



ACQUISITION DES DONNEES DE SCREENING ENVIRONNEMENTAL DANS LE CADRE DU RESEAU DE SURVEILLANCE PROSPECTIVE

Anne Togola, François Lestremau, Coralie Soulier, Charlotte Coureau

Mars 2020

Document final



Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du projet RDI-réseau de surveillance prospective de l'année 2019, au titre de l'action du lot C « EMNAT -NTS »

Auteur (s) :
Anne Togola
BRGM
a.togola@brgm.fr

François Lestremau
INERIS
Francois.lestremau@ineris.fr

Coralie Soulier
BRGM
c.soulier@brgm.fr

Charlotte Coureau
BRGM
c.coureau@brgm.fr

Vérification du document :

Laurence Amalric
l.amalric@brgm.fr

Les correspondants

OFB : Pierre-François STAUB, pierre-francois.staub@ofb.gouv.fr

Référence du document : Togola A., Lestremau F., Soulier C. et Coureau C. ; Acquisition des données de screening environnemental dans le cadre du réseau de surveillance prospective. Réseau de Surveillance prospective-AQUAREF; Rapport BRGM/RP-69967-FR

Droits d'usage :	<i>Accès libre</i>
Couverture géographique :	<i>International</i>
Niveau géographique :	<i>National</i>
Niveau de lecture :	<i>Professionnels, experts</i>
Nature de la ressource :	<i>Document</i>

ACQUISITION DES DONNEES DE SCREENING ENVIRONNEMENTAL DANS LE CADRE DU RESEAU DE SURVEILLANCE PROSPECTIVE

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

RESUME

Dans le cadre du réseau de surveillance prospective et en parallèle de la campagne « émergents nationaux », une action visant à créer une première banque d'échantillons virtuels a été mise en œuvre. Suite à l'échantillonnage de 85 stations d'eau de surface et de 3 eaux de rejets de STEU, des analyses non ciblées ont été réalisées par deux techniques d'extraction (SPE et LLE) et deux techniques d'analyses (LC-HRMS et GC-HRMS) afin d'obtenir pour chaque échantillon des empreintes non ciblées (empreintes NTS) les plus exhaustives possibles.

Mots clés (thématique et géographique) :

Spectrométrie de masse haute résolution (HRMS), Analyse non ciblé, eau de surface, polluants organiques, FRANCE

ACQUISITION OF NON TARGET SCREENING DATA IN THE FRENCH PROSPECTIVE NETWORK

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

Abstract

Within the framework of the French prospective monitoring network and in parallel with the "national emerging" campaign, an action aimed at creating a first bank of virtual samples was implemented. Following the sampling of 85 surface water stations and 7 waste waters, non-targeted screening analyses were carried out by two extraction techniques (SPE and LLE) and two analysis techniques (LC-HRMS and GC-HRMS) in order to obtain the most exhaustive non-target fingerprints for each sample.

Key words (thematic and geographical area):

Non target screening, surface water; prospective network, FRANCE



**ACQUISITION DES DONNEES DE SCREENING
ENVIRONNEMENTAL DANS LE CADRE DU RESEAU
DE SURVEILLANCE PROSPECTIVE**

Rapport final
Rapport BRGM/RP-69967-FR
Mars 2020

ACQUISITION DES DONNEES DE SCREENING ENVIRONNEMENTAL DANS LE RESEAU DE SURVEILLANCE PROSPECTIVE

Rapport final

Rapport BRGM/RP-69967-FR


Mars 2020

Étude réalisée dans le cadre des opérations
de Service public du BRGM

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

Vérificateur :

Nom : Amalric Laurence
Fonction : responsable unité
Date : 18/04.2020

Signature : 

Approbateur :

Nom : Négrel Philippe
Fonction : Directeur Adjoint
Date : 20/01/2021

Signature : 

**Le système de management de la qualité et de l'environnement
est certifié par AFNOR selon les normes ISO 9001 et ISO 14001.**

SOMMAIRE

Table des matières

1	INTRODUCTION / CONTEXTE	1
2	CAMPAGNES D'ECHANTILLONNAGE	1
3	EXTRACTIONS DES ECHANTILLONS	2
3.1	utilisation de traceurs	2
3.2	Extraction sur phase solide (SPE)	4
3.2.1	Eaux de surface	4
3.2.2	Eaux de rejets	4
3.3	Extraction en phase liquide (LLE)	4
3.3.1	Eaux de surface	4
3.3.2	Eaux de rejets	4
3.4	blancs d'extraction	4
3.4.1	Extraction SPE (eau de surface)	Erreur ! Signet non défini.
3.4.2	Extraction SPE (eau de rejets)	Erreur ! Signet non défini.
3.4.3	Extraction LLE (eau de surface et de rejets)	Erreur ! Signet non défini.
4	ANALYSES DES ECHANTILLONS	5
4.1	ANALYSE EN LC- HRMS	5
4.1.1	Eaux de surface	5
4.1.2	Eaux de rejets	7
4.2	Analyse par GC/HRMS (eaux de surface et eaux de rejets)	9
4.2.1	Paramètres analytiques	9
4.2.2	Contrôles qualité	10
5	BANCARISATION	10
6	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	11

Liste des annexes :

Annexe 1 : Liste de sites échantillonnés dans le cadre de l'exercice EMNAT- NTS..... 13

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Répartition des extractions et analyses entre le BRGM et l'INERIS pour chaque prélèvement de l'exercice EMNAT-NTS	2
Tableau 2 : Traceurs utilisés pour les analyses LC/HRMS et GC/HRMS. + : ionisation electrospray en mode positif ; - : ionisation electrospray en mode négatif ; 1 : BRGM ; 2 : INERIS (si pas de précision, donnée valable pour les deux laboratoires)	3
Tableau 3 : Paramètres chromatographiques LC pour l'analyse des eaux de surface	6
Tableau 4 : Paramètres spectrométriques pour l'analyse LC des eaux de surface. uma : unité de masse atomique.....	6
Tableau 6: Paramètres chromatographiques LC pour l'analyse des eaux de rejets	7
Tableau 7 : Paramètres spectrométriques pour l'analyse LC des eaux de rejets. uma : unité de masse atomique.....	8
Tableau 5 : Paramètres analytiques GC/HRMS	9

1 INTRODUCTION / CONTEXTE

Dans le cadre du Réseau de Surveillance Prospective (RSP), une action d'acquisition d'empreintes NTS (Non-Target Screening), permettant de se doter d'une banque virtuelle d'échantillons d'eau de surface à travers l'acquisition d'empreintes, a été mise en œuvre entre 2018 et 2019.

L'objectif est de se doter, au niveau national, d'une spectrothèque représentative des masses d'eau du territoire, afin de permettre des exploitations ultérieures de ces empreintes, dans le but d'identifier de nouvelles substances d'intérêt. Pour se faire, des analyses en chromatographie liquide (LC) et gazeuse (GC) couplées à la spectrométrie de masse haute résolution (SMHR ou HRMS en anglais) ont été réalisées, à l'issue de deux modes d'extraction (extraction sur phase solide - SPE - et extraction liquide/liquide - LLE) d'échantillons d'eaux afin de générer leurs empreintes. Les 2 modes LC et GC permettent de couvrir une gamme de molécule plus complète.

Ce rapport présente les conditions méthodologiques d'acquisitions des empreintes non ciblées (empreintes NTS).

2 CAMPAGNES D'ÉCHANTILLONNAGE

Dans le cadre du RSP, a été organisé la campagne « émergent nationaux » (EMNAT), visant à rechercher la présence de substances identifiées comme d'intérêt à l'échelle nationale. Pour cette campagne exploratoire, un important travail d'identification des stations de mesure a été effectué pour sélectionner des stations à la fois représentatives des différents types de pressions anthropiques, des différents territoires (métropole et DOM). Des continuums sur les principaux fleuves ont été retenus. Toutes les stations d'eau de surface de cet exercice ont été retenues pour l'action EMNAT-NTS, soit 84 stations.

En complément, parmi ces 84 stations, 16 ont été identifiées par les agences de l'eau comme « les plus susceptibles d'être impactées par des fluctuations saisonnières de contamination ». En effet, l'objectif étant d'identifier de nouvelles substances d'intérêt, le paramètre saisonnier semblait pertinent à prendre en compte.

S'appuyant sur la logistique de l'exercice EMNAT prévoyant 3 campagnes sur chaque station, les 84 stations ont donc toutes été suivies au cours de la 1^{ère} campagne. Des prélèvements complémentaires ont été effectués pour 16 d'entre elles lors des campagnes 2 et 3 de l'exercice, uniquement pour une partie des analyses (SPE/LC/HRMS).

De même, les échantillons « blanc-terrain », prévu dans l'exercice EMNAT ont aussi été intégrés à l'action EMNAT-NTS (n=42).

Des rejets de stations d'épuration (n=7) sur les continuums fluviaux ont été ajoutés à l'exercice initial (1^{ère} campagne).

La liste des sites échantillonnés est présentée en annexe 1.

Lors des prélèvements, deux flacons en verre de 1L par station ont été identifiés pour cette action et envoyés au BRGM et/ou à l'INERIS pour acquisition des empreintes NTS. La répartition des extractions et analyses entre les deux laboratoires sont données dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Répartition des extractions et analyses entre le BRGM et l'INERIS pour chaque prélèvement de l'exercice EMNAT-NTS

Type d'extraction	SPE/LC/HRMS	LLE/GC/HRMS
Eau de surface, continuum (n=84+16+16) + blancs (n=42)	BRGM	INERIS
Eaux de rejets (n=7)	INERIS	INERIS

3 EXTRACTIONS DES ECHANTILLONS

3.1 UTILISATION DE TRACEURS

Afin de pouvoir évaluer les performances des méthodes d'extraction et d'analyses, des mélanges de composés, appelés traceurs, sont ajoutés dans tous les échantillons et les blancs laboratoire.

- Les traceurs internes ou traceurs d'extraction, permettent de comprendre au mieux les effets matriciels propres à chaque échantillon. Ils sont ajoutés dans l'échantillon au début des protocoles d'extraction.
- Les traceurs d'injections (Ej) permettent de s'assurer de la bonne injection de l'échantillon au sein du système chromatographique. Ils sont ajoutés dans les extraits juste avant d'être injectés (200 ng.mL⁻¹).

Les composés ont été sélectionnés pour couvrir une large gamme de caractéristiques physico-chimiques ; certains sont compatibles avec les 2 méthodes d'analyses (LC/GC), d'autres sont spécifiques à une méthode (Tableau 2). Pour les analyses en LC, il est indiqué dans ce tableau le mode préférentiel de détection des molécules selon leur ionisation. Certaines molécules de cette liste sont en effet détectables mais avec une sensibilité moindre dans l'autre mode d'ionisation.

Tableau 2 : Traceurs utilisés pour les analyses LC/HRMS et GC/HRMS. + : ionisation electrospray en mode positif ; - : ionisation electrospray en mode négatif ; 1 : BRGM ; 2 : INERIS (si pas de précision, donnée valable pour les deux laboratoires)

Molécules	Traceurs d'extraction SPE -mode d'ionisation	Traceurs injection LC/HRMS-mode d'ionisation	Traceurs d'extraction LLE	Traceurs injection GC/HRMS	Concentration ng/L dans l'extrait (ESU)	Log KOW
Acide fénofibrique D ₆	+				25	4
Aténolol D ₇	+				25	0,4
Acétochlore ESA D ₅	-				50	0,79
Alachlore OXA D ₃	-				48	2,3
Atrazine D ₅	+				26	2,6
Carbamazépine ¹³ C ₆	+				25	2,3
Carbétamide ¹³ C ₆	+				25	1,78
Clarithromycine ¹³ C-D ₃	+				24	3,16
D ₇ -Beflubutamide	+				24	4,96
Benzotriazole D ₄	-				50	1,4
DEA D ₆	+				24	1,5
Furosémide D ₅	-				48	2
DEDIA ¹³ C	+				25	-0,1
Diclofénac ¹³ C ₆		+/-				4,3
Diuron D ₆		+/-				2,7
Diazinon D ₁₀	+				26	3,69
MCPA ¹³ C ₆	-				49	-0,8
Méthylparabène ¹³ C ₆	-				42	2
Gemfibrozil D ₆		- (1)				3,4
DMST-D ₃	+				25	1,2
Erythromycine ¹³ C D ₃	+				25	2,5
Mécoprop D ₃		- (1)				-0,2
Metsulfuron méthyl D ₃	+/-				48	-2
Imidaclopride-D ₄	+				24	0,3
Métoprolol D ₇	+				25	0,6
Sucralose D ₆	-				49	-1,5
NBBS D ₉	+				25	2,1
Norfloxacine D ₅	+				23	-2
Simazine D ₁₀		+				2,2
Oxazepam D ₅	+				27	2,2
Sotalol D ₇	+				25	0,24
Sulfadiméthoxine D ₆		+ (1)				0,6
4,4'-DDT				x	200	6,9
BDE 99- ¹³ C ₁₂			x			8,1
Chlorpyrifos D ₁₀			x			4,9
DEHP D ₄			x			8,7
Naphtalène D ₈			x			3,3
PCB 52 ¹³ C ₁₂			x			6,1
Phénanthrène D ₁₀				x	200	4,5

3.2 EXTRACTION SUR PHASE SOLIDE (SPE)

3.2.1 Eaux de surface

Les échantillons sont filtrés sur GFF à 0,7µm préalablement pyrolysés. 500 mL de l'échantillon filtré sont prélevés ; le pH est ajusté (pH7) en ajoutant de l'acide chlorhydrique dilué au ½ ou de la soude NaOH 1mol/L, puis 100µL de la solution de traceurs d'extraction à 0,25mg/L sont ajoutés.

Les extractions sont réalisées soit par un AUTOTRACE 280 soit manuellement (Visiprep) sur des cartouches OASIS HLB 200mg. Le protocole suivant est appliqué :

- Le conditionnement à un débit de 5 mL/min est réalisé par élution successive de 5mL de dichlorométhane, 5mL méthanol puis 5mL d'eau HPLC à pH7.
- Le chargement des 500 mL de l'échantillon est réalisé au débit de 10 mL/min.
- Après séchage des cartouches pendant 1 heure sous azote (0,6 à 0,7 bar), les cartouches sont éluées à un débit de 5 mL/min, successivement par 5mL méthanol, 5mL d'un mélange de méthanol/dichlorométhane (50/50 ; v/v) puis 5mL dichlorométhane.

Les extraits sont ensuite récupérés et évaporés jusqu'à 0,5 mL sous azote ou au Turbovap (40°C et 4 psi - sans évaporation à sec). 15 µL de la solution de traceurs d'injection à 1mg/L sont ajoutés avant analyse.

3.2.2 Eaux de rejets

Pour les eaux de rejets le même protocole que celui décrit dans le paragraphe 3.2.1 a été mis en œuvre en utilisant 200 mL d'échantillon filtré. Les traceurs d'extraction ont été ajoutés à une concentration 5 fois supérieures à ceux des eaux de surface (même quantité ajoutée mais dans un volume d'échantillon 5 fois moindre, Tableau 2).

3.3 EXTRACTION EN PHASE LIQUIDE (LLE)

3.3.1 Eaux de surface

Les échantillons (prise essai 1 L) ne sont pas filtrés. Après ajout à 200 ng/L des traceurs d'extraction (Tableau 2), l'extraction liquide/liquide est réalisée par 3 extractions au dichlorométhane (50/50/30 mL).

Les extraits sont ensuite congelés à -20 °C une nuit pour éliminer l'eau par recueil du solvant à l'issue de la congélation. La concentration de l'extrait à 1 mL est réalisée sous azote ou au Turbovap (40°C et 4 psi), sans évaporation à sec.

La conservation se fait à -20°C jusqu'à l'analyse. Les traceurs d'injection sont ajoutés juste avant analyse.

3.3.2 Eaux de rejets

Le protocole appliqué aux eaux de rejets est similaire à celui des eaux de surface avec quelques ajustements. La prise d'essai de 200 mL d'échantillon est diluée avec 800 mL d'eau milliQ pour obtenir 1 L d'échantillon. La concentration en traceurs est augmentée pour atteindre 800 ng/L de traceurs d'extraction (Tableau 2).

3.4 BLANCS D'EXTRACTION

Pour les extractions SPE (eau de surface), la réalisation du blanc se fait sans percolation d'eau, dans les mêmes conditions que pour l'échantillon et en employant les mêmes quantités de réactifs que pour l'échantillon.

Les blancs ont été réalisés simultanément à des échantillons et répartis sur toute la durée de la réception des échantillons.

Au total, 10 blancs ont été réalisés simultanément à des échantillons et répartis sur toute la durée de la réception des échantillons.

Pour les extractions SPE des eaux de rejets, la réalisation du blanc se fait par percolation de 1 L d'eau MilliQ, dans les mêmes conditions et en employant les mêmes quantités de réactifs que pour l'échantillon. Au total, 3 blancs ont été réalisés simultanément à des échantillons et répartis sur toute la durée de la réception des échantillons.

Pour les extractions LLE des eaux de surface et des eaux de rejets, des blancs laboratoires sont effectués suivant le même protocole analytique utilisé pour les échantillons en extrayant de l'eau MilliQ.

4 ANALYSES DES ECHANTILLONS

4.1 ANALYSE PAR LC- HRMS

4.1.1 Eaux de surface

La séparation chromatographique a été réalisée avec un système UPLC I-Class (Waters) et l'acquisition avec le logiciel MassLynx.

La détection par spectrométrie de masse haute résolution a été réalisée avec un spectromètre de masse hybride quadropôle-temps de vol (XEVO G2S QTOF, Waters) possédant une interface électrospray opérant en modes d'ionisation positif et négatif. Pour chaque mode d'ionisation, les données spectrales ont été acquises sur une gamme de masse (m/z) de 50 à 1 200 selon 2 méthodes :

- En mode résolution, continuum sans correction de lockmass et MS^E, permettant d'utiliser le logiciel de traitement UNIFI de Waters.
- En mode résolution, centroid avec correction de lockmass et MS^E, permettant de convertir les données en format universel « .mzXML » ou « .mzML » pour des traitements sur d'autres logiciels¹.

Le mode MS^E crée deux fonctions parallèles sur lesquelles sont enregistrées des scans alternatifs avec des énergies de collision différentes. La fonction 1 est obtenue à faible énergie de collision, 6eV, et la fonction 2 à haute énergie de collision, avec une rampe d'énergie allant de 6 à 45eV. Dans le cas de la fonction 2, tous les spectres de masse acquis à chaque énergie de collision, de 6 à 45 eV, sont superposés sur un seul spectre de masse ; toutes les informations des ions précurseurs et fragments sont présents sur celui-ci. Les deux fonctions ont un temps de scan de 0,25s avec 0,015s d'interscan. Ce mode d'acquisition permet d'obtenir les ions précurseurs et fragments en une seule injection sans avoir à sélectionner au préalable l'ion précurseur.

¹ Avec les informations et essais récents, les données Waters acquises en continuum sont maintenant convertibles, la double injection n'est désormais plus nécessaire.

4.1.1.1 Paramètres chromatographiques LC pour les eaux de surface

Les paramètres chromatographiques utilisées pour l'analyse des eaux de surface diffèrent pour certains entre les modes d'ionisation positif et négatif comme précisé dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Paramètres chromatographiques LC pour l'analyse des eaux de surface

Mode d'ionisation	ESI+	ESI-
Tampon aqueux (A)	Eau ULC 0,05% d'acide formique (v/v)	Eau ULC 0,007% d'acide formique (v/v)
Solvant organique (B)	Actonitrile 0,05% d'acide formique (v/v)	Méthanol 0,007% d'acide formique (v/v)
Débit (mL/min)	0,45	0,3
Gradient A/B	T _{0min} : 98/2, T _{0,5min} : 98/2, T _{18,5min} : 1/99, T _{22,5min} : 1/99, T _{25min} : 98/2	
Colonne	Acquity BEH C18 (150 x 2,1 x 1,7µm, Waters)	
Température four colonne (°C)	35	45
Volume d'injection (µL)	2	

4.1.1.2 Paramètres spectrométriques pour l'analyse LC des eaux de surface

L'analyse a été réalisée dans les 2 modes d'ionisation positif et négatif. Les paramètres du spectromètre de masse ont été optimisés pour un maximum d'intensité d'un mélange d'étalons et sont détaillés dans le Tableau 4.

Le gaz de collision est de l'argon avec une pureté de 99,9999% à 1,3.10⁻⁴mBar.

La correction d'une potentielle déviation en masse au cours de l'analyse s'effectue sur deux masses de référence de la leucine enképhaline, en ESI+ la masse de l'ion moléculaire à 556,2771 ainsi qu'un ion fragment à 278,1141 et en ESI- la masse de l'ion moléculaire (554,2620) ainsi qu'un ion fragment (236,1035).

Tableau 4 : Paramètres spectrométriques pour l'analyse LC des eaux de surface.

uma : unité de masse atomique

Mode d'ionisation	ESI+	ESI-
Mode d'acquisition HRMS	Data independant (MSe), profile (Continuum), mode Resolution	
Gamme de masse (uma)	50-1200	
Energie de collision (eV)	Rampe de 6 à 45	
Vitesse d'analyse (scan rate, Hz)	4	
Débit Cône gaz (L/h)	50	
Débit gaz de désolvation (L/h)	900	
Température Cône gaz (°C)	120	
Température gaz de désolvation (°C)	600	
Tension de cône (V)	30	15
Tension de capillaire (kV)	0,5	1
Tension de lockspray (kV)	3	2,5
Résolution (masse)	25 000-30 000 (556,2771)	30 000-32 000 (554,2620)

4.1.1.3 Contrôles qualité pour l'analyse LC/HRMS des eaux de surface

Solution de référence et calibration du QTOF

L'exactitude en masse est vérifiée sur la gamme de masse (m/z) 50-1 200. Pour cela, une solution de formate de sodium constituée d'un mélange d'acide formique à 10% / 0,5mM d'hydroxyde de sodium (1/300 ; v/v) dans un mélange 2-propanol/eau (90/10 ; v/v), est injectée directement dans la source d'ionisation du spectromètre de masse avec un débit de 20µL/min.

Pour corriger une potentielle déviation en masse lors de l'injection des échantillons, une solution de « lockmass », leucine enképhaline² à 1ng/µL est introduite directement dans la source d'ionisation du spectromètre de masse par le capillaire de lock spray à un débit de 20µL/min toutes les 15s pendant l'analyse.

Solutions de contrôle

Au cours des séries d'injection, des solutions d'étalons de référence et des blancs d'injection (solvant) sont régulièrement injectées pour vérifier le système analytique.

4.1.2 Eaux de rejets

Les analyses ont été effectuées avec un LCQTOF 6550 (Agilent) et l'acquisition avec le logiciel Masshunter v.7.

Les extraits obtenus (échantillons et blancs) ont été filtrés sur des filtres seringues UptiDisc en polytétrafluoroéthylène (PTFE) de porosité de 0,2µm (25mm de diamètre interne, avec pré-filtre en fibre de verre) puis un ajout des traceurs d'injection a été effectué.

4.1.2.1 Paramètres chromatographiques LC pour les eaux de rejets

Les paramètres chromatographiques utilisées pour l'analyse des eaux de surface diffèrent pour certains entre les modes d'ionisation positif et négatif comme précisé dans le Tableau 6.

Tableau 5: Paramètres chromatographiques LC pour l'analyse des eaux de rejets

Mode d'ionisation	ESI+/ESI-
Tampon aqueux (A)	Eau 1mM Acétate d'Ammonium
Solvant organique (B)	Méthanol
Débit (mL/min)	0,4
Gradient A/B	T _{0min} : 100/0, T _{2min} : 100/0, T _{14min} : 2/98, T _{20min} : 2/98, T _{21min} : 100/0, T _{24min} : 100/0
Colonne	C18 de type ZORBAX SB-Aq (2,1*150mm, 1,8µm)
Température colonne (°C)	40
Volume d'injection (µL)	5

4.1.2.2 Paramètres spectrométriques pour l'analyse LC des eaux de rejets

L'analyse a été réalisée dans les 2 modes d'acquisition positif et négatif avec fragmentation en mode data dépendant (auto MS/MS) et data indépendant (all ion) (1 injection pour

² C₂₈H₃₇N₅O₇ de masse monoisotopique 555,2693 Da

chaque mode, 4 au total/échantillon). La fragmentation des ions précurseurs est effectuée à trois énergies de collision 10, 20 et 40 eV pour le mode data dépendant et 2 (20 et 40 eV) pour le mode data indépendant.

Les principaux paramètres spectrométriques utilisés sont répertoriés dans le Tableau 7.

Tableau 6 : Paramètres spectrométriques pour l'analyse LC des eaux de rejets. uma : unité de masse atomique

Mode d'ionisation	ESI+	ESI-
Mode d'acquisition HRMS	All ion (MS + MS/MS en data indépendant) et auto MS/MS (data dépendant)	
Gamme de masse (uma)	100 à 1000 (MS/MS de 50 à 1000)	
Energie de collision (eV)	All ion : 20 et 40 Auto MS/MS : 10, 20 et 40	
Vitesse d'analyse (scan rate, Hz)	4	
Débit du gaz de gaine (L/min)	12	
Débit du gaz séchant (L/min)	17	15
Température du gaz de gaine (°C)	390	350
Température du gaz séchant (°C)	200	
Tension au capillaire (V)	3500	
Tension au « nozzle » (V)	0	
Pression de nébulisation (psig)	30	
Fragmentation (V)	365	
Résolution (masse)	25 000-30 000 (556,2771)	30 000-32 000 (554,2620)

4.1.2.3 Contrôles qualité pour l'analyse LC/HRMS des eaux de rejets

Solution de référence et calibration du QTOF

La précision spectrométrique du LC/QTOF était vérifiée avant chaque début de séquence par l'infusion d'une solution de calibration.

Une solution de référence spectrométrique était également infusée tout au cours de l'analyse de chaque solvant/blanc /échantillons afin de recalibrer la déviation de masse.

Solution de contrôle

Une solution contenant plus d'une vingtaine de composés de familles différentes à une concentration de 100 ng.mL⁻¹ (pharmaceutiques, pesticides,...) a été utilisée lors de la séquence (injection en début, milieu et fin de séquence).

Des blancs solvant ont été également injectés lors de la séquence analytique.

4.2 ANALYSE PAR GC/HRMS (EAUX DE SURFACE ET EAUX DE REJETS)

4.2.1 Paramètres analytiques

Les analyses ont été effectuées sur une GC/HRMS de type quadropôle/temps de vol GC/QTOF, modèle 7250 (Agilent). Le logiciel d'acquisition utilisé était Masshunter v.10 (Agilent).

Les analyses ont été effectuées avec une ionisation par impact électronique.

Deux modes ont été utilisés avec ce type d'ionisation (1 injection/échantillon/mode d'ionisation) :

- en mode « Haute ionisation » (HEI), avec une énergie d'ionisation à 70 eV (ce mode correspond aux conditions standards des analyses par GC/MS et permet d'obtenir des spectres de masse comparables à ceux des bases de données).
- en mode « basse ionisation » (LEI) avec une énergie d'ionisation à 18 eV (et une température de source à 150 °C); ce mode permet de réduire la fragmentation des substances dans la source et de favoriser l'obtention de l'ion moléculaire (ou des ions de hauts poids moléculaires). La sensibilité de ce type d'analyse est cependant réduite par rapport aux analyses à 70 eV (facteur 5 à 20). Il a été mis en œuvre pour apporter éventuellement des informations supplémentaires dans le cadre de l'identification de certains composés, surtout dans un besoin de confirmation si des doutes subsistent après traitement des données acquises à 70 eV.

Hormis l'énergie d'ionisation, la température de source et le courant d'émission, tous les autres paramètres instrumentaux sont communs pour les 2 modes d'analyse et détaillés ci-dessous (Tableau 5).

Tableau 7 : Paramètres analytiques GC/HRMS

	Volume d'injection Type d'injection	2 µL Standard
Injecteur	Type Température Mode d'injection	Split Splitless 280°C Splitless pendant 1,81min puis purge à 60 mL/min
Liner	Référence	Agilent 5190-2293 ultra inert (splitless single taper, wool)
Colonnes (C1 C2)	Type Débit	HP-5ms UI, 15 m x 250 µm x 0.25 µm (19091S-431UI) *2 C1: 1.061 mL/min , C2: 1.261 mL/min
Four	Température	40 °C (1,8'), puis > 325°C @ 10°C/min (10')
Ligne de transfert	Température	280°C
Paramètres spectrométriques	T°C de source courant d'émission Mode d'ionisation data storage Délai de solvant Quad TTI cutoff mass Mass Range Acquisition rate/time transients/spectre Cellule de Collision N2 Quench gas He	230°C (HEI), 150 °C (LEI) 5 µA (HEI), 1 µA (LEI) EI : Standard (HEI), 70 eV ; Low (LEI), 18 eV profile et centroïd 7,8 minutes 40 amu 40 – 650 m/z 5 spectres/s ou 200 ms/spectre 1776 1 ml/min 4 ml/min

Backflush »

L'appareil utilisé était équipé d'un système de reflux inverse (« backflush »). Cela consiste en l'apposition d'une pièce, le « purged-T », en milieu de système chromatographique (et l'utilisation de 2 colonnes chromatographiques courtes (15 m)), qui va venir inverser le débit de la colonne après l'élution du dernier composé d'intérêt, en éliminant les composants à haut point d'ébullition. Cela permet de réduire les maintenances de colonne, de part cette phase de « nettoyage » après chaque série d'injection.

RT-lock

Une procédure de « RT lock » (RTL) a été utilisée afin de conserver des temps de rétention identique en cas de modification de la longueur de colonne. Le composé suivi pour cette étude est le phénanthrène d10, utilisé comme traceur d'injection et éluant en milieu de chromatogramme. Si le temps de rétention du phénanthrène d10 a évolué après modification de la longueur de la colonne, le débit est automatiquement réajusté pour conserver les mêmes temps de rétention des composés (et pouvoir ainsi préserver la comparaison avec les temps de rétention des bases de données).

4.2.2 Contrôles qualité

Différentes procédures ont été utilisées pour contrôler ou préserver la qualité de l'analyse.

« MassCal »

Le « MassCal » consiste en un calibrage de masse, interne, par la détection d'un composé, le perfluorotributylamine (PFTBA). Ce composé, aux fragments d'ionisation connus, est injecté directement dans la source d'ionisation sous forme gazeuse, sans passer par l'appareil chromatographique ni la ligne de transfert. L'appareil se recalibre ainsi sur les fragments mesurés par rapport aux fragments théoriques. Cette opération est intégrée à la séquence analytique en amont ; elle est réalisée pour cette étude avant chaque injection, limitant ainsi les déviations le long de la séquence, et permettant alors l'acuité de la précision sur la masse. Les rapports générés suite à chaque « masscal » effectués sont consultables en cours de séquence. Ces derniers n'ont jamais montré de déviations importantes, avec des valeurs toujours inférieures à 2 ppm.

Solutions Contrôle Qualité (QC)

Une solution contenant plus d'une centaine de composés de familles différentes à une concentration de 200 ng.mL⁻¹ (alcane, HAP, pesticides, PCB, PBDE,...) a été utilisée lors de la séquence (injection en début, milieu et fin de séquence).

Une autre solution constituée avec des aliquots d'une vingtaine des échantillons à analyser a été également analysée en début, milieu et fin de séquence. Le passage de cette solution a pour but de s'assurer que les réponses obtenues après passage d'échantillons chargés ne présentent pas de variation importante de signal.

N-Alcane et Indices de Rétention

Un mélange de n-alcane, allant de C₇H₁₆ à C₄₀H₈₂, a été injecté à une concentration de 500 ng.mL⁻¹. Ce mélange de n-alcane a permis la création d'un fichier comportant les Indices de Retentions Linéaire associés à la méthode et à la colonne. En cas d'évolution des temps de rétention lors de la séquence, le fichier de RI peut être recalculé pour chaque séquence car la solution de contrôle comprend le mélange d'alcane.

5 BANCARISATION

Les empreintes NTS sont stockées dans le laboratoire ayant effectué l'acquisition des données.

Une intégration dans la base SUPREMA de l'information de l'existence de ces données est en cours, suite à l'élaboration avec le SANDRE d'une note méthodologique³ explicitant les

³ Note Sandre – Collecte et échange des données relatives à la surveillance prospective de milieux aquatiques au travers de la réalisation d'analyses non ciblées (non target-screening ou NTS), SIE AQUAREF 09/12/2019

informations bancarisées. Chaque empreinte NTS est ainsi identifiable (numéro unique) en lien avec le laboratoire hébergeant la donnée.

Pour chaque échantillon d'eau, 3 empreintes sont associées:

- Extrait SPE / analyse LC/HRMS mode ESI⁻ (paramètre : empreinte B)
- Extrait SPE/ analyse LC/HRMS mode ESI⁺ (paramètre : empreinte A)
- Extrait LLE/ analyse GC/HRMS (paramètre : empreinte C)

6 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cet exercice représente à notre connaissance, la première mise en œuvre dans le cadre d'un exercice national d'une spectrothèque « non opportuniste », c'est-à-dire dont l'objectif initial est bien la bancarisation d'échantillons virtuels par la conservation d'empreintes NTS. D'autres exercices existent, mais plus focalisés sur un fleuve (ex : Danube, Rhin) que sur une large couverture territoriale.

L'adossement à la campagne EMNAT a permis de bénéficier d'une part de la procédure de sélection des stations, qui permet de penser à une bonne représentativité nationale des stations retenues et d'autre part de la logistique très importante de l'exercice, tant sur le nombre d'échantillons prélevés (115), que sur la prise en considération des problématiques d'assurance qualité (blanc terrains).

Les exigences de ces approches de screening environnemental ont ainsi pu être prises en compte sans affecter le déroulement des campagnes. La pérennisation de ce mode d'acquisition (faire prélever sur des programmes non spécifiques des échantillons dédiés au NTS) permettrait d'enrichir aisément une spectrothèque nationale.

Ces données sont à présents bancarisées dans les deux laboratoires. Différentes approches de traitement des empreintes sont identifiées pour la suite afin d'exploiter cette spectrothèque pour permettre de répondre à différents questionnements :

- Mettre en évidence des composés non recherchés jusqu'à aujourd'hui en utilisant la complémentarité des deux méthodes d'extraction et analyse utilisées, SPE-LC/HRMS et LLE-GC/HRMS. Les résultats pourraient intégrer la démarche de priorisation mise en œuvre en France via le Comité d'experts priorisation (DEP) piloté par l'OFB.
- D'un point de vue environnemental, pour caractériser les sources, variations saisonnières, dégradation, etc.

Les données peuvent être utilisées sur le jeu complet de données, mais aussi en focalisant sur différents contextes, localisations, ...

Annexe 1 : Liste des sites échantillonnés dans le cadre de l'exercice EMNAT- NTS

Bassin	Code Sandre	Nom Station	Campagne	Abbréviation	Code Station	Masse d'eau
Adour-Garonne	05158700	AUSSONNELLE à Seilh	M1	AUS	St0516	CE
Adour-Garonne	05039000	ISLE à RAZAC	M1	IS1	St0523	CE
Adour-Garonne	05029800	ISLE à GUITRES	M1	IS2	St0526	CE
Adour-Garonne	05148200	Dourbie en amont de Dourbies	M1	DOU	St0527	CE
Adour-Garonne	05134250	RUISSEAU DU BAGAS à Vielmur sur Agout	M1	BAG	St0528	CE
Adour-Garonne	05134251	RUISSEAU DU BAGAS à Vielmur sur Agout	M2	BAG	St0528	CE
Adour-Garonne	05134252	RUISSEAU DU BAGAS à Vielmur sur Agout	M3	BAG	St0528	CE
Adour-Garonne	05044000	ISLE à CORGNAC	M1	IS3	St0529	CE
Adour-Garonne	05038000	ISLE à BENEVENT	M1	IS4	St0530	CE
Adour-Garonne	05221600	LUY DE France à Barinque	M1	LUY	St0531	CE
Adour-Garonne	5221600	LUY DE France à Barinque	M2	LUY	St0531	CE
Adour-Garonne	5221600	LUY DE France à Barinque	M3	LUY	St0531	CE
Adour-Garonne	05153950	GIMONE en aval de Gimont	M1	GIM	St0532	CE
Adour-Garonne	05168000	TOUYRE à Lérans	M1	TO1	St0533	CE
Adour-Garonne	05167950	TOUYRE en amont de l'Hers	M1	TO2	St0534	CE
Adour-Garonne		STEU Centre Hospitalier du Vauclaire	M1	VAU	STEU01	STEU
Artois-Picardie	01138300	Les Evoissons à Bergicourt	M1	EVO	St0103	CE
Artois-Picardie	01016000	Escaut canalisé à Fresnes sur Escaut	M1	ES1	St0104	CE
Artois-Picardie	1016000	Escaut canalisé à Fresnes sur Escaut	M2	ES1	St0104	CE
Artois-Picardie	1016000	Escaut canalisé à Fresnes sur Escaut	M3	ES1	St0104	CE
Artois-Picardie	01010000	Escaut rivière à Crèvecœur sur Escaut	M1	ES2	St0105	CE
Artois-Picardie	01012000	Escaut canalisé à Eswars	M1	ES3	St0106	CE
Artois-Picardie	01014000	Escaut canalisé à Maing	M1	ES4	St0107	CE
Artois-Picardie	01018000	Escaut canalisé à Mortagne du Nord	M1	ES5	St0108	CE
Artois-Picardie	1018000	Escaut canalisé à Mortagne du Nord	M2	ES5	St0108	CE
Artois-Picardie	1018000	Escaut canalisé à Mortagne du Nord	M3	ES5	St0108	CE
Artois-Picardie	01001133	Ruisseau du pont de Sains à Etroeungt	M1	SAI	St0109	CE
Artois-Picardie	01093100	Canche à Estrée Wamin	M1	CAN	St0110	CE
Artois-Picardie	01000976	Ancre à Dernancourt	M1	ANC	St0111	CE
Artois-Picardie	01087000	Canal de Roubaix à Marquette lez lille	M1	CAR	St0112	CE
Artois-Picardie	01128000	Somme canalisée à Ailly	M1	SO2	St0113	CE
Artois-Picardie	010290600000	STEU Trith Saint Léger	M1	TRI	STEU02	STEU
Guadeloupe	7021008	Grande Rivière à Goyaves aval	M1	GGO	StGua02	CE
Guadeloupe	7023005	Rivière aux herbes marché	M1	HER	StGua04	CE
Guadeloupe	7045135	Rivière Moustique Sainte-Rose Amont à Marolles	M1	MOU	StGua06	CE
Guadeloupe	7033003	Petite rivière à Goyave aval pont D33	M1	PGO	StGua07	CE
Guadeloupe	7033003	Petite rivière à Goyave aval pont D33	M2	PGO	StGua07	CE
Guadeloupe	7033003	Petite rivière à Goyave aval pont D33	M3	PGO	StGua07	CE
Guyane	9230208	Canal Laussat	M1	LAU	StGuy02	CE
Guyane	9230208	Canal Laussat	M2	LAU	StGuy02	CE
Guyane	9230208	Canal Laussat	M3	LAU	StGuy02	CE
Guyane		Crique Fouillée	M1	FOU	StGuy03	CE
Guyane		Crique des Vampires	M1	VAM	StGuy05	CE
Guyane	9160201	Acarouany	M1	ACA	StGuy06	CE

Bassin	Code Sandre	Nom Station	Campagne	Abbréviation	Code Station	Masse d'eau
Loire-Bretagne	04004100	LOIRE à BAS-EN-BASSET / MALVALETTE	M1	LO1	St0401	CE
Loire-Bretagne	04009000	LOIRE à VEAUCHETTE	M1	LO2	St0403	CE
Loire-Bretagne	04050000	LOIRE à JARGEAU	M1	LO3	St0411	CE
Loire-Bretagne	4202990	VILAINE à GUICHEN	M1	VI1	St0428	CE
Loire-Bretagne	04134700	LOIRE à MONTJEAN-SUR-LOIRE	M1	LO4	St0430	CE
Loire-Bretagne	04027225	CHAPEAUROUX à AUROUX	M1	CHA	St0431	CE
Loire-Bretagne	04013000	LOIRE à VILLEREST	M1	LO5	St0432	CE
Loire-Bretagne	04174520	HORN à MESPAUL	M1	HOR	St0433	CE
Loire-Bretagne	4174520	HORN à MESPAUL	M2	HOR	St0433	CE
Loire-Bretagne	4174520	HORN à MESPAUL	M3	HOR	St0433	CE
Loire-Bretagne	04207400	FLUME à PACE LIEU-DIT LA FOUCHERAIE	M1	FLU	St0434	CE
Loire-Bretagne	4207400	FLUME à PACE LIEU-DIT LA FOUCHERAIE	M2	FLU	St0434	CE
Loire-Bretagne	4207400	FLUME à PACE LIEU-DIT LA FOUCHERAIE	M3	FLU	St0434	CE
Loire-Bretagne	04207000	VILAINE à RENNES	M1	VI2	St0435	CE
Loire-Bretagne	04213000	VILAINE à GUIPRY	M1	VI3	St0436	CE
Loire-Bretagne	04214500	VILAINE à LANGON	M1	VI4	St0437	CE
Loire-Bretagne	04067400	THEOLS à SAINTE-LIZAIGNE	M1	THE	St0438	CE
Loire-Bretagne	0437195S0002	STEU La Grange David	M1	LAG	STEU03	STEU
Martinique	8201101	Trace des jésuites	M1	JES	StMar06	CE
Martinique	8521102	Pont RN1	M1	RN1	StMar07	CE
Martinique	8521102	Pont RN1	M2	RN1	StMar07	CE
Martinique	8521102	Pont RN1	M3	RN1	StMar07	CE
Martinique	8423101	Pont de Chaînes	M1	CHI	StMar08	CE
Martinique	8225101	Grand Galion	M1	GAL	StMar09	CE
Réunion	10520050	Etang du Gol	M1	GOL	LiReu04	EL
Réunion	10610160	La Rivière Saint-Etienne à la Chapelle	M1	STE	StReu03	CE
Réunion	10220145	La Rivière du Mât au pont RN 2	M1	MAT	StReu04	CE
Réunion	10300280	La Rivière Sainte-Suzanne aux Cascades	M1	STS	StReu07	CE
Réunion	10300280	La Rivière Sainte-Suzanne aux Cascades	M2	STS	StReu07	CE
Réunion	10300280	La Rivière Sainte-Suzanne aux Cascades	M3	STS	StReu07	CE
Rhin-Meuse	02018780	LA PETITE-FECHT À STOSSWIHR (B)	M1	PET	St0202	CE
Rhin-Meuse	02037500	LA SOUFFEL A MUNDOLSHEIM	M1	SOU	St0203	CE
Rhin-Meuse	02074000	LA MEURTHE A BOUXIERES	M1	MEU	St0205	CE
Rhin-Meuse	02103800	LA ROSSELLE A PETITE-ROSSELLE	M1	ROS	St0207	CE
Rhin-Meuse	02010000	LA THUR A STAFFELFELDEN	M1	THU	St0209	CE
Rhin-Meuse	02038000	L'ILL A LA-WANTZENAU	M1	ILL	St0210	CE
Rhin-Meuse	2038000	L'ILL A LA-WANTZENAU	M2	ILL	St0210	CE
Rhin-Meuse	2038000	L'ILL A LA-WANTZENAU	M3	ILL	St0210	CE
Rhin-Meuse	02049785	LA CLEURIE À GERARDMER (LE BEILLARD)	M1	CLE	St0211	CE
Rhin-Meuse	02056200	LA MOSELLE À TONNOY	M1	MO1	St0212	CE
Rhin-Meuse	02076800	LA MOSELLE À VANDIERES	M1	MO2	St0213	CE
Rhin-Meuse	2024900	LA MOSELLE À SIERCK	M1	MO3	St0214	CE
Rhin-Meuse	2024900	LA MOSELLE À SIERCK	M2	MO3	St0214	CE
Rhin-Meuse	2024900	LA MOSELLE À SIERCK	M3	MO3	St0214	CE
Rhin-Meuse	02109000	LA MEUSE A SAINT-MIHIEL	M1	ME1	St0215	CE
Rhin-Meuse	02118000	LA MEUSE A LUMES	M1	ME2	St0216	CE
Rhin-Meuse	02124000	LA MEUSE A GIVET	M1	ME3	St0217	CE
Rhin-Meuse	020810500005	STEU Charleville-Mézières	M1	MEZ	STEU04	STEU
Rhin-Meuse	025767201458	STEU Thionville	M1	THI	STEU05	STEU

Bassin	Code Sandre	Nom Station	Campagne	Abbréviation	Code Station	Masse d'eau
Rhône-Méd.-Corse	06118550	LUECH A GENOLHAC	M1	LUE	St0603	CE
Rhône-Méd.-Corse	06016000	OUCHE A CRIMOLOIS	M1	OUC	St0612	CE
Rhône-Méd.-Corse	06194800	ARC A ROUSSET 1	M1	AR1	St0632	CE
Rhône-Méd.-Corse	06195000	ARC A AIX-EN-PROVENCE	M1	AR2	St0633	CE
Rhône-Méd.-Corse	06195500	ARC A BERRE-L'ETANG	M1	AR3	St0634	CE
Rhône-Méd.-Corse	06457310	MARGRABANT A LARMIERE	M1	MAR	St0636	CE
Rhône-Méd.-Corse	6457310	MARGRABANT A LARMIERE	M2	MAR	St0636	CE
Rhône-Méd.-Corse	6457310	MARGRABANT A LARMIERE	M3	MAR	St0636	CE
Rhône-Méd.-Corse	06012080	VENELLE A FONCEGRIVE	M1	VEN	St0637	CE
Rhône-Méd.-Corse	6012080	VENELLE A FONCEGRIVE	M2	VEN	St0637	CE
Rhône-Méd.-Corse	6012080	VENELLE A FONCEGRIVE	M3	VEN	St0637	CE
Rhône-Méd.-Corse	06018500	DOUBS A MORTEAU 1	M1	DOB	St0638	CE
Rhône-Méd.-Corse	06063900	ARVE A ARTHAZ-PONT-NOTRE-DAME 1	M1	ARV	St0639	CE
Rhône-Méd.-Corse	060913001006	STEU Aix-en-Provence Ouest	M1	AIX	STEU06	STEU
Seine-Normandie	03017000	L'AUBE A DOLANCOURT 1	M1	AUB	St0317	CE
Seine-Normandie	03005200	LA SEINE A SAINT-LYE 1	M1	SEI	St0318	CE
Seine-Normandie	03104450	LA SOMME-SOUDE A CHAINTRIX-BIERGES 1	M1	SO1	St0319	CE
Seine-Normandie	3104450	LA SOMME-SOUDE A CHAINTRIX-BIERGES 1	M2	SO1	St0319	CE
Seine-Normandie	3104450	LA SOMME-SOUDE A CHAINTRIX-BIERGES 1	M3	SO1	St0319	CE
Seine-Normandie	03244000	L'ODON A BRETTEVILLE-SUR-ODON 1	M1	ODO	St0320	CE
Seine-Normandie	3244000	L'ODON A BRETTEVILLE-SUR-ODON 1	M2	ODO	St0320	CE
Seine-Normandie	3244000	L'ODON A BRETTEVILLE-SUR-ODON 1	M3	ODO	St0320	CE
Seine-Normandie	03187000	L'EURE A SAINT-LUPERCE 1	M1	EU1	St0321	CE
Seine-Normandie	03189000	L'EURE A JOUY 1	M1	EU2	St0322	CE
Seine-Normandie	03190300	L'EURE A CROTH 2	M1	EU3	St0323	CE
Seine-Normandie	03190080	L'EURE A MONTREUIL 1	M1	EU4	St0324	CE
Seine-Normandie	03193000	L'EURE A LERY 1	M1	EU5	St0325	CE
Seine-Normandie	03036650	L'ARMANCON A SEMUR-EN-AUXOIS 2	M1	ARM	St0326	CE
Seine-Normandie	03024560	L'ANGUISON A CERVON 1	M1	ANG	St0327	CE
Seine-Normandie	32737501000	STEU Louviers	M1	LOU	STEU07	STEU



Centre scientifique et technique
Direction Eau, Environnement, Procédés et Analyses (DEPA)
3, avenue Claude-Guillemin
BP 36009 – 45060 Orléans Cedex 2 – France – Tél. : 02 38 64 34 34
www.brgm.fr