

Analyse suspectée et non ciblée de contaminants organiques dans des échantillons environnementaux

Mots-clés : analyse moléculaire, contamination, substances organiques

Type d'outil	Milieux étudiés	Disciplines mobilisées	Destinataires
Stratégie et méthode d'analyse chimique	Tous milieux (aquatiques, sols, biofilms)	Chimie analytique, métrologie chimio-informatique, chimio-statistique	Scientifiques, gestionnaires, bureaux d'études, laboratoires d'analyses

OBJECTIFS

Elargir les connaissances de l'état chimique d'un milieu par la détection d'un large spectre de molécules organiques grâce à l'utilisation de la chromatographie (liquide ou gazeuse) couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (HRMS).

L'ESSENTIEL

Les analyses suspectées et non ciblées permettent d'obtenir une image plus exhaustive des molécules présentes dans les échantillons par rapport aux méthodes ciblées plus classiques. Ces molécules peuvent alors être identifiées selon un indice de confiance variable ou l'être a posteriori.

CONTENU DE LA METHODE

L'analyse par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse **haute résolution** (HRMS) permet de détecter un large éventail de molécules dans les milieux aquatiques, bien au-delà des approches ciblées classiques.

Deux stratégies de retraitement des données sont possibles : l'**analyse non ciblée**, qui dresse une empreinte chimique globale sans sélection préalable, et l'**analyse suspectée**, qui recherche un nombre défini de composés répertoriés dans des bases de données (Figure 1). L'analyse non ciblée permet d'identifier a posteriori des polluants, incluant leurs produits de transformation. Ces approches ouvrent de nouvelles perspectives pour la surveillance environnementale.

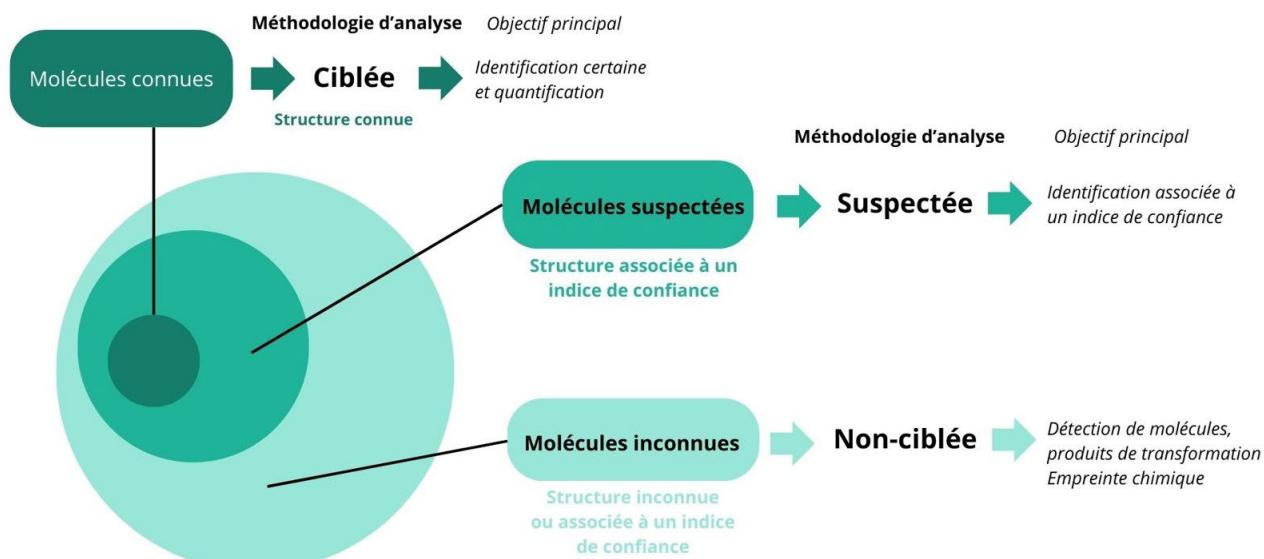


Figure 1 : Les différentes stratégies d'analyse HRMS et leurs objectifs avec un nombre croissant de molécules détectées

MISE EN ŒUVRE

Temps	Matériel
- Préparation d'échantillon et analyse : entre 1h30 et 2h par échantillon	Chromatographie couplée à la spectrométrie de masse haute résolution
- Traitement des données : d'une semaine (suspectée) à plusieurs mois (non ciblée) par échantillon	Bases de données Logiciels de retraitement des données Serveur pour stockage des données
Compétences	Moyens humains
Technicien et ingénieur chimiste : analyse de traces de molécules organiques et traitement des résultats	1-2 personnes pour la préparation des échantillons, l'analyse puis le traitement de données
Coûts	
Variable car fonction de la stratégie adoptée (non ciblée ou suspectée)	

CONTEXTE

Les méthodes actuelles de surveillance des milieux aquatiques ne permettent de détecter qu'un nombre restreint de molécules chimiques, d'une à plusieurs centaines, alors que le nombre de molécules potentiellement présentes est de l'ordre de la centaine de milliers. Toutefois, ces dernières années, les instruments d'analyse ont gagné en sensibilité, en sélectivité et en performance. Parallèlement, les logiciels de traitement des données se sont beaucoup améliorés. Grâce à ces avancées, il est désormais possible d'aller au-delà de l'analyse ciblée. **Les stratégies sans a priori**, qu'elles soient **suspectées ou non ciblées**, constituent aujourd'hui un complément prometteur. Elles intéressent non seulement la communauté scientifique, mais aussi les autorités et les régulateurs.

PRINCIPES

Le couplage de la chromatographie avec la spectrométrie de masse (MS) permet de séparer les molécules extraites d'un échantillon selon deux dimensions : la première en fonction de la rétention des molécules sur la colonne de chromatographie appelée séparation chromatographique, et la seconde en fonction du rapport masse sur charge (m/z) de la molécule.

Ce couplage, chromatographie (liquide (LC) ou gazeuse (GC)) - spectrométrie de masse haute résolution (HRMS), permet d'envisager les différentes stratégies d'analyse présentées sur la Figure 1.

Les modes d'acquisition HRMS hautement résolutifs et précis en masse génèrent des données pouvant comporter des dizaines de milliers de signaux. Ces signaux sont ensuite extraits, soit par recherche de masses précises d'ions (Extracted Ions Chromatograms, EIC), soit à l'aide d'algorithmes de déconvolution spécialisés (dits algorithmes de « peak picking »). Ils peuvent ensuite être regroupés, générant des ensembles d'entités chimiques inconnues correspondant à autant de molécules.

Ces entités présentes dans les échantillons sont alors, soit identifiées en tant que molécules par comparaison avec les informations contenues dans des bases de données dans le cas d'**analyses suspectées**, soit discriminées à l'aide de statistiques multivariées au travers de différents échantillons, dans le cas d'**analyses non-ciblées**.

L'identification d'une molécule est ainsi associée à un niveau de confiance comme résumé dans la Figure 2. Les analyses permettent d'identifier des molécules avec des niveaux de confiance de 1 à 5. Les résultats des analyses doivent inclure ce niveau de confiance.

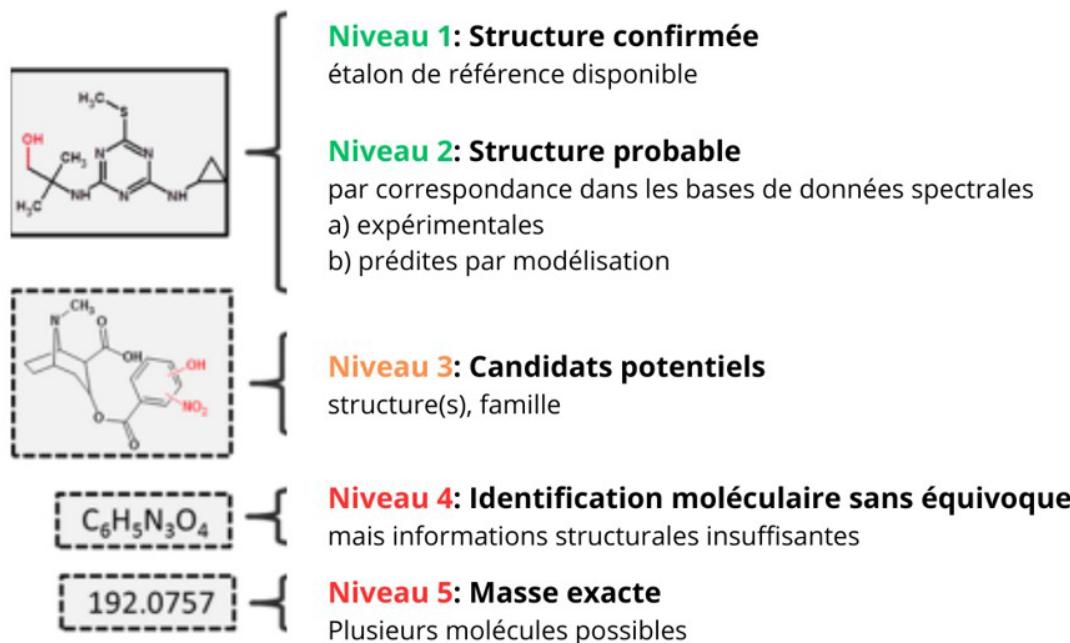


Figure 2 : Niveaux de confiance pour l'identification d'une molécule (adapté de Schymanski et al. (2014))

Grâce à la HRMS, il est possible de bancariser les échantillons sous format numérique pour des analyses rétrospectives. Conserver les données relatives à chaque échantillon peut permettre de rechercher une ou plusieurs molécules qui n'avaient pas été identifiées dans les premiers retraitements.

Point de vigilance : Toutes les étapes de la chaîne analytique vont agir comme des filtres, et conditionner les molécules détectées et l'interprétation des résultats. Comme le montre la Figure 3, une molécule ne sera détectée que si elle est extraite de l'échantillon, retenue sur la colonne chromatographique et ionisée dans la source du spectromètre de masse. Des descriptions détaillées de chaque étape doivent donc être fournies avec les résultats d'analyse.

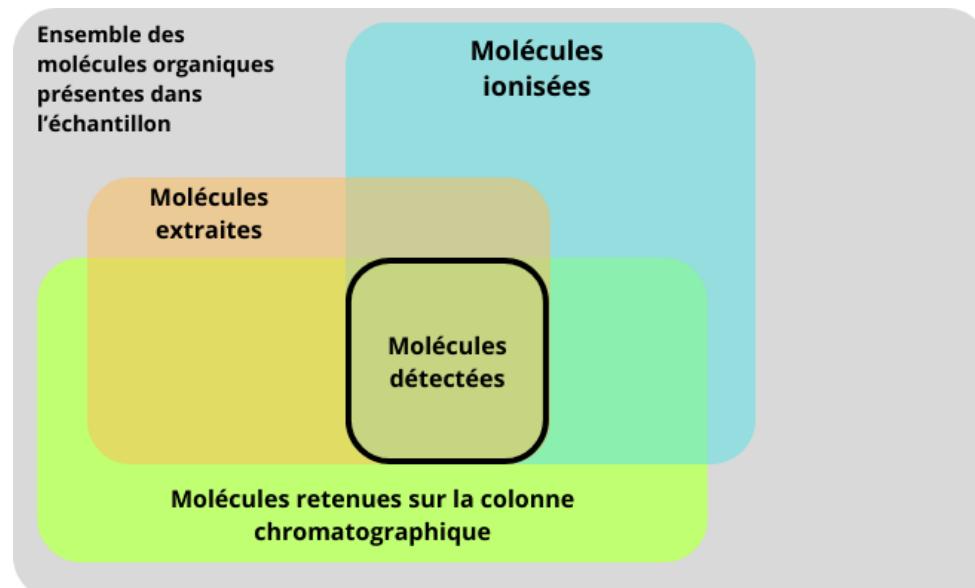


Figure 3 : Illustration de l'impact de chaque étape de la chaîne analytique sur le nombre de molécules détectées (adapté de Hollender J et al. (2023))

PERSPECTIVES

Les analyses suspectées et non ciblées présentent plusieurs intérêts pour la surveillance réglementaire des milieux aquatiques :

- Priorisation plus facile des molécules pertinentes
- Mise en évidence de nouveaux micropolluants d'intérêt
- Analyses rétrospectives

PERSONNES RESSOURCES

Laure Wiest

Aurélie FILDIER

Institut des Sciences Analytiques
Equipe TRACES
laure.wiest@isa-lyon.fr
aurelie.fildier@isa-lyon.fr

Christelle MARGOUM

Cécile MIEGE

INRAE, UR RiverLy
Equipe LAMA
christelle.margoum@inrae.fr
cecile.miege@inrae.fr

DOCUMENT(S) SOURCE

Soulier C., Boiteux V., Candido P., Caupos E., 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, 6, pp.43-54. hal-03274374

AUTEUR(S)

L Wiest, A Fildier, M Masson, C Guillemain, C Margoum, C Miège

STRUCTURE(S) PORTEUSE(S) DU PROJET

Institut des Sciences Analytiques (ISA), CNRS, Université Lyon 1

INRAE, UR RiverLy, Equipe Lama

SITES ET OBSERVATOIRES DE LA ZABR MOBILISES

L'Observatoire de Terrain en Hydrologie Urbaine « OTHU »

Le site pilote de Bellecombe « SIPIBEL »

Le site Ardières-Morcille (SAAM)

L'Observatoire Hommes-Milieux Vallée du Rhône – OHM, dont L'Observatoire des Sédiments du Rhône (OSR)

THEMATIQUES ZABR ABORDEES

Flux polluants, Ecotoxicologie, Ecosystèmes (FPEE).

PROJETS

Ces méthodes analytiques ont été développées :

- par l'ISA dans le cadre des projets de recherche FROG (projet ANR, 2017-2021) et RISMEAU (2018-2023) et des thèses de A. Guironnet (2018-2021) et de L. Pinasseau (2017-2020).
- par INRAE dans le cadre des projets Tapioca (Ecophyto II, ecophytopic.fr/recherche-innovation/exposition-et-impacts/projet-tapioca), du programme 6 de l'OSR (observatoire-sediments-rhone.fr/), du programme Aquaref (aquaref.fr, OFB) et des thèses de K. Rocco (2019-2023), A. Boukra (2019-2023) et de T. Ducrocq (2021-2025).

BIBLIOGRAPHIE

- Boukra A. (2023). *Caractérisation intégrée de la matière organique dissoute : recherche d'empreintes physico-chimiques pour tracer les sources de pollutions anthropiques*. [thèse]. Université de Lyon 1, France, 337 p. hal.inrae.fr/tel-04584694v1
- Ducrocq T. (2025). *Exploration des micropolluants organiques dans les sédiments du Rhône par analyse non-ciblée*. [thèse]. Université de Lyon 1, France, 241 p.
- Ducrocq T., Merel S., Clément Y., Lanteri P., Miège C. (2025). *Using suspect and non-targeted analysis (NTA) by high-resolution mass spectrometry to gain deeper insight into organic contamination of freshwater sediments*. Journal of Hazardous Materials, 496, 15, 139361. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2025.139361
- Guironnet A. (2021), *Développements méthodologiques autour du couplage chromatographie liquide-spectrométrie de masse, pour la quantification de composés vétérinaires présents à l'état de traces dans des matrices complexes environnementales* [thèse]. Université de Lyon, France, 226 p.
- Guironnet A., Wiest L., Fildier A., Giroud B., Vulliet E. (2025). *Criblage de suspects de médicaments vétérinaires et biocides dans les produits résiduaires organiques*. Techniques Sciences Méthodes, 6, pp.24-31.
- Hollender J et al (2023). *NORMAN guidance on suspect and non-target screening in environmental monitoring*. Environ Sci Eur 35:75
- Merel S., Margoum C., Rocco K., Coquery M., Miège C. (2021). *Intérêt pour la directive cadre sur l'eau de l'analyse chimique non-ciblée de micropolluants organiques dans les milieux aquatiques*. Sciences Eaux & Territoires, 37 (37), pp.110-113
- Pinasseau L. (2020), *Développement et déploiement d'échantillonnage passif pour l'analyse par spectrométrie de masse de polluants organiques émergents dans les systèmes aquatiques souterrains* [thèse]. Université de Lyon, France, 248 p.
- Rocco K. (2022). *Stratégies analytiques innovantes pour étudier le devenir des pesticides dans les hydrosystèmes*. [thèse]. Université de Lyon 1, France, 241 p. hal.inrae.fr/tel-04515491
- Rocco. K, Margoum C., Richard L., Coquery M. (2022). *Enhanced database creation with in silico workflows for suspect screening of unknown tebuconazole transformation products in environmental samples by UHPLC-HRMS*. Journal of Hazardous Materials, 440, 129706. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.129706. hal.inrae.fr/hal-04172394
- Schymanski E., Jeon J., Gulde R., Fenner K., Ruff M., Singer H., Hollender J. (2014). *Identifying Small Molecules via High Resolution Mass Spectrometry: Communicating Confidence*. Environmental Science and Technology, 48(4): 2097-2098.
- Togola A., Lardy-Fontan S., Lestremau F., Soulier C. (2015). *Rapport de positionnement sur l'utilisation de la spectrométrie de masse haute résolution pour le criblage environnemental* Rapport final. BRGM/RP-65420-FR 75, 65 p.



INSTITUT DES
SCIENCES
ANALYTIQUES

