

Focus

Intérêt pour la directive cadre européenne sur l'eau de l'analyse chimique non-ciblée de micropolluants organiques dans les milieux aquatiques

Dans cette note, les auteurs font le point sur une méthode d'exploration non-ciblée permettant de détecter de nouveaux micropolluants organiques et les éventuels produits de transformation des substances rejetées dans les milieux aquatiques. L'analyse exhaustive et sans a priori d'échantillons collectés dans les milieux aquatiques (eaux, sédiment et biote) par cette approche en fait un outil complémentaire à l'analyse ciblée et précieux pour la surveillance dans le cadre de la directive cadre européenne sur l'eau.

Vers une surveillance chimique des eaux par analyse non-ciblée

Adoptée en 2000, la directive cadre sur l'eau (DCE) introduisait l'objectif de bon état écologique et de bon état chimique pour les masses d'eau de surface. En pratique, cela consiste à œuvrer pour obtenir une diminution de la pollution des eaux à travers le suivi de substances ou micropolluants (quarante-cinq aujourd'hui selon la directive 2013/39/EU) considérés comme prioritaires en raison de leur toxicité et de leur concentration dans les milieux aquatiques. Pour les micropolluants organiques, la spectrométrie de masse selon une approche dite « ciblée » est la technique analytique la plus utilisée en raison de sa grande robustesse, sensibilité et spécificité (Escher *et al.*, 2020). Cependant, cette approche ciblée permet de détecter uniquement des micropolluants organiques sélectionnés au préalable et pour lesquels un étalon analytique est disponible. Afin de réviser la liste de substances prioritaires pour considérer de nouveaux micropolluants organiques pertinents plus ou moins connus et ubiquistes, ainsi que les éventuels produits de transformation des substances rejetées dans les milieux aquatiques, une méthode d'exploration plus globale et sans a priori, dite non-ciblée, est nécessaire.

Principe de l'analyse non-ciblée

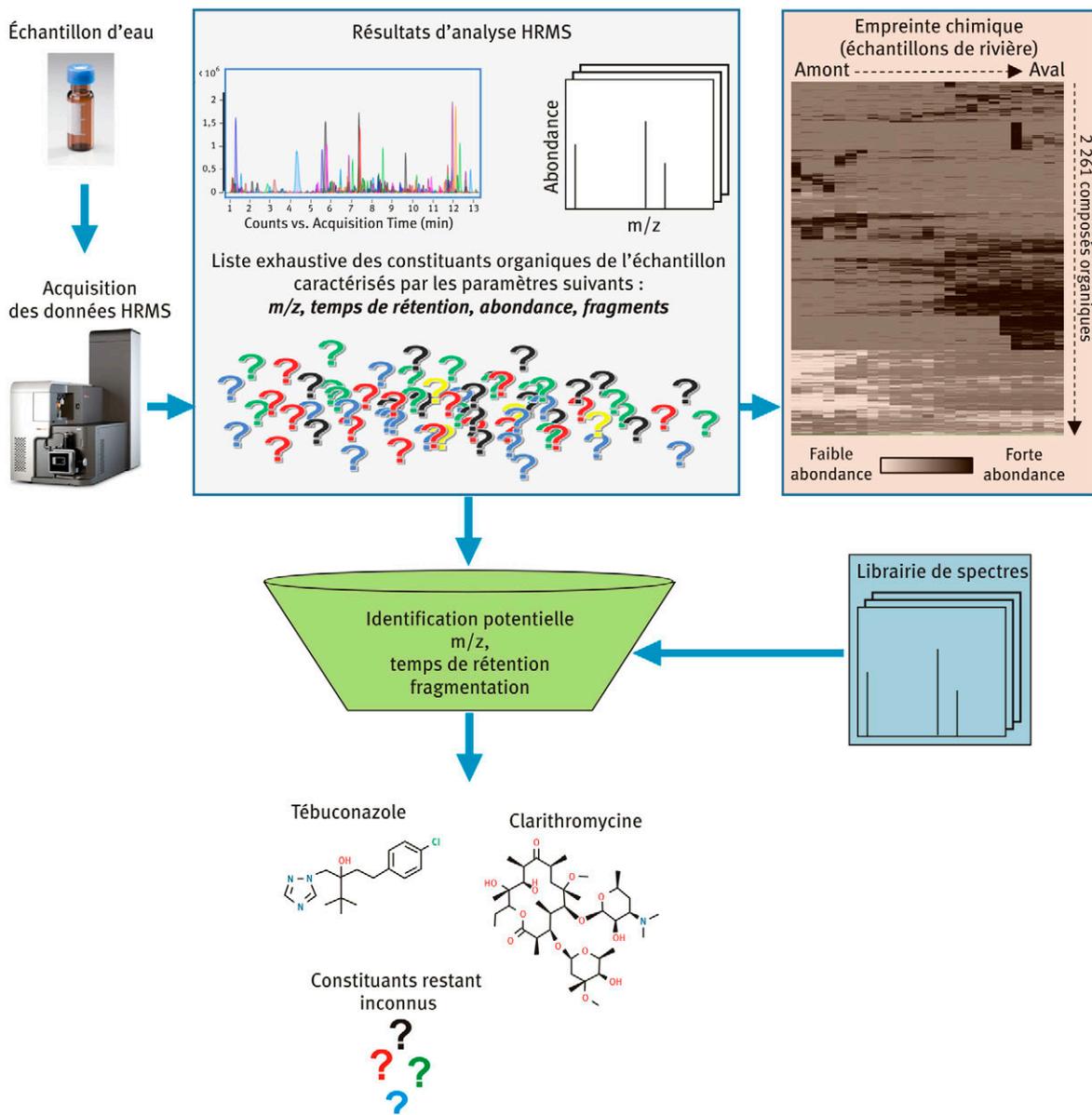
La chromatographie liquide ou gazeuse assure la séparation des micropolluants organiques présents dans un échantillon. En effet, selon ses propriétés physico-chimiques, chaque micropolluant traverse la colonne chromatographique en un temps spécifique appelé temps de rétention. Ensuite, la spectrométrie de masse assure l'ionisation et la détection des micropolluants selon leur rapport masse/charge communément désigné m/z . Tandis que l'analyse ciblée est généralement quantitative et fondée sur la spectrométrie de masse à basse résolution permettant uniquement la détection des m/z de micropolluants organiques présélectionnés, l'analyse non-ciblée est généralement qualitative et fondée sur l'utilisation de la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) permettant la détection exhaustive des m/z sans a priori. De plus, la haute résolution en HRMS permet de discriminer des composés dont les masses sont très proches alors que ceux-ci seraient indiscernables par la spectrométrie de masse conventionnelle utilisée pour l'analyse ciblée. Le résultat d'une analyse non-ciblée en HRMS consiste donc en une liste des signaux détectés et caractérisés chacun par un rapport m/z , un temps de rétention et une intensité. Selon le type d'échantillon

analysé, le nombre des signaux détectés peut varier de plusieurs centaines à plusieurs dizaines de milliers. Pour obtenir davantage d'information, certains instruments utilisés en HRMS peuvent également fragmenter les micropolluants organiques en provoquant leur collision avec un gaz neutre afin d'enregistrer aussi les signaux des fragments. Cette information supplémentaire permet d'augmenter le niveau de confiance des résultats lors de l'identification des micropolluants (Schymanski *et al.*, 2014). En effet, la fragmentation d'un micropolluant complète l'information relative au rapport masse/charge et au temps de rétention car elle représente sa signature spécifique.

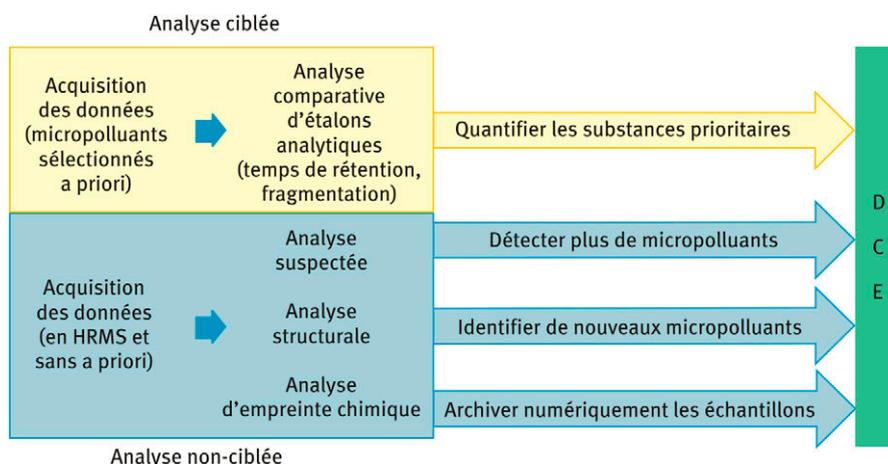
L'analyse non-ciblée en HRMS génère donc un volume de données très important dont le traitement nécessite une approche particulière selon l'objectif recherché

(Bergé *et al.*, 2018 ; Pourchet *et al.*, 2020 ; Soulier *et al.*, 2021 ; Tian *et al.*, 2020). D'une manière générale, trois stratégies sont employées. La première, et la plus fréquemment employée, dite « analyse suspectée », consiste à rechercher les micropolluants organiques tels que des résidus pharmaceutiques, des biocides ou des produits de transformation déjà parfaitement caractérisés dont la présence dans les eaux est plausible. Pour ce faire, les données acquises sont confrontées à des bibliothèques de spectres contenant les signatures spécifiques d'un certain nombre de micropolluants (figure 1). Ces bibliothèques de spectres sont commercialisées par les fournisseurs de spectromètres de masse à haute résolution ou développées par chaque utilisateur selon ses besoins. D'autres bibliothèques de spectres sont également disponibles en libre accès sur internet comme par

1 Représentation schématique simplifiée de l'analyse d'un échantillon d'eau par une approche non-ciblée, des données obtenues et de leur traitement (identification de micropolluants et génération d'empreinte chimique).



2 Apport potentiel de l'analyse non-ciblée en complément de l'analyse ciblée pour la directive cadre européenne sur l'eau (DCE).



exemple MassBank (<https://massbank.eu/MassBank/>) ou mzCloud (<https://www.mzcloud.org>). La seconde stratégie, dite « analyse structurale », consiste à étudier en détails les signaux demeurant inconnus afin d'identifier les micropolluants organiques associés. Par exemple, grâce à la précision de la masse mesurée, la formule brute d'un micropolluant organique inconnu peut être déterminée. Ensuite, l'examen détaillé de la fragmentation de ce micropolluant peut conduire à la proposition d'une structure. Cette approche est fréquemment employée afin d'identifier de nouveaux produits de transformation d'un micropolluant connu (Tian *et al.*, 2020). La troisième stratégie, dite « analyse d'empreinte chimique », consiste à examiner les données acquises dans leur ensemble sans tenter d'identifier les micropolluants organiques associés (figure 1). Cette approche permet d'observer la variation de la composition de l'eau le long d'une rivière ou durant le traitement des eaux usées. L'application d'outils statistiques permet alors un examen approfondi des données. Une analyse cluster permet, par exemple, de grouper les micropolluants dont l'abondance relative évolue de manière similaire entre les différents échantillons comparés et d'aboutir à l'identification de nouveaux marqueurs de sources de contamination. L'utilisation et le développement de la HRMS pour des applications environnementales sont renforcés par les travaux de collectifs comme le réseau européen NORMAN (<https://www.norman-network.com>) auquel les chercheurs d'INRAE contribuent activement.

Intérêt de l'analyse non-ciblée pour la directive cadre européenne sur l'eau

L'analyse exhaustive et sans a priori des milieux aquatiques (eaux/sédiment/biote) par l'approche non-ciblée en fait un outil complémentaire à l'analyse ciblée et précieux pour la surveillance DCE (figure 2) car :

- le nombre de micropolluants organiques considérés passe de quelques dizaines lors d'une analyse ciblée à plusieurs milliers lors d'une analyse non-ciblée, sous réserve que les techniques de préparation d'échantillons

avant analyse soient adaptées. De plus, le coût analytique n'est pas affecté pour une telle recherche purement qualitative car, hormis quelques composés traceurs pour le dopage des échantillons, l'analyse suspectée permet de s'affranchir de l'acquisition d'étalons analytiques très coûteux. Cependant, le temps lié au retraitement des données en analyse non-ciblée peut augmenter de manière très significative en fonction de la robustesse du protocole ou « workflow » utilisé. En ce sens, le retour d'expérience de douze laboratoires français membres du GT NTS permet de clarifier les pratiques et les précautions à considérer lors de la réalisation d'analyses non-ciblées pour la recherche de composés suspects dans les échantillons environnementaux (Soulier *et al.*, 2021). D'une manière générale, la surveillance d'un nombre de micropolluants organiques grandement élargi dans les eaux de surface et dans les rejets contribuera à la mise à jour des substances prioritaires pour la DCE ;

- chaque micropolluant observé peut donner lieu (en fonction de sa fréquence de détection, sa concentration et sa toxicité) à la recherche de ses éventuels produits de transformation qui demeurent généralement méconnus et négligés mais sont parfois tout aussi actifs que la molécule mère (Kern *et al.*, 2009) ;
- l'empreinte chimique de chaque échantillon est enregistrée et archivée. L'analyse non-ciblée permet donc de créer une large « banque d'échantillons virtuelle » disponible ultérieurement pour une analyse rétrospective, par exemple grâce à l'utilisation de bibliothèques de spectres de micropolluants (<https://www.norman-network.com/nds/>). ■

Les auteurs

Sylvain MEREL, Christelle MARGOUM,
Kevin ROCCO, Marina COQUERY
et Cécile MIÈGE
INRAE, UR RiverLy, 5 rue de la Doua, CS 20244,
F-69625 Villeurbanne, France.
✉ sylvain.merel@inrae.fr
✉ christelle.margoum@inrae.fr
✉ kevin.rocco@inrae.fr
✉ marina.coquery@inrae.fr
✉ cecile.miege@inrae.fr



EN SAVOIR PLUS...

- BERGÉ, A., BULETÉ, A., FILDIER, A., GASPERI, J., MAILLER, R., ROCHER, V., VULLIET, E., 2018, La spectrométrie de masse haute résolution : un outil innovant de caractérisation des ouvrages d'assainissement, *Techniques - Sciences - Méthodes*, n° 113, p. 51-66.
- ESCHER, B.I., STAPLETON, H.M., SCHYMANSKI, E.L., 2020, Tracking complex mixtures of chemicals in our changing environment, *Science*, vol. 367, p. 388-392, <https://doi.org/10.1126/science.aay6636>
- KERN, S., FENNER, K., SINGER, H.P., SCHWARZENBACH, R.P., HOLLENDER, J., 2009, Identification of transformation products of organic contaminants in natural waters by computer-aided prediction and high-resolution mass spectrometry, *Environmental Science & Technology*, vol. 43, p. 7039-7046, <https://doi.org/10.1021/es901979>
- POURCHET, M., DEBRAUWER, L., KLANOVA, J., PRICE, E.J., COVACI, A., CABALLERO-CASERO, N., OBERACHER, H., LAMOREE, M., DAMONT, A., FENAILLE, F., VLAANDEREN, J., MEIJER, J., KRAUSS, M., SARIGIANNIS, D., BAROUKI, R., LE BIZEC, B., ANTIGNAC, J.-P., 2020, Suspect and non-targeted screening of chemicals of emerging concern for human biomonitoring, environmental health studies and support to risk assessment: From promises to challenges and harmonisation issues, *Environment International*, vol. 139, 105545, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105545>
- SCHYMANSKI, E.L., JEON, J., GULDE, R., FENNER, K., RUFF, M., SINGER, H.P., HOLLENDER, J., 2014, Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: communicating confidence, *Environmental Science & Technology*, vol. 48, p. 2097-2098, <https://doi.org/10.1021/es5002105>
- SOULIER, C., BOITEUX, V., CANDIDO, P., CAUPOS, A., CHACHIGNON, M., COUTURIER, G., DAUCHY, X., DEVIER, M.-H., ESPERANZA, M., FILDIER, A., GARDIA-PAREGE, C., GUIBAL, R., LE ROUX, J., LEROY, G., LESTREMAU, F., LISSALDE, S., NOYON, N., PIRAM, A., VULLIET, E., MARGOUM, C., 2021, La spectrométrie de masse haute résolution pour la recherche de micropolluants organiques dans l'environnement, *Techniques - Sciences - Méthodes*, n° 6, p. 43-54.
- TIAN, Z., PETER, K.T., GIPE, A.D., ZHAO, H., HOU, F., WARK, D.A., KHANGAONKAR, T., KOLODZIEJ, E.P., JAMES, C.A., 2020, Suspect and nontarget screening for contaminants of emerging concern in an urban estuary, *Environmental Science & Technology*, vol. 54, p. 889-901, <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06126>