 Analytical performance of the optimized methods

Analytical performance parameters of the optimized methods were determined according to the procedures mentioned in section 2.4.2 and are shown on Table 2.

All compounds showed excellent linearity with correlation coefficients higher than 0.99 and an acceptable linearity range. Relative bias values right after derivatization were between -18.7 % and 3.4 %, which is largely within acceptable values. Stability of derivatized analytes was evaluated by relative bias at 9 h and 24 h after silylation. Samples were kept at room temperature in the auto-sampler rack. For all compounds, relative bias values after 9h were between -13 and +7.2 %, which

are also acceptable values. However, most compounds, excluding formic, acetic, maleic, succinic and fumaric acids, could not be determined with acceptable relative bias values 24 h after derivatization.

Intra and inter-day RSD% were between 1.7 % and 15.9 % excluding glyoxylic acid which were 25.0 % and 26.5 % respectively. This variation can be explained by the fact that glyoxylic acid is converted to its geminal diol form in water, thus analysed in this form. Therefore, the conversion may differ very likely from sample to sample and with temperature. Recovery rates were evaluated at two concentration levels (low and high) and acceptable values between 71 and 119 % were obtained, except for two compounds, lactic acid and glycolic acid, where values of 31 and 39 % were obtained at high concentration level. In agreement with the relative bias and correlation coefficient results, the use of internal standards allows the correction for lactic and glycolic acids, which allows quantification of these carboxylic acids. It was not possible to determine the recovery rates of glyoxylic acid since the diol form could only be formed in presence of water. Indeed, very low signals were observed for spiked MTBE-ACN samples, but higher and constant signals were obtained with evaporated spiked water samples, which confirms the need of water in samples and can explain the variability in the relative bias. Carryover values were between 0.1 and 6.4 % and no significant peaks were detected in blank, which confirms that there is no cross-contamination.

Table 2. Method performance for volatile and semi-volatile compounds.

	Acid	LOD (mg/L)	R ²	Linearity range (mg/L)	Relative standard deviation							Carryover (%)
					Relative bias (%) ^a			deviation (RSD%, n=3)		Recovery (%) ^b		
					At	9h after	24h after	Intra-day	Inter-day	Low level	High level	
					derivatization	derivatization	derivatization					
Volatile compounds	Formic	1	0.9996	4-100	-5.0	-4.7	-2.2	8.6	16	92 ± 1	92 ± 14	0.8
	Acetic	1	0.9996	3-100	1.4	1.4	3.9	3.4	8.3	100 ± 7	96 ± 13	0.7
	Propionic	1	0.9995	4-100	3.4	-1.4	28	2.2	8.8	97 ± 2	119 ± 16	0.7
Semi- volatile compounds	Lactic	0.03	0.9972	0.1-5.00	3.4	-11	-37	6.4	9.1	96 ± 5	31 ± 4	1.1
	Glycolic	0.05	0.9936	0.2-5.00	1.5	-11	-38	1.7	5.6	80 ± 5	39 ± 6	0.9
	Oxalic	0.05	0.9997	0.1-5.00	-4.9	-2.2	-41	5.9	13	98 ± 10	118 ± 3	5.7
	Malonic	0.06	0.9993	0.2-5.00	-9.0	-19	-44	13	13	82 ± 9	71 ± 7	3.1
	Glyoxylic	0.2	0.9943	0.6-5.00	-17	-13	-44	25	26	N.D.	N.D.	5.5
	Maleic	0.07	0.9974	0.2-5.00	0.9	7.2	4.8	13	14	102 ± 12	112 ± 8	1.1
	Succinic	0.01	0.9999	0.05-5.00	-0.3	3.9	-1.2	2.4	4.3	101 ± 6	102 ± 6	1.0
	Fumaric	0.04	0.9985	0.1-5.00	-6.5	-11	-7.4	3.0	2.9	85 ± 3	93 ± 7	0.1
	Malic	0.1	0.9954	0.4-5.00	-12	-6.4	-39	9.0	14	92 ± 7	107 ± 5	5.4
	Muconic	0.1	0.9967	0.4-5.00	-19	-12	-38	6.0	10	91 ± 7	108 ± 10	0.6
	Tartaric	0.1	0.9953	0.4-5.00	-3.7	-6.0	-36	4.2	7.1	101 ± 14	90 ± 2	6.4

^a Relative bias, intra-day and inter-day RSD % were determined at 45 mg L⁻¹ for volatile acids and 0.75 mg L⁻¹ for semi-volatile acids.

^b Recovery ratios were determined at 5 and 50 mg L⁻¹ for volatile acids and 0.75 and 4 mg L⁻¹ for semi-volatile acids.

N.D. : not determined

3.4 Applications to monitor transformation products generated by WAO

3.4.1 Spiked acetaminophen in water

Optimized analytical methods were used to monitor transformation products formed during WAO treatment of a water sample spiked with an organic compound. Common concentrations of pharmaceuticals in hospital wastewater are in the range of micrograms-per-liter [39,40]. To carry out an analytical proof of concept, a deionized water sample containing initially about 5 000 mg L⁻¹ of ACT, which has a theoretical COD of 1.8 g O₂ per g of ACT (according to Reaction 1), was treated by wet air oxidation at 250 °C for 90 minutes as described in section 2.5.1. ACT quantification was carried out using the method for semi-volatile compounds. A validation was done beforehand ($R^2=0.9983$, LOD = 0.1 mg L⁻¹, linearity range from 0.5 to 5 mg L⁻¹, relative bias = -0.41 % , relative standard deviation = -2.2% at 4 mg L⁻¹ ($n = 3$) were obtained. Analytical methods developed previously are therefore suitable for expected concentrations under these conditions and dilutions were necessary.

Monitoring of transformation products over treatment time was possible (Figure 7) and the major product formed was acetic acid, reaching a concentration around 900 mg L⁻¹ after 60 minutes. In these conditions, succinic and glycolic acid were also formed with maximal concentrations of 161 and 113 mg L⁻¹ respectively after 30 minutes. Maleic acid reached a concentration of 53 mg L⁻¹ at 10 minutes before undergoing further transformation. Oxalic, glyoxylic, fumaric and malic acids were also formed with maximal concentrations ranging from 2 to 11 mg L⁻¹ at 10 minutes. Propionic, malonic, muconic and tartaric acids were < LOD. These results are consistent with other AOPs treatment of acetaminophen where the formation of similar compounds was documented [41,42].

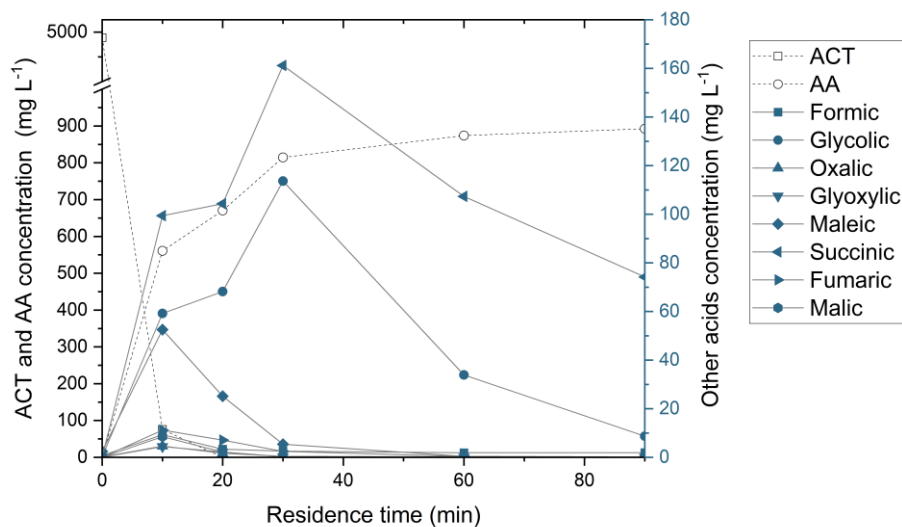
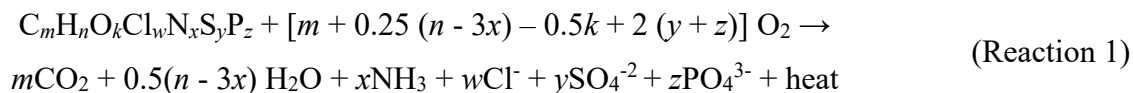


Figure 7. Concentration profile of carboxylic acids formed during wet air oxidation of ACT in deionized water. Left y-axis represents acetaminophen (ACT) and acetic acid (AA) concentrations and right y-axis represents concentrations of other acids.

Actual COD was also determined by the dichromate method [43] before WAO and after 90 min of treatment, however this measure only provides a global value of the organic load in those samples. Thus, to determine the COD distribution, individual loads were estimated based on the measured concentrations of each acid in both samples by using the balance equation for a complete oxidation process [44] (Reaction 1):



From this equation, the contribution of ACT and each acid to the global COD was determined. Initially, acetaminophen contributed to 100 % of the COD, but after 90 min of WAO treatment, acetic acid represented 35 % of the COD, succinic acid 2.8 % and the other target acids 0.3 %. About 61.9 % of the COD was still unknown from this WAO experience. In comparison with other AOPs like UV-LED-based advanced oxidation processes [45], electro-Fenton process [5] or UV/H₂O₂[41], other intermediates including amino compounds, hydroquinone, benzoquinone, benzaldehyde and benzoic acid were monitored, hence the usefulness of a non-targeted analysis coupled to SIM methods since the intermediates produced by WAO treatment are not yet well known.

3.4.2 Qualitative and quantitative analysis of hospital wastewater

Developed methods were also used to monitor transformation products generated after WAO of wastewater sampled from a local hospital. First, wastewater samples were treated by WAO with residence time of 10 min, 15 min, 20 min and 25 min after reaching 290 °C. Untreated and treated samples were then prepared and derivatized using optimized methods. First, non-targeted (Figure 8) GC-MS analyses were carried out to identify a maximum of compounds present in all samples before treatment and ensure a thorough monitoring over time of transformation products. The preparation method employed for semi-volatile carboxylic acids was used for non-targeted analyses to limit the loss of compounds during water extraction.

Identification of non-targeted compounds was made according to the NIST 08 database with a match probability > 90 %. Glycerol, glycolic acid, methenamine, benzoic acid and succinic acid were confirmed with standards. Non-targeted analysis of untreated hospital wastewater revealed the presence of amino acids, urea, glycerol and creatinine, which are metabolic products commonly found in urine [46,47]. However, these results compared with the non-targeted analysis of 10 min treated wastewater showed a completely different chromatogram. Glycolic and succinic acids, both of which can be quantified by the developed method, as well as methenamine, benzoic acid and glycerol could be observed. A decrease in the signal of glycerol of 85% was observed and transformation of initial compounds seemed complete. Non-targeted analysis was also performed on 15 min, 20 min and 25 min treated samples and similar chromatograms to the sample treated for 10 min were obtained. Short-chain carboxylic acids were also quantified by methods developed herein in the same samples (Table 3).

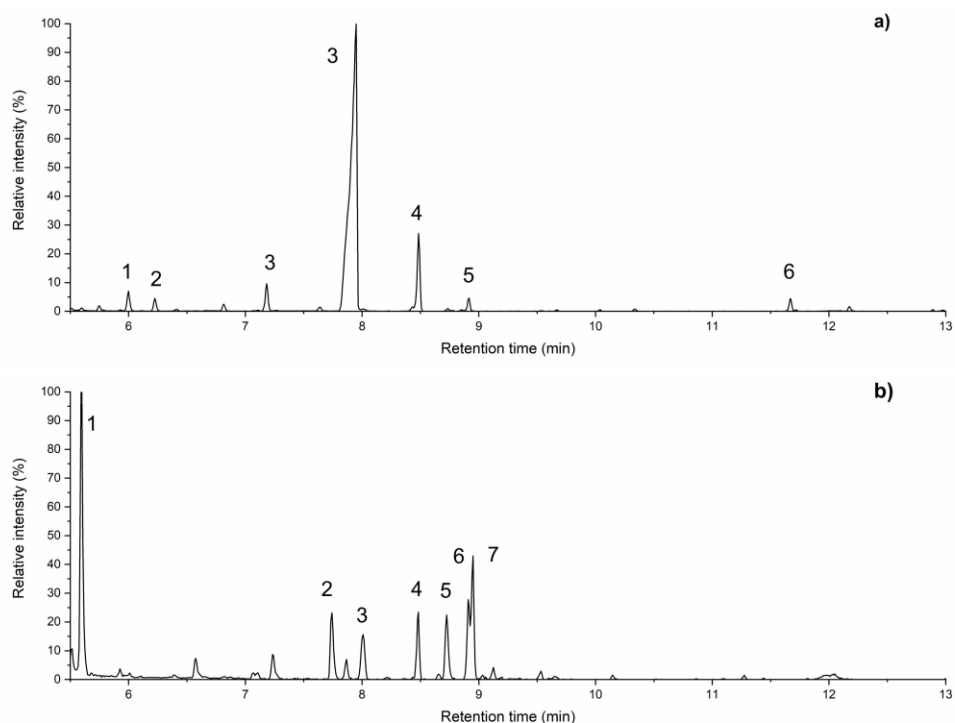


Figure 8. Non-targeted analyzes of a) untreated hospital wastewater (1. alanine, 2. glycine, 3. urea, 4. glycerol, 5. succinic acid-d₄ [internal standard] 6. creatinine) and b) hospital wastewater treated for 10 min (1. glycolic acid, 2. methenamine, 3. benzoic acid, 4. glycerol, 5. unknown compound (database match < 90%), 6. succinic acid-d₄, 7. succinic acid).

Table 3. Quantification of short-chain carboxylic acids in untreated and treated hospital wastewater by wet air oxidation.

Compounds	Untreated wastewater (mg L ⁻¹)	Wastewater treated by wet air oxidation			
		10 min (mg L ⁻¹)	15 min (mg L ⁻¹)	20 min (mg L ⁻¹)	25 min (mg L ⁻¹)
Formic acid	-	11.79	16.53	12.66	12.71
Acetic acid	> LOD, < LOQ	38.71	42.80	38.44	39.17
Propionic acid	-	-	-	-	-
Lactic acid	-	-	-	-	-
Glycolic acid	-	3.90	3.71	1.46	1.34
Oxalic acid	-	-	-	-	-
Malonic	-	-	-	-	-
Glyoxylic	-	-	-	-	-
Maleic	-	-	-	-	-
Succinic	-	5.44	6.49	3.21	2.61
Fumaric	-	-	-	-	-
Malic	-	-	-	-	-
Muconic	-	-	-	-	-
Tartaric	-	-	-	-	-

- : concentration < LOD

For untreated hospital wastewater, all acids were below their LOD. Only acetic acid was above the LOD, but was not quantified because it was below its LOQ. In hospital wastewater treated by WAO, formic, acetic, glycolic and succinic acids were formed and quantified. Formic and acetic acids were mainly formed among the targeted compounds which agrees with ACT previous results (Figure 7). However, unlike the ACT treatment, other acids were not quantifiable probably due to the lower initial COD ($573 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ vs. $10\,000 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ for wastewater and ACT samples respectively) and the higher treatment temperature (290°C vs. 250°C). Using Reaction 1, the COD distribution of each treated sample was determined.

No carboxylic acid was quantified in the untreated wastewater sample. Therefore, the totality of measured COD was considered as unidentified (Figure 9). For the treated wastewater sample, the quantified acids represented 35 %, 46 %, 39% and 38% of the actual COD respectively for 10, 15, 20 and 25 min of residence time. This means that 54 % to 65 % of the COD remains to be identified in the wastewater samples treated by WAO.

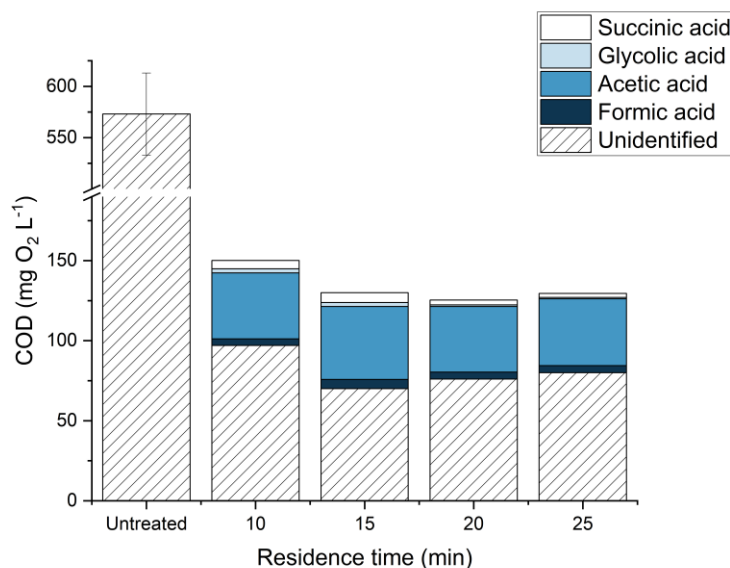


Figure 9. COD distribution of wastewater samples.

Conclusion

The present study showed the development of an efficient analytical GC-MS method to quantify 3 volatile and 11 semi-volatile carboxylic acids in water samples. The validated method showed satisfactory linearity, trueness, recovery and precision suitable to analyse (C₁-C₆) volatile and semi-

volatile carboxylic acids in water at concentrations between 3.4 mg L⁻¹ and 100 mg L⁻¹ and 0.05 mg L⁻¹ to 5 mg L⁻¹ respectively. Analysis of water samples containing acetaminophen demonstrated that the methods allowed to monitor the formation of short-chain organic acids during WAO treatment that represented 38 % of the final COD. Formic, acetic, glycolic and succinic acids could also be monitored in hospital wastewater according to treatment time, which made it possible to follow the transformation of organic compounds by identifying 35 % to 46 % of the final COD. The developed method also allowed to perform non-targeted analysis and identified glycerol, glycolic acid, methenamine and benzoic acid in hospital wastewater samples treated by wet air oxidation. This method could be applied to monitor degradation of other TrOCs and the evaluate performance of other AOPs.

Acknowledgment

The authors would like to acknowledge the financial support from the National Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) to the Centre de transfert technologique en écologie industrielle (CTTÉI) as well as the Environmental Decontamination Technologies and Integrated Water and Wastewater Management (TEDGIEER) NSERC CREATE program, the Fonds de recherche du Québec – Nature et technologies (FRQNT) and the Centre de recherche en ecotoxicologie du Québec (EcotoQ) for scholarships to C. Guérette. We are grateful to the Centre Intégré de Santé et de Services Sociaux de la Montérégie-Est (CISSS-ME) and Synergie Santé Environnement (SSE) for access to hospital effluent samples. The authors would like to thank Philippe Venne from the Université de Sherbrooke for his help and support in investigation and method development and Sophie Girard from CTTÉI for her help with wet air oxidation instrumentation.

CRedit author statement

Cassandra Guérette: Conceptualization, Formal analysis, Investigation, Methodology, Validation, Visualization, Writing – Original Draft, Writing – Review & Editing.

Pascal Lemoine: Funding Acquisition, Resources, Supervision, Writing – Review & Editing.

Pedro Ramirez: Resources, Supervision, Writing – Review & Editing, Project administration.

Pedro A. Segura: Conceptualization, Funding Acquisition, Methodology, Resources, Supervision, Writing – Review & Editing, Project administration.

References

- [1] D. Kanakaraju, B.D. Glass, M. Oelgemöller, J. Environ. Manage. 219 (2018) 189-207.
- [2] B. Tiwari, B. Sellamuthu, Y. Ouarda, P. Drogui, R.D. Tyagi, G. Buelna, Bioresource Technol. 224 (2017) 1-12.
- [3] F.C. Moreira, J. Soler, M.F. Alpendurada, R.A. Boaventura, E. Brillas, V.J. Vilar, Water Res. 105 (2016) 251-263.
- [4] A. Payan, A.A. Isari, N. Gholizade, Chem Eng J 361 (2019) 1121-1141.
- [5] T.X.H. Le, T. Van Nguyen, Z.A. Yacouba, L. Zoungrana, F. Avril, D.L. Nguyen, E. Petit, J. Mendret, V. Bonniol, M. Bechelany, Chemosphere 172 (2017) 1-9.
- [6] A. El-Ghenymy, R.M. Rodríguez, E. Brillas, N. Oturan, M.A. Oturan, Environ. Sci. Poll. Res. 21 (2014) 8368-8378.
- [7] G. Boczkaj, P. Makoś, A. Przyjazny, Anal. Methods 8 (2016) 3570-3577.
- [8] D. Fatta-Kassinos, M. Vasquez, K. Kümmerer, Chemosphere 85 (2011) 693-709.
- [9] P.A. Segura, P. Kaplan, V. Yargeau, Chem. Central J. 7 (2013) 1-11.
- [10] A. Rodayan, P.A. Segura, V. Yargeau, Sci. Total Environ. 487 (2013) 763-770.
- [11] R. Zhang, Y. Yang, C.-H. Huang, N. Li, H. Liu, L. Zhao, P. Sun, Environ. Sci. Technol. 50 (2016) 2573-2583.
- [12] K. Ikehata, N.J. Naghashkar, M.G. El-Din, Ozone-Sci. Eng. 28 (2006) 353-414.
- [13] A.T. Quitain, M. Faisal, K. Kang, H. Daimon, K. Fujie, J. Hazard. Mater. 93 (2002) 209-220.
- [14] V. Boucher, M. Beaudon, P. Ramirez, P. Lemoine, K. Volk, V. Yargeau, P.A. Segura, Environ. Sci. Water Res. Technol. (2021).
- [15] L.Y. Zou, Y. Li, Y.-T. Hung, in L.K. Wang, Y.-T. Hung, N.K. Shammass (Editors), Advanced Physicochemical Treatment Technologies, Humana Press, Totowa, NJ, 2007, p. 575-610.
- [16] S. Collado, L. Garrido, A. Laca, M. Diaz, Environ. Sci. Technol. 44 (2010) 8629-8635.
- [17] S. Collado, A. Laca, M. Diaz, Chemosphere 92 (2013) 207-212.
- [18] S. Baroutian, A.-M. Smit, J. Andrews, B. Young, D. Gapes, Chem Eng J 260 (2015) 846-854.
- [19] J. Levec, A. Pintar, Catal. Today 124 (2007) 172-184.
- [20] M. Kumari, A.K. Saroha, J. Environ. Manage. 228 (2018) 169-188.
- [21] P. Makoś, A. Przyjazny, G. Boczkaj, J. Chromatogr. A 1592 (2019) 143-160.
- [22] N. Villota, J.M. Lomas, L.M. Camarero, J. Photochem. Photobiol., A 329 (2016) 113-119.
- [23] H. Arredondo Valdez, G. Garcia Jiménez, S. Gutiérrez Granados, C. Ponce de León, Chemosphere 89 (2012) 1195-1201.
- [24] H. Farahani, M. Shokouhi, M. Rahimi-Nasrabadi, R. Zare-Dorabei, Toxicol. Environ. Chem. 98 (2016) 714-726.
- [25] M. Abalos, J. Bayona, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 873 (2000) 107-115.
- [26] D.-W. Lou, X. Lee, J. Pawliszyn, J. Chromatogr. A 1201 (2008) 228-234.
- [27] J. Cruwys, R. Dinsdale, F. Hawkes, D. Hawkes, J. Chromatogr. A 945 (2002) 195-209.
- [28] B. Jurado-Sánchez, E. Ballesteros, M. Gallego, Talanta 93 (2012) 224-232.
- [29] A. Banel, B. Zygmunt, Water Sci. Technol. 63 (2011) 590-597.
- [30] N.T. Mkhize, T.A. Msagati, B.B. Mamba, M. Momba, Phys. Chem. Earth 67 (2014) 86-92.
- [31] K.M. Ramachandran, C.P. Tsokos, in Mathematical statistics with applications in R, Academic Press, San Diego, CA, 2020, p. 370-414.

- [32] J.N. Miller, *Analyst* 116 (1991) 3-14.
- [33] Commission of the European Communities, *Off. J. Eur. Commun.* L221 (2002) 8-36.
- [34] J.M. Halket, V.G. Zaikin, *Eur. J. Mass Spectrom.* 9 (2003) 1-21.
- [35] R.B. Sghaier, S. Net, I. Ghorbel-Abid, S. Bessadok, M. Le Coz, D.B. Hassan-Chehimi, M. Trabelsi-Ayadi, M. Tackx, B. Ouddane, *Water Air Soil Poll.* 228 (2017) 2.
- [36] P. Makoś, A. Fernandes, A. Przyjazny, G. Boczkaj, *J. Chromatogr. A* 1555 (2018) 10-19.
- [37] R. Wang, Y. Yuan, H. Yen, M. Grieneisen, J. Arnold, D. Wang, C. Wang, M. Zhang, *Sci. Total Environ.* (2019).
- [38] Supelco, BSTFA Product Specification, (1997) available at [\[https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4800/4746.pdf\]](https://www.sigmaaldrich.com/Graphics/Supelco/objects/4800/4746.pdf), retrieved on 2020/12/21.
- [39] P. Verlicchi, M. Al Aukidy, A. Galletti, M. Petrovic, D. Barceló, *Sci. Total Environ.* 430 (2012) 109-118.
- [40] H. Bagheri, A. Afkhami, A. Noroozi, *Anal. Bioanal. Chem. Res.* 3 (2016) 1-18.
- [41] D. Vogna, R. Marotta, A. Napolitano, M. d'Ischia, *J. Org. Chem.* 67 (2002) 6143-6151.
- [42] H. Wang, Y. Liu, J.-Q. Jiang, *Chemosphere* 155 (2016) 583-590.
- [43] Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, Détermination de la demande chimique en oxygène : méthode de reflux en système fermé suivi d'un dosage par colorimétrie avec le bichromate de potassium (MA. 315 – DCO 1.1), (2016) available at [\[http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA315DCO11.pdf\]](http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA315DCO11.pdf), retrieved on 2020/12/21.
- [44] H. Debellefontaine, J.N. Foussard, *Waste Management* 20 (2000) 15-25.
- [45] B. Li, X. Ma, J. Deng, Q. Li, W. Chen, G. Li, G. Chen, J. Wang, *Sci. Total Environ.* 723 (2020) 137993.
- [46] S. Bouatra, F. Aziat, R. Mandal, A.C. Guo, M.R. Wilson, C. Knox, T.C. Bjorndahl, R. Krishnamurthy, F. Saleem, P. Liu, *PloS one* 8 (2013) e73076.
- [47] B.N. Kelly, M. Madsen, K. Sharpe, V. Nair, D. Eichner, *Drug Test. Anal.* 5 (2013) 890-895.

CHAPITRE 4. ÉTUDE DU DEVENIR DE LA GABAPENTINE, DU TRIMÉTHOPRIME, DU DICLOFÉNAC ET DE L'ACIDE ACÉTYLSALICYLIQUE LORS D'UN TRAITEMENT D'OXYDATION EN VOIE HUMIDE

Comme une partie de la charge organique reste non identifiée à la fin des traitements selon la méthode développée précédemment, le deuxième objectif de ce projet est d'effectuer une étude comparative de composantes organiques et structurales lors du traitement d'OVH par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en temps de vol (LC-QToF) en plus de la méthode GC-MS. Dans le but d'avoir une bonne sélectivité des produits issus de chaque structure et d'éviter les interférences que peuvent apporter les effluents réels, les quatre composés modèles, soit la gabapentine, le triméthoprim, le diclofénac et l'acide acétylsalicylique, ont été traités dans l'eau déionisée.

Afin de pouvoir quantifier l'élimination des composés pharmaceutiques, une méthode d'analyse par LDTD-QqQMS a été développée et validée. Les résultats de cette validation sont présentés dans la première partie de ce chapitre. De plus, quelques composés ont été ajoutés à la méthode d'analyse par GC-MS présentée au chapitre 3. La validation de l'analyse de ces derniers est aussi présentée dans cette première partie. Dans un deuxième temps, ces méthodes ont pu être appliquées pour effectuer l'analyse ciblée d'échantillons issus du traitement par OVH des quatre composés pharmaceutiques modèles sélectionnés. Finalement, des analyses non ciblées par GC-MS et LC-QToF ont été effectuées afin d'acquérir davantage d'informations sur les produits de transformation formés. Les résultats de ce chapitre ont été présentés dans le cadre du colloque conjoint Chapitre St-Laurent (juin 2021).

4.1 Validation des méthodes quantitatives

4.1.1 Méthode d'analyse par LDTD-QqQMS

La méthode LDTD-QqQMS utilisée pour quantifier les composés pharmaceutiques a été validée selon les critères de la Commission des Communautés européennes⁵⁶, référence souvent utilisée dans la littérature environnementale pour l'analyse de traces de contaminants organiques. La performance de la méthode a été évaluée et présentée dans le tableau 8.

Tableau 8. Performance de la méthode LDTD-QqQMS.

Composé	Limite de détection (µg/L)	Domaine de linéarité (µg/L)	R ²	Justesse (%)		Précision (%)			
				250 µg/L	1000 µg/L	250 µg/L		1000 µg/L	
						Intra-jour	Inter-jour	Intra-jour	Inter-jour
Gabapentine	4	14 – 1500	0,9996	0,7	3,7	0,6	3,1	2,3	2,9
Triméthoprim	7	24 – 1500	0,9987	-0,7	1,6	1,8	1,7	2,7	2,8
Diclofénac	5	16 – 1500	0,9995	0,4	-2,7	0,7	1,7	0,1	1,0

Les limites de détection (de l'anglais *Limit of Detection*, LOD) ont été déterminées selon la formule $LOD = 3 s_B/a$, où s_B est l'écart-type de l'ordonnée et a la pente de la droite de quantification, tous deux obtenus par la régression linéaire⁵⁷. La limite de quantification a été déterminée par la formule $LOQ = 10 s_B/a$ et représente la première concentration du domaine de linéarité. La concentration maximale du domaine de linéarité a été déterminée selon la plus haute concentration analysée, soit 1500 µg/L. La linéarité de chaque droite a été vérifiée selon le coefficient de corrélation (R²) qui était supérieur à 0,99. La justesse a été exprimée par le biais relatif à deux concentrations différentes, soit 250 µg/L et 1000 µg/L. Les valeurs ont été jugées acceptables selon la Commission des Communautés européennes, puisqu'elles étaient toutes situées entre – 20 % et + 10 %. Les valeurs des précisions intra et inter-jour des méthodes ont été évaluées selon les écarts-types relatifs et ont été jugées acceptables selon les critères de la Commission, soit ± 16 %. Les résultats liés à la performance de la méthode LDTD-QqQMS ont donc été jugés satisfaisants, ce qui valide l'utilisation de la méthode pour la quantification des composés pharmaceutiques.

4.1.2 Composés ajoutés à la méthode GC-MS

Une validation de méthode a également été faite pour les composés additionnels et la performance est présentée dans le tableau 9 ci-dessous. Puisque les composés ont été ajoutés aux méthodes déjà existantes, les critères de performance ont été évalués de la même façon qu'au chapitre 3. Ces critères, comme ceux mentionnés précédemment, ont été satisfaits, ce qui valide l'utilisation de celle-ci pour les sections suivantes.

Tableau 9. Performance de la méthode GC-MS pour les composés ajoutés.

Composé	Limite de détection (mg/L)	Domaine de linéarité (mg/L)	R ²	Justesse ^a (%)	Précision (%) ^a	
					Intra-jour	Inter-jour
Acide acétylsalicylique	0,01	0,03 – 10	0,9998	-1,8	2,1	2,6
Acide salicylique	0,02	0,07 - 10	0,9988	-0,63	2,8	4,3
Benzoquinone	0,1	0,4 - 65	0,9961	6,9	2,3	8,5
Glycérol	0,2	0,6 – 10	0,9985	0,53	3,9	15
Hydroquinone	0,2	0,8-10	0,9982	0,48	3,0	11

^a La justesse et les précisions intra et inter-jour de la benzoquinone ont été évaluées à 5 mg/L à partir de la méthode des composés volatils. Pour les autres composés, la justesse et la précision intra et inter-jour ont été évaluées à 7,5 mg/L selon la méthode des composés semi-volatils.

La concentration de la benzoquinone utilisée pour la validation est plus faible que celle utilisée dans la validation des acides volatils (45 mg/L). Cependant, le mode d'injection est différent dans le cas de l'analyse de la benzoquinone, soit le mode « splitless », ce qui permet d'introduire une plus grande quantité de chaque composé dans le GC-MS. Les limites de détection sont donc beaucoup plus basses que celles des autres acides, ce pourquoi 5 mg/L a été choisi pour évaluer la précision et la justesse.

Dans le cas de l'acide acétylsalicylique, l'acide salicylique, le glycérol et l'hydroquinone, la concentration maximale analysée a été augmentée tout en évitant la saturation du détecteur et en considérant l'équivalence de l'agent dérivant. La concentration utilisée pour la validation a donc été également augmentée comparativement à celle utilisée au chapitre 3, puisqu'il était attendu que les concentrations quantifiées en acides acétylsalicylique et salicylique soient beaucoup plus élevées que les autres composés dans les échantillons, dû à la grande quantité initiale introduite dans le réacteur, valeur environnant 375 mg/L pour l'acide acétylsalicylique.

4.2 Élimination des composés pharmaceutiques

Pour toutes les expériences de traitement OVH suivantes, le composé pharmaceutique modèle a d'abord été dissous dans de l'eau déionisée. Après 30 minutes d'agitation, le prélèvement initial a été effectué (représenté par « Initial » dans les figures suivantes). Ensuite, la solution à l'étude a été chauffée jusqu'à l'atteinte de 290°C avec une rampe de 6°C/minute à partir de 60°C, ce qui

prend environ 45 minutes. Dû à des limitations techniques du réacteur pilote, cette rampe d'augmentation a dû être utilisée. Cependant, avant le chauffage, le milieu a préalablement été purgé à l'azote, ce qui limite les contacts avec l'oxydant, soit l'oxygène contenu dans l'air. Un prélèvement a été effectué à 200°C, pour voir l'effet du chauffage sur l'élimination des composés pharmaceutiques plus sensibles (représenté par « 200°C » dans les figures). Lorsque la température cible de 290°C a été atteinte, un autre prélèvement a été effectué avant d'ajouter l'air (correspondant à « 290°C » dans les figures). Après l'injection de l'oxydant, des prélèvements ont été faits à 7.5, 15, 30 et 60 minutes, afin de suivre l'évolution des composés et des produits de transformation (représentés par « 290°C + X min » dans les figures). Le temps passé entre l'injection d'air et le prélèvement est appelé « temps de résidence », correspondant aussi au temps de l'oxydation en voie humide. Pour faire suite aux résultats d'optimisation de traitement OVH des composés pharmaceutiques contenus dans les effluents présentés dans Boucher et al. (2021)⁹, soit un temps de résidence optimal de 15 minutes, il était intéressant d'analyser les eaux avant et après ce temps pour mieux suivre le devenir des contaminants (7.5, 30 et 60 minutes).

Dans un premier temps, le suivi de l'élimination des composés pharmaceutiques, selon les conditions de traitement, a été effectué par LDTD-QqQMS pour la gabapentine, le triméthoprimé ainsi que le diclofénac et par GC-MS pour l'acide acétylsalicylique. Le taux d'élimination a été déterminé par rapport à la concentration initiale mesurée pour chaque composé.

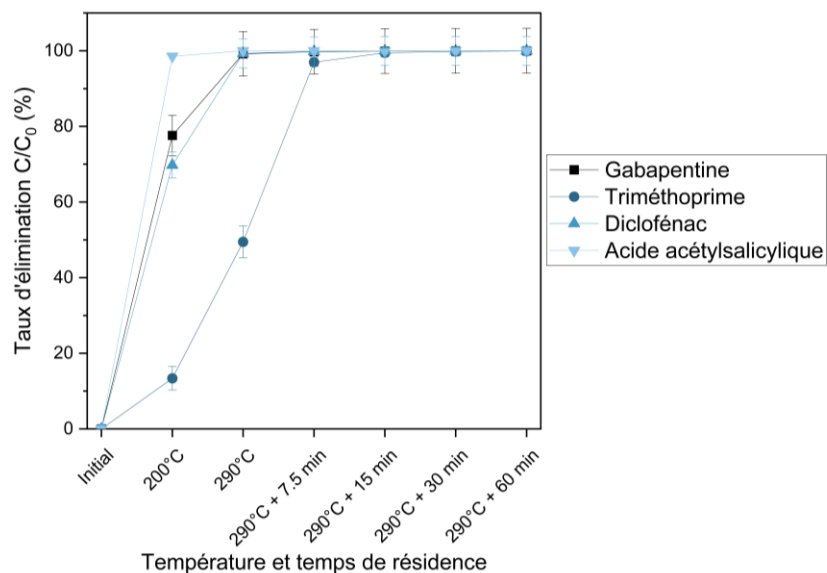


Figure 6. Taux d'élimination des composés pharmaceutiques étudiés selon la température et le temps de résidence.

Comme il était attendu, dû à la sensibilité du composé, l'acide acétylsalicylique a été éliminé rapidement (> 98 %) dès l'augmentation de la température à 200 °C. La gabapentine et le diclofénac ont également été majoritairement éliminés lors de l'augmentation de la température, soit à 78 et 70 % respectivement à 200 °C. À l'atteinte de 290 °C, 99,2 et 99,3 % de ces composés étaient éliminés. Lors de l'ajout d'air pour l'oxydation, les taux d'élimination de la gabapentine et du diclofénac ont augmenté à des valeurs supérieures à 99,7 % après 7,5 minutes. Après 15 minutes d'oxydation, les concentrations des composés étaient sous la limite de détection, soit une élimination supérieure à 99,9 %. L'élimination rapide observée de la gabapentine peut être expliquée en partie par le fait que la gabapentine peut se cycliser en perdant une molécule d'eau et former la gabapentine-lactame sous l'effet de la chaleur⁵⁸. De plus, l'élimination rapide observée du diclofénac peut être aussi expliquée en partie par la cyclisation en formant la 1-(2,6-dichlorophényl)indolin-2-one dû à l'augmentation de la température⁵⁹. Finalement, le triméthoprima a été le composé le plus résistant lors de l'expérience avec un taux d'élimination plus lent, comparable aux résultats précédents présentés dans l'étude de Boucher et al. (2021)⁹. En effet, l'augmentation de température à 200 et 290 °C a permis d'éliminer respectivement 13 et 49 % de la concentration initiale. Avec l'ajout d'air, 97 % a été éliminé après 7,5 minutes et des taux supérieurs à 99,5 % ont été observés par la suite. Afin de mieux comprendre les phénomènes de transformation, des analyses de produits de transformation ont été effectuées.

4.3 Analyses quantitatives des produits ciblés par GC-MS

Les suivis des produits ciblés et de l'acide acétylsalicylique ont été effectués par GC-MS après une dérivation par BSTFA et les suivis d'élimination des composés pharmaceutiques par LDTD-QqQMS comme mentionné précédemment. Les résultats de suivi sont regroupés et présentés à la figure 7 à la page suivante.

Pour tous les composés modèles, la formation d'acide acétique, majoritaire comparativement aux autres espèces, et d'acide succinique a été observée, ce qui est communément observé lors de traitement d'oxydation en voie humide de composés organiques^{45,46,60}. En effet, selon la structure, l'acide acétique a été formée en majorité dès les premières minutes d'oxydation à des concentration environnant les 20-29 mg/L, excepté pour l'acide acétylsalicylique, où l'acide acétique s'est formé lors du chauffage dû à la déacétylation de la molécule à une teneur d'environ 200 mg/L. Dans la plupart des cas, il est normal d'observer l'atteinte d'une concentration maximale formant ainsi un

plateau, puisque l'acide acétique est un composé formé dans les dernières étapes avant la minéralisation et est reconnu pour être peu oxydable par OVH à des températures inférieures à 300 °C^{26,44}.

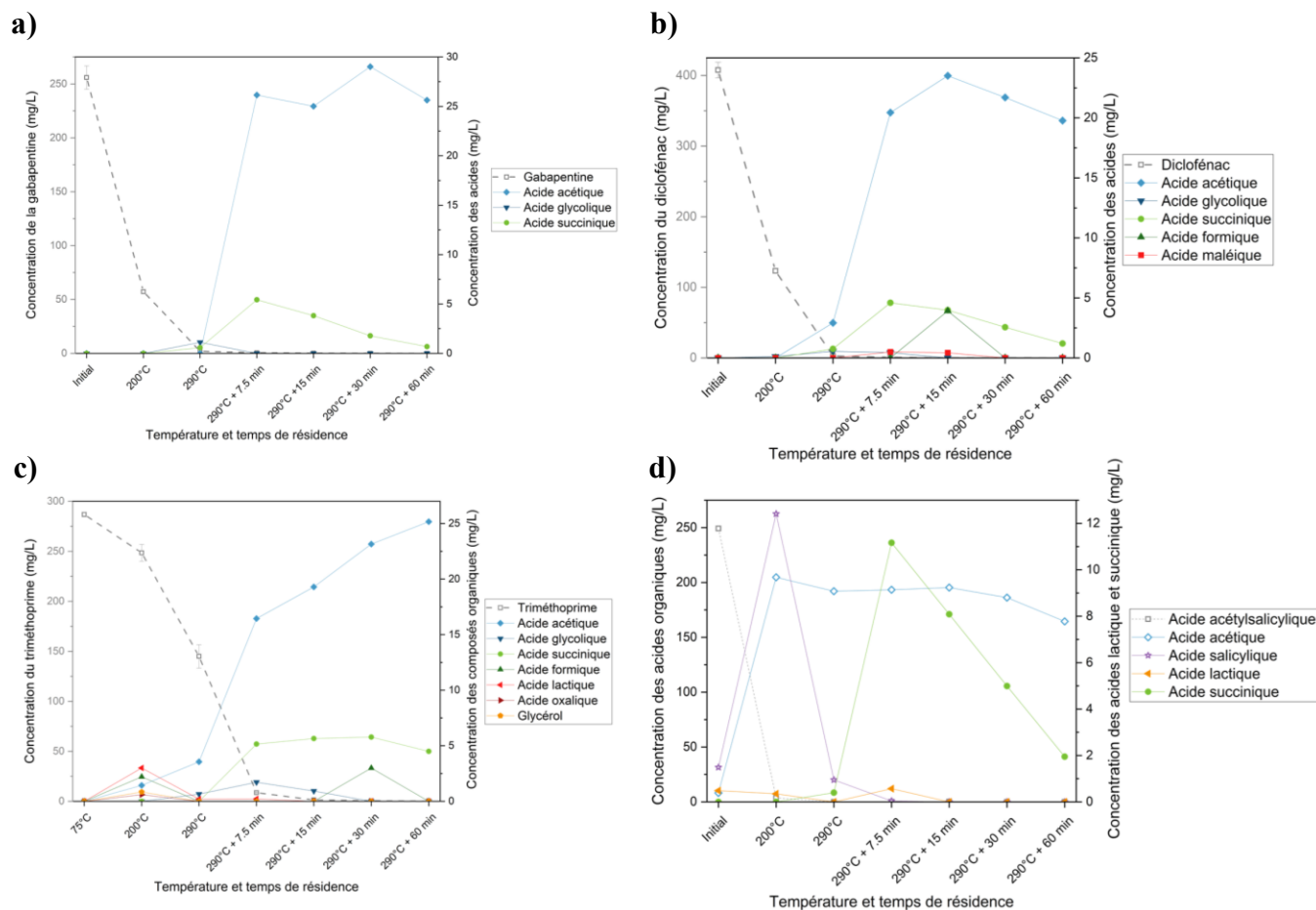


Figure 7. Suivi des composés ciblés lors du traitement par OVH. a) gabapentin, b) diclofénac, c) triméthoprim et d) acide acétylsalicylique.

L'acide succinique est le deuxième produit majoritaire formé atteignant des concentrations entre 5 et 11 mg/L après 7.5 minutes pour ensuite diminuer, sauf dans le cas du triméthoprim. La stabilité de concentration de l'acide succinique et l'augmentation constante de l'acide acétique dans le cas du triméthoprim suggèrent que d'autres transformations ont encore lieu, même après 60 minutes, contrairement aux autres composés modèles. Pour tous les composés sauf pour l'acide acétylsalicylique, la formation d'acide glycolique est observée à des faibles concentrations, mais est rapidement retransformé selon le temps de traitement.

Dans le cas de la gabapentine, peu de produits de transformation ciblés ont été observés. De plus, il est difficile de comparer ces résultats avec des études dans la littérature, puisque celles-ci sont plutôt axées sur l'élimination de la gabapentine et sur les produits de transformation près de la molécule mère, soit la cyclisation ou l'ajout de groupements fonctionnels. Il est donc pertinent d'évaluer le rendement de ce qui a été quantifié à partir de la mesure de demande chimique en oxygène (DCO).

Lors de l'analyse des échantillons de diclofénac, cinq petits acides ont été quantifiés. Même si une majeure partie du diclofénac a été éliminée lors du chauffage, peu d'acides ont été formés avant l'oxydation. Ce n'est seulement qu'après 7,5 minutes d'oxydation qu'une grande partie des acides acétique, succinique et maléique a été formée. Les acides glycolique et succinique ont également été observés précédemment lors du traitement du diclofénac par électro-oxydation⁶⁹. Dans le cas du diclofénac, deux composés s'ajoutent à ceux détectés lors du traitement de la gabapentine, soit les acides formique et maléique. Ces deux acides ont été également observés précédemment lors de traitements par Fenton catalytique⁷⁰ et électro-Fenton⁷¹, soit deux autres types d'oxydation avancée. L'acide formique a atteint son maximum après 15 minutes de traitement et a ensuite été retransformé. À sa plus haute concentration, l'acide formique représente 2,8 % du carbone initial. L'acide maléique n'est formé que très peu lors de l'oxydation, mais est retransformé après 15 minutes n'atteignant que 0,2 % de la concentration molaire du carbone. La formation de ce dernier pourrait être expliquée par l'ouverture d'un cycle aromatique, dû à la présence d'une insaturation⁷⁰. Cependant, il est difficile de conclure sur ce fait puisqu'il est rapidement retransformé. Puisque très peu de produits de transformation ont été quantifiés, l'analyse non-ciblée est aussi d'intérêt pour mieux comprendre le devenir du diclofénac.

Pour le triméthoprim, son élimination s'est effectuée de façon graduelle et s'est terminée lors de l'oxydation, ce qui peut expliquer également la formation graduelle et plus lente des produits de transformation. L'acide lactique, le glycérol et l'acide oxalique ont été également observés, contrairement aux autres molécules traitées. L'acide formique a été observé comme produit intermédiaire à 200 °C, comme pour le traitement du diclofénac, et après 30 minutes de traitement. Les acides lactique et oxalique ainsi que le glycérol ne sont que formés à 200 °C et sont rapidement retransformés par la suite. Dans une autre étude où le triméthoprim est traité par électro-Fenton⁷⁸, la formation des acides acétique, oxalique et succinique a également été observée.

Dans le dernier cas, soit l'acide acétylsalicylique de la figure 7 d), les acides acétylsalicylique, salicylique et acétique ont atteints des niveaux de concentration majeurs entre 200 et 250 mg/L, soit représentés par l'axe des y de gauches. Les acides lactique et succinique avaient plutôt des concentrations situées entre 1 et 12 mg/L, soit l'axe de droite. L'acide lactique a été cependant formé en très faible quantité comparativement aux autres produits de transformation et a atteint sa concentration maximale après 7,5 minutes d'oxydation. L'élimination rapide de l'acide acétylsalicylique a été expliquée en majeure partie par la désacétylation du composé, formant majoritairement l'acide salicylique et l'acide acétique dès 200 °C. L'acide salicylique a été retransformé lors de l'augmentation de température à 290 °C. Les produits observés, excepté l'acide lactique, ont tous été répertoriés dans une autre étude de procédé d'oxydation avancée (AOP), soit l'ozonation catalytique⁸⁵. Dans une autre étude similaire, où l'ozonation est utilisée avec le rayonnement UV, les acides salicylique, succinique et lactique ont également été observés⁸⁶.

4.4 Contribution des produits quantifiés à la DCO

La contribution de chaque molécule à la DCO a été estimée à partir des concentrations déterminées à la section précédente et à partir de leur demande théorique en oxygène selon leur composition atomique et [1.7]. Ces valeurs ont ensuite été rapportées selon les mesures expérimentales de DCO des échantillons et présentées dans la figure 8 à la page suivante.

Pour le prélèvement initial, 100 % de la contribution provenait du composé étudié, excepté pour l'acide acétylsalicylique, où de la dégradation est déjà observée, probablement due à la sensibilité de la molécule. En effet, 74 % de la DCO a été attribué à l'acide acétylsalicylique, 1,6 % à l'acide acétique, 9,5 % à l'acide salicylique et 14 % reste non identifié. Il est important également de considérer que la détermination de la contribution n'est qu'une estimation, puisqu'elle repose sur plusieurs données expérimentales impliquant des erreurs et que ces pourcentages pourraient différenciés de la réalité, comme pour le 14 % de non identifié.

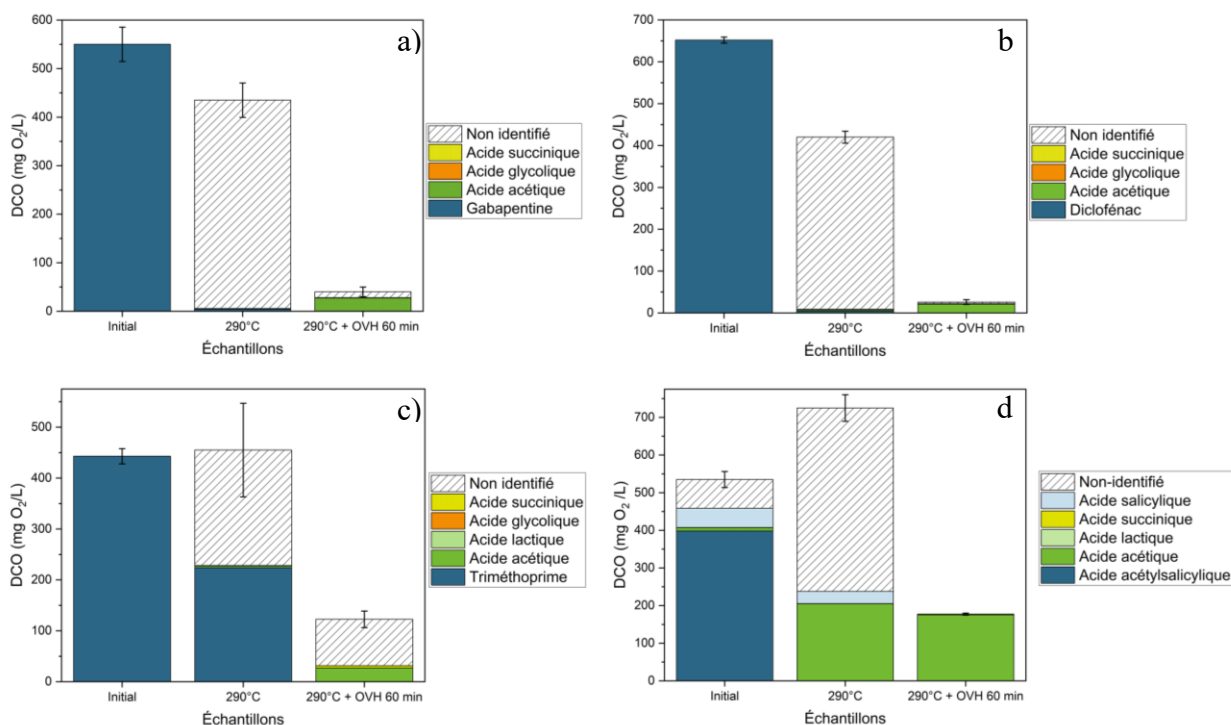


Figure 8. Contribution théorique des produits de transformation à la DCO mesurée. a) gabapentine, b) diclofénac, c) triméthoprim et d) acide acétylsalicylique.

Après avoir atteint la température cible de 290°C, une diminution de DCO de 6% pour la gabapentine et 21% pour le diclofénac est observée, contrairement au triméthoprim et l'acide acétylsalicylique, où la DCO reste similaire et augmente dans les cas respectifs. Cependant, seulement 1 % de la DCO expérimentale a pu être expliquée par la présence de traces de gabapentine et il n'y a donc pas été possible d'attribuer la partie restante, soit 99 %, avec les composés ciblés. Pour le diclofénac, même si le composé a été éliminé en quasi-totalité après avoir atteint la température à 290 °C, une majeure partie de la DCO reste encore non identifiée, puisque l'acide acétique et le diclofénac contribuent chacun à 1 % de cette DCO retrouvée et 99 % reste non identifié. Pour des raisons expérimentales, l'écart-type de la valeur du triméthoprim représente 20 % d'erreur relative, ce qui peut créer un écart avec la valeur réelle de DCO. Ce calcul de contribution est approximatif et donne néanmoins un aperçu de ce qui est quantifié ou non. Considérant la moyenne des résultats, 49 % de la DCO à 290 °C a été attribué au triméthoprim restant, 1 % à l'acide acétique et 50 % reste non identifié. Lors du prélèvement à 290 °C de l'échantillon d'acide acétylsalicylique, une augmentation de DCO de 35 % a été observée. Cette variation pourrait être expliquée dû au fait que des composés plus réduits, comme le phénol observé

dans des études d'AOP précédentes^{85,86}, soit formés et qu'il nécessite plus d'équivalents en oxygène afin d'être oxydés complètement. Cependant, cette augmentation n'était pas attendue pour ce type de traitement, ce qui mène au questionnement de la validité de ce résultat. Les mesures de DCO peuvent apporter une certaine erreur dans cette comparaison, puisque seulement deux réplicats ont pu être mesurés. De plus, il peut y avoir une certaine variation lors de l'échantillonnage, puisque les prélèvements sont effectués en ouvrant une valve du réacteur, qui à l'intérieur, est à des conditions d'oxydation, soit à 290 °C et à haute pression. Lors du prélèvement, une partie est sous forme de vapeur, ce qui peut provoquer à une perte de composés volatils ou même une concentration des produits prélevés. Afin de s'assurer de la tendance, une autre expérience de traitement de l'acide acétylsalicylique a été effectuée, où seulement les mesures de DCO ont pu être effectuées. Dans cette deuxième prise de mesures, la valeur de DCO a également augmentée, mais de façon moins significative, soit de 4 %. Cependant, les écart-types relatifs entre les différents réplicats étaient plus importants, soit de 12 %, mais restent toujours valides. Les résultats de la première expérimentation ont donc été considérés pour la suite des analyses. Pour cette valeur de DCO à 290 °C, 28,2 % a été attribué à l'acide acétique, 4,5 % à l'acide salicylique et 67,2 % reste à être identifié.

Après 60 minutes de traitement OVH, une diminution de la DCO de 91 % a été observée pour l'échantillon de la gabapentine. La contribution à la DCO restante est expliquée à 68 % par la présence d'acide acétique, 2 % par l'acide succinique et 30 % de la DCO n'a pas été identifié. Pour le diclofénac, une élimination de 95 % de la valeur initiale a été observée. De ce qui reste, 81 % est expliqué par la présence d'acide acétique, 4 % par l'acide succinique et 15 % reste non identifié. Pour l'échantillon de triméthoprime, 73 % de la DCO initiale a été éliminée. Cette DCO résiduelle est expliquée par l'acide acétique à 22 %, l'acide succinique à 3 % et 74 % n'a pas été identifié. Comparativement aux autres composés traités précédemment, la DCO a été éliminée plus lentement et un plus grand pourcentage de contribution a été attribué aux composés quantifiés. Puisque le triméthoprime est plus résistant aux variations de température, il est attendu que des composés près de la molécule mère soient responsables du pourcentage non identifié. Finalement, une diminution de 70,8 % de la DCO initiale a été observée pour l'acide acétylsalicylique. De cette valeur, l'acide succinique restant est responsable de 1,2 % et le reste de la DCO est attribué à l'acide acétique. La DCO finale, dans le cas de l'acide acétylsalicylique, se démarque de celles des autres composés pharmaceutiques étudiés par sa valeur plus élevée et par sa contribution attribuée à 100

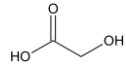
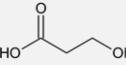
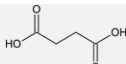
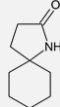
% aux composés quantifiés. Ceci pourrait être expliqué par le fait que l'acide acétylsalicylique est un composé simple et n'étant que composé d'atomes de carbones, d'oxygènes et d'hydrogènes, caractéristiques des petits acides quantifiés. Les informations qui peuvent être obtenues à partir de cette méthode quantitative serait donc plutôt limitées pour des molécules contenant d'autres types d'atomes, mais valide dans ce cas-ci. Tous les résultats mentionnés ci-dessus viennent appuyer la nécessité d'analyser davantage les échantillons, soit par les analyses non ciblées.

4.3 Études non ciblées de la gabapentine

4.3.1 Analyses non ciblées en GC-MS

Les échantillons extraits et évaporés ont été préparés et dérivés selon les méthodes présentées au chapitre 3. Le pointage de correspondance a été obtenu par la banque NIST, selon le degré de similitude entre les spectres expérimentaux et ceux de la banque de données.

Tableau 10. Produits de transformation de la gabapentine détectés par GC-MS.

Méthode d'analyse	Temps de rétention (min)	Ions observés (m/z)	Nom	Structure	Méthode d'identification
Semi-volatils	5,62	205, 147, 73	Acide glycolique ^a		Confirmé par étalon ^b
	6,59	219, 177, 147, 73	Acide 3-hydroxypropionique ^a		NIST : 90 %
	7,25	204, 188, 147, 104, 73	TP-G1	-	-
	7,76	140, 112, 85, 71, 69	Méthénamine		NIST : 91 %
	8,74	154, 85, 56	TP-G2	-	-
	8,96	247, 147, 73	Acide succinique ^a		Confirmé par étalon ^b
	9,13	261, 217, 147, 73	TP-G3	-	-
	12,52	225, 210, 73	Gabapentine lactame ^a		Selon la littérature ^{58,61}

^a Analysé sous forme dérivée TMS (+ Si(CH₃)₃)

^b Temps de rétention et spectre de masse confirmés par étalon et pointage de correspondance avec la banque de données NIST supérieur à 90 %.

Pour chaque structure, un ion caractéristique a été sélectionné en fonction de sa réponse tout en limitant les interférences. Les aires de ces ions ont été extraites et représentées à la figure 9.

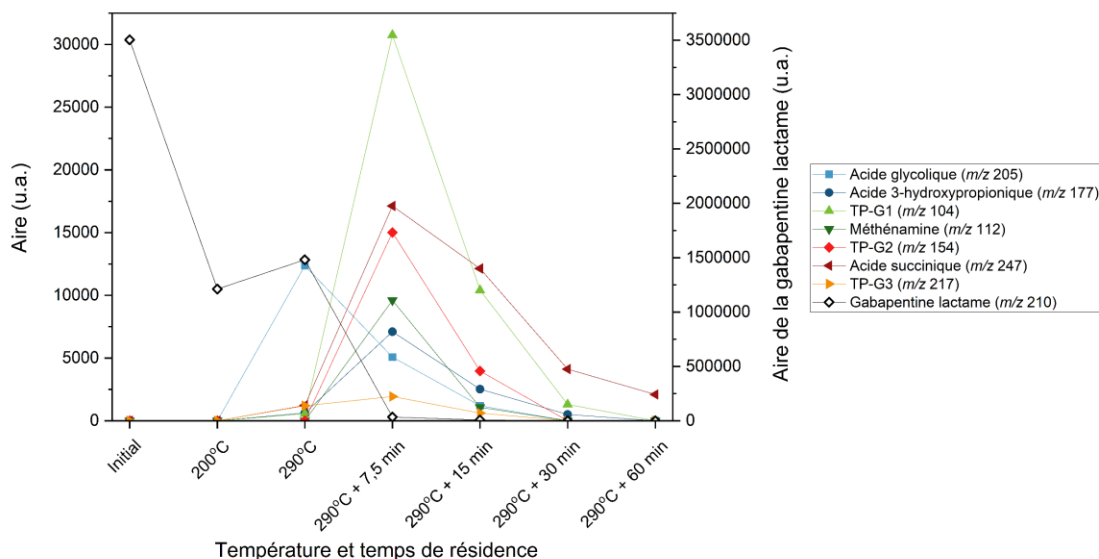


Figure 9. Suivi de l'aire des produits de transformation de la gabapentine observés en GC-MS non ciblée.

Les acides glycolique et succinique ont été quantifiés précédemment à la section 4.3.1 et sont également visibles en mode de balayage. Les signaux de ces derniers suivent la même tendance de ce qui a été observé lors de la quantification. L'acide 3-hydroxypropionique s'ajoute à la liste des produits de transformation et a été majoritairement formé après 7,5 minutes d'oxydation pour être ensuite retransformé en d'autres molécules. Les produits TP-G1 à TP-G3 n'ont pu être identifiés avec un pointage de correspondance satisfaisant avec la banque de données NIST. Cependant, ces produits intermédiaires sont formés majoritairement après 7,5 minutes d'oxydation et éliminés par la suite. La méthénamine, formée après 7,5 minutes de traitement, avait été aussi détectée lors des analyses en mode balayage des effluents réels traités présentées au chapitre 3. Ce composé peut être formé par la condensation entre le formaldéhyde et l'ammoniaque dans la phase gazeuse ou plus facilement dans une solution en présence d'eau⁶². Le dernier composé détecté serait associé à la gabapentine-lactame selon les données retrouvées dans la littérature. Ce composé n'a pu être identifié par NIST, puisqu'il n'était pas présent dans cette banque de données. Cependant, étant donné une réponse majeure, une attention particulière a été portée à ce composé.

Lors de la recherche spectrale dans la banque NIST, le composé associé au spectre expérimental était la gabapentine non dérivée avec un pointage de correspondance de 85 %. Cependant, les ions m/z 210 et 225, correspondant respectivement à $[M^{+\bullet} - CH_3]$ et $[M^{+\bullet}]$ de la gabapentine-lactame dérivée⁵⁸, ont été observés dans le spectre expérimental et non dans le spectre associé dans la banque de données. Selon l'aire extraite de l'ion m/z 210, un signal majeur est observé au temps initial et une diminution du signal de 58 % est observée à l'atteinte de 290 °C. Toutefois, il a été déterminé précédemment par LDTD-QqQMS, une méthode ciblée beaucoup plus sensible (LOD = 4 µg/L) que le balayage en GC-MS (LOD $\approx$ 1 à 5 mg/L basée sur la détection des acides carboxyliques), qu'à 290 °C, 99,2 % du composé initial avait été éliminé (Figure 6, section 4.2). Lors du développement d'une méthode quantitative de la gabapentine avec le même agent dérivant (BSTFA), il a été observé que la gabapentine forme facilement le lactame après une exposition thermique⁵⁸. Selon leurs expériences, l'incubation à 70 °C pendant 1 h pour la dérivation serait suffisante pour former la gabapentine-lactame. Afin de valider l'identification du composé, les ions retrouvés dans le spectre de masse obtenu ont été comparés avec une autre banque de données, soit la SpectraBase de Wiley⁶¹, ainsi qu'avec les résultats de l'étude précédente⁵⁸. Puisque la gabapentine est fragile thermiquement, il est difficile de conclure sur l'évolution du signal attribué à la gabapentine-lactame par GC-MS. Cependant, puisque les signaux sont encore très élevés à 200 et 290 °C pour ce composé, comparativement à la faible concentration déterminée pour la gabapentine précédemment, il est possible que la gabapentine-lactame soit également formée lors du traitement. Une hypothèse à vérifier serait donc que le signal obtenu initialement correspondrait à la gabapentine et lors du chauffage, le signal serait relié à la forme lactame.

4.3.2 Analyses non ciblées en QToF

Des analyses non ciblées par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en temps de vol (LC-QToF) ont également été effectuées, afin d'identifier les autres produits de transformation responsables de la DCO. Dans le cas de l'analyse de la gabapentine, sept composés ont pu être détectés à un ratio signal sur bruit (S/N) supérieur à 10. Lors de l'analyse du composé-même, les masses rapportant à la molécule protonée $[M+H]^+$, à l'adduit sodium $[M+Na]^+$ ainsi qu'au dimère adduit sodium $[2M+Na]^+$ ont été observés au même temps de rétention. Pour les composés inconnus, le même phénomène a été observé, soit la masse de la forme protonée $[M+H]^+$, la masse avec une différence de 21,98 correspondant à l'adduit sodium, la masse se rapportant à $[2M+Na]^+$ et dans certains cas, la masse du dimère $[2M+H]^+$, tous à un même temps de rétention.

Pour tous les produits retrouvés, les ratios entre les différentes formes ($[M+H]^+$, $[M+Na]^+$, $[2M+H]^+$ et $[2M+Na]^+$) étaient caractéristiques et similaires à travers tous les échantillons. La formation d'adduits sodium est possible, puisque le formate de sodium a été utilisé lors de la calibration précédant l'analyse. Il peut donc rester des résidus de sodium, permettant ainsi leur formation.

Tableau 11. Formules moléculaires proposées selon les masses exactes observées en QToF lors du traitement de la gabapentine.

Temps de rétention (min)	Ions $[M+H]^+$ observés (m/z)	Ion majoritaire observé	Nom	Formules moléculaires les plus probables (neutre) ^a	Δm (mDa)	Équivalent de liens doubles ou cycles	Pertes/gains moléculaires proposés
2,39	184,0974 (b,c,d)	$[2M+Na]^+$	TP-G183	$C_9H_{13}NO_3$	-0,6	3,5	-4 H, +O
3,66	186,1130 (b,d)	$[2M+Na]^+$	TP-G185	$C_9H_{15}NO_3$	-0,5	2,5	-2 H, +O
4,37	168,1027 (b,c,d)	$[2M+Na]^+$	TP-G167	$C_9H_{13}NO_2$	-0,8	3,5	-4 H
4,93	172,1341 (b,d)	$[M+H]^+$	Gabapentine	$C_9H_{17}NO_2$	-0,9	1,5	-
5,36	185,0819 (b,d)	$[M+Na]^+$	TP-G184	$C_9H_{12}O_4$	-1,1	3,5	-N, -5 H, + 2 O
5,48	168,1026 (b,c,d)	$[2M+H]^+$	TP-G167b	$C_9H_{13}NO_2$	-0,7	3,5	-4 H
6,35	170,1183 (b,d)	$[2M+Na]^+$	TP-G169	$C_9H_{15}NO_2$	-0,7	2,5	-2 H
6,99	154,1230 (b,c,d)	$[2M+H]^+$	TP-G153	$C_9H_{15}NO$	-0,4	2,5	-2H, -O

^a Selon l'exactitude de la masse (tolérance = 10 mDa) et le nombre de C et N dans la formule proposée (i.e. les formules proposant un nombre plus élevé en C et/ou N par rapport à la molécule initiale ont été rejetées).

^b Forme $[M+Na]^+$ également observée.

^c Forme $[2M+H]^+$ également observée.

^d Forme $[2M+Na]^+$ également observée.

Lors du traitement par OVH, il est possible que des dimères soient formés, puisque cela implique des réactions radicalaires. Par contre, les réactions de polymérisation, lors d'expérience OVH, ont plutôt été observées lors de l'utilisation de catalyseur^{34,44}. Dans cette présente étude, les masses de certains dimères et monomères, comme celles correspondant au produit TP-G153, ont été observées dès l'atteinte de 200 °C, soit avant l'application des conditions d'oxydation en voie humide et de la génération des radicaux. De plus, si les différentes formes ($[M+H]^+$, $[2M+H]^+$ et etc.) avaient été observées à différents temps de rétention, il aurait été plus probable que ces dernières correspondent à différentes molécules. Alors, la formation de dimères lors de l'OVH

aurait pu être considérée. Cependant, puisque les masses, correspondant aux monomères, adduits et dimères, sont observées à un seul et même temps de rétention, une autre hypothèse plus plausible est la formation de ces dimères lors du processus d'ionisation durant les analyses par QToF. En effet, ce phénomène de dimérisation est connu et a été observé précédemment dans une autre étude⁶³. Pour la suite, seulement les ions monomères $[M+H]^+$ seront considérés afin de faciliter l'analyse de ces résultats.

Les formules moléculaires les plus probables, présentées dans le tableau 11 et les suivants, ont été sélectionnées selon l'exactitude de la masse avec une tolérance de 10 mDa et le nombre d'atomes composant la molécule de départ, soit le nombre d'atomes de carbone, d'azote ainsi que le chlore dans le cas du diclofénac, en excluant le nombre d'atomes d'hydrogène et d'oxygène. Seules les formules ayant des équivalents de liens doubles et cycles (en anglais, *ring double bond equivalents* (RDBE) ou *double bond equivalents* (DBE)) positifs et une configuration électronique paire (.5 du à la protonation H^+) ont été considérés, afin de respecter les configurations chimiques réelles et possibles. Toutes les formules moléculaires remplissant les critères énoncés ont été représentées dans les tableaux récapitulatifs. Cependant, une seule formule probable a pu être déterminée pour la majorité des composés observés, comme il est le cas pour les produits de la gabapentine. Pour chaque pic observé dans les chromatogrammes, les aires des ions correspondant à la forme protonée $[M+H]^+$ ont été extraites et représentées à la figure 10 à la page suivante.

L'analyse de l'échantillon correspondant au prélèvement après 60 minutes de traitement n'a pu être réalisée par QToF puisque la quantité prélevée était insuffisante. Afin d'éviter de saturer le détecteur et de ne pas limiter la détection des produits, une coupure a été effectuée lors de l'élution de la gabapentine. Le signal de celle-ci n'a donc pu être représenté dans cette figure. Le premier composé ayant eu une réponse majoritaire est le produit de transformation TP-G153, qui correspond à une perte d'eau. Ce produit pourrait donc correspondre à la forme lactame de la gabapentine⁵⁸, ce qui viendrait confirmer l'hypothèse émise plutôt. En effet, aucune exposition thermique, autre que le traitement dans le réacteur, n'a été effectuée pour cette analyse. Initialement, aucun signal n'a été observé pour le produit TP-G153, mais a augmenté significativement lors de l'augmentation de température dans le réacteur à 200 et 290 °C, pour être ensuite éliminé lors de l'ajout d'air. Les autres produits détectés ont tous été formés après l'atteinte de 290 °C et sont rapidement retransformés lors de l'oxydation. Le produit TP-G184 a atteint le maximum de son signal après 7,5 minutes, mais semble toutefois plus résistant à l'oxydation.

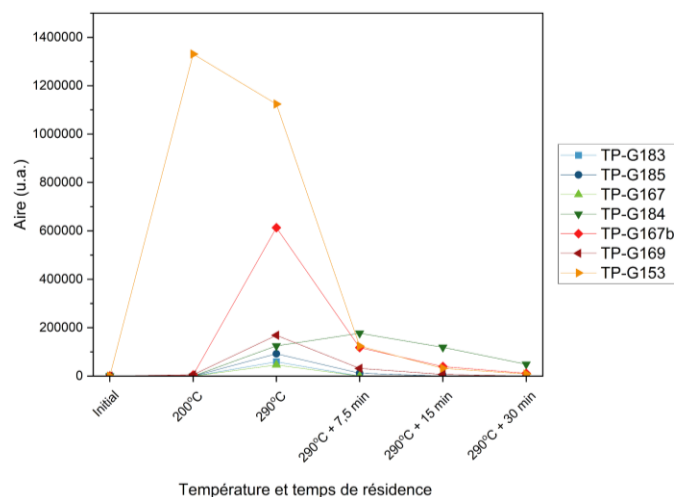


Figure 10. Suivi de l'aire des produits de transformation de la gabapentine observés en LC-ESI(+)-QToF non ciblée.

Très peu d'études ont été menées sur les produits de transformation de la gabapentine précédemment, pour tous types de traitement confondus. Il est donc difficile de comparer ces résultats avec ceux obtenus par d'autres procédés d'oxydation avancée. Cependant, quelques études répertorient des produits de dégradation d'origine thermique⁵⁸, biologique⁶⁴ et des produits formés lors d'un stress oxydant par H₂O₂⁶⁵ ou par des procédés de photolyses^{66,67} ont révélés certaines similitudes avec les masses observées. Ces comparaisons peuvent être considérées, puisque dans une étude précédente⁶⁸, il a été également observé que d'autres types de traitement utilisant des réactions d'oxydation et de l'hydrolyse thermique donnent des résultats semblables lors des analyses.

Selon les études, ainsi que les masses exactes obtenues, le produit TP-G185 pourrait, par exemple, correspondre à une cyclisation en forme lactame avec l'ajout de deux groupements OH ou à l'ajout d'une cétone sur la molécule mère⁶⁴. Le produit TP-G167 pourrait aussi correspondre à la forme lactame de la gabapentine avec une liaison double formée dans le cyclohexane et l'ajout d'une fonction OH⁶⁴. Étant donné que la liaison double et le groupement OH peuvent être à plusieurs places sur la molécule, ceci expliquerait le fait qu'un même ratio masse sur charge (m/z) a été observé à deux temps de rétention différents. La masse exacte du produit TP-G169 a également déjà été observée précédemment et pourrait correspondre à la cyclisation de la fonction acide avec le cyclohexane ainsi que l'ajout d'une fonction OH sur le cycle à six carbones. Seuls les produits TP-G183 et 184 n'ont pas été retrouvés dans la littérature. Selon les masses exactes, les formules

moléculaires, les équivalences en cycles et liens doubles ainsi que les gains et les pertes moléculaires proposés, le produit TP-G183 pourrait correspondre à la formation de deux liaisons doubles ainsi que l'ajout d'une fonction OH supplémentaire sur la molécule initiale. La formule moléculaire proposée pour le produit TP-G184, également selon la masse exacte, suggère la perte de la fonction amine et l'ajout de groupements oxygénés.

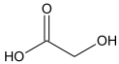
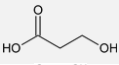
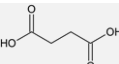
Ces changements moléculaires semblent plausibles selon les structures similaires observées dans la littérature précédemment, qui elles aussi proposent la formation de liens doubles et l'addition de fonctions oxygénées. Cependant, ces structures ne sont que des propositions faites à partir des informations découlant des masses exactes et des formules moléculaires les plus probables. Afin de mieux identifier les molécules et proposer des structures, des analyses de spectrométrie de masse en tandem avec la fragmentation des ions m/z sélectionnées seraient requises.

4.4 Études non ciblées du diclofénac

4.4.1 Analyses non ciblées en GC-MS

L'analyse non ciblée des échantillons de diclofénac traités a permis d'identifier trois autres molécules que celles déjà quantifiées, soit l'acide 3-hydroxypropionique, l'acide benzoïque et le 1-(2,6-dichlorophényl)-2-indolinone. Les acides glycolique et succinique ont également été observés. Les composés détectés et identifiés se retrouvent dans le tableau 12 suivant.

Tableau 12. Produits de transformation du diclofénac détectés par GC-MS.

Méthode d'analyse	Temps de rétention (min)	Ions observés (m/z)	Nom	Structure	Méthode d'identification
Semi-volatils	5,62	205, 147, 73	Acide glycolique ^a		Confirmé par étalon ^b
	6,58	219, 177, 147, 73	Acide 3-hydroxypropionique ^a		NIST : 90 %
	8,01	179, 135, 105, 77	Acide benzoïque ^a		Confirmé par étalon ^b
	8,96	247, 147, 73	Acide succinique ^a		Confirmé par étalon ^b
Volatils	9,52	277, 242, 214, 179, 151	1-(2,6-Dichlorophényl)-2-indolinone		NIST : 81 % et selon la littérature ^{59,69,70}

^a Analysé sous forme dérivée TMS (+ Si(CH₃)₃)

^b Temps de rétention et spectre de masse confirmés par étalon et pointage de correspondance avec la banque de données NIST supérieur à 90 %.

Pour chaque molécule, un ion caractéristique a été choisi selon l'intensité de son signal et l'absence d'interférence. Les aires de ces ions ont été extraites et représentées dans la figure 11 suivante. Encore une fois, les acides glycolique et succinique ont été observés lors des analyses non ciblées, en plus de la quantification.

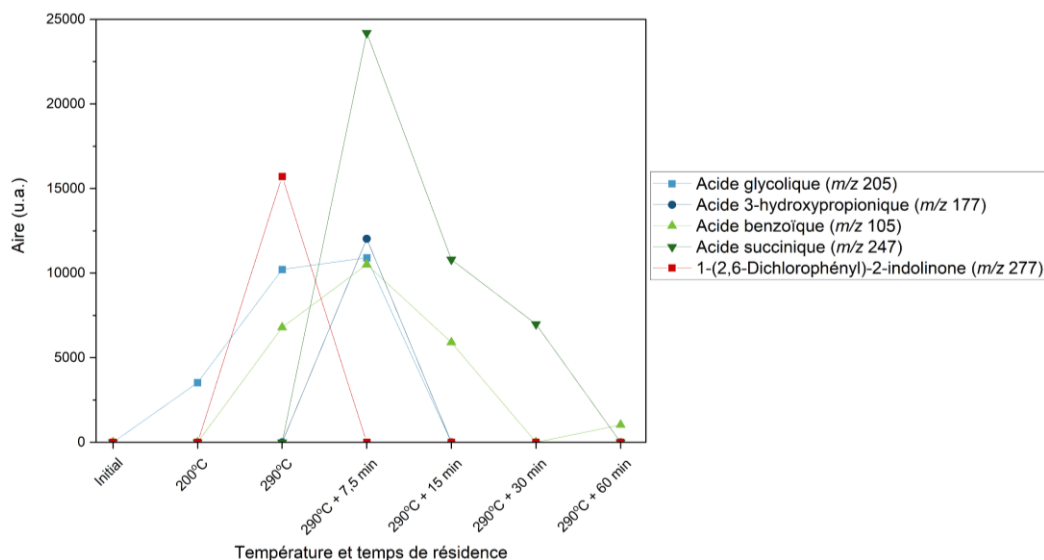


Figure 11. Suivi de l'aire des produits de transformation du diclofénac observés en GC-MS non ciblée.

L'acide 3-hydroxypropionique a également été identifié avec un pointage de correspondance satisfaisant, soit 90 %. Le composé a atteint un signal maximal dans les premières minutes du traitement par oxydation, ce qui a été également observé dans le cas de la gabapentine. L'acide benzoïque a été également identifié et formé graduellement après avoir atteint 290 °C pour atteindre un signal maximal après 7,5 minutes de traitement et être retransformé par la suite. L'acide benzoïque est un produit de transformation très probable, puisque le diclofénac contient initialement deux composés aromatiques. La formation de ce produit a été précédemment observé, notamment dans une expérience d'électro-Fenton⁷¹. Le dernier composé identifié est le 1-(2,6-dichlorophényl)-2-indolinone qui correspond à la cyclisation entre l'amine et l'acide carboxylique, causant la perte d'une molécule d'eau. Le pointage de correspondance à la banque de données NIST était de 81 %, ce qui est considéré comme plutôt faible. Cependant, l'intensité du composé ne permettait pas d'avoir un spectre libre d'interférences. Toutefois, les ions caractéristiques étaient bien visibles et leurs patrons isotopiques correspondaient bien avec la banque de données. Afin de confirmer l'identification de ce produit, les résultats obtenus ont été comparés à ce qui se trouve

dans la littérature. Le 1-(2,6-dichlorophényl)-2-indolinone a été répertorié comme un produit de transformation, notamment lors de traitements par Fenton catalytique⁷⁰, thermique⁵⁹, d'électro-oxydation⁶⁹ et d'électro-Fenton⁷¹. Dans cette étude, ce produit de transformation est principalement formé lors de l'atteinte de 290 °C, ce qui est en accord avec la littérature, considérant que cette molécule serait formée dû à l'augmentation de la température, comme observé précédemment lors d'une étude de dégradation thermique⁵⁹.

4.4.2 Analyses non ciblées en QToF

Puisque le diclofénac est une molécule plus grosse et complexe que la gabapentine, il était attendu d'observer davantage de produits de transformation. Les spectres obtenus pour les différents échantillons ont révélé la présence de plusieurs composés. Afin de simplifier les résultats et d'avoir une certaine sélectivité en évitant les interférences, seuls les composés ayant un ratio signal sur bruit (de l'anglais *Signal-to-Noise ratio*, S/N) supérieur à 10 ont été considérés pour l'analyse des résultats. Comme mentionné dans la section 4.3.4, toutes les formules correspondant aux critères (nombre d'atomes de carbone, d'azote et de chlore et équivalents de liens doubles et cycles (RDBE)) ont été rapportées dans le tableau 13 à la page suivante.

De plus, dans le but de faire un suivi de ces 14 molécules, les ions observés ont été extraits et les aires correspondantes ont été représentées dans la figure 12 suivante. Le diclofénac n'a cependant pas été analysé lors de l'analyse des échantillons, afin de ne pas saturer le détecteur. Il est aussi à noter que la figure 12 a été séparée en deux graphiques n'ayant pas la même graduation pour l'axe des y afin d'améliorer la visibilité des résultats.

Selon les aires retrouvées, plusieurs produits ont été formés lors de l'augmentation de la température à 290 °C et retransformés par la suite, soit les produits TP-D215, TP-D187, TP-D179, TP-D193, TP-D272 pour la figure a) ainsi que TP-D195, TP-D289, TP-D273, TP-D229, et TP-D273b pour la figure b). Il est à noter que deux composés ont été formés en majorité à 200 °C, soit TP-D309 et TP-D277. Deux produits, majoritairement formés lors de l'ajout d'air, ont également observés, soit TP-D219 et TP-D239 (Figure 12 a).

Tableau 13. Formules moléculaires proposées selon les masses exactes observées en QToF lors du traitement du diclofénac.

Temps de rétention (min)	Ions observés (m/z)	Nom	Formule moléculaire la plus probable (neutre) ^a	Δm (mDa)	Équivalent de liens doubles ou cycles	Pertes/gains moléculaires proposés
5,17	216,0668*	TP-D215	C ₁₂ H ₉ NO ₃	-1,3	8,5	-2C, -2H, -2Cl, +O
5,63	219,9934*	TP-D219	C ₈ H ₇ Cl ₂ NO ₂	-0,7	4,5	-6C, -4H
6,09	188,0718	TP-D187	C ₁₁ H ₉ NO ₂	-1,2	7,5	-3C, -2H, -2Cl
6,25	180,0217	TP-D179	C ₉ H ₆ ClNO	-0,6	6,5	-5C, -5H, -Cl, -O
6,47	194,0378 ^b	TP-D193	C ₁₀ H ₈ ClNO	-1,1	6,5	-4C, -3H, -Cl, -O
			C ₉ H ₇ NO ₄	7,0	6,5	-5C, -4H, -2Cl, +2O
6,54	239,9983	TP-D239	C ₁₁ H ₇ Cl ₂ NO	-0,6	7,5	-3C, -4H, -O
			C ₁₀ H ₆ ClNO ₄	7,5	7,5	-4C, -5H, -Cl, +2O
7,22	273,0089 ^b	TP-D272	C ₁₂ H ₁₀ Cl ₂ O ₃	-0,9	6,5	-2C, -H, -N, +O
7,31	196,0764	TP-D195	C ₁₃ H ₉ NO	-0,7	9,5	-C, -2H, -2Cl, -O
7,86	290,0143	TP-D289	C ₁₄ H ₈ ClNO ₄	7,2	10,5	-3H, -Cl, +2O
7,96	274,0274 ^b	TP-D273	C ₁₄ H ₈ ClNO ₃	-0,9	10,5	-3H, -Cl, +O
8,01	230,0374 ^b	TP-D229	C ₁₃ H ₈ ClNO	-0,7	9,5	-C, -3H, -Cl, -O
			C ₁₂ H ₇ NO ₄	7,4	9,5	-2C, -4H, -2Cl, +2O
8,09	310,0038 ^b	TP-D309	C ₁₄ H ₉ Cl ₂ NO ₃	-0,6	9,5	-2H, +O
8,11	274,0278	TP-D273b	C ₁₄ H ₈ ClNO ₃	-1,3	10,5	-3H, -Cl, +O
8,32	278,0146 ^b	TP-D277	C ₁₄ H ₉ Cl ₂ NO	-1,2	9,5	-2H, -O
			C ₁₃ H ₈ ClNO ₄	6,9	9,5	-C, -3H, -Cl, +2O
8,83	296,0243	Diclofénac	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	-0,3	8,5	-

^a Selon l'exactitude de la masse (tolérance = 10 mDa) et le nombre de C et N dans la formule proposée (i.e. les formules proposant un nombre trop élevé en C et/ou N par rapport à la molécule initiale ont été rejetées).

^b Observé aussi sous forme adduit sodium.

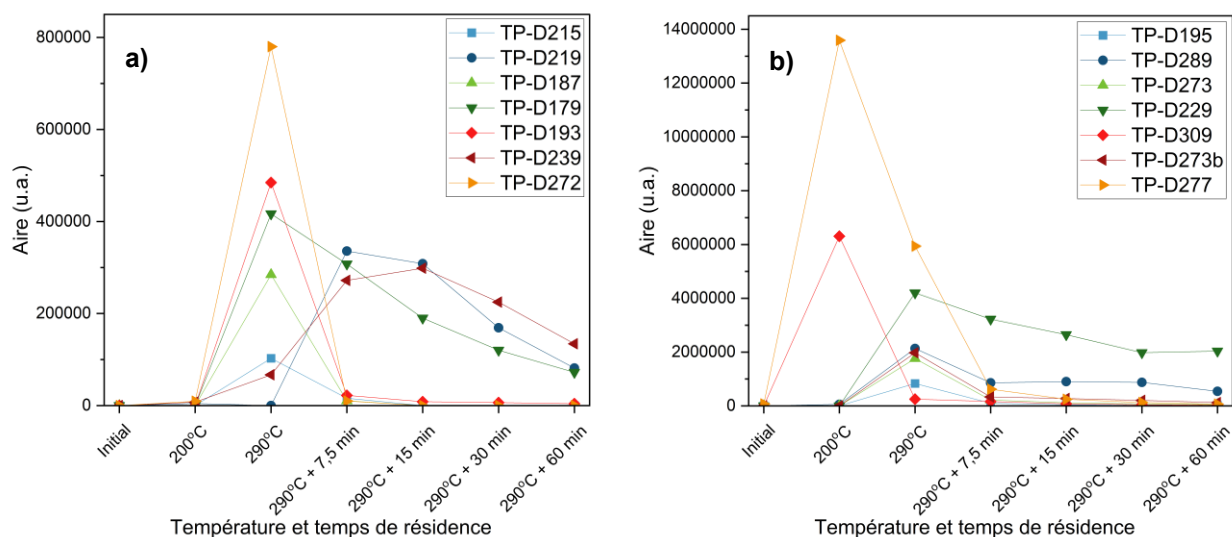


Figure 12. Suivi de l'aire des produits de transformation du diclofénac observés en LC-ESI(+)-QToF non ciblée.

Dans le but de comparer ces résultats avec d'autres types de traitement, un survol de la littérature sur le suivi des produits de transformation du diclofénac traité par différents procédés d'oxydation avancée (AOP) a été effectué.

Tableau 14. Comparaison des masses exactes des produits de transformation du diclofénac aux structures proposées dans la littérature.

Produits identifiés dans cette présente étude	Changement moléculaire selon la formule empirique	Structures correspondantes dans la littérature	Changements observés dans la littérature	Procédés et références
TP-D215	-2C, -2H, -2Cl, +O		(-Cl), (-COOH)	AOP catalytique avec UV ⁷²
TP-D179	-5C, -5H, -Cl, -O		(-C ₈ H ₈ NO ₂), (+2(OH))	Sonochimie avec UV ⁷³
TP-D229	-C, -3H, -Cl, -O ou -2C, -4H, -2Cl, +2O		(-Cl), (-COOH), (-2H), (+O)	Oxydation par ClO ₂ ⁷⁴
TP-D309	-2H, +O		(-2H), (+O)	Ozonation ⁷⁵
TP-D277	-2H, -O ou -C, -3H, -Cl, +2O		(-Cl), (+OH)	Ozonation ⁷⁵ , UV/H ₂ O ₂ avec ozone ^{76,77}

Dans le cadre de ces études, la plupart ont utilisé la GC-MS ou la spectrométrie de masse en temps de vol afin d'identifier les produits de transformation. Les produits retrouvés étaient souvent reliés à l'ajout de fonction oxygénées, soit alcools ou cétones causant l'augmentation de la masse initiale ou à la fragmentation au milieu de la molécule. Les produits observés, à la suite du traitement OVH, semblent toutefois correspondre à des modifications ayant des variations de masses moins importantes. Seulement 5 composés sur 14 associés aux masses observées expérimentalement ont été retrouvés.

Une structure ayant la même masse que le produit TP-D215 a été retrouvée lors de l'analyse du diclofénac traité par oxydation avancée catalytique avec l'utilisation de rayons ultra-violets⁷². Cependant, la structure, soit le diclofénac ayant subi la perte de la fonction acide ainsi que d'un atome de chlore pour former un cycle à 5 entre reliant les deux cycles aromatiques, ne concorde pas avec celle qui a été obtenue à partir de la masse exacte dans cette présente étude. Le deuxième produit ayant une masse similaire est le produit TP-D179, qui a été retrouvé lors de l'oxydation sonochimique avec rayonnement UV⁷³. Cette molécule correspond à un cycle aromatique substitué par deux atomes de chlore et deux groupements OH. Toutefois, cette structure ne correspond pas à la formule empirique proposée dans le tableau 13. La formation d'un composé correspondant à la masse du produit TP-D229 a été observée dans une étude d'oxydation du diclofénac par le ClO₂⁷⁴. La formule moléculaire présentée dans l'étude correspond à la première proposée dans le tableau 13, ce qui pourrait être associé à la perte d'un atome de chlore par la formation d'un cycle à 5 entre les deux composés aromatiques de la molécule mère et d'une réduction de l'acide carboxylique en aldéhyde. Une structure correspondant à la masse du produit TP-D309, soit l'ajout d'une fonction cétone sur le cycle substitué de la fonction acide en position *méta* ainsi que la délocalisation d'une liaison double sur l'atome d'azote, a été observée après ozonation⁷⁵. Cette structure correspond également à la formule empirique proposée plus tôt dans le tableau 14. Le dernier produit à avoir une masse correspondante dans la littérature est le TP-D277. Un produit similaire a été observé à la suite de traitements par ozonation⁷⁵ et par oxydation avancée impliquant l'UV/H₂O₂ et d'ozone^{76,77}. Ce dernier correspond à la substitution d'un chlore par un groupement OH selon ces études. Cependant, en considérant la masse exacte retrouvée, une perte de d'eau serait à considérer.

Il n'en reste que ces résultats sont qu'une introduction à l'élucidation des produits de transformation plus près de la molécule mère et que la proposition de structures plus exactes

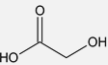
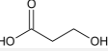
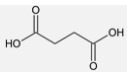
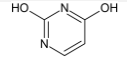
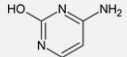
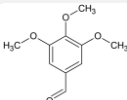
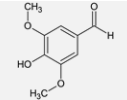
pourrait être effectuée avec des expériences de fragmentations. Ces résultats démontrent la pertinence d’approfondir les analyses sur ce type d’échantillon et explique en partie la proportion de la DCO non identifiée après l’atteinte de 290 °C ainsi qu’après 60 minutes d’oxydation.

4.5 Études non ciblées du triméthoprim

4.5.1 Analyses non ciblées en GC-MS

Dans un premier temps, des analyses non ciblées ont été effectuées par GC-MS après avoir dérivé les échantillons. Ces résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 15. Produits de transformation du triméthoprim détectés par GC-MS.

Temps de rétention (min)	Ions observés (<i>m/z</i>)	Nom	Structure	Méthode d’identification
5,40	219, 191, 190, 147, 133	Acide lactique ^a		Confirmé par étalon ^b
5,59	205, 177, 161, 147, 73	Acide glycolique ^a		Confirmé par étalon ^b
6,57	219, 177, 147, 73	Acide 3-hydroxypropionique ^a		NIST : 90 %
7,23	204, 188, 147, 104, 73	TP-T1	-	Non identifié
7,74	140, 112, 85, 71, 69	Méthénamine		NIST : 92 %
7,85	207, 189, 171, 147, 73	Urée ^a		NIST : 91 %
8,72	154, 126, 85, 56	TP-T2	-	Non identifié
8,94	247, 147, 73	Acide succinique ^a		Confirmé par étalon ^b
9,33	255, 241, 147, 99, 73	Uracile ^a		NIST : 94 %
12,60	254, 239, 170, 125, 112, 98, 73	Cytosine ^a		NIST : 57 % ^c
12,60	196, 181, 125, 110, 93	3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde ^a		NIST : 85 % ^c
13,80	254, 239, 224, 73	Syringaldéhyde ^a		NIST : 92 %

^a Analysé sous forme dérivée TMS (+ Si(CH₃)₃)

^b Temps de rétention et spectre de masse confirmés par étalon et pointage de correspondance avec la banque de données NIST supérieur à 90 %.

^c La cytosine et le 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde se chevauchent dans le chromatogramme, ce qui diminue le pointage de correspondance. Ils ont toutefois été considérés puisqu’ils se retrouvent dans la littérature^{79,80}.

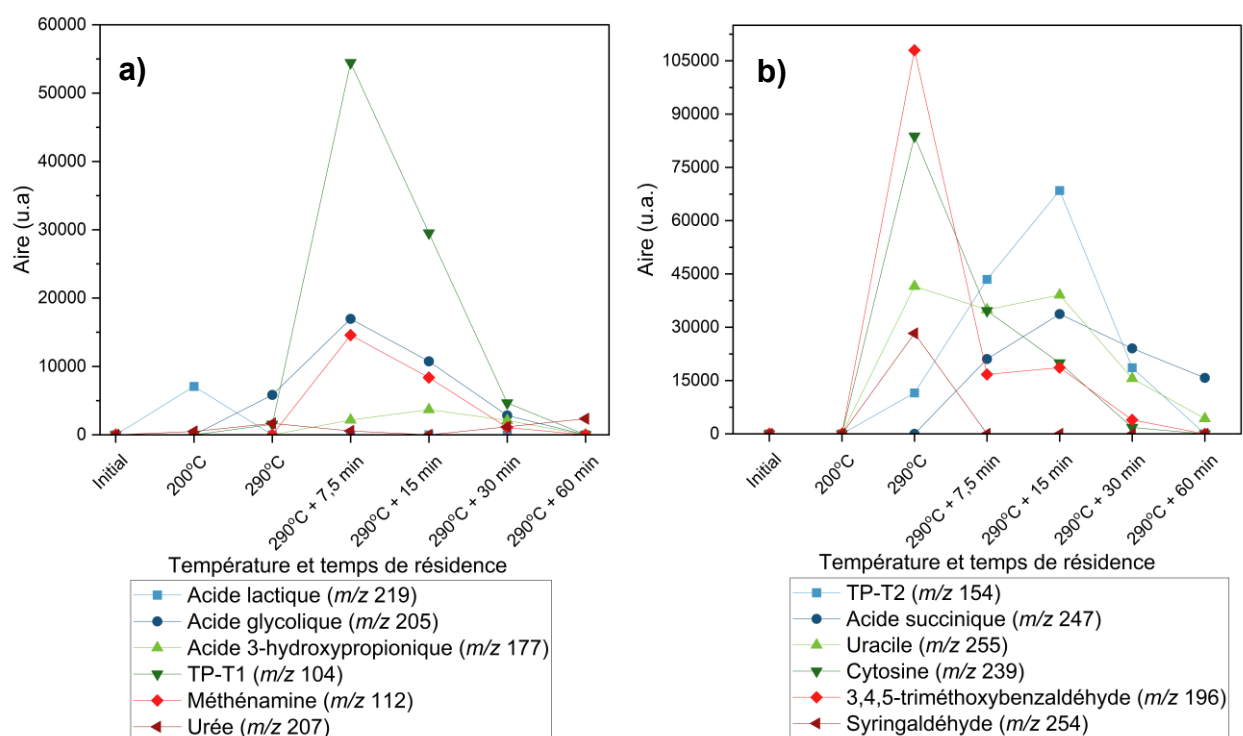


Figure 13. Suivi de l'aire des produits de transformation du triméthoprime observés en GC-MS non ciblée.

Comme précédemment, un ion caractéristique a été sélectionné selon son intensité et afin d'éviter les interférences. Les aires de ces ions ont été extraites et représentées aux figures suivantes. Dans le but de bien illustrer les tendances, les résultats ont été représentés dans deux graphiques distincts et chaque axe des y a été ajusté afin d'optimiser la visibilité. Les acides lactique, glycolique et succinique ont été quantifiés dans la section précédente et ont également été observés lors de l'analyse non ciblée. L'acide 3-hydroxypropionique a été observé après le début de l'oxydation, comme il a été observé dans le traitement des deux premiers composés. Le produit TP-T1 n'a pu être identifié avec un bon pointage de correspondance. Cependant, cette molécule semble être un produit d'oxydation, puisqu'elle a été formée dès les premières minutes d'oxydation. Il est difficile d'élucider la structure à partir de ces spectres sans la correspondance avec la banque de données, puisque ce sont des molécules qui peuvent être dérivées plusieurs fois ou non avec une fragmentation particulière. De plus, les analyses des produits de transformation du triméthoprime qui sont présentes dans la littérature utilise plutôt la chromatographie liquide.

La formation de la méthénamine a été également observée dans le cas du triméthoprime. Elle a atteint une aire maximale dès le début de l'oxydation et a été éliminée par la suite. La détection de ce composé, dès les premières minutes d'oxydation lors du traitement de la gabapentine ainsi que du triméthoprime, suggère que la méthénamine serait un produit d'oxydation de groupements amines. L'urée s'ajoute également aux produits de transformation identifiés lors du traitement par OVH. Dans ce cas-ci, le signal observé oscillait à un faible signal durant toute la durée du traitement, ce qui laisse croire que ce produit est intermédiaire dans le procédé.

Le produit TP-T2 a été formé en partie à 290 °C, mais a atteint une réponse maximale après 15 minutes de traitement. Pour les raisons mentionnées précédemment, le composé n'a pu être identifié. La cytosine a été formée à 290 °C et a ensuite été éliminée lors de l'oxydation. L'uracile, correspondant à la cytosine oxydée, a été formé après l'atteinte de 290 °C et a été éliminé après plus de 15 minutes d'oxydation. Le 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde a été observé lors de l'augmentation de température à 290 °C et a ensuite été retransformé lors de l'oxydation. Une partie du produit semblait résistante entre 7,5 et 15 minutes, mais a été retransformée après 30 minutes d'oxydation. Ce dernier a été observé dans d'autres études précédentes, notamment lors de traitement par électro-chimie⁷⁹ et d'oxydation utilisant le ferrate⁸¹. Finalement, le syringaldéhyde est également un produit formé lors de l'augmentation de température à 290 °C. Cependant, les premières minutes d'oxydation ont été suffisantes pour retransformer le produit. Le 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde, la cytosine et l'uracile ont atteint des aires très élevées à 290 °C comparativement aux autres produits observés. Ceci pourrait expliquer en partie le 50 % de la DCO non identifié. Cependant, il est important de vérifier si d'autres types de molécules contribueraient également à ce pourcentage à l'aide de la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en temps de vol.

4.5.2 Analyses non ciblées en QToF

L'analyse non ciblée par QToF des échantillons a été effectuée, ce qui a permis d'observer 22 composés supplémentaires. Afin de ne pas saturer le détecteur, le triméthoprime n'a pas été analysé dans les échantillons et n'est donc pas représenté dans les figures de suivi. De plus, dans le but de simplifier les résultats et d'avoir une certaine sélectivité, seuls les composés ayant un ratio signal sur bruit supérieur à 10 ont été considérés pour l'analyse des résultats. Les formules moléculaires proposées sont représentées dans le tableau 16 à la page suivante.

Tableau 16. Formules moléculaires proposées selon les masses exactes observées en QToF lors du traitement du triméthopprime.

Temps de rétention (min)	Ions observés (m/z)	Nom	Formule moléculaire la plus probable (neutre) ^a	Δm (mDa)	Équivalent de liens doubles ou cycles	Pertes/gains moléculaires proposés
2,20	293,1248	TP-T292	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₄	-0,5	7,5	-C, -2H, +O
2,44	163,0620 ^{c,d}	TP-T162	C ₇ H ₆ N ₄ O	-0,6	6,5	-7C, -12H, -2O
			C ₆ H ₁₀ O ₅	-1,9	1,5	-8C, -8H, -4N, +2O
2,56	192,0774	TP-T191	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	-0,6	6,5	-5C, -9H, -N, -O
3,70	167,0458	TP-T166	C ₇ H ₆ N ₂ O ₃	-0,7	5,5	-7C, -12H, -2N
4,47	277,1300	TP-T276	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₃	-0,5	7,5	-C, -2H
4,59	247,1194	TP-T246	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂	-0,4	7,5	-2C, -4H, -O
4,69	287,1142	TP-T286	C ₁₄ H ₁₄ N ₄ O ₃	-0,3	9,5	-4H
4,76	277,1300	TP-T276b	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₃	-0,5	7,5	-C, -2H
5,00	247,1197	TP-T246b	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂	-0,7	7,5	-2C, -4H, -O
5,08	307,1408	TP-T306	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₄	-0,7	7,5	+O
5,08	277,1303	TP-T276c	C ₁₃ H ₁₆ N ₄ O ₃	-0,8	7,5	-C, -2H
5,20	292,1291	TP-T291	C ₁₄ H ₁₇ N ₃ O ₄	0,1	7,5	-H, -N, +O
5,49	291,1459	Triméthopprime	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	-0,7	7,5	-
5,90	305,1251	TP-T304	C ₁₄ H ₁₆ N ₄ O ₄	-0,7	8,5	-2H, +O
5,90	263,1033	TP-T262	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₄	-0,7	7,5	-C, -4H, -2N, +O
			C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₃	10	7,5	-2C, -4H
6,09	256,1185 ^c	TP-T255	C ₁₂ H ₁₇ NO ₅	-0,6	4,5	-2C, -H, -3N, -2O
6,16	263,1030	TP-T262b	C ₁₃ H ₁₄ N ₂ O ₄	-0,4	7,5	-C, -4H, -2N, +O
			C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₃	10	7,5	-2C, -4H
6,30	240,1237 ^{c,d,e}	TP-T239	C ₁₂ H ₁₇ NO ₄	-0,7	4,5	-2C, -H, -3N, +O
6,40	293,1137 ^c	TP-T292b	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₅	-0,5	7,5	-2H, -2N, +2O
6,74	222,1129	TP-T221	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	-0,4	5,5	-2C, -3H, -3N
			C ₇ H ₁₅ N ₃ O ₅	-4,5	1,5	-7C, -3H, -N, +2O
6,81	197,0813	TP-T196	C ₁₀ H ₁₂ O ₄	-0,5	4,5	-4C, -6H, -4N, +O
			C ₁₁ H ₈ N ₄	0,9	9,5	-3C, -10H, -3O
6,93	241,1072 ^c	TP-T240	C ₁₂ H ₁₆ O ₅	-0,1	4,5	-2C, -2H, -4N, +2O
			C ₁₃ H ₁₂ N ₄ O	1,2	9,5	-C, -6H, -2O
			C ₁₄ H ₁₂ N ₂ O ₂	-10,0	9,5	-4H, -2N, -O
6,99	211,0969 ^c	TP-T210	C ₁₁ H ₁₄ O ₄	-0,4	4,5	-3C, -4H, -4N, +O
			C ₁₂ H ₁₀ N ₄	0,9	9,5	-2C, -8H, -3O

^a Selon l'exactitude de la masse (tolérance = 10 mDa) et le nombre de C et N dans la formule proposée (i.e. les formules proposant un nombre trop élevé en C et/ou N par rapport à la molécule initiale ont été rejetées).

^b Aucune formule correspondait aux contraintes, le nombre de C est supérieur à la formule initiale.

^c Observé aussi sous forme adduit sodium, ^d de dimère adduit sodium [2M+Na]⁺ et ^e de dimère [2M+H]⁺

Dans le but de représenter l'évolution des composés observés selon la température et le temps de traitement, les aires de chaque ion correspondant ont été extraites et rapportées dans les figures suivantes.

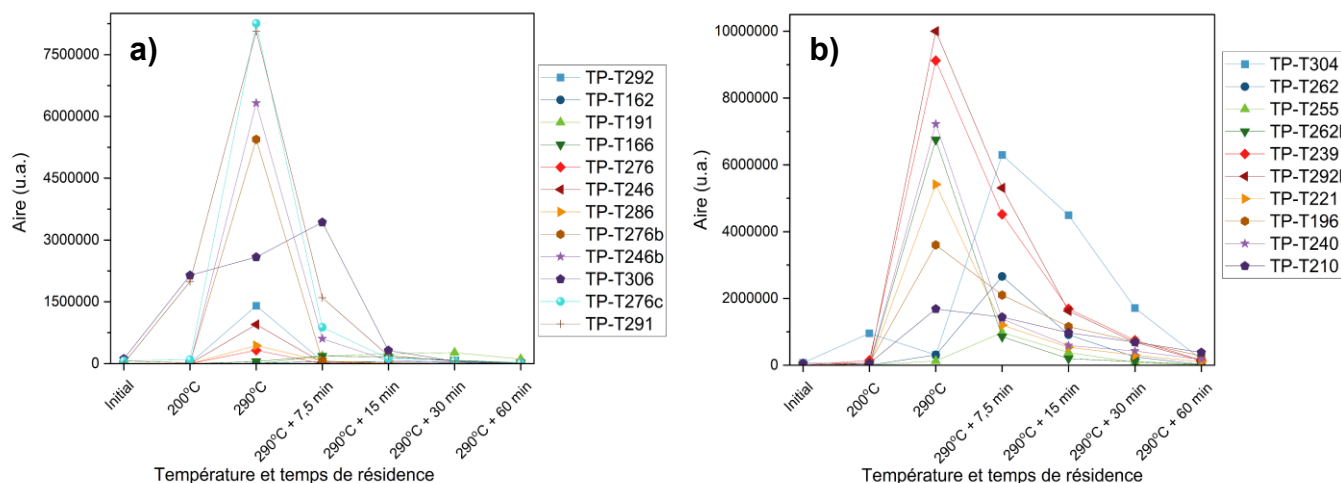


Figure 14. Suivi de l'aire des produits de transformation du triméthoprine observés en LC-ESI(+)-QToF non ciblée.

Selon les résultats, la majorité des produits observés, soit 15 composés sur 22, ont atteint leur maximum en signal lors de l'atteinte de 290 °C. Les produits TP-T306 et TP-T304 se sont démarqués par leur formation lors de l'augmentation de température à 200 °C. Même si le TP-T306 continue à augmenter légèrement, après 15 minutes de traitement, la majorité a été retransformée. Quant au produit TP-T304, une petite partie a été formée après avoir atteint 200 °C, mais une majeure partie a été formée lors de l'oxydation. Sept des produits observés, soit les produits TP-T162, TP-T191, TP-T304, TP-T262 et TP-T255 ont été majoritairement formés lors de l'ajout d'air. Les composés ayant de forts signaux retrouvés au prélèvement de 290 °C peuvent en partie être responsables des pourcentages à la demande chimique en oxygène non identifiés. Certains semblent résiduels même après 60 minutes d'oxydation, ce qui pourrait également expliquer une partie du 74 % de DCO non associée précédemment.

Dans l'objectif d'interpréter ces données, un survol de la littérature a été effectué. Pour le traitement de triméthoprim, il était plus facile de trouver des études citant des traitements d'oxydation avancée. Cependant, les études portaient généralement sur les variations de la molécule mère avec l'ajout ou l'élimination de groupements fonctionnels et ne présentaient pas toutes les voies de

transformation jusqu'à la minéralisation. Sur les 22 masses exactes observées précédemment, 10 ont correspondues à des structures proposées dans les études précédentes de la littérature consultée. Afin de faciliter la représentation des composés correspondants, un tableau récapitulatif est représenté ci-dessous.

Tableau 17. Comparaison des masses exactes des produits de transformation du triméthopime aux structures proposées dans la littérature.

Produits identifiés dans cette présente étude	Changement moléculaire selon la formule empirique	Structures correspondantes dans la littérature	Changements observés dans la littérature	Procédés et références
TP-T292 et T292b	-C, -2H, +O ou -2H, -2N, +2O		(-CH ₃), (+OH)	Photoélectro-Fenton ⁷⁹
TP-T276, T276b et c	-C, -2H		(-CH ₃), (+H)	Photoélectro-Fenton ⁷⁹ , ozonation ⁸² , sonolyse ⁸³ , photochimie ⁸⁴
TP-T306	+O		(+OH), (-H)	Photoélectro-Fenton ⁷⁹ , ozonation ⁸² , sonolyse ⁸³ , photochimie ⁸⁴ , électro-Fenton ⁶⁸
TP-T304	-2H, +O		(+O), (-H ₂)	Photoélectro-Fenton ⁷⁹ , ozonation ⁸² , sonolyse ⁸³ , photochimie ⁸⁴
TP-T262 et T262b	-C, -4H, -2N, +O ou -2C, -4H		-(CH ₃) ₂ , (+2H)	Photochimie ⁸⁴
TP-T196	-4C, -6H, -4N, +O ou 3C, -10H, -3O		(-C ₄ H ₅ N ₄), (-H), (+O)	Oxydation par ferrate ^{81 a}

^a Ne fait pas partie des AOPs, oxydation simple.

Tous les types de traitement énoncés précédemment sont des procédés d'oxydation avancée, excepté pour l'oxydation par ferrate. Cependant, ce procédé a été considéré afin d'avoir une meilleure représentation du processus d'oxydation.

Pour les produits TP-T292 et TP-T292b, les changements observés dans la littérature, soit la décarboxylation et l'oxydation correspondent à ce qui était établi selon la première formule moléculaire proposée à partir de la masse exacte. Le fait d'observer la même masse à deux temps de rétention différents peut être expliqué par le fait que plusieurs isomères peuvent être formés selon la position de la décarboxylation et de l'oxydation. Pour les produits TP-T276, T276b et T276c, le même phénomène peut être expliqué tout dépendamment de la position des groupements OCH_3 et OH . Le changement moléculaire proposé précédemment correspond également aux changements déterminés dans la littérature. Les produits TP-T276, TP-T306 et TP-T304 sont des composés qui se retrouvent souvent comme produit de transformation lors plusieurs types de traitement. Les masses exactes qui correspondent à TP-T306 et TP-T304 sont associées à l'oxydation de la molécule mère, soit respectivement l'ajout d'un groupement alcool et l'ajout d'une cétone. Ces deux types de réaction ont lieu lors de l'augmentation de la température et lors de l'oxydation en voie humide, ce qui suggère que les conditions permettent l'oxydation lors du chauffage, même si l'air n'a pas été ajouté, puisqu'il y a la présence de l'eau dans le système.

Pour les produits TP-T262 et T262b, un composé correspondant à deux décarboxylations est observé dans la littérature, comme la deuxième formule moléculaire proposée à partir de la masse exacte dans le tableau 16. Puisque plusieurs isomères sont possibles, dû au positionnement des deux groupements OH et un (OCH_3) , il est valide que plusieurs composés ayant des temps de rétention différents possèdent la même masse exacte, comme il est observé pour les produits TP-T262 et TP-T262b. Le dernier composé observé lors du traitement par OVH ainsi que dans la littérature est le produit TP-T197. Deux formules avaient été proposées, cependant une seule a été retrouvée dans la littérature, soit $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_4$. Cette structure retrouvée correspond également au 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde, qui avait été identifié par GC-MS à la section 4.5.3. Les deux produits observés ont des variations d'aires comparables, ce qui valide l'hypothèse que ces deux molécules seraient le 3,4,5-triméthoxybenzaldéhyde.

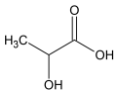
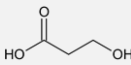
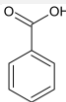
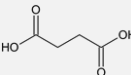
Dans le but de confirmer les formules empiriques des autres molécules ne se retrouvant pas dans la littérature, des analyses de spectrométrie de masse en tandem pourraient être réalisées afin d'avoir plus d'informations sur les structures à partir de leurs fragmentations. Ces informations sont complémentaires aux travaux réalisés dans ce présent projet et permettraient d'identifier davantage les produits de transformation.

4.6 Étude de suivi de l'acide acétylsalicylique

4.6.1 Analyses non ciblées en GC-MS

Afin d'identifier la provenance de la contribution à la DCO au prélèvement de 290 °C, une analyse non ciblée en GC-MS a été effectuée. Les résultats sont présentés dans le tableau 18 suivant.

Tableau 18. Produits de transformation de l'acide acétylsalicylique détectés par GC-MS.

Méthode	Temps de rétention (min)	Ions observés (m/z)	Nom	Structure	Méthode d'identification
Semi-volatils	5,39	219, 191, 190, 147, 117, 73	Acide lactique ^a		Confirmé avec étalon ^b
	6,56	219, 177, 147, 133, 116, 73	Acide 3-hydroxypropionique ^a		NIST : 90 %
	8,00	179, 135, 105, 77	Acide benzoïque ^a		Confirmé avec étalon ^b
	8,93	247, 147, 73	Acide succinique ^a		Confirmé avec étalon ^b
	11,55	267, 209, 135, 91, 73	Acide salicylique ^a		Confirmé avec étalon ^b
Volatils	7,50	166, 151, 135, 95	Phénol ^a		Confirmé avec étalon ^b

^a Analysé sous forme dérivée TMS (+ Si(CH₃)₃)

^b Temps de rétention et spectre de masse confirmés par étalon et pointage de correspondance avec la banque de données NIST supérieur à 90 %.

Comme effectué précédemment, un ion caractéristique de chaque composé identifié a été sélectionné selon son intensité et de l'absence de signal interférant. Les aires de ces ions ont été extraites et représentées dans la figure 15 à la page suivante. Les acides lactique, succinique et salicylique ont été quantifiés précédemment, mais se retrouve également lors de l'analyse non ciblée. Les tendances observées sont similaires à celles observées plus tôt, soit l'augmentation de l'acide succinique après quelques minutes d'oxydation, la variation plutôt faible de l'acide lactique et l'augmentation significative de l'acide salicylique à 200 °C.

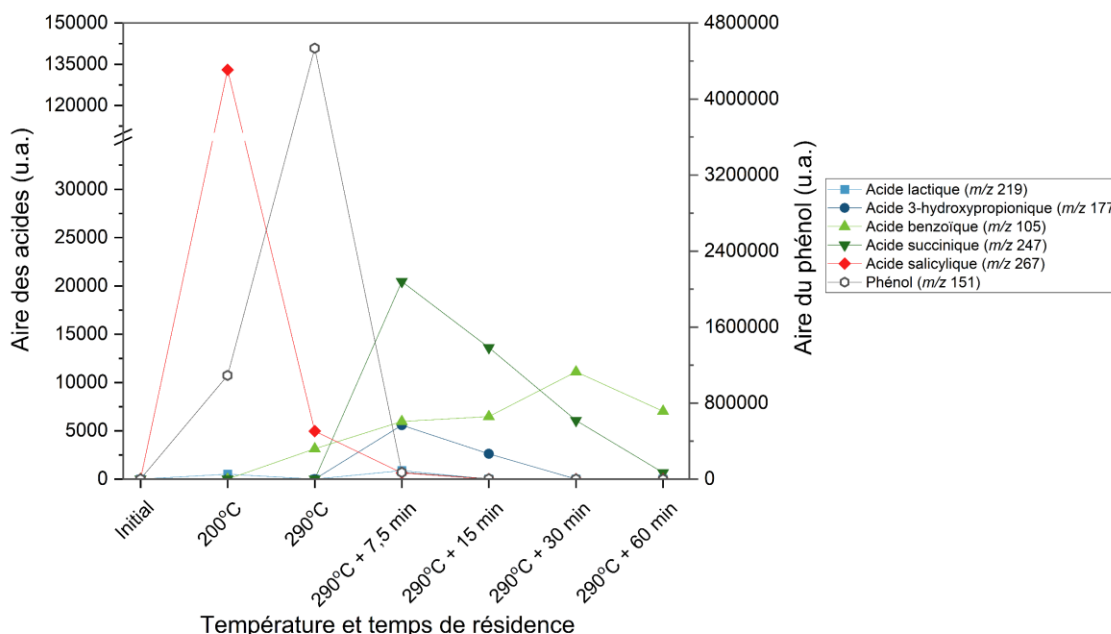


Figure 15. Suivi de l'aire des produits de transformation de l'acide acétylsalicylique observés en GC-MS non ciblée.

L'acide 3-hydroxypropionique, qui a été observée précédemment lors du traitement de tous les autres composés étudiés, se retrouvent également dans les échantillons d'acide acétylsalicylique traités. Encore une fois, cet acide se forme généralement après 7,5 minutes d'oxydation. L'acide benzoïque se forme graduellement dès l'atteinte de 290 °C et semble augmenter selon le temps d'oxydation. Cependant, seulement une faible différence entre les signaux a été observée. Le signal le plus important qui a été observé dans les analyses non ciblées est attribué au phénol. En effet, un signal maximal a été obtenu après avoir atteint 290 °C, ce qui suppose que la majorité d'acide salicylique observé à 200 °C s'est transformé en phénol. Étant donné sa toxicité plutôt reconnue, la formation de phénol durant le procédé pourrait être préoccupante et non désirée. Cependant, le phénol est rapidement éliminé lors de l'oxydation, ce qui est favorable pour le développement de ce type de traitement. Puisque le phénol a une réponse majeure à 290 °C, ceci laisse croire qu'une grande partie de ce composé serait responsable du 67,2 % de la DCO non identifié et que la contribution à la DCO serait majoritairement expliquée à partir des informations obtenues jusqu'à présent.

4.6.2 Analyses non ciblées en QToF

Lors de l'analyse par spectrométrie de masse en temps de vol, l'adduit sodium de l'acide acétylsalicylique a été observé. Cependant, aucun autre produit n'a pu être observé et identifié à partir de cette méthode. Puisque les molécules observées précédemment étaient relativement de petites tailles, ceci pourrait expliquer pourquoi rien de concluant n'est observé par QToF et que les analyses par GC-MS seraient plus appropriées dans ce cas-ci.

4.7 Synthèse des informations acquises sur le devenir des contaminants organiques

À partir des résultats obtenus lors de la réalisation de ce projet, plusieurs observations générales ont pu être effectuées en lien avec le devenir des composés pharmaceutiques et leurs produits de transformation. Que ce soit lors du traitement hydrothermal, correspondant au chauffage des échantillons aqueux, ou lors de l'oxydation en voie humide, de multiples produits intermédiaires, dont certains réfractaires ont pu être identifiés ou observés.

4.7.1 Produits généraux observés

Lors des différentes expériences d'oxydation en voie humide, certains produits ont été observés au cours du traitement de tous les composés modèles, soit les acides acétique, glycolique, succinique et 3-hydroxypropionique. Il est à noter que ces mêmes acides, excepté l'acide 3-hydroxypropionique, ont été également observés lors du traitement des effluents réels et de la solution d'acétaminophène. Selon les résultats, l'acide glycolique était le seul produit majoritairement formé avec l'augmentation de la température, pour ensuite être éliminé au-delà de 15 minutes d'oxydation. Les acides 3-hydroxypropionique, acétique et succinique ont, quant à eux, été observés dès les premières minutes d'oxydation, pour ensuite être retransformés lentement. L'acide acétique a été considéré comme réfractaire dans tous les cas, dû à l'atteinte de hautes concentrations et d'un plateau lors de l'oxydation, ce qui est normal puisque l'acide acétique est difficilement oxydable, comme mentionné précédemment. Les tendances de formation et de retransformation semblent les mêmes pour les trois composés qui sont éliminés rapidement, soit la gabapentine, le diclofénac et l'acide acétylsalicylique. Cependant, dans le cas du triméthoprim, qui est le composé éliminé le plus lentement, un décalage dans les tendances a été observé dans la formation de ces acides (i.e. élimination plus lente, formation tardive). La rapidité de la transformation des composés à traiter semblerait donc un facteur impactant la formation des

différents produits de transformation. Afin de valider cette hypothèse, l'étude du devenir de molécules éliminées à différents temps d'oxydation et plus résistantes aux hautes températures devrait être effectuée.

4.7.2 Influence du choix des molécules traitées

Selon les résultats précédents, le choix des molécules à traiter semble avoir également un impact sur les produits de transformation formés. En effet, la composition atomique, soit la présence d'azote ou de chlore par exemple, peut influencer directement la composition des produits observés. Par exemple, la présence de groupements azotés semble favoriser la formation de la méthénamine lors des premières minutes d'oxydation, comme dans le cas de la gabapentine, du triméthoprim et des effluents réels. Le diclofénac est composé également d'un atome d'azote. En revanche, la méthénamine n'a pas été observée, possiblement dû au manque de sensibilité de l'analyse. Lors des analyses non ciblées, une grande majorité des formules moléculaires probables correspondaient à des molécules contenant au moins un atome d'azote, dans les cas où des atomes d'azote étaient présents au départ. Certains de ces composés étaient produits lors du chauffage de la solution et d'autres, lors de l'oxydation. Quelques-uns semblaient plutôt réfractaires ou plus difficilement traitables. Il serait donc intéressant d'étudier le devenir de l'azote avec de meilleures limites de détection, puisque la majorité des composés pharmaceutiques contiennent des atomes d'azote. Pour ce qui est des produits dérivés du diclofénac, peu de molécules identifiées par GC-MS contenaient des atomes de chlore. Cependant, lors des analyses non ciblées par QToF, plusieurs formules moléculaires ont révélé la possibilité de la présence d'atomes de chlore sur les produits de transformation. Encore une fois, certains composés chlorés semblaient plutôt réfractaires et d'autres plus difficilement traitables. Ce type de composé nécessite une attention particulière puisque les composés chlorés produits peuvent être hautement toxiques et peu biodégradables⁸⁷.

Comme il était attendu et selon ce qui a été observé, les plus petites molécules, soit l'acide acétylsalicylique et la gabapentine, n'ont pas généré une grande quantité de produits intermédiaires, contrairement au diclofénac et au triméthoprim. Ces deux derniers ont permis de former davantage de composés près de la structure initiale, que ce soit lors du traitement hydrothermal ou lors de l'oxydation. Certains produits étaient toutefois difficiles à éliminer, même après 60 minutes de traitement.

Dans le cas de la présence de cycles aromatiques (triméthoprim, diclofénac et acide acétylsalicylique) ou non (gabapentine), peu de différences ont pu être observées dans la formation des petits acides carboxyliques. Cependant, dans le cas des composés contenant des cycles aromatiques initialement, des produits de transformation aromatiques, comme l'acide benzoïque, le phénol et un type de benzaldéhyde, ont été retrouvés. Toutefois, il est intéressant de constater que lors de cette étude, deux molécules habituellement formées lors du traitement de composés aromatiques, soit la benzoquinone et l'hydroquinone^{37,45,46}, n'ont pas été observées lors du traitement par OVH des composés pharmaceutiques (LOD = 0,1 et 0,2 mg/L respectivement). Ceci serait probablement dû aux conditions plus agressives utilisées en OVH. Ces deux composés sont habituellement reconnus comme problématiques dans le milieu du traitement des eaux, puisqu'ils ont une grande toxicité, notamment pour les bactéries impliquées dans les traitements biologiques, où la respiration des boues activées peut être diminuée à 50 % (CE₅₀) en présence de seulement 3 mg/L de benzoquinone^{88,89}. Le traitement par oxydation en voie humide est donc prometteur en évitant de former ce type de composé.

4.7.3 Pertinence de l'identification des produits intermédiaires

L'identification des produits par QToF s'est révélée pertinente dans l'optique où certains composés ont été formés, mais sont que très peu retransformés par la suite. En effet, une grande partie des produits sont générés à l'atteinte de 290 °C et explique une portion de la DCO non identifiée lors du traitement de tous les composés modèles. Ces composés sont ensuite retransformés lors du traitement par oxydation. Toutefois, une partie de ces composés restent même après 60 minutes, notamment observé lors du traitement du diclofénac, ce qui peut être préoccupant pour la suite. L'oxydation en voie humide implique des conditions agressives comparativement aux traitements biologiques présents dans les stations d'épuration. Cependant, pour des raisons technico-économiques, il serait improbable que les conditions menant à la minéralisation complète soient utilisées dans un contexte à grande échelle. Un compromis est donc étudié en utilisant les conditions optimisées pour l'élimination d'une grande majorité des composés pharmaceutiques, soit 15 minutes de traitement à 290°C. Dans ce présent chapitre, les temps de résidence de 7.5, 30 et 60 minutes sont analysés afin d'avoir un suivi plus global. À la lumière des résultats, il resterait donc beaucoup de produits, qui semblent intermédiaires dans cette étude puisque le temps d'oxydation est prolongé. S'il reste encore des produits persistants lors traitement, il est d'intérêt de se questionner sur la faisabilité de retransformation lorsque les effluents seront acheminés aux

stations d'épuration. Les analyses non ciblées par QToF permettent donc d'évaluer si les conditions de traitement sont optimales selon les types de matrices et de contaminants à traiter, tout en s'assurant que des molécules traitables sont formées, d'où la pertinence de faire ces analyses en complémentarité avec les analyses quantitatives.

L'identification et la quantification des produits ont permis d'avoir davantage d'informations sur la nature des effluents traités, contrairement à ce que la mesure de la DCO peut donner. En effet, souvent, l'élimination des contaminants initiaux est évaluée par le biais des valeurs de DCO mesurées. Toutefois, il a été démontré dans cette étude que ceci ne peut être qu'une estimation, puisque les produits formés contribuent également à la demande chimique en oxygène, comme dans le cas de l'élimination de l'acide acétylsalicylique où $> 99,9\%$ du composé initial était éliminé après 60 minutes d'oxydation, mais qu'une diminution de seulement $70,8\%$ de la DCO a été mesurée, puisque de l'acide acétique était encore présent. L'analyse des produits intermédiaires et finaux est donc essentielle à une meilleure compréhension de ces phénomènes de transformation.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les résultats présentés dans ce mémoire ont permis de franchir une première étape dans la compréhension du devenir des contaminants contenus dans les effluents hospitaliers après un traitement par oxydation en voie humide (OVH). Dans un premier temps, une méthode analytique par GC-MS a été développée et validée, ce qui a permis d'étudier davantage le devenir du carbone non minéralisé lors du traitement d'effluents hospitaliers réels. Des analyses non ciblées par GC-MS ont également été effectuées pour mieux caractériser ces effluents. Pour faire suite à ces résultats ainsi que les précédents avec les effluents réels, une étude comparative des composantes organiques et structurelles a été effectuée sur des composés modèles, exempt de matrice réelle, par le biais d'analyse quantitative et des analyses non ciblées par LC-QToF.

En effet, un nombre limité d'études sur l'élimination des composés pharmaceutiques par oxydation en voie humide non catalytique se retrouve dans la littérature et encore moins sur les produits de transformation formés. Il est commun de prouver l'efficacité du traitement par des méthodes simples et fréquemment utilisées dans le milieu, comme la demande biochimique en oxygène (DBO), le carbone organique total (TOC), la demande chimique en oxygène (DCO) ou par le suivi de la concentration du composé d'intérêt. Cependant, il est encore plus important de s'intéresser aux produits de transformation afin d'optimiser le traitement en fonction de ce qui est réellement introduit dans l'environnement et non seulement par l'élimination des contaminants primaires, puisque des produits encore plus nocifs ou présents en trop grande quantité pourraient être rejetés. Les méthodes analytiques développées dans ce projet ont donc permis de fournir une méthodologie analytique pour l'application future lors des traitements d'effluents réels et d'introduire certaines connaissances générales sur les produits potentiellement formés, soit lors des traitements d'effluents réels d'hôpitaux ainsi que de cinq composés modèles exempt de matrice, tout en donnant de nouveaux outils, tant pour la communauté scientifique, par la publication des résultats, que pour les ingénieurs et collaborateurs œuvrant avec ce type de traitement des eaux.

Pour débiter, le premier objectif était de développer une méthode quantitative afin de faire un suivi plus exact des produits de transformation les plus fréquents lors de traitement par procédés d'oxydation avancée, soit les acides carboxyliques à courte chaîne. Cet objectif a pu être atteint par l'utilisation de la GC-MS, puisque les composés d'intérêt étaient de petites molécules. Certains

composés étaient très volatils, ce qui a nécessité une dérivation par BSTFA avant les analyses. L'optimisation de la préparation des échantillons a permis de conclure qu'une extraction par MTBE était nécessaire pour les produits plus volatils et que l'évaporation de l'eau était suffisante pour l'analyse des composés semi-volatils avec une reconstitution dans un mélange de MTBE-ACN. La température et le temps de dérivation ont également été optimisés et les méthodes ont été validées en répondant aux critères analytiques. L'intérêt de développer une méthode quantitative pour analyser ces petits acides était de pouvoir quantifier les produits intermédiaires qui ont tendance à être formés vers à la fin du traitement afin d'évaluer s'ils sont réfractaires comme l'acide acétique. La quantification aide également dans l'optimisation du traitement afin d'évaluer la possibilité de revaloriser les produits finaux pour tous types d'échantillons.

À la suite du développement des méthodes, une preuve de concept a été effectuée par le suivi des produits de transformation de l'acétaminophène. Une partie de l'hypothèse principale reliée à l'OVH, soit que les molécules mères sont transformées en de plus petites molécules rapidement étant donné que les conditions relativement agressives utilisées, a été confirmée avec l'observation de la formation de petits composés comme les acides acétique, formique, glycolique, oxalique, glyoxylique, maléique, succinique, fumarique et malique. Lors de l'application de la méthode sur les effluents réels traités, les acides acétique, glycolique et succinique ont également été observés. Afin d'avoir plus d'information sur les produits, une analyse non ciblée exploratoire a été réalisée sur ces derniers échantillons. Les effluents réels non traités ont pu être en partie caractérisés notamment par l'observation d'acides aminés, du glycérol, de l'urée et de la créatinine. Les effluents traités ont également été en partie caractérisés par l'observation des acides acétique, succinique, glycolique, benzoïque et formique ainsi que de la méthénamine et du glycérol. À partir de ces méthodes, 35 à 46 % de la contribution à la demande chimique en oxygène a été identifiée, justifiant la nécessité de faire davantage d'investigation sur les échantillons en faisant des analyses non ciblées.

Dans la deuxième partie du projet, les méthodes développées précédemment ont été utilisées en plus de l'analyse des composés pharmaceutiques par LDTD-QqQMS, les analyses non ciblées en GC-MS ainsi qu'en spectrométrie de masse en temps de vol (LC-QToF) afin de faire une étude comparative. Ce dernier type d'analyse a permis d'identifier davantage de produits de transformation plus près de la structure initiale, ce qui était plutôt limité avec le GC-MS. Les

modifications à la structure initiale proposées peuvent être variées selon le composé traité. Cependant, davantage de produits ont été observés pour des molécules plus complexes, comme le diclofénac et le triméthoprim. Des variations, comme l'ajout de fonctions oxygénées, ont été souvent répertoriées. Dans la majorité des cas, plusieurs molécules étaient formées lors de l'augmentation en température à 200 et 290 °C et étaient éliminées par la suite. Une autre partie des composés observés était plutôt attribuée à des produits de transformation propres à l'oxydation comme les acides succinique et 3-hydroxypropionique, qui ont été retrouvés dans tous les échantillons traités. Les petits acides carboxyliques quantifiés ont plutôt été observés après l'oxydation, ce qui vient confirmer l'hypothèse que de plus petites molécules sont formées pendant le traitement par OVH. Cependant, une certaine partie de plus grosses molécules ont été observées encore après 15 minutes de traitement, comme dans le cas du triméthoprim.

Ces résultats sont un bon point de départ pour l'étude des produits de transformation lors de milieu complexe, comme les effluents hospitaliers. Bien que les expériences avec les composés modèles aient fournis de l'information sur le possible devenir des molécules, il reste toutefois beaucoup de travail à faire pour l'élucidation complète dans une matrice réelle. À la lumière des résultats obtenus lors de ce projet, plusieurs voies de continuité peuvent être développées. En effet, lors de cette étude, seulement une partie du devenir du carbone a pu être évaluée à partir des méthodes quantitatives développées. Afin d'être plus représentatif de la réalité, un suivi de molécules azotées pourrait être d'intérêt, puisqu'une grande majorité de molécules pharmaceutiques sont composées de fonctions azotées. De ce fait, il serait donc possible que les taux de contribution à la DCO déterminés expérimentalement soient améliorés en augmentant la variété de molécules quantifiées.

Un autre aspect du projet qui pourrait être développé serait d'approfondir les analyses de spectrométrie de masse en temps de vol en effectuant des analyses en tandem. En effet, les analyses non ciblées présentées dans ce mémoire ne sont qu'une introduction à la matière et des analyses plus complètes permettraient d'élucider davantage les structures des composés formés selon leurs fragmentations. Bien que ce projet ait d'autres perspectives toutes aussi intéressantes, les résultats de ce projet ont permis de fournir une méthodologie aux collaborateurs étudiant ce type de traitement pour l'application à des projets concrets, notamment dans la revalorisation des produits de transformation et dans la possibilité d'inclure un traitement des effluents OVH dans la construction de nouvelles infrastructures comme des hôpitaux.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Beek, T. aus der; Weber, F.-A.; Bergmann, A.; Hickmann, S.; Ebert, I.; Hein, A.; Küster, A. Pharmaceuticals in the Environment—Global Occurrences and Perspectives. *Environ. Toxicol. Chem.* **2016**, 35 (4), 823–835. <https://doi.org/10.1002/etc.3339>.
- (2) Deo, R. P. Pharmaceuticals in the Surface Water of the USA: A Review. *Curr. Environ. Health Rep.* **2014**, 1 (2), 113–122. <https://doi.org/10.1007/s40572-014-0015-y>.
- (3) Schwartz, H.; Marushka, L.; Chan, H. M.; Batal, M.; Sadik, T.; Ing, A.; Fediuk, K.; Tikhonov, C. Pharmaceuticals in Source Waters of 95 First Nations in Canada. *Can. J. Public Health.* **2021**, 112 (1), 133–153. <https://doi.org/10.17269/s41997-021-00499-3>.
- (4) Jobling, S.; Casey, D.; Rodgers-Gray, T.; Oehlmann, J.; Schulte-Oehlmann, U.; Pawlowski, S.; Baunbeck, T.; Turner, A. P.; Tyler, C. R. Comparative Responses of Molluscs and Fish to Environmental Estrogens and an Estrogenic Effluent. *Aquat. Toxicol.* **2004**, 66 (2), 207–222. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.01.002>.
- (5) Galus, M.; Kirischian, N.; Higgins, S.; Purdy, J.; Chow, J.; Rangaranjan, S.; Li, H.; Metcalfe, C.; Wilson, J. Y. Chronic, Low Concentration Exposure to Pharmaceuticals Impacts Multiple Organ Systems in Zebrafish. *Aquat. Toxicol.* **2013**, 132–133, 200–211. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.12.021>.
- (6) Foster, H. R.; Burton, G. A.; Basu, N.; Werner, E. E. Chronic Exposure to Fluoxetine (Prozac) Causes Developmental Delays in *Rana Pipiens* Larvae. *Environ. Toxicol. Chem.* **2010**, 29 (12), 2845–2850. <https://doi.org/10.1002/etc.345>.
- (7) Dey, S.; Bano, F.; Malik, A. 1 - Pharmaceuticals and Personal Care Product (PPCP) Contamination—a Global Discharge Inventory. In *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology*; Prasad, M. N. V., Vithanage, M., Kapley, A., Eds.; Butterworth-Heinemann, 2019; pp 1–26. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816189-0.00001-9>.

- (8) Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec. Eaux usées industrielles <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/eaux-usees/industrielles.htm> (accessed 2021 -06 -28).
- (9) Boucher, V.; Beaudon, M.; Ramirez, P.; Lemoine, P.; Volk, K.; Yargeau, V.; A. Segura, P. Comprehensive Evaluation of Non-Catalytic Wet Air Oxidation as a Pretreatment to Remove Pharmaceuticals from Hospital Effluents. *Environ. Sci. Water Res. Technol.* **2021**, 7 (7), 1301–1314. <https://doi.org/10.1039/D1EW00203A>.
- (10) Verlicchi, P.; Al Aukidy, M.; Galletti, A.; Petrovic, M.; Barceló, D. Hospital Effluent: Investigation of the Concentrations and Distribution of Pharmaceuticals and Environmental Risk Assessment. *Sci. Total Environ.* **2012**, 430, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.055>.
- (11) Orias, F.; Perrodin, Y. Characterisation of the Ecotoxicity of Hospital Effluents: A Review. *Sci. Total Environ.* **2013**, 454–455, 250–276. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.02.064>.
- (12) Orias, F.; Perrodin, Y. Pharmaceuticals in Hospital Wastewater: Their Ecotoxicity and Contribution to the Environmental Hazard of the Effluent. *Chemosphere* **2014**, 115, 31–39. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.016>.
- (13) Majumder, A.; Gupta, A. K.; Ghosal, P. S.; Varma, M. A Review on Hospital Wastewater Treatment: A Special Emphasis on Occurrence and Removal of Pharmaceutically Active Compounds, Resistant Microorganisms, and SARS-CoV-2. *J. Environ. Chem. Eng.* **2021**, 9 (2), 104812. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104812>.
- (14) Wei, Z.; Li, W.; Zhao, D.; Seo, Y.; Spinney, R.; Dionysiou, D. D.; Wang, Y.; Zeng, W.; Xiao, R. Electrophilicity Index as a Critical Indicator for the Biodegradation of the Pharmaceuticals in Aerobic Activated Sludge Processes. *Water Res.* **2019**, 160, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.05.057>.
- (15) Luo, Y.; Guo, W.; Ngo, H. H.; Nghiem, L. D.; Hai, F. I.; Zhang, J.; Liang, S.; Wang, X. C. A Review on the Occurrence of Micropollutants in the Aquatic Environment and Their Fate

- and Removal during Wastewater Treatment. *Sci. Total Environ.* **2014**, 473–474, 619–641. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.065>.
- (16) Khan, N. A.; Vambol, V.; Vambol, S.; Bolibrukh, B.; Sillanpaa, M.; Changani, F.; Esrafil, A.; Yousefi, M. Hospital Effluent Guidelines and Legislation Scenario around the Globe: A Critical Review. *J. Environ. Chem. Eng.* **2021**, 9 (5), 105874. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105874>.
- (17) Ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec. Portrait global de la qualité des eaux au Québec <https://www.environnement.gouv.qc.ca/eau/sys-image/global/global4.htm#paeq> (accessed 2021 -07 -07).
- (18) Ministère des Affaires municipales et de l'Occupation du territoire Québec. Liste de stations d'épuration avec déphosphatation pour toutes les régions du Québec <https://www.mamh.gouv.qc.ca/ministere/acces-a-linformation/annee-2015/2015-115-liste-des-stations-depuration-avec-dephosphatation-pour-toutes-les-regions-du-quebec/>.
- (19) Water Pollution Control Federation. *Exploitation Des Stations d'épuration Des Eaux Usées*, Reprotech.; Canada, 1985; Vol. Manuel de pratique No. 11.
- (20) Hoque, M. E.; Cloutier, F.; Arcieri, C.; McInnes, M.; Sultana, T.; Murray, C.; Vanrolleghem, P. A.; Metcalfe, C. D. Removal of Selected Pharmaceuticals, Personal Care Products and Artificial Sweetener in an Aerated Sewage Lagoon. *Sci. Total Environ.* **2014**, 487, 801–812. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.063>.
- (21) Li, X.; Zheng, W.; Kelly, W. R. Occurrence and Removal of Pharmaceutical and Hormone Contaminants in Rural Wastewater Treatment Lagoons. *Sci. Total Environ.* **2013**, 445–446, 22–28. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.12.035>.
- (22) Gros, M.; Petrović, M.; Ginebreda, A.; Barceló, D. Removal of Pharmaceuticals during Wastewater Treatment and Environmental Risk Assessment Using Hazard Indexes. *Environ. Int.* **2010**, 36 (1), 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.09.002>.

- (23) Sui, Q.; Huang, J.; Deng, S.; Chen, W.; Yu, G. Seasonal Variation in the Occurrence and Removal of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Different Biological Wastewater Treatment Processes. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45* (8), 3341–3348. <https://doi.org/10.1021/es200248d>.
- (24) Hii, K.; Baroutian, S.; Parthasarathy, R.; Gapes, D. J.; Eshtiaghi, N. A Review of Wet Air Oxidation and Thermal Hydrolysis Technologies in Sludge Treatment. *Bioresour. Technol.* **2014**, *155*, 289–299. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.066>.
- (25) Debellefontaine, H.; Foussard, J. N. Wet Air Oxidation for the Treatment of Industrial Wastes. Chemical Aspects, Reactor Design and Industrial Applications in Europe. *Waste Manag.* **2000**, *20* (1), 15–25. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(99\)00306-2](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(99)00306-2).
- (26) Luck, F. Wet Air Oxidation: Past, Present and Future. *Catal. Today* **1999**, *53*, 81–91. [https://doi.org/10.1016/S0920-5861\(99\)00112-1](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(99)00112-1).
- (27) Roy, S.; Vashishtha, M.; Saroha, A. K. Catalytic Wet Air Oxidation of Oxalic Acid Using Platinum Catalysts in Bubble Column Reactor: A Review. *J. Eng. Sci. Technol. Rev.* **2010**, *3* (1), 95–107. <https://doi.org/10.25103/jestr.031.17>.
- (28) Mishra, V. S.; Mahajani, V. V.; Joshi, J. B. Wet Air Oxidation. *Ind. Eng. Chem. Res.* **1995**, *34* (1), 2–48. <https://doi.org/10.1021/ie00040a001>.
- (29) Tembhekar, P. D.; Padoley, K. V.; Mudliar, S. L.; Mudliar, S. N. Kinetics of Wet Air Oxidation Pretreatment and Biodegradability Enhancement of a Complex Industrial Wastewater. *J. Environ. Chem. Eng.* **2015**, *3* (1), 339–348. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.02.009>.
- (30) Luck, F.; Bonnin, C.; Niel, G.; Naud, G. Caractérisation Des Sous-Produits d'oxydation Des Boues En Conditions Sous-Critiques et Supercritiques. *Rev. Sci. Eau* **2005**, *8* (4), 481–492. <https://doi.org/10.7202/705234ar>.
- (31) Schmieder, H.; Abeln, J. Supercritical Water Oxidation: State of the Art. *Chem. Eng. Technol.* **1999**, *22* (11), 903–908. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4125\(199911\)22:11<903::AID-CEAT903>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4125(199911)22:11<903::AID-CEAT903>3.0.CO;2-E).

- (32) Javaid, R.; Qazi, U. Y.; Ikhlaq, A.; Zahid, M.; Alazmi, A. Subcritical and Supercritical Water Oxidation for Dye Decomposition. *J. Environ. Manage.* **2021**, *290*, 112605. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112605>.
- (33) Levec, J.; Pintar, A. Catalytic Wet-Air Oxidation Processes: A Review. *Catal. Today* **2007**, *124* (3–4), 172–184. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2007.03.035>.
- (34) Bhargava, S. K.; Tardio, J.; Prasad, J.; Föger, K.; Akolekar, D. B.; Grocott, S. C. Wet Oxidation and Catalytic Wet Oxidation. *Ind. Eng. Chem. Res.* **2006**, *45* (4), 1221–1258. <https://doi.org/10.1021/ie051059n>.
- (35) Yousefifar, A.; Baroutian, S.; Farid, M. M.; Gapes, D. J.; Young, B. R. Fundamental Mechanisms and Reactions in Non-Catalytic Subcritical Hydrothermal Processes: A Review. *Water Res.* **2017**, *123*, 607–622. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.069>.
- (36) Li, L.; Chen, P.; Gloyna, E. F. Generalized Kinetic Model for Wet Oxidation of Organic Compounds. *AIChE J.* **1991**, *37* (11), 1687–1697. <https://doi.org/10.1002/aic.690371112>.
- (37) Collado, S.; Garrido, L.; Laca, A.; Diaz, M. Wet Oxidation of Salicylic Acid Solutions. *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44* (22), 8629–8635. <https://doi.org/10.1021/es1021944>.
- (38) Vaidya, P. D.; Mahajani, V. V. Insight into Sub-Critical Wet Oxidation of Phenol. *Adv. Environ. Res.* **2002**, *6* (4), 429–439. [https://doi.org/10.1016/S1093-0191\(01\)00071-5](https://doi.org/10.1016/S1093-0191(01)00071-5).
- (39) Lendormi, T.; Prevot, C.; Doppenberg, F.; Foussard, J. N.; Debellefontaine, H. Subcritical Wet Oxidation of Municipal Sewage Sludge: Comparison of Batch and Continuous Experiments. *Water Sci. Technol.* **2001**, *44* (5), 161–169. <https://doi.org/10.2166/wst.2001.0276>.
- (40) Monteiro, S. C.; Boxall, A. B. A. Occurrence and Fate of Human Pharmaceuticals in the Environment. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*; Whitacre, D. M., Ed.; Reviews of Environmental Contamination and Toxicology; Springer: New York, NY, 2010; pp 53–154. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1157-5_2.

- (41) Rosario-Ortiz, F. L.; Wert, E. C.; Snyder, S. A. Evaluation of UV/H₂O₂ Treatment for the Oxidation of Pharmaceuticals in Wastewater. *Water Res.* **2010**, *44* (5), 1440–1448. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.10.031>.
- (42) Debellefontaine, H.; Chakchouk, M.; Foussard, J. N.; Tissot, D.; Striolo, P. Treatment of Organic Aqueous Wastes: Wet Air Oxidation and Wet Peroxide Oxidation®. *Environ. Pollut.* **1996**, *92* (2), 155–164. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(95\)00100-X](https://doi.org/10.1016/0269-7491(95)00100-X).
- (43) Robert, R.; Barbati, S.; Ricq, N.; Ambrosio, M. Intermediates in Wet Oxidation of Cellulose: Identification of Hydroxyl Radical and Characterization of Hydrogen Peroxide. *Water Res.* **2002**, *36* (19), 4821–4829. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00205-1](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00205-1).
- (44) Zou, L. Y.; Li, Y.; Hung, Y.-T. Wet Air Oxidation for Waste Treatment. In *Advanced Physicochemical Treatment Technologies*; Wang, L. K., Hung, Y.-T., Shammass, N. K., Eds.; Handbook of Environmental Engineering; Humana Press: Totowa, NJ, 2007; pp 575–610. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-173-4_13.
- (45) Zhou, L.; Cao, H.; Descorme, C.; Xie, Y. Phenolic Compounds Removal by Wet Air Oxidation Based Processes. *Front. Environ. Sci. Eng.* **2018**, *12* (1), 1. <https://doi.org/10.1007/s11783-017-0970-2>.
- (46) Devlin, H. R.; Harris, I. J. Mechanism of the Oxidation of Aqueous Phenol with Dissolved Oxygen. *Ind. Eng. Chem. Fundam.* **1984**, *23* (4), 387–392. <https://doi.org/10.1021/i100016a002>.
- (47) Klinke, H. B.; Ahring, B. K.; Schmidt, A. S.; Thomsen, A. B. Characterization of Degradation Products from Alkaline Wet Oxidation of Wheat Straw. *Bioresour. Technol.* **2002**, *82* (1), 15–26. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(01\)00152-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00152-3).
- (48) Vogna, D.; Marotta, R.; Andreozzi, R.; Napolitano, A.; d'Ischia, M. Kinetic and Chemical Assessment of the UV/H₂O₂ Treatment of Antiepileptic Drug Carbamazepine. *Chemosphere* **2004**, *54* (4), 497–505. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00757-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00757-4).
- (49) Mansour, D.; Fourcade, F.; Soutrel, I.; Hauchard, D.; Bellakhal, N.; Amrane, A. Mineralization of Synthetic and Industrial Pharmaceutical Effluent Containing

Trimethoprim by Combining Electro-Fenton and Activated Sludge Treatment. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2015**, *53*, 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.02.022>.

- (50) Füglein, E.; Fischer, C.; Rager, A. Application Note: About the Thermal Behavior of Acetylsalicylic Acid and Aspirin. Netzsch.
- (51) Phytronix. Luxon Ion Source - Technologie LDTD <https://phytronix.com/fr/ldtd/> (accessed 2021 -08 -05).
- (52) Dion-Fortier, A.; Gravel, A.; Guérette, C.; Chevillot, F.; Blais, S.; Auger, S.; Picard, P.; Segura, P.A. Signal Enhancement in Laser Diode Thermal Desorption-triple Quadrupole Mass Spectrometry Analysis Using Microwell Surface Coatings - Dion-Fortier - 2019 - Journal of Mass Spectrometry - Wiley Online Library. *J. Mass Spectrom.* **2019**, *54*, 167–177.
- (53) Gravel, A.; Guérette, C.; Fortin, D.; Auger, S.; Picard, P.; Segura, P. A. Further Studies on the Signal Enhancement Effect in Laser Diode Thermal Desorption-Triple Quadrupole Mass Spectrometry Using Microwell Surface Coatings. *J. Mass Spectrom.* **2019**, *54* (12), 948–956. <https://doi.org/10.1002/jms.4455>.
- (54) Fayad, P. B.; Prévost, M.; Sauvé, S. Laser Diode Thermal Desorption/Atmospheric Pressure Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry Analysis of Selected Steroid Hormones in Wastewater: Method Optimization and Application. *Anal. Chem.* **2010**, *82* (2), 639–645. <https://doi.org/10.1021/ac902074x>.
- (55) Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. MA. 315 - DCO 1.1 : Détermination de La Demande Chimique En Oxygène : Méthode de Reflux En Système Fermé Suivi d'un Dosage Par Colorimétrie Avec Le Bichromate de Potassium. April 18, 2016.
- (56) European Communities. Council Directive 96/23/EC Concerning the Performance of Analytical Methods and the Interpretation of Results. *Off. J. Eur. Communities* **2002**, *L 221* (2002/657/EC), 8–36.

- (57) Miller, J. N. Basic Statistical Methods for Analytical Chemistry. Part 2. Calibration and Regression Methods. A Review. *The Analyst* **1991**, *116* (1), 3. <https://doi.org/10.1039/an9911600003>.
- (58) Lehner, A. F.; Stewart, J.; Dafalla, A.; Ely, K. J.; Connerly, A. L.; Jones, C. N.; Elkholy, H.; Thompson, K.; Tobin, T.; Dirikolu, L. Gabapentin in Horses: Validation of an Analytical Method for Gabapentin Quantitation. *J. Anal. Toxicol.* **2007**, *31* (9), 555–565. <https://doi.org/10.1093/jat/31.9.555>.
- (59) Tudja, P.; Khan, M. Z. I.; Meštrovic, E.; Horvat, M.; Golja, P. Thermal Behaviour of Diclofenac Sodium: Decomposition and Melting Characteristics. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **2001**, *49* (10), 1245–1250. <https://doi.org/10.1248/cpb.49.1245>.
- (60) Foussard, J.; Debellefontaine, H.; Besombes-Vailhé, J. Efficient Elimination of Organic Liquid Wastes: Wet Air Oxidation. *J. Environ. Eng.* **1989**, *115* (2), 367–385. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(1989\)115:2\(367\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(1989)115:2(367)).
- (61) Wiley SpectraBase. Gabapentin Lactam TMS - MS Spectrum <https://spectrabase.com/spectrum/2UlibdPQoO8> (accessed 2021 -08 -31).
- (62) Roose, P.; Eller, K.; Henkes, E.; Rossbacher, R.; Höke, H. Amines, Aliphatic. In *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*; American Cancer Society, 2015; pp 1–55. https://doi.org/10.1002/14356007.a02_001.pub2.
- (63) Valadbeigi, Y.; Ilbeigi, V.; Michalczuk, B.; Sabo, M.; Matejcik, S. Effect of Basicity and Structure on the Hydration of Protonated Molecules, Proton-Bound Dimer and Cluster Formation: An Ion Mobility-Time of Flight Mass Spectrometry and Theoretical Study. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2019**. <https://doi.org/10.1007/s13361-019-02180-z>.
- (64) Henning, N.; Kunkel, U.; Wick, A.; Ternes, T. A. Biotransformation of Gabapentin in Surface Water Matrices under Different Redox Conditions and the Occurrence of One Major TP in the Aquatic Environment. *Water Res.* **2018**, *137*, 290–300. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.027>.

- (65) Ragham, P. K.; Chandrasekhar, K. B. Development and Validation of a Stability-Indicating RP-HPL C-CAD Method for Gabapentin and Its Related Impurities in Presence of Degradation Products. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2016**, *125*, 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.035>.
- (66) Bello, F. D.; Medana, C.; Zorzi, M.; Kuck, B.; Fabbri, D.; Calza, P. Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Analytical Determination of Gabapentin Transformation Products by Heterogeneous Photocatalysis and Environmental Evaluation. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2020**, *34* (24), e8925. <https://doi.org/10.1002/rcm.8925>.
- (67) Herrmann, M.; Menz, J.; Olsson, O.; Kümmerer, K. Identification of Phototransformation Products of the Antiepileptic Drug Gabapentin: Biodegradability and Initial Assessment of Toxicity. *Water Res.* **2015**, *85*, 11–21. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.08.004>.
- (68) Lecours, M.-A.; Eysseric, E.; Yargeau, V.; Lessard, J.; Brisard, G. M.; Segura, P. A. Electrochemistry-High Resolution Mass Spectrometry to Study Oxidation Products of Trimethoprim. *Environments* **2018**, *5* (1), 18. <https://doi.org/10.3390/environments5010018>.
- (69) Zhao, X.; Hou, Y.; Liu, H.; Qiang, Z.; Qu, J. Electro-Oxidation of Diclofenac at Boron Doped Diamond: Kinetics and Mechanism. *Electrochimica Acta* **2009**, *54* (17), 4172–4179. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2009.02.059>.
- (70) Bae, S.; Kim, D.; Lee, W. Degradation of Diclofenac by Pyrite Catalyzed Fenton Oxidation. *Appl. Catal. B Environ.* **2013**, *134–135*, 93–102. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.12.031>.
- (71) Rosales, E.; Diaz, S.; Pazos, M.; Sanromán, M. A. Comprehensive Strategy for the Degradation of Anti-Inflammatory Drug Diclofenac by Different Advanced Oxidation Processes. *Sep. Purif. Technol.* **2019**, *208*, 130–141. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.04.014>.

- (72) Jang, J.; Shahzad, A.; Woo, S. H.; Lee, D. S. Magnetic Ti₃C₂Tx (Mxene) for Diclofenac Degradation via the Ultraviolet/Chlorine Advanced Oxidation Process. *Environ. Res.* **2020**, *182*, 108990. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108990>.
- (73) Ziylan, A.; Dogan, S.; Agopcan, S.; Kidak, R.; Aviyente, V.; Ince, N. H. Sonochemical Degradation of Diclofenac: Byproduct Assessment, Reaction Mechanisms and Environmental Considerations. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, *21* (9), 5929–5939. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2514-7>.
- (74) Wang, Y.; Liu, H.; Liu, G.; Xie, Y. Oxidation of Diclofenac by Aqueous Chlorine Dioxide: Identification of Major Disinfection Byproducts and Toxicity Evaluation. *Sci. Total Environ.* **2014**, *473–474*, 437–445. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.12.056>.
- (75) Coelho, A. D.; Sans, C.; Agüera, A.; Gómez, M. J.; Esplugas, S.; Dezotti, M. Effects of Ozone Pre-Treatment on Diclofenac: Intermediates, Biodegradability and Toxicity Assessment. *Sci. Total Environ.* **2009**, *407* (11), 3572–3578. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.01.013>.
- (76) Vogna, D.; Marotta, R.; Napolitano, A.; Andreozzi, R.; d’Ischia, M. Advanced Oxidation of the Pharmaceutical Drug Diclofenac with UV/H₂O₂ and Ozone. *Water Res.* **2004**, *38* (2), 414–422. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.09.028>.
- (77) Wang, W.-L.; Wu, Q.-Y.; Huang, N.; Xu, Z.-B.; Lee, M.-Y.; Hu, H.-Y. Potential Risks from UV/H₂O₂ Oxidation and UV Photocatalysis: A Review of Toxic, Assimilable, and Sensory-Unpleasant Transformation Products. *Water Res.* **2018**, *141*, 109–125. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.005>.
- (78) Mansour, D.; Fourcade, F.; Soutrel, I.; Hauchard, D.; Bellakhal, N.; Amrane, A. Mineralization of Synthetic and Industrial Pharmaceutical Effluent Containing Trimethoprim by Combining Electro-Fenton and Activated Sludge Treatment. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2015**, *53*, 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.02.022>.
- (79) Moreira, F. C.; Garcia-Segura, S.; Boaventura, R. A. R.; Brillas, E.; Vilar, V. J. P. Degradation of the Antibiotic Trimethoprim by Electrochemical Advanced Oxidation

- Processes Using a Carbon-PTFE Air-Diffusion Cathode and a Boron-Doped Diamond or Platinum Anode. *Appl. Catal. B Environ.* **2014**, 160–161, 492–505. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.05.052>.
- (80) Wang, S.; Wang, J. Trimethoprim Degradation by Fenton and Fe(II)-Activated Persulfate Processes. *Chemosphere* **2018**, 191, 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.040>.
- (81) Anquandah, G. A. K.; Sharma, V. K.; Knight, D. A.; Batchu, S. R.; Gardinali, P. R. Oxidation of Trimethoprim by Ferrate(VI): Kinetics, Products, and Antibacterial Activity. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, 45 (24), 10575–10581. <https://doi.org/10.1021/es202237g>.
- (82) Adil, S.; Maryam, B.; Kim, E.-J.; Dulova, N. Individual and Simultaneous Degradation of Sulfamethoxazole and Trimethoprim by Ozone, Ozone/Hydrogen Peroxide and Ozone/Persulfate Processes: A Comparative Study. *Environ. Res.* **2020**, 189, 109889. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109889>.
- (83) Arvaniti, O. S.; Frontistis, Z.; Nika, M. C.; Aalizadeh, R.; Thomaidis, N. S.; Mantzavinos, D. Sonochemical Degradation of Trimethoprim in Water Matrices: Effect of Operating Conditions, Identification of Transformation Products and Toxicity Assessment. *Ultrason. Sonochem.* **2020**, 67, 105139. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105139>.
- (84) Luo, X.; Zheng, Z.; Greaves, J.; Cooper, W. J.; Song, W. Trimethoprim: Kinetic and Mechanistic Considerations in Photochemical Environmental Fate and AOP Treatment. *Water Res.* **2012**, 46 (4), 1327–1336. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.12.052>.
- (85) Dai, Q.; Wang, J.; Yu, J.; Chen, J.; Chen, J. Catalytic Ozonation for the Degradation of Acetylsalicylic Acid in Aqueous Solution by Magnetic CeO₂ Nanometer Catalyst Particles. *Appl. Catal. B Environ.* **2014**, 144, 686–693. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2013.05.072>.
- (86) Zhe, W.; Wenjuan, Z.; Haihan, W.; Zhiwei, W.; Jing, C. Oxidation of Acetylsalicylic Acid in Water by UV/O₃ Process: Removal, Byproduct Analysis, and Investigation of Degradation Mechanism and Pathway. *J. Environ. Chem. Eng.* **2021**, 9 (5), 106259. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106259>.

- (87) Kojima, Y.; Fukuta, T.; Yamada, T.; Onyango, M. S.; Bernardo, E. C.; Matsuda, H.; Yagishita, K. Catalytic Wet Oxidation of O-Chlorophenol at Mild Temperatures under Alkaline Conditions. *Water Res.* **2005**, *39* (1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.09.007>.
- (88) Pulgarin, C.; Adler, N.; Péringer, P.; Comninellis, C. Electrochemical Detoxification of a 1,4-Benzoquinone Solution in Wastewater Treatment. *Water Res.* **1994**, *28* (4), 887–893. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(94\)90095-7](https://doi.org/10.1016/0043-1354(94)90095-7).
- (89) DeCaprio, A. P. The Toxicology of Hydroquinone — Relevance to Occupational and Environmental Exposure. *Crit. Rev. Toxicol.* **1999**, *29* (3), 283–330. <https://doi.org/10.1080/10408449991349221>.