



PROPOSITIONS ET MISE EN ŒUVRE DE TRAITEMENTS DES DONNEES DE SCREENING ENVIRONNEMENTAL : ACTION EMNAT-NTS

Anne Togola, François Lestremau, Charlotte Coureau, Coralie Soulier

Décembre 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 2020, 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

Charlotte Coureau
BRGM
c.coureau@brgm.fr

Coralie Soulier
BRGM
c.soulier@brgm.fr

Vérification du document :

Laurence Amalric
BRGM
l.amalric@brgm.fr

Les correspondants

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

Référence du document : Togola A., Lestremau F., Coureau C. et Soulier C. ; PROPOSITIONS ET MISE EN ŒUVRE DE TRAITEMENT DES DONNEES DE SCREENING ENVIRONNEMENTAL : ACTION EMNAT-NTS. Réseau de Surveillance prospective-AQUAREF; Rapport **BRGM/RP-69968-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>



PROPOSITIONS ET MISE EN ŒUVRE DE TRAITEMENTS DES DONNEES DE SCREENING ENVIRONNEMENTAL : ACTION EMNAT-NTS
Togola A., Lestremau F., Coureau C. et Soulier C.

RESUME

Dans le cadre du réseau de surveillance prospective, suite à l'acquisition des données en 2019 sur 82 stations d'eau de surface, des propositions de traitements des échantillons ont été faites en fonction de différents objectifs. Une exploration de ces approches a été mise en œuvre afin de démontrer leurs plus-values dans le cadre de l'identification de nouveaux composés d'intérêt pour la surveillance.

Mots clés (thématique et géographique) :

Screening non ciblé, eau de surface, FRANCE

PROPOSITIONS AND IMPLEMENTATION OF NON TARGET SCREENING DATA
PROCESSING: EMNAT-NTS ACTION
Togola A., Lestremau F., Coureau C. and Soulier C.

Abstract

In the frame of the French prospective monitoring network, after a national campaign on 82 surface water sampling sites, and non target screening (LC and GC) data acquisitions, several proposal of data processing are proposed and applied on a reduced set of compounds. The main aim is to demonstrate the potency of the approach for identifying new compounds of interest for the water quality assessment.

Key words :

Non target screening, surface water; prospective network, FRANCE

**PROPOSITIONS ET MISE EN ŒUVRE DE
TRAITEMENTS DES DONNEES DE SCREENING
ENVIRONNEMENTAL : ACTION EMNAT-NTS**

Rapport final
BRGM/RP-69968-FR
Décembre 2020

PROPOSITIONS ET MISE EN ŒUVRE DE TRAITEMENTS DES DONNEES DE SCREENING ENVIRONNEMENTAL : ACTION EMNAT-NTS

Rapport final

BRGM/RP-69968-FR

Décembre 2020

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

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

Vérificateur :

Nom : Amalric Laurence
Fonction : responsable unité
Date : 18/01/2021

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

	Sommaire	10
	Liste des annexes :	10
	Liste des figures :	11
1	INTRODUCTION / CONTEXTE	12
1	DONNEES ACQUISES LORS DE LA CAMPAGNE EMNAT-NTS	13
2	PROPOSITIONS ET RECOMMANDATIONS POUR LES TRAITEMENTS DES DONNEES	14
2.1	IDENTIFICATION DE MOLECULES A PARTIR DES BASES DE DONNEES	ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.
2.1.1	Traitements des empreintes nts	14
2.1.2	Classification des données.....	15
2.1.3	Gestion des contrôles-qualité	17
2.1.4	Format de restitution	17
2.1.5	Evaluation du temps de travail nécessaire	18
2.2	INTERPRETATION DES RESULTATS.....	19
2.2.1	Exploitation à l'échelle du jeu intégral de données.	19
2.2.2	Exploitation à l'échelle de sets partiels de données.....	19
2.3	APPLICATIONS.....	19
2.4	DETECTION D'ENTITES D'INTERETS– SUBSTANCES INCONNUES A IDENTIFIER.....	20
3	DEMONSTRATION DE MISE EN ŒUVRE.....	21
3.1	CHOIX DES CRITERES DE DEMONSTRATION	21
3.2	RESULTATS.....	22
3.2.1	Résultats GC-HRMS	22
3.2.2	Résultats LC-HRMS.....	23
4	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	25
	Liste des annexes :	
	Annexe 1 :RESULTATS DETAILLES.....	28

Liste des figures :

Figure 1. Implémentation du schéma de priorisation par intégration des données NTS, de V Dulio et al., NORMAN Framework for prioritisation of emerging contaminants .	13
Figure 2 : exemple de typologie de bases interne et externe, nombre/répartition par famille.	15
Figure 3: logigramme proposé pour la restitution des résultats par LC/HRMS. M ^{+/-} : Masse exacte de l'ion moléculaire expérimentale ; RT : Temps de rétention chromatographique ; RTI : Retention Time Index	16
<i>Figure 4: logigramme proposé pour la restitution des résultats par GC/HRMS. Le score correspond au score fourni par le logiciel « unknowns » (Agilent) lors du traitement de données.....</i>	16
Figure 5: Comparaison des fréquences de détection entre les campagnes DEMO et EMNAT-NTS, résultats GC-HRMS.....	22
Figure 6: Comparaison des fréquences de détection entre les stations METRO et DROM, résultats GC-HRMS	23
Figure 7: Comparaison des fréquences de détection entre les campagnes DEMO et EMNAT-NTS, résultats LC-HRMS.....	23
Figure 8: Comparaison des fréquences de détection entre les stations METRO et DROM, résultats LC-HRMS.....	24
Figure 9: Comparaison des fréquences de détection (associée au nombre d'échantillon) par bassin, résultats LC-HRMS.	24
Figure 10: Evolution des fréquences de détection entre les 3 campagnes de mesure, 16 stations.....	25

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'eaux de surface (ESU) a été mise en œuvre entre 2018 et 2019. Cette action s'est adossée à la campagne nationale prospective de recherche de nouveaux polluants (EMNAT) ce qui a permis de bénéficier d'une part de la procédure de sélection des stations, permettant d'assurer une bonne représentativité des stations retenues et d'autre part de la logistique très importante de l'exercice, tant sur le nombre d'échantillons prélevés, que sur la prise en considération des problématiques d'assurance qualité (blanc terrains). Ces données sont à présents bancarisées dans deux laboratoires, BRGM et INERIS (BRGM/RP-69967-FR¹).

En parallèle, un exercice plus méthodologique (RSP action DEMO-NTS²) visant à éprouver les différentes approches en termes de traitements de données issues des analyses de screening non ciblés a permis d'élaborer un cadrage méthodologique. Mises en œuvre sur un nombre limité de stations, ces méthodologies peuvent à présent être déployées sur un jeu de données de plus grande ampleur.

Dans l'objectif de prioriser les travaux de traitements des données à venir sur ces données bancarisées, différentes propositions ont été présentées au comité de pilotage (COPIL) du RSP en juin 2020. En complément de ces suggestions, des essais de mises en œuvre ont été réalisés sur l'intégralité du jeu de données afin de montrer les types d'informations acquises par ces nouvelles approches et leurs voies d'introduction dans les schémas de priorisation tel que proposé par le consortium NORMAN³. Cela est présenté dans la Figure 1.

¹ 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

² A. Togola, C. Guillemain, F. Lestremau, C. Coureau, C. Margoum, C. Soulier ; Applicabilité du screening non ciblé pour la surveillance : ACTION DEMO-NTS. Réseau de Surveillance prospective-AQUAREF ; Rapport BRGM/RP-70108-FR.

³ J. Hollender, B. van Bavel, V. Dulio, E. Farnen, K. Furtmann, J. Koschorreck, U. Kunkel, M. Krauss, J. Munthe, M. Schlabach, J. Slobodnik, G. Stroomberg, T. Ternes, N. S. Thomaidis, A. Togola and V. Tornero, *Environmental Sciences Europe* **2019**, 31, 11.

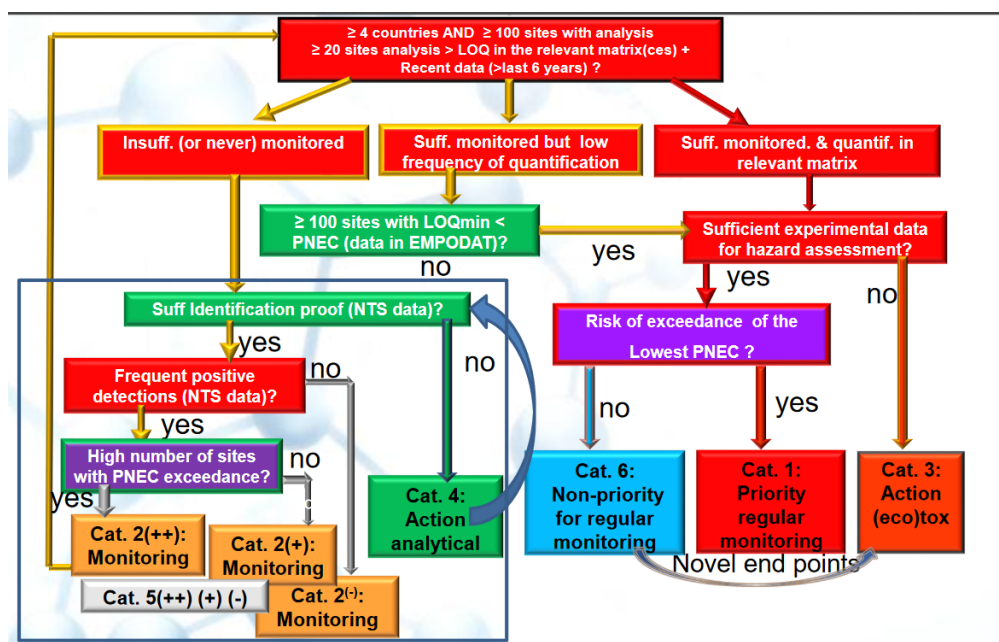


Figure 1. Implémentation du schéma de priorisation par intégration des données NTS, de V. Dulio et al., NORMAN Framework for prioritisation of emerging contaminants

1 DONNEES ACQUISES LORS DE LA CAMPAGNE EMNAT-NTS

Les empreintes NTS sont stockées dans les deux laboratoires ayant effectué l'acquisition des données, BRGM et INERIS. Le descriptif du travail mis en œuvre est réalisé dans le rapport BRGM/RP-69967-FR.

Pour chaque échantillon d'eau, 3 empreintes sont associées, comme défini dans des travaux précédents^{4,5} :

- Extrait SPE (Extraction en phase solide) / analyse par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (LC/HRMS) en mode d'ionisation ESI⁺ (paramètre : empreinte A)
- Extrait SPE / analyse LC/HRMS en mode d'ionisation ESI⁻ (paramètre : empreinte B)
- Extrait LLE (Extraction Liquide-Liquide) / analyse par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (GC/HRMS) (paramètre : empreinte C)

Les analyses ont été réalisées sur 82 stations d'eau de surface (dont 16 lors de 3 campagnes réparties sur 2018 pour les analyses LC/HRMS) et 7 eaux de rejets de station d'épuration (STEU). Il s'agit d'un set d'environ 120 échantillons et donc de quasiment 320 analyses, hors blancs (terrain et contrôle laboratoire).

⁴ SANDRE ; Note méthodologique : Collecte et échange des données relatives à la surveillance de milieux aquatiques au travers de la réalisation d'analyses non ciblées (non-target screening ou NTS). 09/12/2019

⁵ Sophie Lardy et al. Propositions et éléments de réflexion pour la création d'une banque d'échantillons et d'empreintes d'analyse chimique non ciblée (NTS) 54 pages

2 METHODE POUR L' IDENTIFICATION DE MOLECULES A PARTIR DES BASES DE DONNEES

2.1 TRAITEMENTS DES EMPREINTES NTS

2.1.1 Comparaisons aux bases de données (BDD)

Une entité est un couple temps de rétention / masse (m/z), détectée par chromatographie couplée à la HRMS. Les empreintes NTS de chaque échantillon sont composées de dizaines de milliers d'entités, qu'il faut comparer aux informations présentes dans les bases de données, pour tenter d'identifier des molécules.

Une base de données (BDD) en NTS contient une liste de molécules associées à des paramètres d'identification (masse exacte, mode d'ionisation, temps de rétention chromatographique, données de fragmentations, etc.) acquis lors de l'injection d'un étalon analytique. Ces BDD sont plus ou moins complètes en fonction de leur provenance (interne ou externe au laboratoire). Une BDD interne est acquise en injectant les étalons analytiques et les échantillons selon la même méthode d'analyse, de ce fait les temps de rétention et la fragmentation seront comparables.

Le travail de traitement selon différentes BDD a été développé dans le cadre de l'exercice de démonstration DEMO sur un panel restreint de 20 stations. La complémentarité des approches a ainsi été mise en évidence : le fait de s'appuyer sur des BDD externes (Agilent, Waters, NIST) permet d'élargir les recherches en augmentant le nombre de substances recherchées, mais alourdit le travail de traitement des échantillons. L'incertitude sur les identifications est plus grande, comme décrit dans les Figure 3 et Figure 4 mais le gain d'information est conséquent. Il s'agit d'une première étape, exploratoire, dont les résultats demandent à être confirmés par l'injection des étalons analytiques, mais qui permet de prioriser les composés les plus intéressants à confirmer.

Le traitement de données sera effectué en utilisant des BDD internes générées par les laboratoires et des BDD « externes » provenant principalement des constructeurs des instruments utilisés. Les bases de données internes sont en évolution continue, mais des exemples de typologie de bases sont présentés dans la Figure 2.

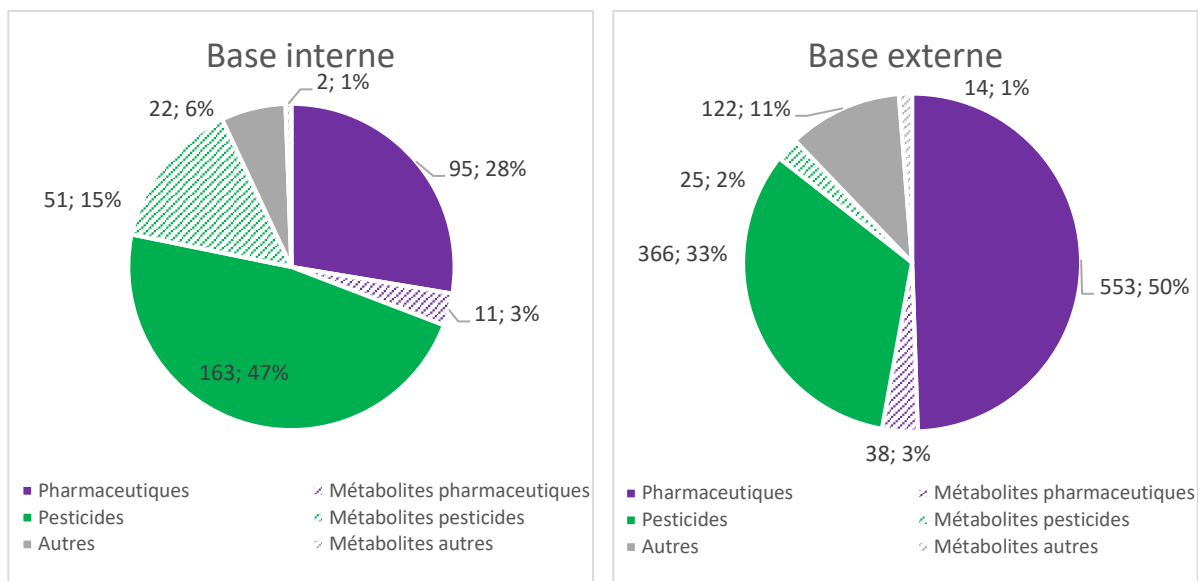


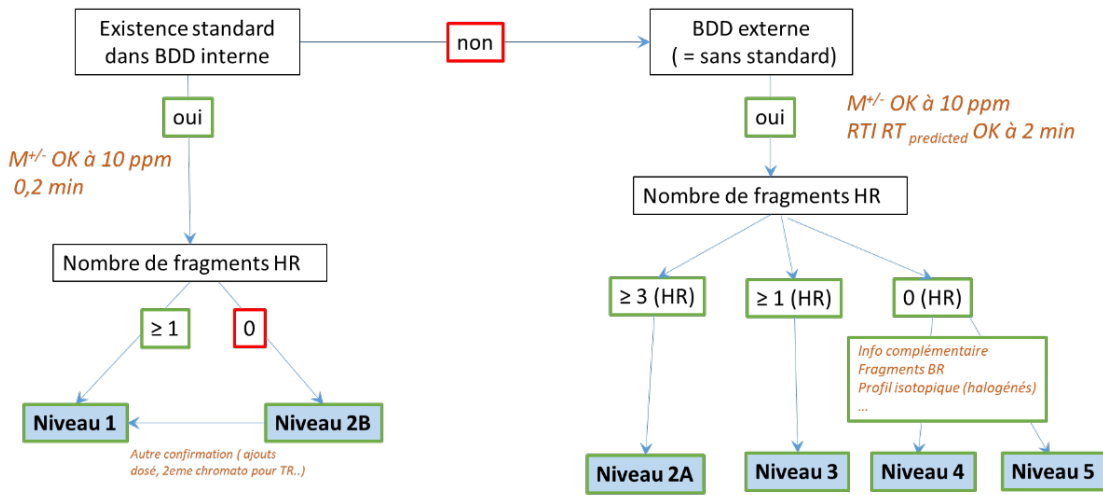
Figure 2 : Exemple de typologie de bases interne et externe, nombre/répartition par famille.

Des bases de données spécifiques peuvent être constituées, orientées sur une typologie de substances ou sur un objectif particulier. Par exemple dans le cadre du projet DEMO, une base spécifique a été créée, intégrant des produits de transformation de composés d'intérêt (phytopharmaceutiques et pharmaceutiques) ainsi que des substances potentiellement perturbatrices endocriniennes.

2.1.2 Classification des données

Les identifications de substances seront associées à un niveau de confiance inspiré de la classification Schymanski du niveau 1 le plus élevé (identification de la substance) au niveau 3 (identification possible de la substance) que nous considérons comme le plus faible avec une certitude suffisante pour donner une dénomination de substance.

Cette classification sera effectuée selon les logigrammes proposés ci-après. Ils sont fournis par technique analytique car chacune produit un signal spécifique, ce qui implique un schéma de classification adapté. Le schéma pour la LC est celui adopté dans l'étude de démonstration. Celui pour la GC a été légèrement adapté suite aux enseignements obtenus lors du traitement des données de l'étude DEMO et des essais de traitement sur les données EMNAT.



$M^{+/-}$: Masse exacte de l'ion moléculaire expérimentale ; RT : Temps de rétention

HR Haute réso ///BR basse Réso

Figure 3: Logigramme proposé pour la restitution des résultats par LC/HRMS

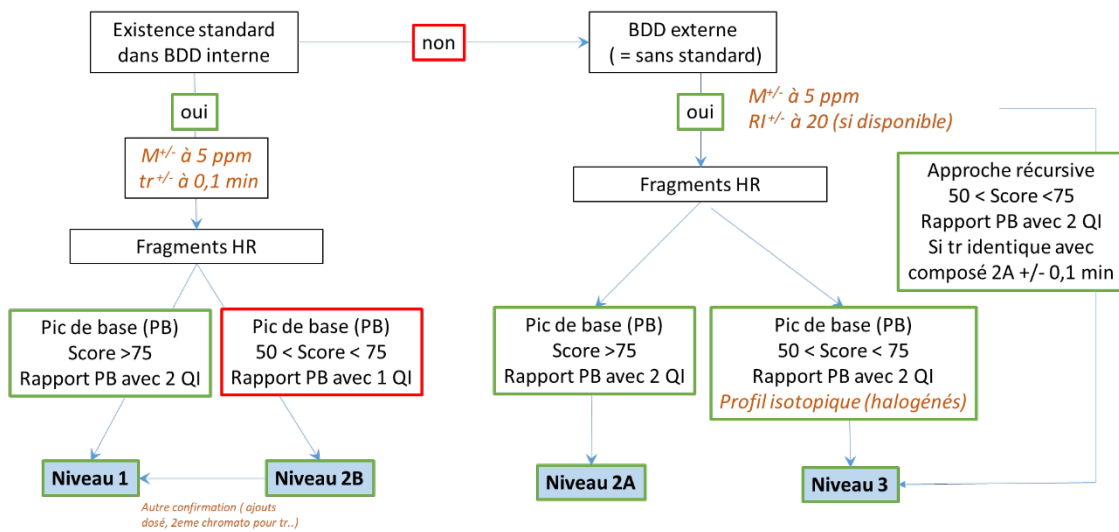


Figure 4: Logigramme proposé pour la restitution des résultats par GC/HRMS. Le score correspond au score fourni par le logiciel « unknowns » (Agilent) lors du traitement de données

2.1.3 Gestion des contrôles qualité

2.1.3.1 Gestion des blancs

Les blancs peuvent être divisés en 2 catégories :

Blancs laboratoire

- Blancs d'injection qui consistent à vérifier une contamination potentielle de la méthodologie analytique : solvants, colonnes, tuyaux, pompes, sources d'ionisation, etc.
- Blancs méthodes qui consistent à vérifier la contamination potentielle lors de la préparation d'échantillons (provenant des solvants d'extraction, des matériaux des dispositifs d'extraction etc.) et lors du protocole analytique.

Les composés identifiés dans les blancs méthodes selon les logigrammes présentés précédemment (tous niveaux confondus) seront comparés par rapport aux composés identifiés dans les échantillons. Seuls les composés présentant un rapport d'aire supérieur à 10 entre l'échantillon et le blanc (moyenne des aires des différents blancs méthodes) seront reportés.

Blancs terrain

- Blancs effectués lors du prélèvement de 24 échantillons de la campagne EMNat d'eau de surface (pas de blanc terrain pour les échantillons des eaux de rejets)

Les résultats des blancs terrains seront rapportés comme ceux des échantillons et permettront de mettre en évidence des potentielles contaminations directement attribuables au prélèvement (notamment en comparant avec les blancs méthodes).

2.1.3.2 Suivi des étalons internes

Les échantillons ont été dopés avant extraction (traceurs d'extraction) et avant analyse (traceurs d'injection) par des étalons internes. Ces étalons, choisis pour être représentatifs de certaines classes de polluants, ont pour objectif de vérifier le bon déroulement de ces 2 étapes, notamment les pertes éventuelles des composés d'intérêt.

Les résultats obtenus sur les étalons internes seront traités et concerneront le suivi, pour chaque étalon interne :

- des aires,
- des temps de rétention,
- des masses mesurées/masses théoriques.

Le traitement de ces informations permettra de s'assurer de la qualité des données traitées. Ces contrôles qualité permettront potentiellement d'envisager une quantification *a posteriori* pour des molécules d'intérêt (après complément analytique).

2.1.4 Format de restitution

Pour la totalité des échantillons traités, les données obtenues seront, par échantillon, la liste des substances identifiées (nom, CAS, SANDRE le cas échéant) et le niveau de confiance associé. En parallèle, la liste des substances recherchées et leur BDD d'origine seront fournies.

En complément, le travail sera complété par les connaissances sur les échantillons (dates des campagnes, typologie de stations, pressions anthropiques associées, ordre de Strahler pour les continuums, distance à la principale STEU, etc.) selon les données disponibles.

2.1.5 Evaluation du temps de travail nécessaire aux différents retraitements suspects des empreintes NTS.

Ce traitement doit être réalisé sur les 155 échantillons et les 3 types d'analyses associées (2 analyses LC-HRMS et 1 analyse GC/HRMS), et avec chacune des BDD d'intérêt. Le traitement est la comparaison des informations contenues dans les empreintes avec celles des BDD, afin d'identifier les entités présentes.

La constitution d'une BDD spécifique « suspects » demande des recherches complémentaires (bibliographiques) afin d'agrèger les informations les plus pertinentes pour sécuriser l'identification. Elle peut ensuite être intégrée et traitée simultanément aux BDD externes (cf. logigrammes figures 3 et 4). Le temps présenté ici est une évaluation par extrapolation du temps nécessaire pour l'étude DEMO, et doit pouvoir être un peu optimisé par l'effet de masse du nombre d'échantillons.

Tableau 1 : Estimation, en jours, du temps de traitement des empreintes NTS

	BDD int LC	BDD ext LC Waters + BDD spécifique	BDD int GC	BDD ext GC Agilent / spécifique
Création	so	10 j (pour 200 composés)	so	so
Retraitement analyses LC ESI neg HRMS	15 j	30 j		
Retraitement analyses LC ESI pos- HRMS	15 j	30 j		
Retraitement analyses GC HRMS			20 j	30 j
Agrégation des résultats, contrôle cohérence, contrôle qualité et formalisation du fichier	10 j			

2.2 EXPLOITATIONS DES RESULTATS

Suite au traitement des empreintes NTS, la réelle exploitation des résultats, basée sur l'identification de molécules peut débuter. Elle peut être menée à différentes échelles selon le type d'information requises. Sont présentées ici différentes propositions, qui peuvent être revues et élargies en fonction des besoins.

2.2.1 Exploitation à l'échelle du jeu intégral d'échantillons

Le jeu d'échantillons à disposition est très large en termes de nombre de stations, et représentatif du territoire national, ultra-marin compris (en termes de pression anthropiques, couverture nationale, de typologie des stations). Il permet donc d'imaginer un large champ d'investigation.

L'exploitation peut permettre d'identifier les molécules les plus fréquemment détectées, selon différents critères géographiques, de typologie des sites, par familles de substances (phytopharmaceutiques, pharmaceutiques, etc.), usages (agricole, vétérinaire, urbain, etc.), forme (produits parent/produits de dégradation), par classification (réglementaire ou non). Ces résultats peuvent ainsi préfigurer des campagnes de mesures globales (type campagne exceptionnelle nationale) ou plus ciblées sur un objectif (type de pression, spécificité bassins, ...).

2.2.2 Exploitation à l'échelle de sets partiels de d'échantillons

Pour des questions plus précises et des recherches plus exhaustives, il est possible de se concentrer sur des sous-ensembles du jeu de données, pour répondre à des questions d'enjeux plus locaux (à l'échelle de bassins, en considérant indépendamment chaque continuum fluvial, etc.).

Il est notamment possible de se focaliser sur les 6 continuums fluviaux, chacun constitué de 5 stations de mesure (ESU) et d'un rejet de STEU associé. Une étude plus poussée des molécules présentes permettra de répondre à certaines questions, comme :

- l'évolution des substances identifiées le long des continuums, type de composés, composés parents/ produits de dégradation,
- la corrélation avec les résultats obtenus sur les STEU, comme potentielle source de certains contaminants.

2.3 APPLICATIONS

Les données d'occurrence ainsi acquises peuvent être exploitées dans toutes les démarches de priorisation, locale, nationale ou européenne, permettant ainsi de mieux cibler les molécules d'intérêt.

Ce travail sera effectué en 2021 sur les données des STEU, en vue de la révision prochaine de l'arrêté RSDE.

Une approche par semi-quantification (en intégrant des analyses complémentaires au laboratoire avec une calibration analytique pour les substances d'intérêt) peut être envisagée si l'on souhaite dépasser l'identification des composés et disposer d'un ordre de grandeur de concentration à confronter à des valeurs seuils écotoxicologiques par exemple.

La comparaison des nombres/ types de molécules par station, le suivi des continuums, même à travers les quelques stations échantillonnées, peut permettre d'identifier des stations à enjeux, sur des molécules qui n'auront jamais été recherchées.

Dans le cadre de programmes visant des familles de composés spécifiques, de par leurs usages (ex phytopharmaceutiques agricoles) ou leurs effets (perturbateurs endocriniens), ces résultats permettraient de pré-cibler, soit des stations sur lesquelles ces substances ont été retrouvées, soit quels composés sont les plus fréquemment détectés (potentiellement représentatifs) par famille et sur lesquels une attention particulière peut être portée. Cela peut permettre de pré-dimensionner une étude et de fait d'en réduire les coûts de mise en œuvre des analyses quantitatives.

3 METHODE POUR LA DETECTION D'ENTITES D'INTERETS – traitements non ciblés

3.1 TRAITEMENT DES EMPREINTES-NTS

Comme déjà défini, une entité est un couple temps de rétention / masse (m/z), détectée par chromatographie couplée à la HRMS. Sur les dizaines de milliers d'entités présentes dans chaque échantillon, seules quelques dizaines sont identifiées avec succès comme des substances, tel que décrit précédemment. Néanmoins, l'ensemble du signal, l'empreinte chimique de l'échantillon, peut être directement exploitée par des outils statistiques, afin d'identifier les entités d'intérêt (en tant que molécules non identifiées). Cette approche est indépendante de la procédure présentée précédemment pour l'identification de molécules.

Cependant, les contrôles qualité restent importants, même s'ils peuvent être plus difficiles à appréhender. Le suivi des étalons internes (présenté en 2.1.3.2) reste similaire, puisqu'il garantit le bon déroulement de toutes les étapes analytiques préalables. Les blancs sont traités au même titre que les échantillons et peuvent permettre de discriminer des entités spécifiques des échantillons de celles présentes aussi dans les blancs (donc potentiellement liée à des contaminations) et ainsi de considérer les résultats avec un regard critique.

3.2 APPLICATIONS

Cette approche pourrait être explorée en utilisant des sets de données partiels (continuums, associés aux STEU) afin de déterminer des entités d'intérêt. Ces informations seraient ensuite compilées et évaluées, afin de juger de leur pertinence (traceurs de sources, discrimination de typologie de stations, évolution globale temporelle des empreintes, etc.).

Il est de plus possible d'identifier des entités (molécules non identifiées), présentes sur un nombre significatif de stations. Cette liste d'entités peut être transmise au niveau du réseau NORMAN (NORMANEWS) pour être recherchés dans d'autres pays européens afin de juger de leur pertinence. Dans certains cas, des efforts d'identification peuvent être menés, pour remonter à un nom de substance.

4 ILLUSTRATION DE MISE EN ŒUVRE

Afin de montrer le champ des possibles à partir de la banque d'empreintes NTS disponibles, des essais ont été menés sur le set d'analyses. Les éléments rapportés ci-dessous illustrent les résultats d'un de ces essais portant sur l'occurrence d'un jeu limité de molécules à partir de l'intégralité du jeu d'empreintes EMNAT-NTS.

Le travail effectué dans le cadre de l'exercice EMNAT s'apparente à un exercice de routine (1 laboratoire en charge du traitement). Les résultats sont comparés à ceux de l'exercice DEMO, réalisé dans un esprit de projet de recherche : intervention de trois laboratoires, multiplication des contrôles qualité et des vérifications sur les résultats obtenus. L'objectif est de voir comment le passage en « routine », toujours par un laboratoire expert sur les données qu'il a lui-même produites, est réalisable.

4.1 CHOIX DES CRITERES DE DEMONSTRATION

L'approche éprouvée correspond à la recherche de substances d'intérêt à partir des BDD externes présentée dans le chapitre 2.

Les substances ont été choisies selon différents critères :

- ne pas être des substances suivies régulièrement,
- appartenir à différentes classes de familles chimiques,
- avoir été retrouvées lors de l'exercice de démonstration (DEMO-NTS) sur au moins 20% des sites, afin de disposer d'éléments de comparaison.

Les résultats sont comparés à ceux de la campagne DEMO-NTS afin d'évaluer l'effet d'un changement d'échelle en terme de nombre de stations (de 20 à 85, avec des critères de sélection comparable) et de la prise en compte de campagnes saisonnières.

En fonction de ces critères, 7 composés ont été retenus pour cet essai :

- Pour la LC/HRMS, la clarithromycine (antibiotique), le métazachlor ESA (métabolite pesticide), la terbutryne (pesticide) et le triméthoprim (antibiotique). La clarithromycine a de plus été recherchée dans le cadre du suivi européen de la liste de vigilance, sur 26 stations de mesures lors de 4 campagnes réparties sur 2 ans⁶.
- Pour la GC/HRMS : le fluxapyroxad (pesticide), le 2,4,6-tribromophénol (phénol) et le dicyclohexyl phthalate (phtalate).

⁶ Togola A., Lardy-Fontan S. et Lestremau F. ; 2019. SYNTHÈSE DES RESULTATS DES CAMPAGNES NATIONALES « LISTE DE VIGILANCE » . Réseau de Surveillance prospective-AQUAREF; Rapport BRGM/RP-69183-FR .39p

4.2 RESULTATS

Aucune des 7 substances suivies n'a été retrouvée dans les blancs laboratoire, ni dans les blancs terrain, aussi bien en LC-HRMS qu'en GC-HRMS. Résultats GC-HRMS

81 échantillons ont été analysés pour la recherche des 3 composés analysables par GC. Les fréquences de quantification obtenues pour ces 3 substances sont présentées dans la figure 5. Elles sont comparées avec celles obtenues pour les 20 échantillons d'eaux de l'étude de démonstration (les résultats complets sont présentés en annexe 1).

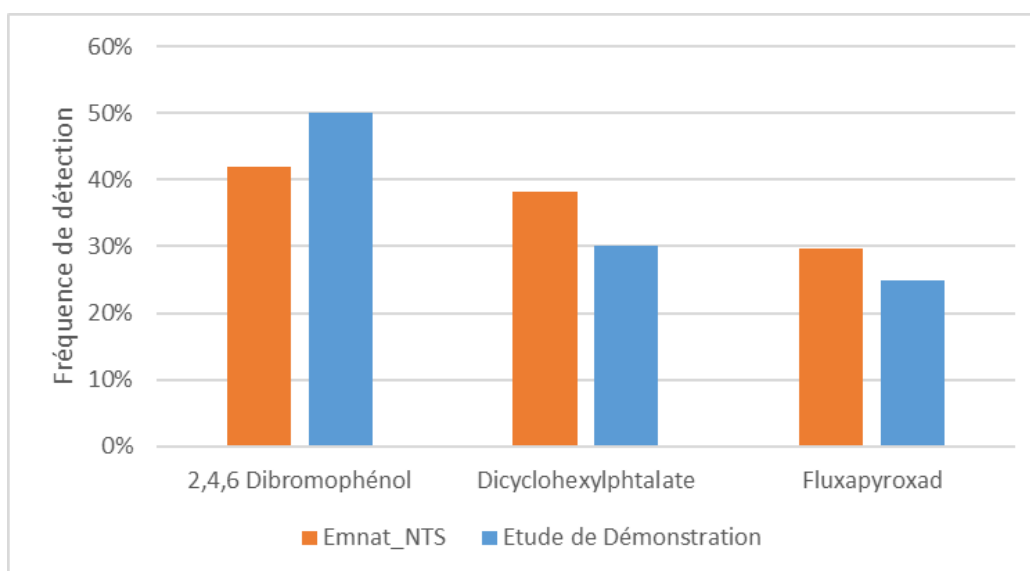


Figure 5: Comparaison des fréquences de détection entre les campagnes DEMO et EMNAT-NTS, résultats GC-HRMS

Les fréquences de détection pour les 3 composés sont comprises entre 30% et 42% dans les sites suivis dans l'étude EMNAT-NTS. Comparativement aux résultats observés dans l'étude DEMO, ces taux sont très similaires, avec des amplitudes de variations de moins de 8%.

La comparaison entre les stations de métropole et celles des DROM montre que les fréquences de détection sont sensiblement différentes, allant jusqu'à des écarts de 100% (dicyclohexylphthalate), à corrélérer potentiellement à des différences d'usages.

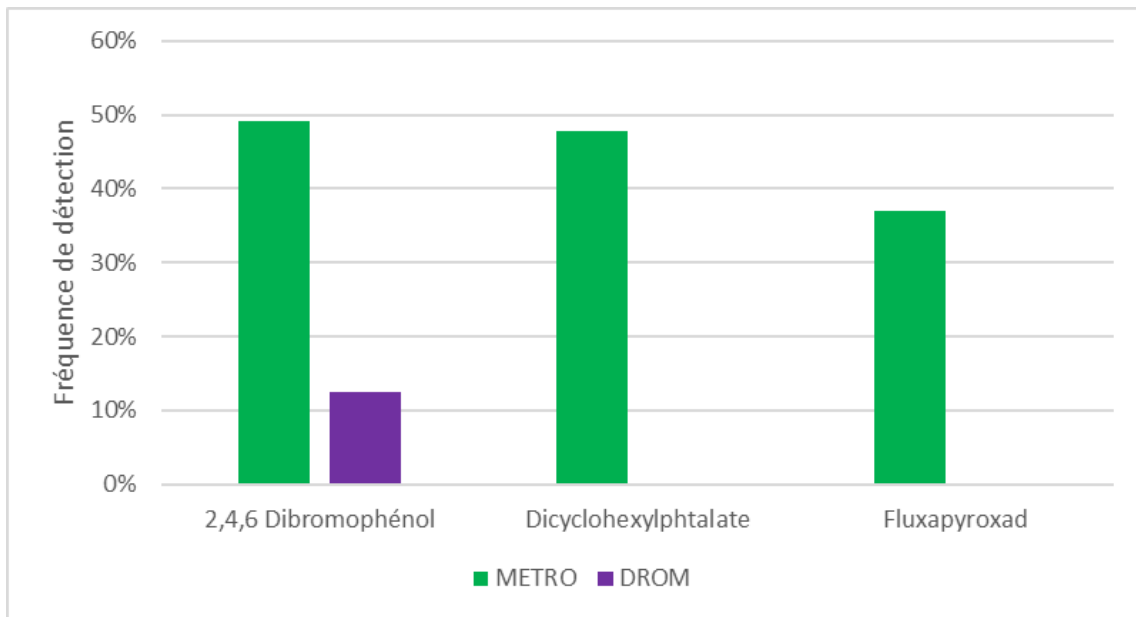


Figure 6: Comparaison des fréquences de détection entre les stations METRO et DROM, résultats GC-HRMS

4.2.1 Résultats LC-HRMS

La comparaison des jeux de données EMNAT-NTS et DEMO montre le même type de résultats pour les analyses en LC-HRMS, avec de très fortes similitudes en terme de fréquences de détection pour 3 substances (moins de 10% de variation) à l'exception du triméthoprim, pour lequel la fréquence de détection dans le jeu EMNAT est beaucoup plus élevée (38% contre 20%).

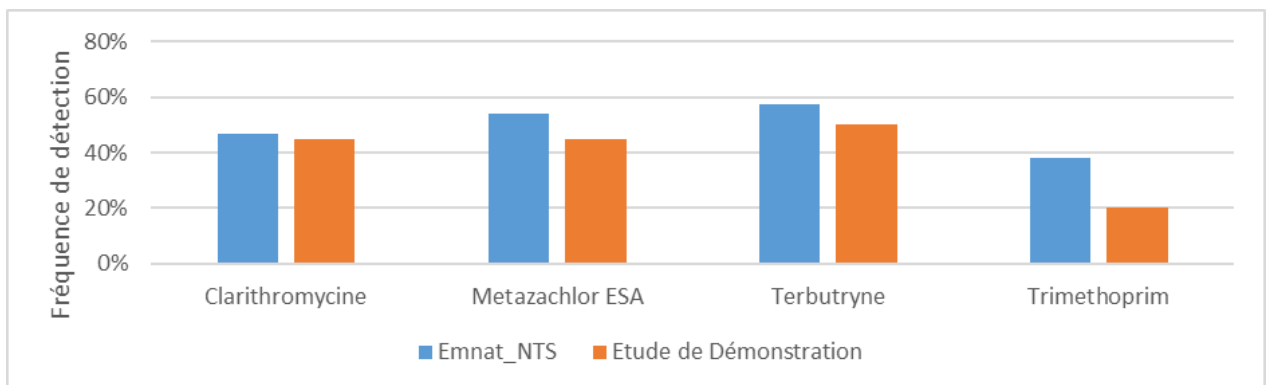


Figure 7: Comparaison des fréquences de détection entre les campagnes DEMO et EMNAT-NTS, résultats LC-HRMS

La comparaison entre les stations de métropole et celles des DROM met aussi en évidence des taux de détection très différents, de 30% à 70%, sauf pour la terbutryne (moins de 10%).

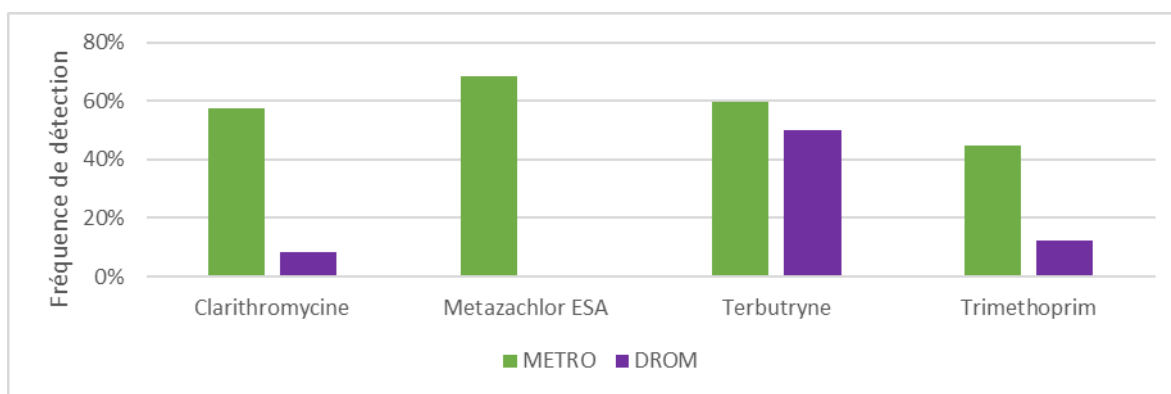


Figure 8: Comparaison des fréquences de détection entre les stations METRO et DROM, résultats LC-HRMS

Concernant la clarithromycine, cette molécule fait partie de la première liste de vigilance, suivie en 2016 et 2017. La fréquence de détection obtenue lors de cet exercice (de 47 % sur un set de 26 stations métropolitaine) est tout à fait comparable à celle présentée ici (57% sur les stations métropolitaines).

La même approche peut être explorée à l'échelle de chaque bassin, ce qui pourrait aider dans la discrimination des substances à surveiller, à l'échelle nationale ou à l'échelle des bassins, comme présenté dans la Figure 9. Ce traitement met en évidence, particulièrement au niveau des DROM, d'importantes différences d'usages des substances.

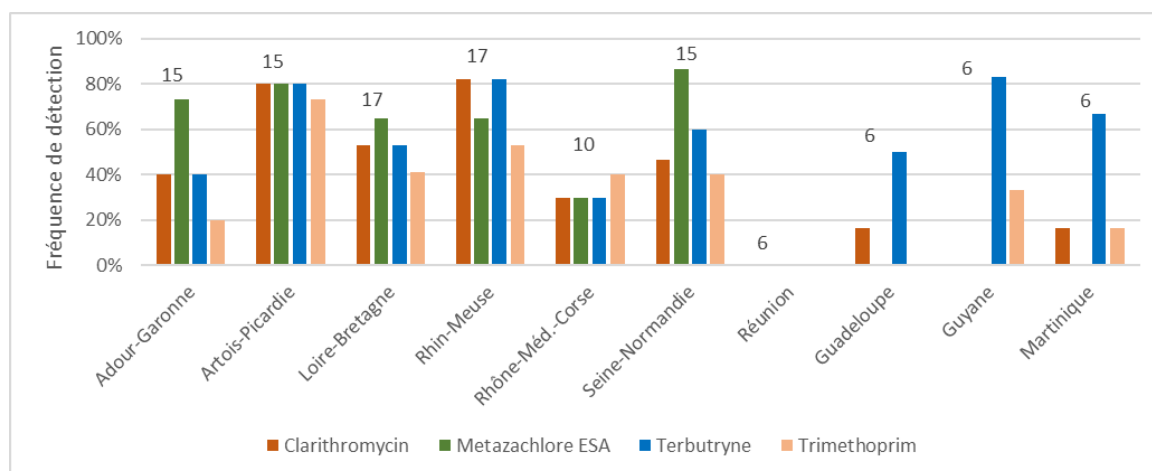


Figure 9: Comparaison des fréquences de détection (associée au nombre d'échantillon) par bassin, résultats LC-HRMS.

Il est aussi possible sur les stations échantillonnées lors de 3 campagnes, d'observer le faible impact saisonnier sur ces 3 substances, à l'exclusion du métazachlor ESA, produit de dégradation d'une substance phytosanitaire appliquée saisonnièrement.

Les échantillons de la campagne 1 ont été prélevés entre mars et mai 2018, ceux de la campagne 2 en septembre (1 station en novembre) et ceux de la campagne 3 en novembre (1 station en décembre).

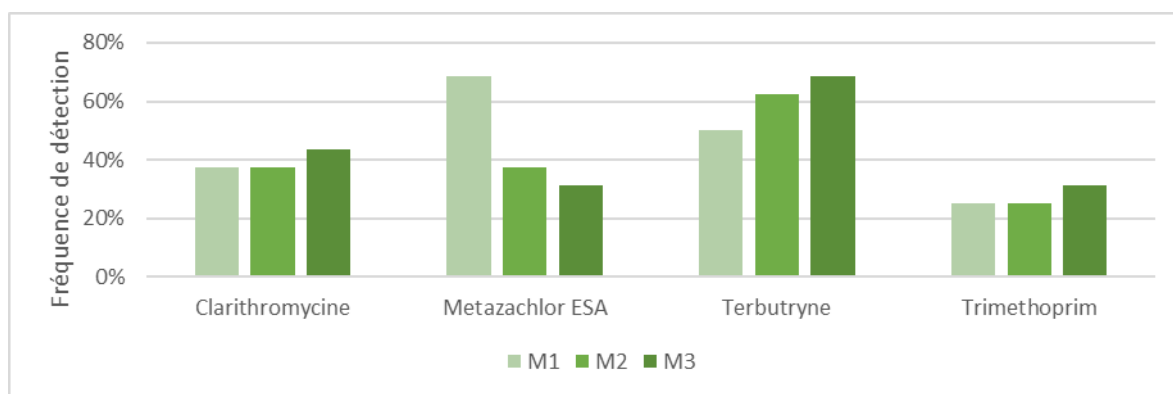


Figure 10: Evolution des fréquences de détection entre les 3 campagnes de mesure, 16 stations.

5 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ce livrable a pour objectif de mettre en évidence comment les données acquises lors de l'exercice EMNAT-NTS pourraient être exploitées *a posteriori* de l'analyse.

La démonstration présentée ici, sur un jeu de molécules très réduit, permet d'ores et déjà de montrer des premières pistes applicatives. Ainsi des molécules candidates à des campagnes de monitoring pourraient être préalablement recherchées dans le set d'empreintes disponible, que ce soit à l'échelle nationale ou des bassins.

Cette approche « suspect » permet, en première intention, de vérifier si une molécule retrouvée sur un bassin est aussi présente dans une autre bassin...

Un simple contrôle préalable analytique, pour s'assurer que la molécule d'intérêt est bien analysable par une des méthodes d'acquisition, est alors nécessaire.

La comparaison avec les résultats de l'exercice DEMO, plus orienté recherche montre que pour ce type de traitement « suspect » la mise en routine par des laboratoires expert est envisageable. Si le temps passé nécessaire aux traitements des données reste conséquent, diverses actions d'automatisation de certaines étapes sont en cours de développement. L'intérêt de cette approche est la possibilité de travailler de manière itérative, sur un traitement des données plus ou moins exhaustif selon le besoin.

Les traitements des données pour l'identification de substances demandent un investissement conséquent pour assurer la mise à disposition d'un fichier de résultats, par la suite exploitable très facilement et rapidement, et pouvant répondre à de très nombreux enjeux, tant à l'échelle nationale que beaucoup plus locale.

Les empreintes NTS acquises lors de l'exercice EMNAT représentent une image nationale représentatives des différentes typologies de pressions et de stations de mesures et prend en compte la métropole et les DROM. Les différences de résultats mises en évidence dans cette étude semblent montrer la pertinence de se doter d'un large panel de stations afin de pouvoir identifier des molécules communes, mais aussi des molécules spécifiques.

Dans cet essai, les stations ont été classées par Agence, mais des analyses plus fines peuvent être réalisées en fonction des caractéristiques des stations retenues (typologie de pression, continuum, présence de STEU...)

L'exemple du métazachlore-ESA (métabolite de substance phytosanitaire), montre que l'acquisition de données lors de 3 campagnes de mesures peut mettre en évidence des usages

saisonniers, ce qui peut permettre de mieux établir les stratégies des campagnes de surveillance.

Une action d'exploitation de cette base concernant les données de STEU se déroulera en 2021, pour la révision du prochain arrêté RSDE. Cela devrait permettre de mettre encore plus en évidence cet intérêt, en préfigurant potentiellement l'utilisation du jeu de données complet dans les prochains exercices concernant les eaux superficielles.

ANNEXES

Annexe 1 :RESULTATS DETAILLES

Résultats détaillés pour le suivi de 3 substances par GC/HRMS

		NB de sites				Fréquence de détection		
		nb	2,4,6 Dibromo phénol	Dicyclohexyl phtalate	Fluxapyroxad	2,4,6 Dibromo phénol	Dicyclohexyl phtalate	Fluxapyroxad
	blancs terrain métropole	23	0	0	0	0%	0%	0%
Emnat_NTS	blancs terrain DROM	4	0	0	0			
	Echantillons métropole (M1)	65	32	31	24	49%	48%	37%
	Echantillons DROM (M1)	16	2	0	0	13%	0%	0%
	Total échantillons	81	34	31	24	42%	38%	30%
Etude de Démonstration								
	Echantillons	20	10	6	5	50%	30%	25%

Résultats détaillés pour le suivi de 4 substances par LC/HRMS

		Nb de sites					Fréquence de détection			
		nb	Clarithro.	Metazachlor ESA	Terbutryne	Trimetho prim	Clarithro.	Metazachlor ESA	Terbutryne	Trimetho prim
	blancs terrain	21	0	0	0	0	0%	0%	0%	0%
Emnat_NTS	Echantillons métropole (M1)	66	38	50	38	31	58%	76%	58%	47%
	Echantillons métropole (M1/M2/M3)	89	51	61	53	40	57%	69%	60%	45%
	Echantillons DROM (M1)	16	2	0	6	3	13%	0%	38%	19%
	Echantillons DROM (M1/M2/M3)	24	2	0	12	3	8%	0%	50%	13%
	Total échantillons	113	53	61	65	43	47%	54%	58%	38%
DEMO										
	Echantillons	20	9	9	10	4	45%	45%	50%	20%



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