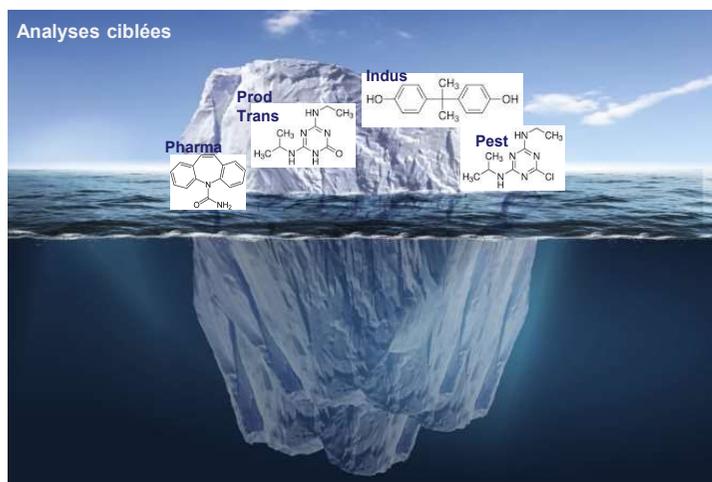


# ANALYSE NON CIBLÉE : PRINCIPE, APPORT POUR LE SUIVI DES RESSOURCES EN EAU ET MISE EN ŒUVRE DANS LE CADRE DU FUTUR PROJET ERMES 2022

C. Soulier  
26/04/2022

# Surveillance réglementaire eau

## Surveillance régulière des milieux



## Analyses ciblées

- Effectuée sur des listes établies de polluants
- Atteinte des niveaux exigés : traces
- Méthodologies analytiques optimisées sur la recherche de ces substances



**Limite de cette approche :**  
**on ne trouve que ce que l'on cherche**

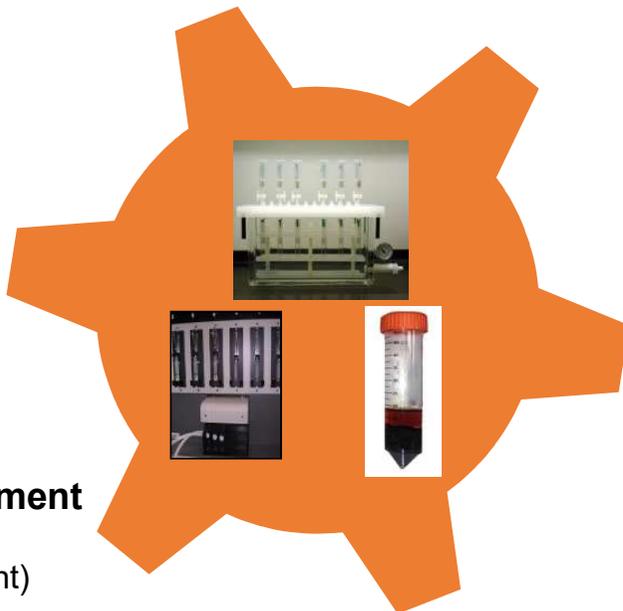
# Surveillance conventionnelle orientée sur une liste de molécules pré-sélectionnées

Choix des molécules à analyser



## Echantillonnage/prélèvement

- Préparation du matériel (nettoyage/conditionnement)  
Conservation



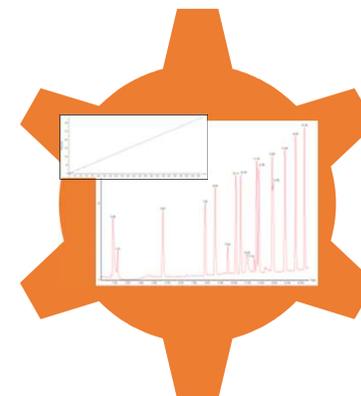
## Pré-concentration

- Optimisation de l'extraction, contrôles qualités



## Analyse (LC-MS/MS)

- Optimisation de la méthode chromatographique et de détection (**transitions de détection et de confirmation de chaque molécule ciblée**)
- Contrôles qualités



## Traitement des données brutes

- Identification et quantification des molécules ciblées

LC-MS/MS: Chromatographie Liquide couplée à la Spectrométrie de Masse en tandem

BRGM — SERVICE GÉOLOGIQUE NATIONAL — WWW.BRGM.FR

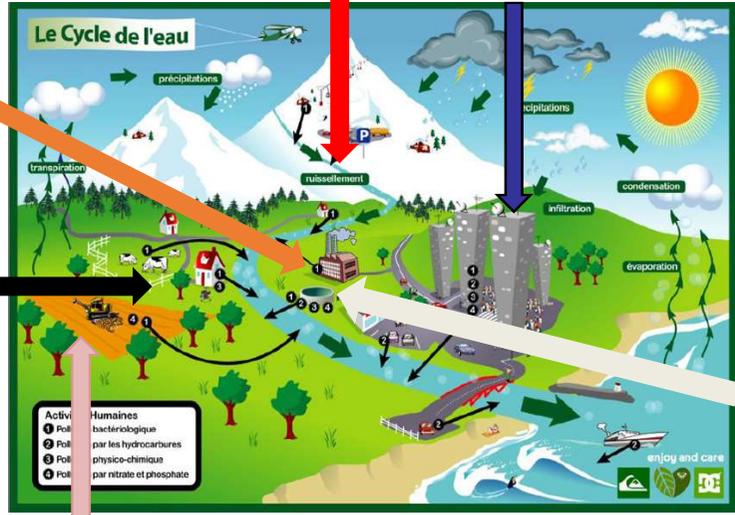
# Pollution des milieux aquatiques

**Eaux de ruissellement**  
HAP (*ex : voitures*)  
Phytosanitaires (*agricultures*)

**Activités hospitalières**  
Produits pharmaceutiques  
Phtalates

**Activités industrielles**  
HAP (*ex : raffineries*)  
Pesticides (*ex : entretien des espaces verts*)  
Alkyles perfluorés et phénols (*ex : industries du textile*)  
etc...

**Activités urbaines et/ou domestiques**  
HAP (*ex : cheminées domestiques*)  
Pesticides (*ex : jardins, lotions anti moustique*)  
Plastifiants (*ex : gobelets*)  
Alkyles perfluorés (*ex : poêles*)  
Retardateurs de flamme (*ex : ordinateurs, literie*)  
Filtres UV (*ex : crèmes*)  
etc...

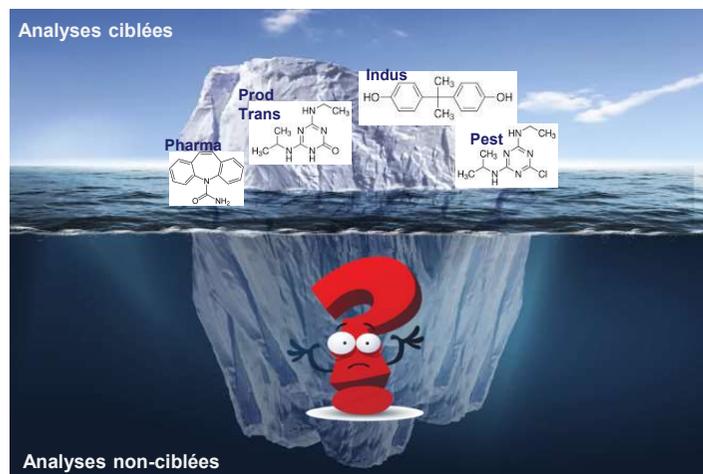


**Activités agricoles**  
Phytosanitaires  
Métabolites de phytosanitaires  
Adjuvants

**Rejets des stations d'épuration**  
Alkyles perfluorés  
Produits pharmaceutiques, hormones  
Produits de soin  
Métabolites et composés polaires  
etc...

# Analyse non ciblée

Analyse qui vise à refléter la présence de tous les polluants dans un échantillon



## Recherche d'information inconnue

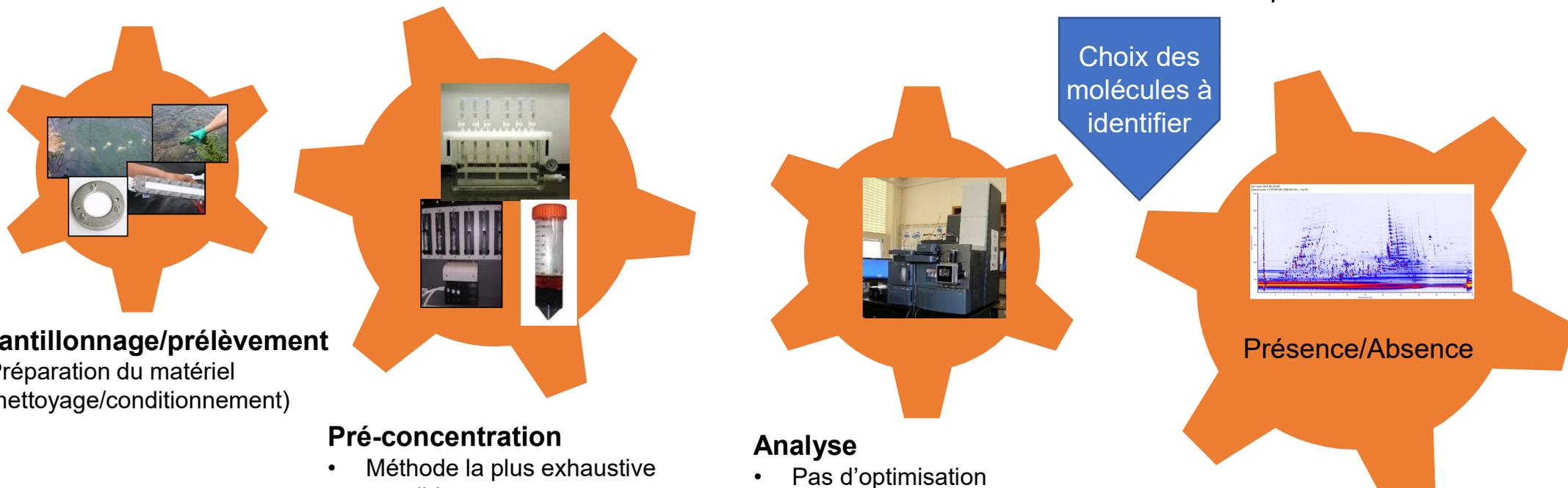
- Pas de listes établies de polluants
- Toutes les molécules sont analysées
- Pas d'exigence de niveau à atteindre : mais le plus bas possible
- Méthodologies analytiques non optimisées sur la recherche de substances particulières



**Enjeux = Eviter les discriminations (perte ou pollution) lors des différentes étapes du processus analytique**

Prélèvement, Préparation d'échantillon, Partie séparative, Détection

# Analyse non ciblée



## Echantillonnage/prélèvement

- Préparation du matériel (nettoyage/conditionnement)

## Pré-concentration

- Méthode la plus exhaustive possible
- ⚠ des substances aux propriétés spécifiques sont exclues
- Contrôles qualités

## Analyse

- Pas d'optimisation
- Méthode chromatographique la plus exhaustive possible
- Détection spectrométrique en « **Full scan** »
- ⚠ des substances aux propriétés spécifiques sont exclues
- Contrôles qualités

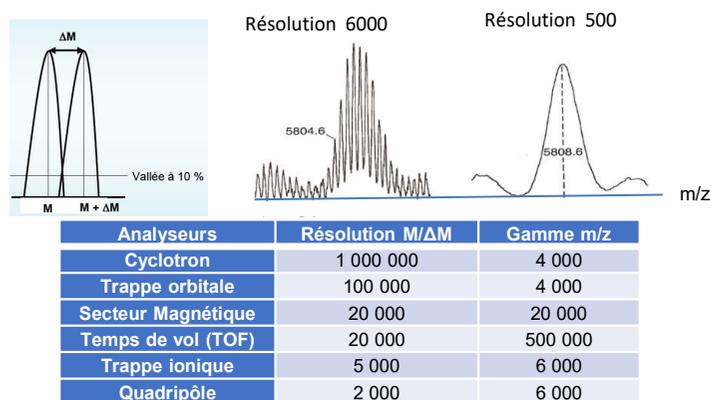
## Traitement des données brutes

- Identification des molécules par traitement suspect
- Non-ciblé sans identification orienté à l'aide de statistiques

# Analyse non ciblée

## Spectrométrie de masse haute résolution (HRMS)

- Acquisition du spectre complet → traitement rétrospectif
- Haute résolution, aptitude à séparer deux ratio masse/charge ( $\Delta M$ ) très proches



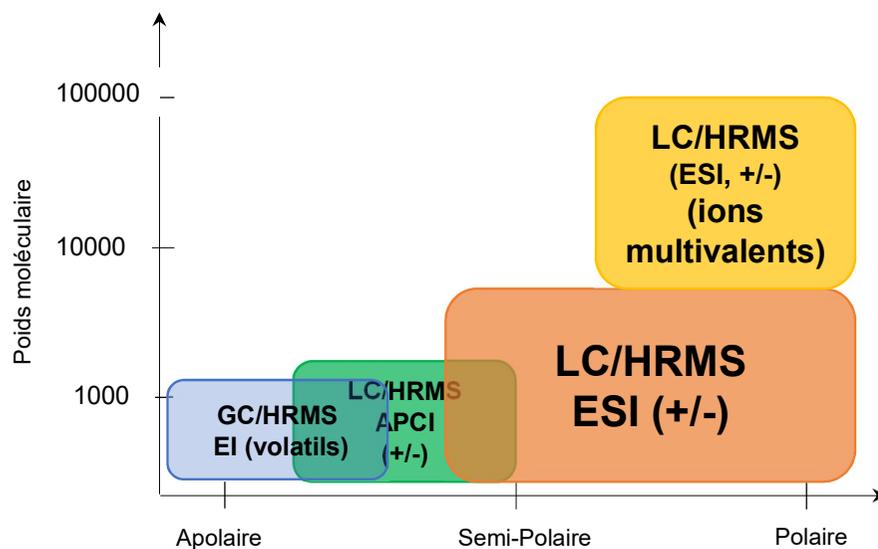
- Mesure de la masse exacte (3 mDa) → Composition élémentaire et structure moléculaire

# Quelques précisions

## Pas de méthodologie clé en main

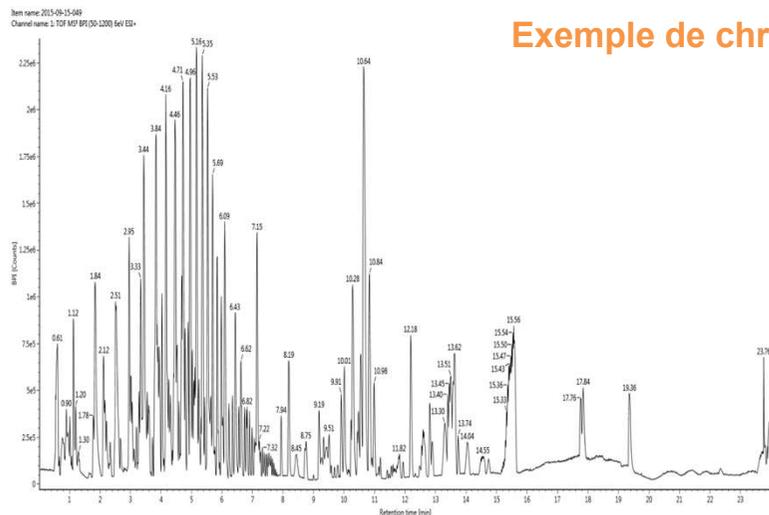
**BUT** = être le plus exhaustif possible

- **UNE** seule méthodologie pour tous est impossible
- Plusieurs méthodologies NTS sont nécessaires pour être le plus exhaustif possible

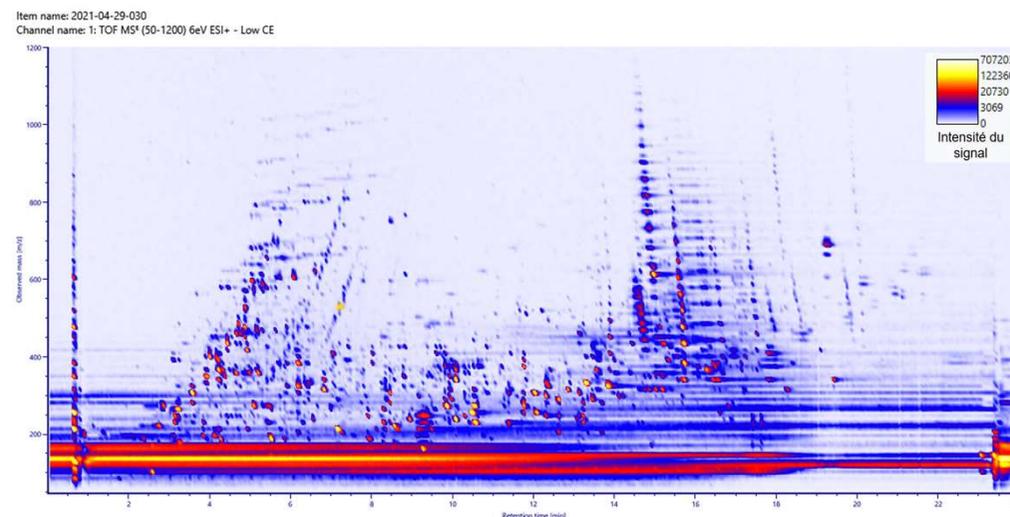


# Qu'elle est l'information acquise?

## Exemple de chromatogramme d'un échantillon environnemental



**Des milliers de pics....!!!**  
intégralité des masses (exactes) et des fragments spécifiques de chaque molécule



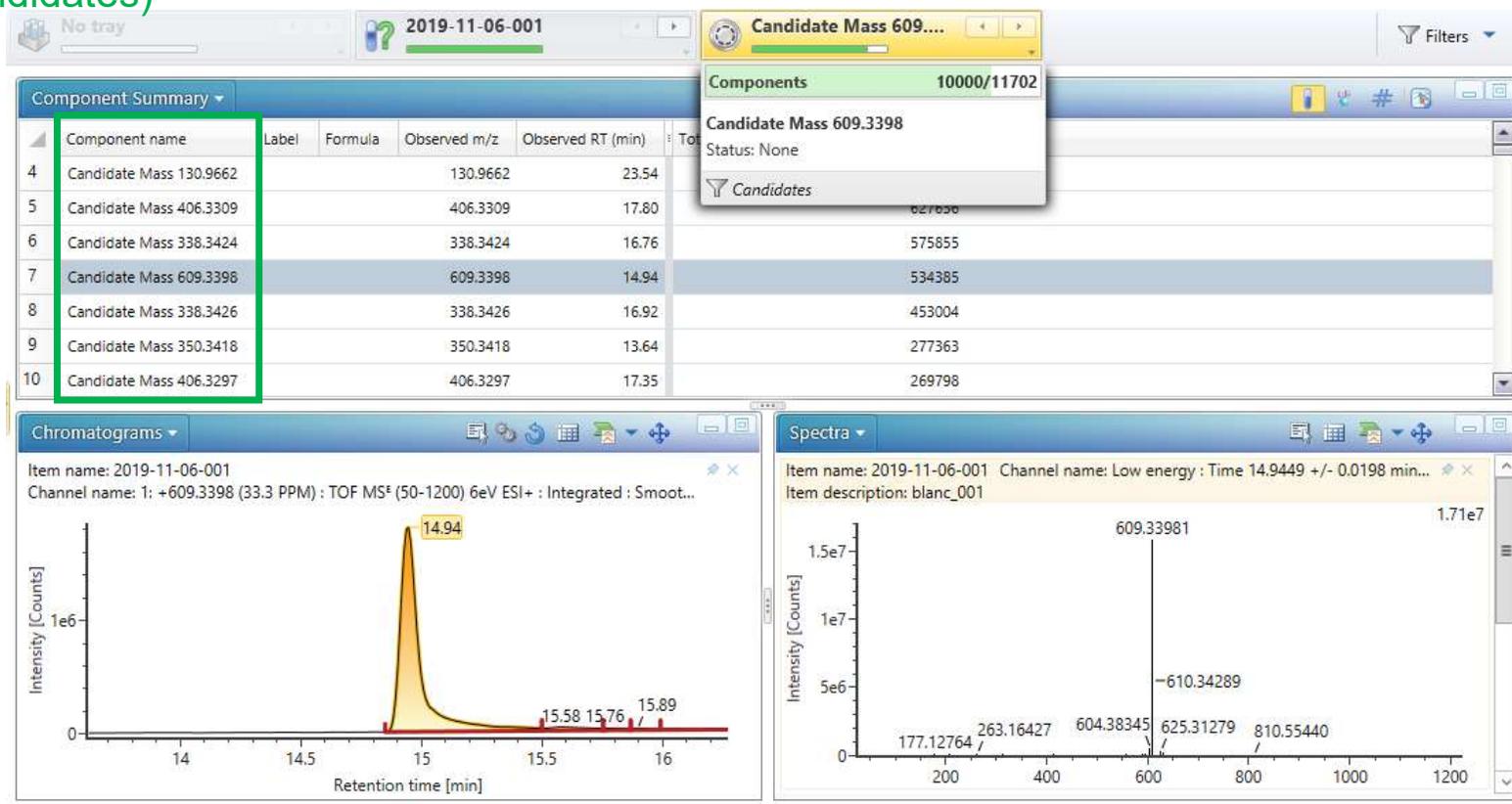
**Comment s'y prendre pour l'interprétation des données?**

Pour chaque échantillon : liste de XX marqueurs  
1 marqueur = 1 couple temps de rétention/masse exacte

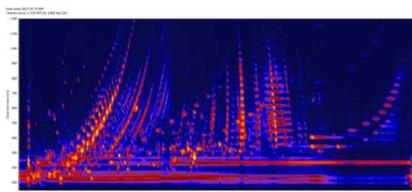
# Comment sont visualisés les résultats?

Liste de marqueurs  
(masses candidates)

Logiciel UNIFI® (Waters)  
Résultat pour 1 échantillon et 1 mode d'ionisation



# Que faire de ces informations?



SCREENING

Suspect



Est-ce que le composé X est dans mon échantillon?

Non ciblé



Qu'y a-t-il dans mon échantillon?

Tous les composés présents dans l'échantillon

## 4 Paramètres d'identification

- Temps de rétention
- Masse exacte
- Profil isotopique
- Données de fragmentation

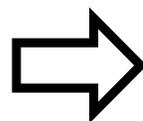
Comparaison les paramètres d'identification d'un marqueur dans un échantillon et ceux présents dans une base de données.

Plusieurs bases de données peuvent être utilisées:

- Etalons injectés
- Fournisseurs
- Bibliographie
- En ligne

+

-



Disposer d'étalons analytiques = Indice de confiance le plus élevé sur l'identification

Nombre de paramètres d'identification =  
Indice de confiance sur l'identification

## Substances identifiées (présentes)

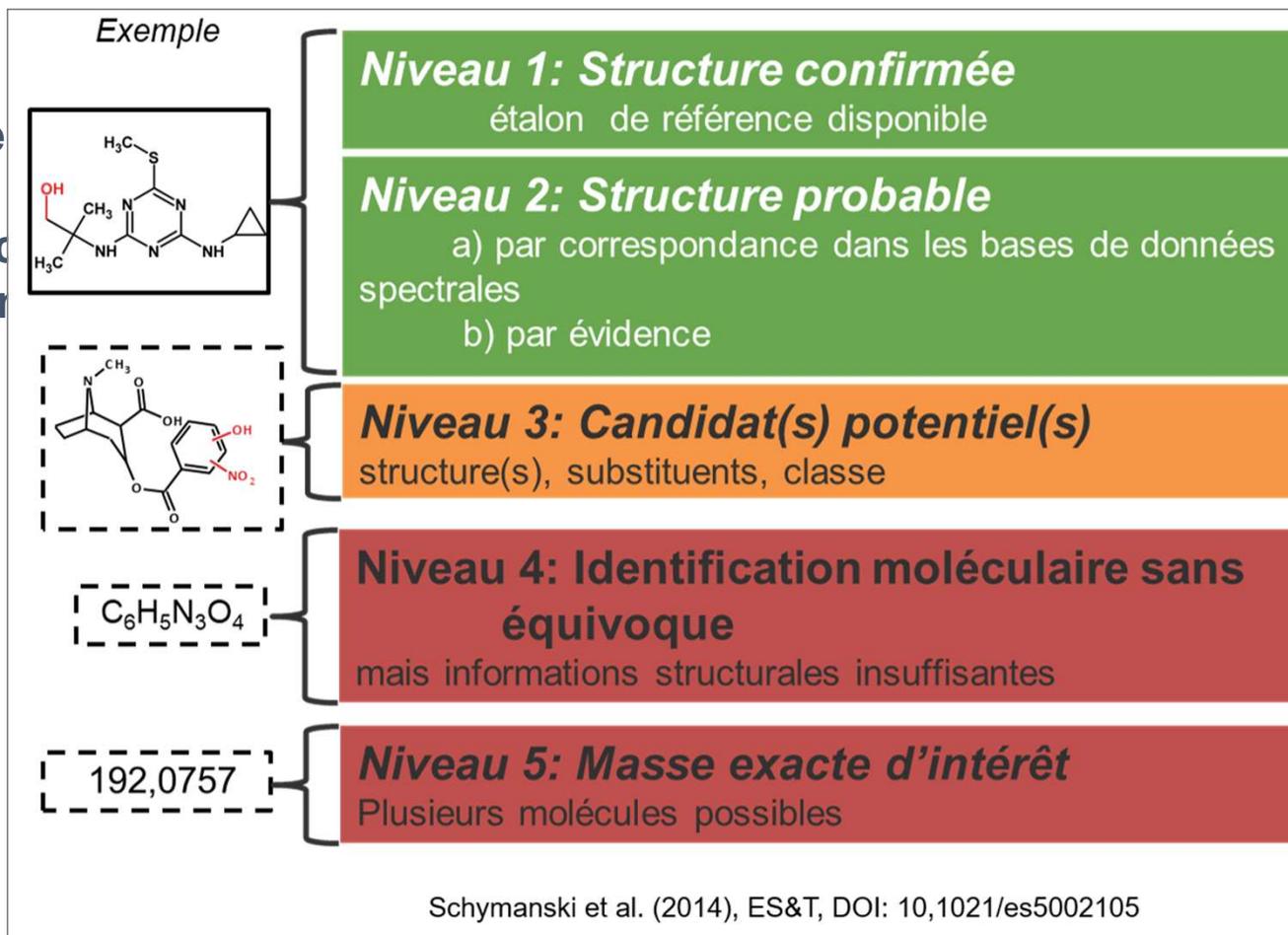
➤ Quelle base de données: interne, externe?

=> Niveau de confiance sur l'identification en fonction du nombre de paramètres d'identification

# Substances identifiées (présentes)

➤ Quelle base

=> Niveau de confirmation  
d'identification



mètres



# Substances identifiées (présentes)

## ➤ Quelle base de données: interne, externe?

=> Niveau de confiance sur l'identification en fonction du nombre de paramètres d'identification

## ➤ Niveau de concentration ?

- Avec étalons => les limites des méthodes d'extraction et d'analyse peuvent être connues
- Sans étalons => impossible

## ➤ Rendu de résultats

- Importance de s'assurer de la bonne dénomination de la substance (code SANDRE, code CAS, code SMILES<sup>1</sup>, InChI<sup>2</sup>)

<sup>1</sup>Le Simplified Molecular Input Line Entry Specification ou SMILES est un langage symbolique de description de la structure des molécules chimiques sous forme de courtes chaînes de caractères ASCII. Ex: Atrazine CCNC1=NC(=NC(=N1)Cl)NC(C)C

<sup>2</sup>L'International Chemical Identifier ou InChI (en français : Identifiant chimique international) est un identifiant textuel pour les substances chimiques.

Ex: Atrazine InChI=1S/C8H14ClN5/c1-4-10-7-12-6(9)13-8(14-7)11-5(2)3/h5H,4H2,1-3H3,(H2,10,11,12,13,14)

# Substances identifiées (présentes)

- **Métadonnées associées**
  - Contrôles qualités
  - Blancs (prélèvement, protocole, injection)
  
- **Prise en compte des métadonnées dans le traitement des données**

# Substances non- identifiées (absentes)



## Notion d'absence d'une substance dans un échantillon

### ➤ Non détection est différent d'absence dans l'échantillon

Le seul moyen d'affirmer une absence c'est de vérifier la performance de la méthodologie analytique avec des étalons analytiques:

- Rendement d'extraction
- Détection
- Concentration à partir de laquelle la substance est considérée comme identifiée

### ➤ Bases de données utilisées

- Avec étalons => les limites des méthodes d'extraction et d'analyse peuvent être connues
- Sans étalons => impossible

### ➤ Rendu de résultats

- Le seul moyen d'affirmer une absence c'est de vérifier la performance de la méthodologie analytique avec des étalons

# Substances non- identifiées (absentes)

## ⚠ Notion d'absence d'une substance dans un échantillon

### ➤ Non détection est différent d'absence dans l'échantillon

Le seul moyen c  
analytique avec de

- Rendemer
- Détection
- Concentra

### ➤ Bases de donn

- Avec étalo
- Sans étalons => impossible



de la méthodologie

même identifiée

peuvent être connues

### ➤ Rendu de résultats

- Le seul moyen d'affirmer une absence c'est de vérifier la performance de la méthodologie analytique avec des étalons

# Quels peuvent être les apports de cette technique pour le suivi des ressources en eau?

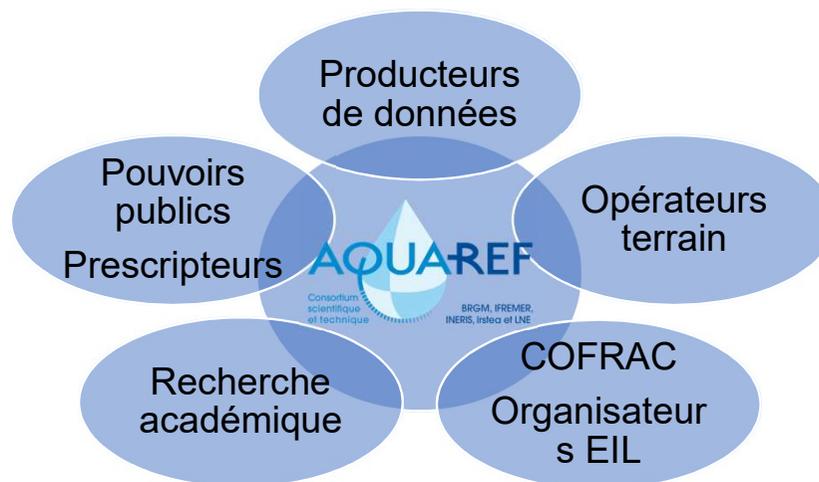
## ➤ Dans le cadre réglementaire

⇒ AQUAREF, laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques

**Élaborer des règles relatives aux processus de mesure, de prélèvement et d'analyse afin de fiabiliser la qualité des données de surveillance**

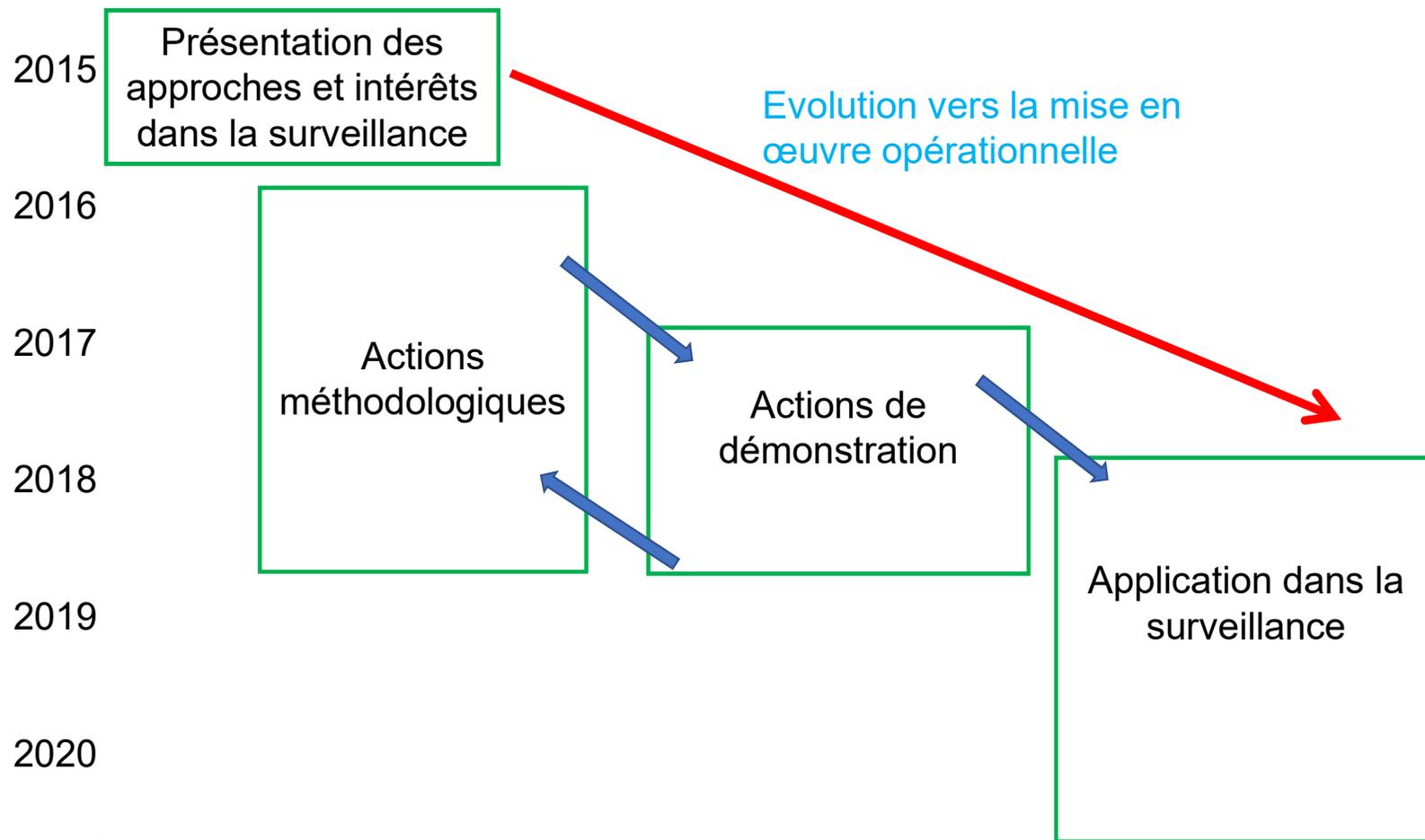
- Constituer une force de proposition pour l'anticipation de la surveillance
- Représenter la France dans les groupes d'experts techniques européens

## Un rôle d'interface entre les acteurs de la surveillance



# Au niveau national, AQUAREF

Nouveaux outils dans la surveillance



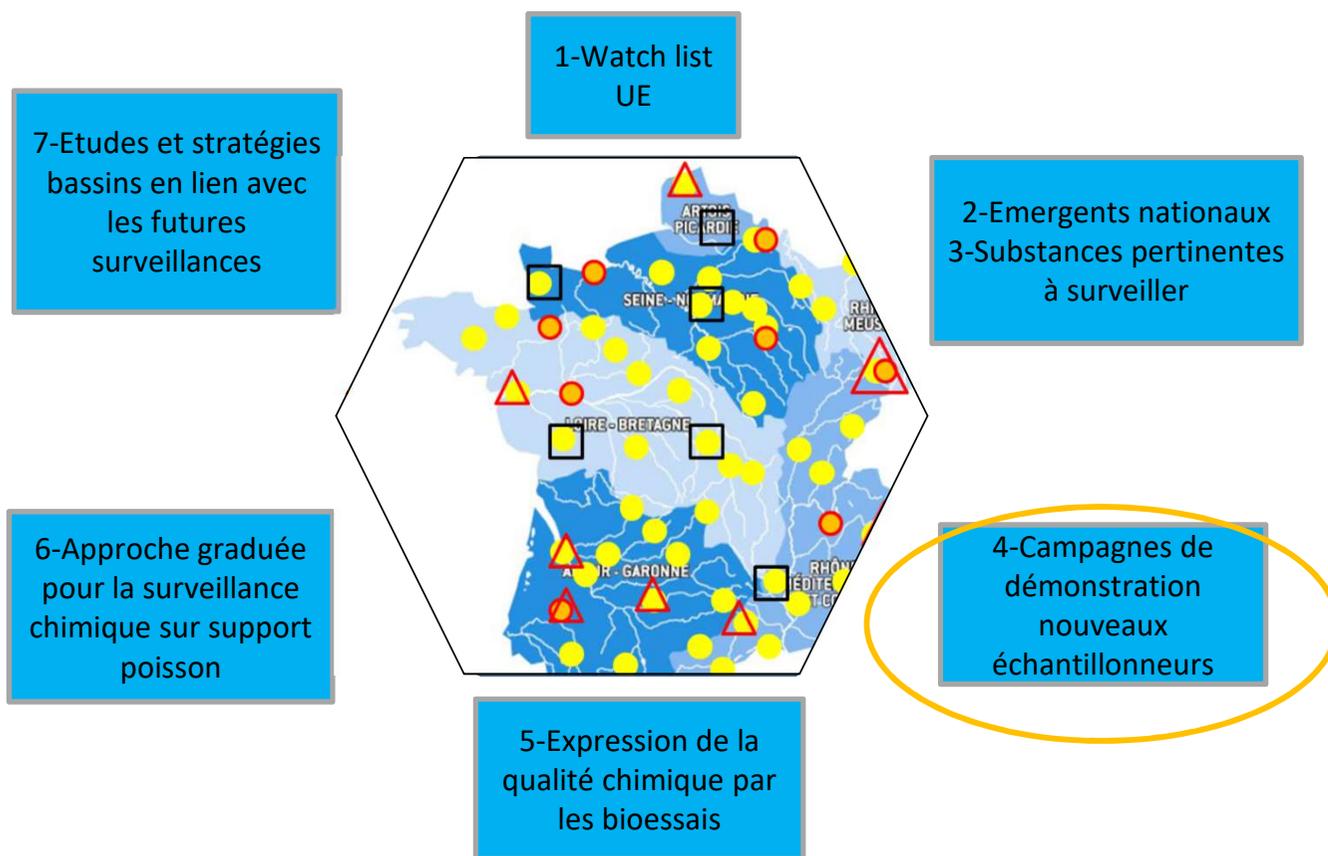
# AQUAREF, note de positionnement 2015

- L'intérêt de ces techniques dans la surveillance
  - Acquisition de données qualitatives (présence/absence)  
=> mise à jour des listes de substances d'intérêts
  - Lien entre présence d'une substance et toxicité (Etat écologique/pression chimique)
  - Recherche de sources de pollution, alerte de pollution
  - Bancarisation (banque virtuelle d'échantillon)
- Les verrous identifiés
- Ce qui est fait en Europe



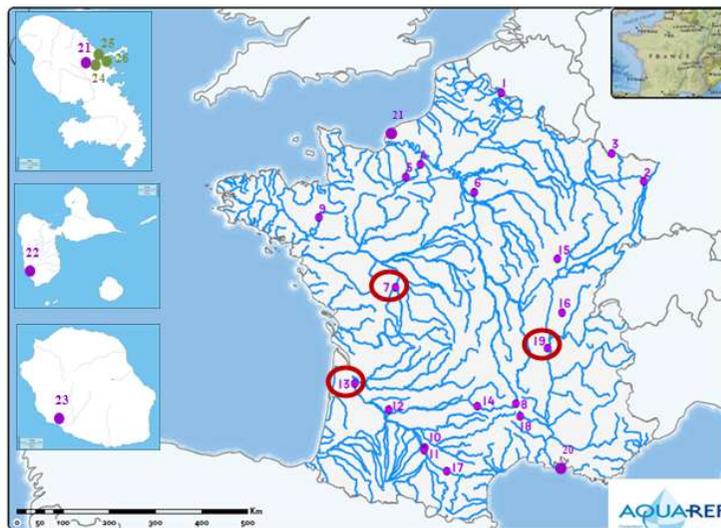
# Au niveau national, réseau de surveillance prospective (RSP)

Dispositif d'appui à l'évolution de la surveillance chimique des milieux aquatiques



# Au niveau national, réseau de surveillance prospective (RSP)

## Etude de démonstration: Echantillonneurs Intégratifs Passifs (EIP)



### ➔ Analyse non-ciblée

Types d'échantillonneur	Durée d'exposition	Sites de prélèvements
Ponctuel	à t0 et t+15 jours	20 sites
Échantillonneur intégratif passif (POCIS)	2 semaines	20 sites



POCIS entier

# Au niveau national, réseau de surveillance prospective (RSP)

## Etude de démonstration: Echantillonneurs Intégratifs Passifs (EIP)

### → Analyse non-ciblée

- **Screening échantillons et comparaison moyens de prélèvements**

Analyse suspect avec bases de données interne, constructeur

- **Recherche de liste de suspect provenant d'exercice de priorisation, de liste de polluants émergents identifiés au niveau européens, ou provenant de tests écotoxicologiques**

**Objectifs** : améliorer les préconisations, évaluer la faisabilité, démontrer la mise en œuvre des traitements des données

BRGM- RP-70108  
Site internet ofb



APPLICABILITE DE LA TECHNIQUE DE « SCREENING NON CIBLE » POUR LA SURVEILLANCE PROSPECTIVE

A. Togola, C. Guillemain, F. Lestremau, C. Coureau, C. Margoum et C. Soulier

Avec la collaboration de S. Lardy-Fontan

Décembre 2020

Document final

# Au niveau national

Etude de démonstration:

## → Analyse



# Etude prospective (RSP)

BRGM- RP-70108  
Site internet ofb



APPLICABILITE DE LA TECHNIQUE DE « SCREENING NON CIBLE » POUR LA SURVEILLANCE PROSPECTIVE

A. Togola, C. Guillemain, F. Lestremau, C. Coureau, C. Margoum et C. Soulier

Avec la collaboration de S. Lardy-Fontan

Décembre 2020

Document final

**Objectifs :** améliorer les précisions, démontrer la mise en œuvre



## Vers une harmonisation des pratiques

### ➤ Niveau national

- Aquaref, laboratoire national de référence pour la surveillance des milieux aquatiques (<https://www.aquaref.fr/>)

### ➤ Niveau européen

- Commission Internationale pour la Protection du Rhin - groupe d'experts « Méthodes d'analyse » (CIPR/ GE SANA) (<https://www.iksr.org/fr/cipr/qui-sommes-nous/organisation/groupe-de-travail-qualite-des-eaux/emissions/ge-sana>)
- NORMAN- Working group Non-target screening (<http://www.normandata.eu/?q=node/252>)

# Application dans le projet ERMES

ERMES-Rhin 2023-2025

Qualité des eaux souterraines dans le Fossé du Rhin supérieur de Bâle à Mayence-Wiesbaden et étude de l'influence des micropolluants issus des cours d'eau

## ERMES 2016-2018

- Mise en évidence de la présence d'une grande diversité de micropolluants domestiques et industriels dans la nappe rhénane => liste de molécules ciblées
- Mais problématique des métabolites de pesticides et d'autres groupes de micropolluants qui pourrait être introduit via les échanges esu-eso
- Limite du ciblé = on ne trouve que ce qu'on cherche

**→ Compréhension du transfert de micropolluants des eaux de surface vers les eaux souterraines**

# Application dans le projet ERMES

ERMES-Rhin 2023-2025

Qualité des eaux souterraines dans le Fossé du Rhin supérieur de Bâle à Mayence-Wiesbaden et étude de l'influence des micropolluants issus des cours d'eau

## → Compréhension du transfert de micropolluants des eaux de surface vers les eaux souterraines

### ➤ Utilisation de l'analyse non-ciblée sur des sites pilotes

#### ▪ Echantillonnage

Echantillonnage ponctuel



+

Echantillonnage passif – POCIS\*

Uniquement pour le site français (rivière de l'III)

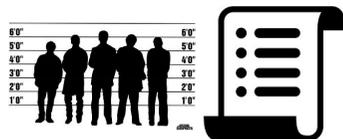


\*Polar Organic Compound Integrative Sampler

### ➤ Analyses quantitatives et qualitatives (non-ciblées)

### ➤ Traitement des données non-ciblées

Suspect => **identification de nouvelles substances d'intérêt**



+

Comparaison d'empreintes NTS => :  
**Identification de marqueurs des STEU**  
**Informations relations nappes/rivières**



# Application dans le projet ERMES

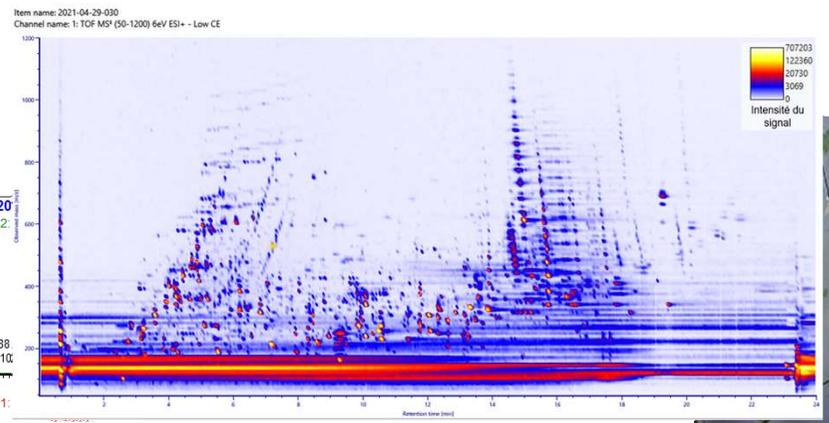
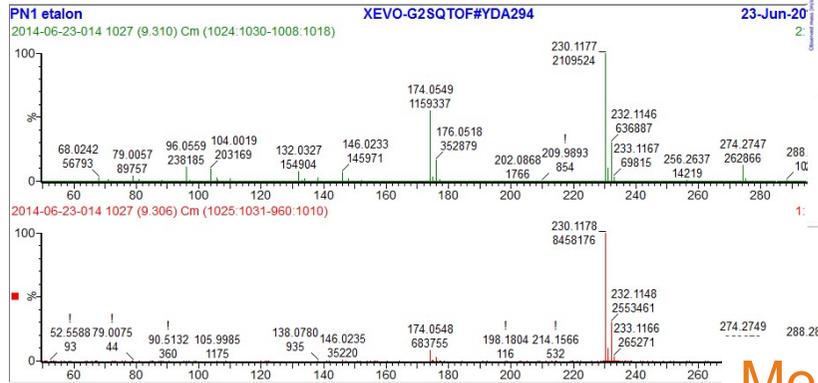
ERMES-Rhin 2023-2025

Qualité des eaux souterraines dans le Fossé du Rhin supérieur de Bâle à Mayence-Wiesbaden et étude de l'influence des micropolluants issus des cours d'eau

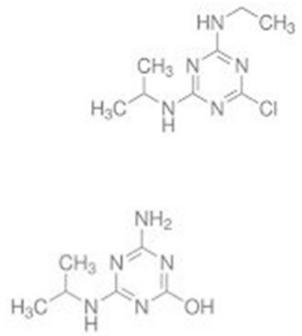
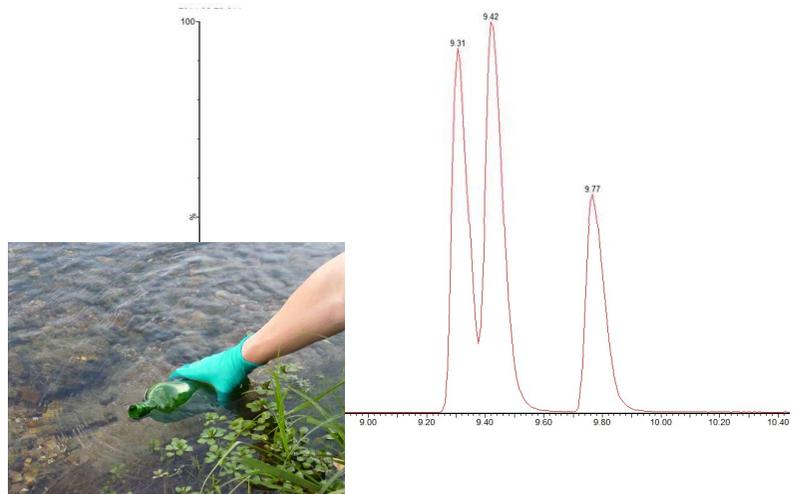
## ➔ Compréhension du transfert de micropolluants des eaux de surface vers les eaux souterraines

### ➤ Harmonisation méthodologique au niveau transfrontalier

- Technique analytique => chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse haute résolution
- Méthode analytique => chaque laboratoire applique sa propre méthode d'analyse
- Utilisation de contrôles qualités pour assurer la fiabilité des résultats (traceurs, répliqués, blancs)
- Traitement suspect => mise en commun des bases de données de l'AUE Basel-stadt et du BRGM, possibilité d'ajouter des substances complémentaires issues de bases de données en ligne (ex : type NORMAN)
- Analyse et traitement de quelques échantillons en doublons
- Capitalisation des données brutes au niveau transfrontalier dans un format commun =>DSFP (Digital Sample Freezing Platform, réseau NORMAN)



Merci pour votre attention



Peak Search Results (Peaks by m/z value)

Search Parameters :  
 m/z: 146.0233 Rel.Int: 100 Tol.(unit): 0.3  
 and  
 m/z: 132.0327 Rel.Int: 100 Tol.(unit): 0.3  
 and  
 m/z: 104.0005 Rel.Int: 100 Tol.(unit): 0.3  
 and  
 m/z: 96.0559 Rel.Int: 100 Tol.(unit): 0.3  
 and  
 m/z: 68.0243 Rel.Int: 100 Tol.(unit): 0.3

Instrument Type: CE-ESI-TOF, HPLC-ESI-TOF, LC-ESI-ITTOF, LC-ESI-QIT, LC-ESI-TOF, ESI-FTICR, LC-ESI-IT, LC-ESI-Q, LC-ESI-QQ, UPLC-ESI-QTOF, ESI-ITFT, LC-ESI-ITFT, LC-ESI-QFT, LC-ESI-QTOF

MS Type: MS2  
 Ion Mode: Positive

Results : 27 Hit ( 1 - 27 Displayed )

Name	Formula / Structure	ExactMass	ID
<input type="checkbox"/> Atrazine-desisopropyl	C5H6ClN5	173.04680	
<input type="checkbox"/> Deisopropylatrazine	C6H8ClN5	173.04682	
<input type="checkbox"/> Atrazine	C8H14ClN5	215.09320	