

EVALUATION EN LABORATOIRE D'UN DISPOSITIF DE MESURE EN LIGNE DU POTENTIEL OXYDANT DES AEROSOLS

T. Audoux^{1,2}, M. Ghanem¹, J-B. Lily¹, E. Perdrix², L. Y. Alleman², D. Rousset¹

¹Département Métrologie des Polluants, Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS), 54500 Vandœuvre-lès-Nancy, France

² Centre de recherche Énergie Environnement, IMT Nord Europe, Institut Mines-Télécom, Université de Lille, 59000, Lille, France.

*Courriel de l'orateur : thomas.audoux@imt-nord-europe.fr

TITLE

Laboratory assessment of a new system for online measurement of aerosol oxidative potential

RESUME

L'exposition aux particules atmosphériques (PM) est associée à divers effets néfastes pour la santé humaine. Ces effets seraient notamment liés au stress oxydatif généré par les espèces réactives de l'oxygène (ERO), présentes dans l'air inhalé ou produites de manière endogène par interaction avec les PM. Le potentiel oxydant (PO) des PM, une métrique intégrant leurs caractéristiques physiques et chimiques, permet d'estimer leur réactivité. Cependant, la détermination du PO se fait généralement en différé, après collecte d'échantillons, ce qui réduit la représentativité des mesures. Pour pallier ces limites, notre étude présente le développement et la validation en laboratoire d'une méthode de mesure en ligne du PO.

ABSTRACT

Exposure to particulate matter (PM) is associated with a number of adverse human health effects. These effects are thought to be related to oxidative stress generated by reactive oxygen species (ROS) present in inhaled air or endogenously produced through interactions with PM. The oxidative potential (OP) of PM, a metric that incorporates its physical and chemical properties, is used to estimate its reactivity. However, OP determination is generally performed off-line, after sample collection, which reduces the representativeness of measurements. To overcome these limitations, our study presents the development and the laboratory validation of an online method for measuring the OP of PM.

MOTS-CLÉS: Aérosols; Potentiel oxydant; Mesure en ligne/ **KEYWORDS:** Aerosols; Oxidative potential; online measurement

1. INTRODUCTION

L'exposition aux aérosols atmosphériques (PM) est reliée à divers effets aigus ainsi qu'à plusieurs impacts négatifs sur la santé humaine, tels que des maladies cardiovasculaires et respiratoires (Gauderman *et al.*, 2000), l'asthme (Li *et al.*, 2023), un risque accru de dépression et d'anxiété (Yang *et al.*, 2023) et une mortalité prématurée (Lelieveld *et al.*, 2015). Néanmoins, les mécanismes précis responsables de la toxicité des PM restent à élucider (Bates *et al.*, 2019). La présence d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) dans l'air inhalé entraînerait un stress oxydatif, c'est-à-dire un déséquilibre en faveur des oxydants par rapport aux antioxydants (Delfino *et al.*, 2013). Ces ERO peuvent être transportées par les PM jusqu'à l'interface air-poumons, ou être produites de manière endogène par des réactions catalytiques entre les particules déposées et des composants chimiques physiologiques (Knaapen *et al.*, 2004; Lakey *et al.*, 2016). La capacité des PM à générer des ERO est désignée par le terme de potentiel oxydant intrinsèque (PO). Ce dernier permet d'intégrer les différentes propriétés des aérosols, telles que la taille, la surface, la solubilité et la composition chimique des PM en un unique indicateur de la toxicité (Kelly and Fussell, 2012). Ainsi, le PO offre une indication complémentaire à la masse de particules et constitue un indicateur prometteur pour évaluer les effets sanitaires des aérosols.

Une des méthodes couramment employées pour mesurer le PO comprend l'utilisation du 1,4-dithiothréitol (DTT) (Bates *et al.*, 2019). Cette méthode permet de mesurer la consommation du DTT réduit, due à son oxydation en disulfure, induite par la capacité des PM à catalyser le transfert d'électrons du DTT vers l'oxygène. Ainsi, le DTT sert de substitut à l'oxydant cellulaire NADPH, qui réduit l'oxygène en anion superoxyde (O₂⁻) (Cho *et al.*, 2005). Le DTT réduit restant peut-être quantifié par spectroscopie UV/Vis après sa réaction avec le 5,5-dithio-bis-(acide 2-nitrobenzoïque) (DTNB), permettant de suivre la cinétique de dégradation du DTT. Les essais sur le DTT ont montré une corrélation avec plusieurs marqueurs biologiques des PM sur la santé, tels que l'inflammation des voies respiratoires et nasales, le diabète et les cardiopathies ischémiques (e.g., Abrams *et al.*, 2017; Strak *et al.*, 2017). Cela renforce l'utilité de la méthode de mesure du PO par le dosage du DTT comme mesure sanitaire pertinente de l'exposition aux PM.

La méthode du DTT est principalement effectuée en différé, nécessitant l'utilisation d'échantillons d'aérosols collectés à l'avance sur des filtres. Cela entraîne une perte de représentativité de l'échantillon, notamment en raison du délai entre la collecte et l'analyse comparé à la courte durée de vie de certaines ERO (e.g., Fuller *et al.*, 2014; Ghanem *et al.*, 2024). Il apparaît donc nécessaire de mettre au point des techniques de mesure en ligne.

Cet article décrit le prototype de mesure en ligne du PO des aérosols, développé conjointement par l'INRS et l'IMT Nord Europe, ainsi que son évaluation/ sa validation effectuée en laboratoire.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Description générale

La figure 1 décrit les différentes parties du prototype pour la mesure en ligne de la consommation du DTT induite par les aérosols (PO_{DTT}). La première partie est composée d'un PILS (Particle Into Liquid Sampler, Model 4001, Brechtel) à l'aide duquel les aérosols (PM_{10} ou $PM_{2,5}$ selon la tête de prélèvement) sont prélevés en voie liquide ; la seconde partie permet la réaction entre l'échantillon et le DTT permettant l'oxydation du DTT dans des conditions physiologiques (pH 7,4 et 37°C), la troisième partie conduit à la réaction entre le DTT réduit restant et la DTNB afin de former de l'acide 2nitro-5-thiobenzoïque (TNB) absorbant à 412 nm. La quatrième partie permet l'analyse de l'absorbance à travers une cellule de mesure de 24 μ L (Liquid Waveguide Capillary Cells LWCC-M, WPI) avec un trajet optique de 10 cm qui est couplée à une lampe UV-Visible (DH-mini, Ocean Optics) et un spectrophotomètre (QE Pro, Ocean Optics). L'absorbance à 600 nm sert de référence et est également suivie afin de corriger le signal de la dérive temporelle du spectrophotomètre.

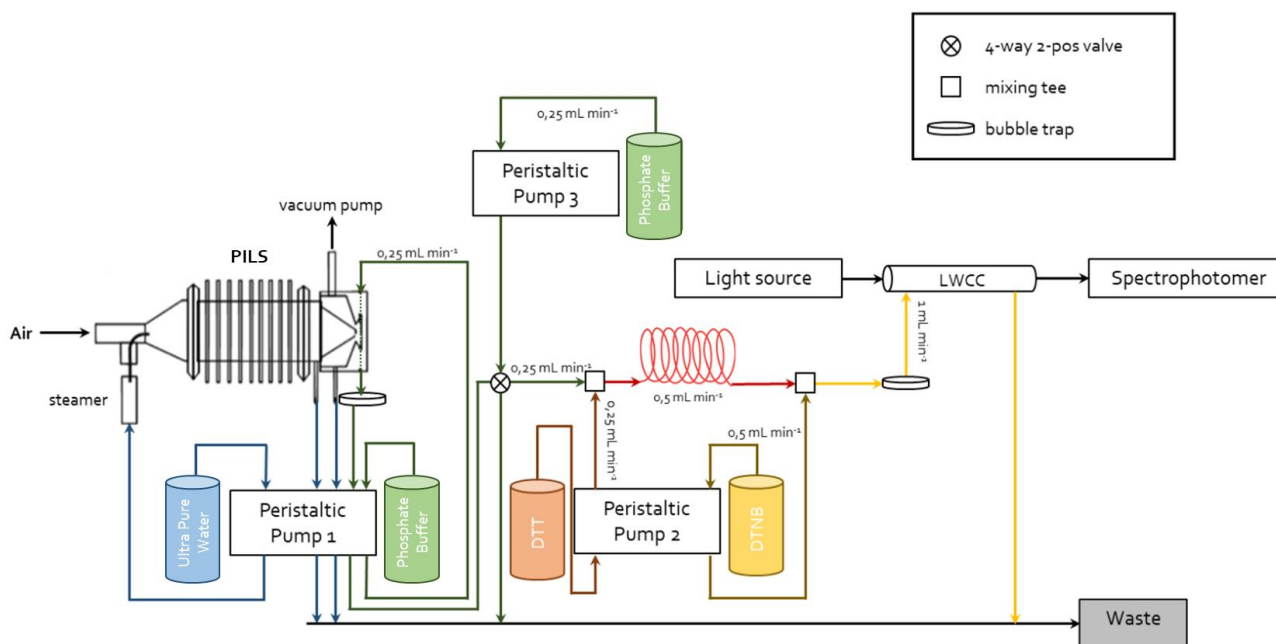


Figure 1. Schéma du prototype de mesure en ligne du PO_{DTT} .

Le PILS prélève un échantillon d'air à un débit de $1 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ à travers une chambre de condensation alimentée en continu par un flux turbulent de vapeur d'eau à 100°C . Dans ces conditions de sursaturation en vapeur d'eau, les aérosols prélevés forment des gouttelettes suffisamment grandes pour être collectées par impaction (Orsini *et al.*, 2003). La surface d'impaction est rincée en continu par du tampon phosphate (PB, 1 mol L^{-1} , pH 7,4 à $0,25 \text{ mL min}^{-1}$) permettant la collecte de la phase soluble des aérosols. Le DTT ($36 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$) est injecté dans le système à l'aide d'une pompe péristaltique à un débit de $0,25 \text{ mL min}^{-1}$. Le mélange entre l'échantillon dans le PB et le DTT est effectué à l'aide d'un mélangeur vers un volume de réaction en peek de 6,3 mL, permettant ainsi un temps de réaction de 12 min environ. Le flux sortant est ensuite mélangé avec la DTNB ($150 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; $0,5 \text{ mL min}^{-1}$) avant d'être envoyé en continu à travers la cellule de mesure pour le suivi du spectre d'absorbance, après avoir parcouru un volume de 0,7 mL pour laisser réagir la DTNB et le DTT restant. Ainsi, cela permet la détermination du PO en continu avec un décalage d'environ 14 min entre le prélèvement et l'analyse.

La détermination du PO_{DTT} en ligne repose sur la variation de l'absorbance à 412 nm dans le blanc (A_{Blanc}) et dans l'échantillon (A_{Ech}) selon l'équation 1, a étant le coefficient directeur de la droite d'étalonnage reliant l'absorbance à la concentration de DTT (nmol L^{-1}) et Q_r le débit volumique (L min^{-1}) dans le volume réactionnel.

$$PO_{DTT}(\text{nmol min}^{-1}) = \frac{(A_{\text{Blanc}} - A_{\text{Ech}})}{a} \times Q_r \quad (1)$$

2.2. Stratégie de validation

Le prototype de mesure en ligne du PO est validé en laboratoire à l'aide de différents composés modèles servant de contrôles positifs. Cela permet également d'évaluer les limites de détection analytiques (LD) du prototype ainsi que la sensibilité de réponse entre la consommation de DTT et les concentrations des différents composés modèles.

Les composés modèles considérés sont des composés organiques rédox actifs présents sur les PM (1,4-naphtoquinone et 9,10-phénanthrènequinone (PQ)), des métaux rédox actifs présents dans les PM et dans l'air des lieux de travail (sulfate de cuivre et chlorure de fer) ainsi que des particules caractéristiques de certains environnements de travail (fumées de soudage). A titre illustratif, ce travail présente les résultats obtenus pour le sulfate de cuivre (CuSO_4 99.8%, VWR International, Radnor, PA, USA) et la PQ (99%, Sigma Aldrich).

Les solutions de CuSO_4 , à des concentrations comprises entre 0,01 à $10 \mu\text{mol}_{\text{Cu}^{2+}}\text{L}^{-1}$, ont été diluées dans du PB juste avant injection dans le système à partir d'une solution mère de $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ préparée dans du PB dans les 48h précédant les essais, conservée à l'abri de la lumière à 4°C dans un flacon propre en PFA. Les solutions de PQ, à des concentrations comprises entre 0,06 et $1,9 \mu\text{mol}_{\text{PQ}}\text{L}^{-1}$, ont été diluées dans du PB à partir d'une solution mère de $2,4 \text{mmol L}^{-1}$ préparée la veille des essais dans du méthanol absolu (Biosolve, Biosolve Chimie, France) et conservée à l'abri de la lumière à 4°C .

3. RÉSULTATS ET PERSPECTIVES

La figure 2a représente l'absorbance à 412 nm en fonction de la concentration de DTT dans le système de mesure pour le ratio DTNB/DTT utilisé dans le dispositif de mesure en ligne. Ainsi, les limites de détection analytiques du système, calculée à partir de la régression linéaire, sont de $0,33 \mu\text{mol}_{\text{DTT}}\text{L}^{-1}$, soit $0,165 \text{nmol min}^{-1}$.

La sensibilité du système de détection est déterminée en injectant 5 solutions de Cu^{2+} (à 0,1 ; 0,5 ; 1,0 ; 5,0 et $10 \mu\text{mol}_{\text{Cu}^{2+}}\text{L}^{-1}$) et 5 solutions de PQ (à 0,06 ; 0,12 ; 0,48 ; 0,95 et $1,9 \mu\text{mol}_{\text{PQ}}\text{L}^{-1}$) dans le système en ligne, en contournant le PILS, en commençant par un blanc (PB) puis en augmentant progressivement la concentration. Un contrôle avec du PB est réalisé entre chaque injection pour corriger son augmentation progressive liée à la consommation du DTT par son auto-oxydation. Chaque essai a été répété 3 fois. Ceci permet de déterminer des fonctions de réponse entre la consommation de DTT (PO_{DTT} en nmol min^{-1}) et les concentrations des différents composés modèles et d'identifier la gamme de linéarité de ces dernières.

Un total de 6 blancs a été effectué sur 3 journées différentes. La consommation de DTT induite par le PB circulant dans le système en ligne est en moyenne de $0,30 \pm 0,20 \text{nmol min}^{-1}$, correspondant à une LD, calculée comme 3 fois l'écart-type, de $0,59 \text{nmol min}^{-1}$. Les figures 2b et 2c représentent le PO_{DTT} en fonction des concentrations de PQ et Cu^{2+} injectées respectivement. La figure 2b montre une relation linéaire entre PO_{DTT} et PQ ($R = 0,99$), avec une gamme de linéarité entre 0 – $1 \mu\text{mol L}^{-1}$. La réponse est également linéaire ($R = 0,99$) sur la gamme de concentration de Cu^{2+} testée (figure 2c). On observe une sensibilité plus importante pour PQ en comparaison avec Cu^{2+} , conforme avec la réactivité de ces composés avec le DTT (e.g., Charrier and Anastasio, 2012).

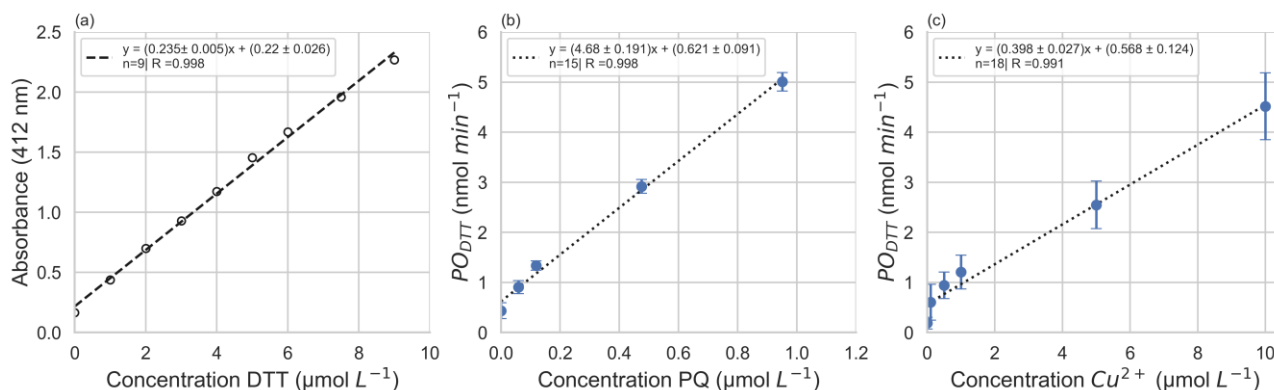


Figure 2. (a) Courbe d'étalonnage de l'absorbance à 412 nm en fonction de la concentration de DTT dans la cellule de mesure ($\mu\text{mol L}^{-1}$). Consommation de DTT (PO_{DTT} , nmol min^{-1}) en fonction des concentrations de (b) PQ et (c) Cu^{2+} ($\mu\text{mol L}^{-1}$) injectées. Les barres d'erreur correspondent à l'écart-type des 3 répétitions, n au nombre d'échantillons servant à la régression et R au coefficient de corrélation de la régression linéaire.

En prenant en compte les débits de prélèvement d'air du PILS et de rinçage de la cellule d'impaction, les tests effectués correspondent à des gammes de concentrations atmosphériques de Cu^{2+} entre 0,1 et $10 \mu\text{g m}^{-3}$ pour les débit et temps de réaction testés (i.e., $Q_r = 0,5 \text{ mL min}^{-1}$ et $t = 12,5 \text{ min}$). Cette gamme de concentration inclut des valeurs de concentrations de Cu^{2+} que l'on peut retrouver dans des environnements ferroviaires souterrains ($2,8 \mu\text{g m}^{-3}$, Queron *et al.*, 2022) ou bien dans des fumées de soudage (médiane = $8,55 \mu\text{g m}^{-3}$, base de données INRS, 2024). Cette dernière est néanmoins supérieure aux concentrations de cuivre que l'on retrouve dans les atmosphères urbaines européennes ($2 - 39 \text{ ng m}^{-3}$, Liu *et al.*, 2024).

La répétabilité des mesures et les LD obtenues pour le prototype de mesure du PO_{DTT} en ligne confirment son intérêt pour l'étude du potentiel oxydant des aérosols dans des atmosphères polluées, telles que celles rencontrées dans les environnements de travail. Des améliorations techniques sont en cours de développement, notamment par des ajustements de débit et de temps de réaction, dans le but d'accroître la sensibilité et de réduire les limites de détection, afin de l'adapter aux environnements peu pollués. Des tests sur l'efficacité de prélèvement et sur la définition des limites d'utilisation sont prévus pour fin 2024.

4. REMERCIEMENTS

Ce travail est réalisé dans le cadre du projet METRONOME financé par le PNREST Anses, ANSES-23-EST-163. Les auteurs remercient la Région Hauts-de-France, le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche et le Fond Européen du Développement Economique et Régional pour leur support financier pour le projet CPER ECRIN.

5. REFERENCES

- Abrams, J.Y. *et al.* (2017) *Environmental Health Perspectives*, 125(10), p. 107008. <https://doi.org/10.1289/EHP1545>.
- Bates, J.T. *et al.* (2019) *Environmental Science & Technology*, 53(8), pp. 4003–4019. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b03430>.
- Charrier, J.G. and Anastasio, C. (2012) *Atmospheric Chemistry and Physics*, 12(19), pp. 9321–9333. <https://doi.org/10.5194/acp-12-9321-2012>.
- Cho, A.K. *et al.* (2005) *Environmental Research*, 99(1), pp. 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2005.01.003>.
- Delfino, R.J. *et al.* (2013) *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 23(5), pp. 466–473. <https://doi.org/10.1038/jes.2013.25>.
- Fuller, S.J. *et al.* (2014) *Atmospheric Environment*, 92, pp. 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.04.006>.
- Gauderman, J.W. *et al.* (2000) *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 162(4), pp. 1383–1390. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.4.9909096>.
- Ghanem, M. *et al.* (2024) *Environmental Science: Processes & Impacts*, 26(5), pp. 843–857. <https://doi.org/10.1039/D3EM00546A>.
- INRS (2024). *Outil d'évaluation des niveaux d'exposition professionnelle* (Base de données). Available at: <https://www.inrs.fr/media.html?refINRS=outil110> (Accessed: 21 November 2024).
- Kelly, F.J. and Fussell, J.C. (2012) *Atmospheric Environment*, 60, pp. 504–526. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2012.06.039>.
- Knaapen, A.M. *et al.* (2004) *International Journal of Cancer*, 109(6), pp. 799–809. <https://doi.org/10.1002/ijc.11708>.
- Lakey, P.S.J. *et al.* (2016) *Scientific Reports*, 6(1), p. 32916. <https://doi.org/10.1038/srep32916>.
- Lelieveld, J. *et al.* (2015) *Nature*, 525(7569), pp. 367–371. <https://doi.org/10.1038/nature15371>.
- Li, S. *et al.* (2023) *Science of The Total Environment*, 859, p. 160204. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160204>.
- Liu, X. *et al.* (2024) *Environmental Research*, 260, p. 119630. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119630>.
- Orsini, D. *et al.* (2003) *Atmospheric Environment*, 37(9), pp. 1243–1259. [https://doi.org/10.1016/S1352-2310\(02\)01015-4](https://doi.org/10.1016/S1352-2310(02)01015-4).
- Queron, J. *et al.* (2022). ADEME, p. 124. Available at: <https://bibliothèque.ademe.fr/5469-caracterisations-toxicologiques-in-vitro-chimiques-et-physiques-de-particules-prelevees-dans-l-air-d-habitacles-de-transport-en-roulage.html> (Accessed: 28 October 2024).
- Strak, M. *et al.* (2017) *Environment International*, 108, pp. 228–236. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.08.017>.
- Yang, T. *et al.* (2023) *JAMA Psychiatry*, 80(4), pp. 305–313. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2022.4812>.