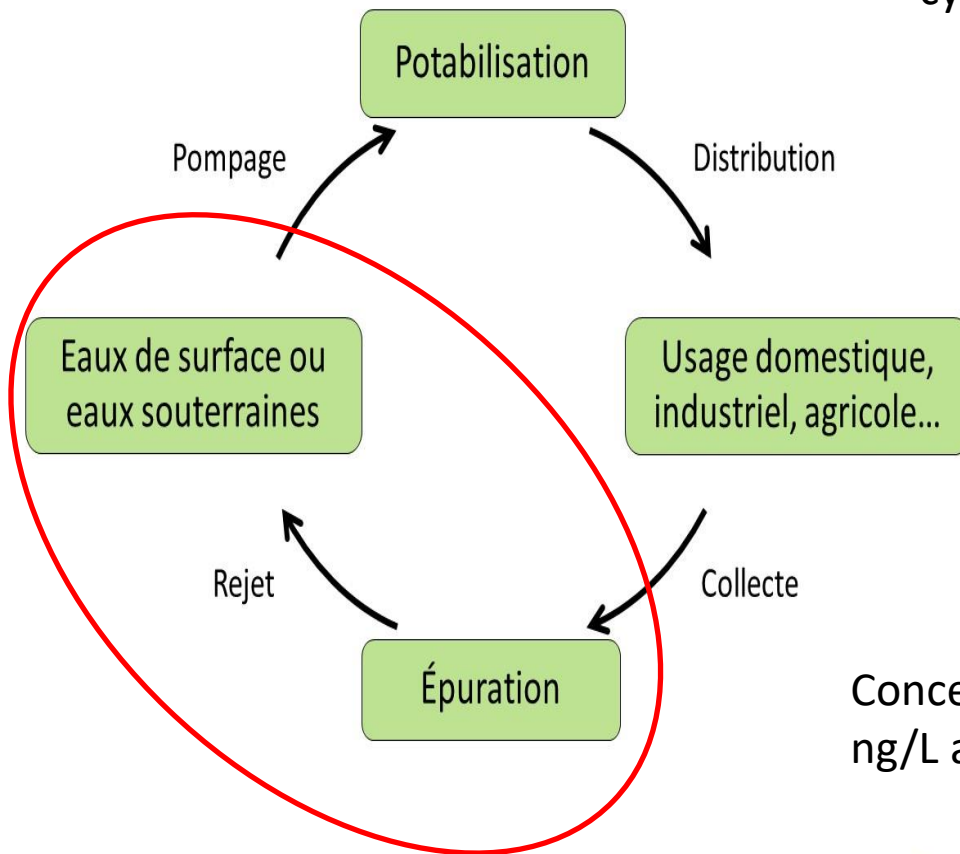


Mise en œuvre de l'analyse non ciblée comme outil de caractérisation des eaux

Solène Motteau, Marie Deborde, Bertrand Gombert, Nathalie Karpel Vel Leitner
IC2MP – Equipe Eaux, Biomarqueurs, Contaminants Organiques, Milieux

Les micropolluants dans les eaux : un enjeu pour l'environnement et la santé publique

Présence des micropolluants sur l'ensemble du cycle technique de l'eau



- Produits pharmaceutiques
- Produits cosmétiques
- Pesticides
- Retardateurs de flammes
- Composés perfluorés
- Produits illicites
- Phtalates
- Surfactants
- Etc ...

Concentrations mesurées allant de l'ordre du ng/L au mg/L en entrée de station d'épuration.

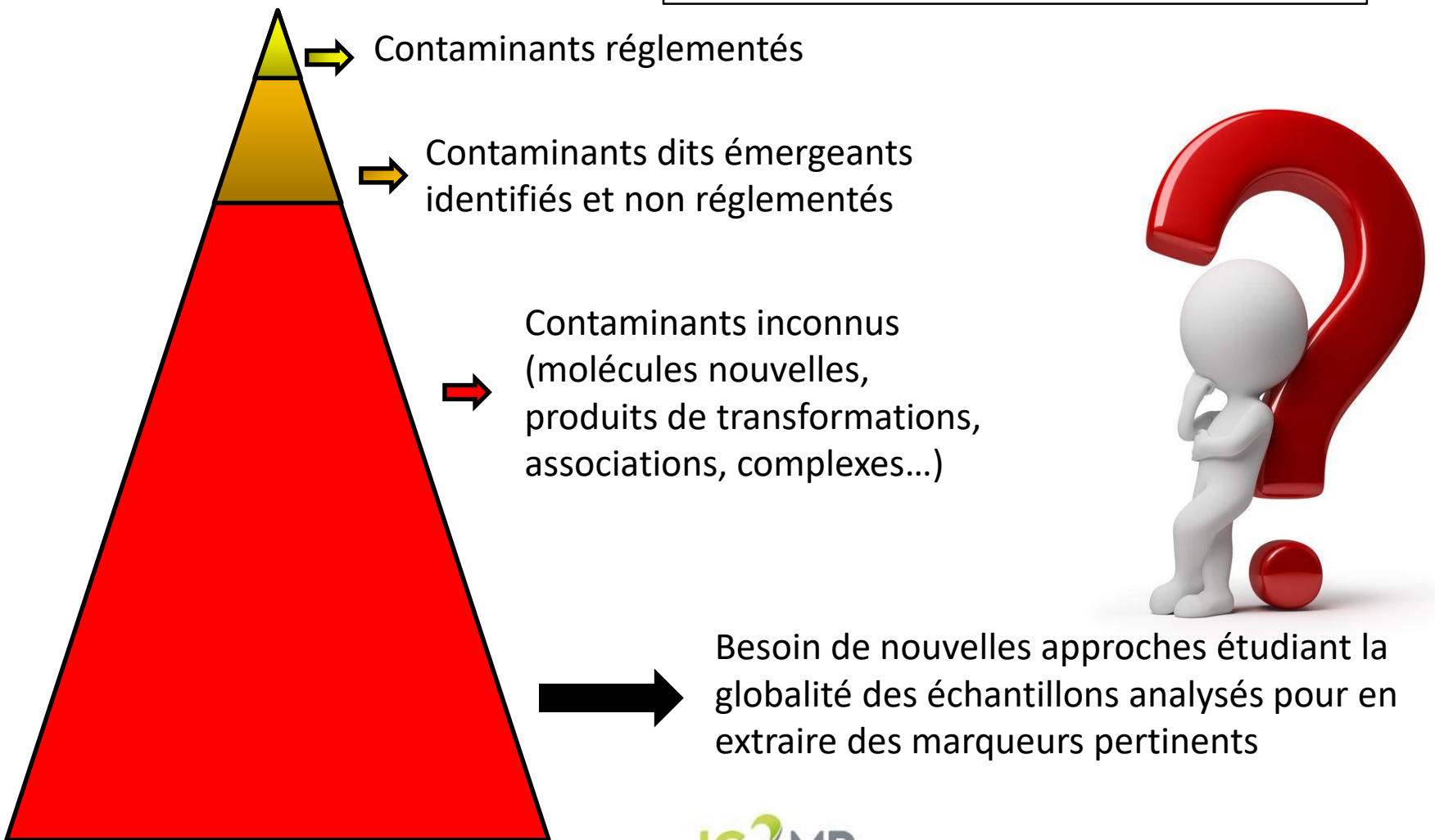
L'analyse ciblée : détection et quantification de molécules connues et choisies dans un milieu donné

- ↳ Réalisation d'une liste de molécules cibles : pesticides, médicaments...
- ↳ Développement et validation d'une méthode de préparation et d'analyse sensible et spécifique
- ↳ Suivi des molécules cibles lors d'un événement, un procédé ou pour un contrôle de normes

➡ Approche classique des laboratoires d'analyses pour la prise de décisions

L'analyse ciblée : détection et quantification de molécules connues et choisies dans un milieu donné

→ Pertinence des polluants sélectionnés ?



Analyse non ciblée : détection et identification sans *a priori* dans une matrice

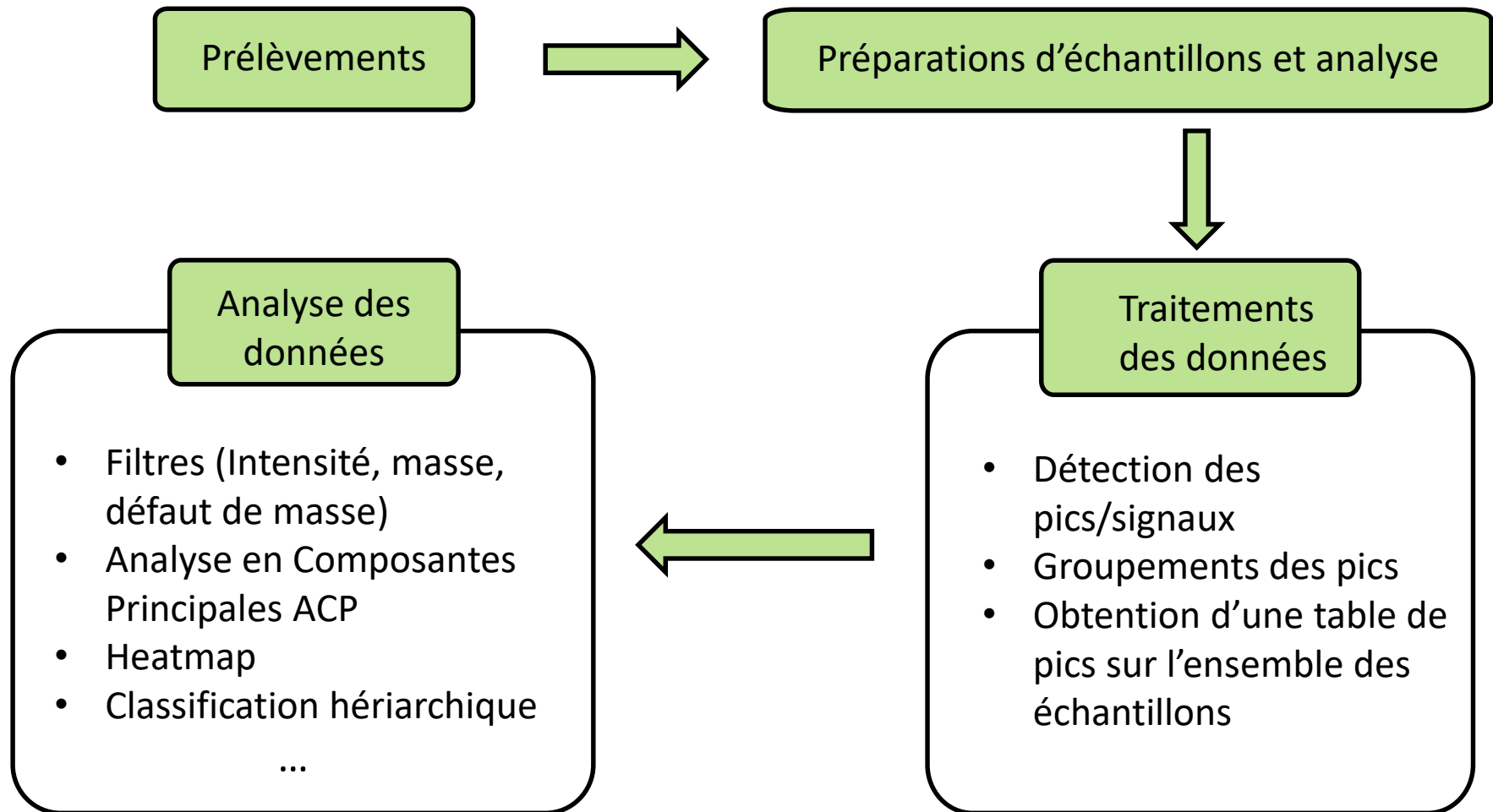
Acquisition d'une empreinte globale de l'échantillon

- ➔ Développement d'une méthode de préparation et d'analyse la plus exhaustive possible dans le but de détecter le plus grand nombre de signaux
 - ➔ Utilisation de la spectrométrie de masse haute résolution HRMS
 - ➔ Acquisition d'empreinte globale des échantillons représentant les signaux détectés caractérisés par un m/z , un temps de rétention et une intensité
 - ➔ Mise en évidence de différences entre divers échantillons : impact d'un événement particulier, d'un procédé
 - ➔ Création de banques d'archives permettant l'analyse *a posteriori*

Principaux objectifs de ces travaux

- ➔ Développer une méthode d'analyse non ciblée appliquée sur plusieurs types d'eau (eaux usées, eaux de rivières...)
- ➔ Appliquer la méthode développée pour rechercher des corrélations entre des échantillons d'origines diverses
- ➔ Mise en évidence de signaux pertinents dans les différentes matrices étudiées

Déroulement général de l'analyse non ciblée



Sites de prélèvements



Station d'épuration de Poitiers (155 000 EH)

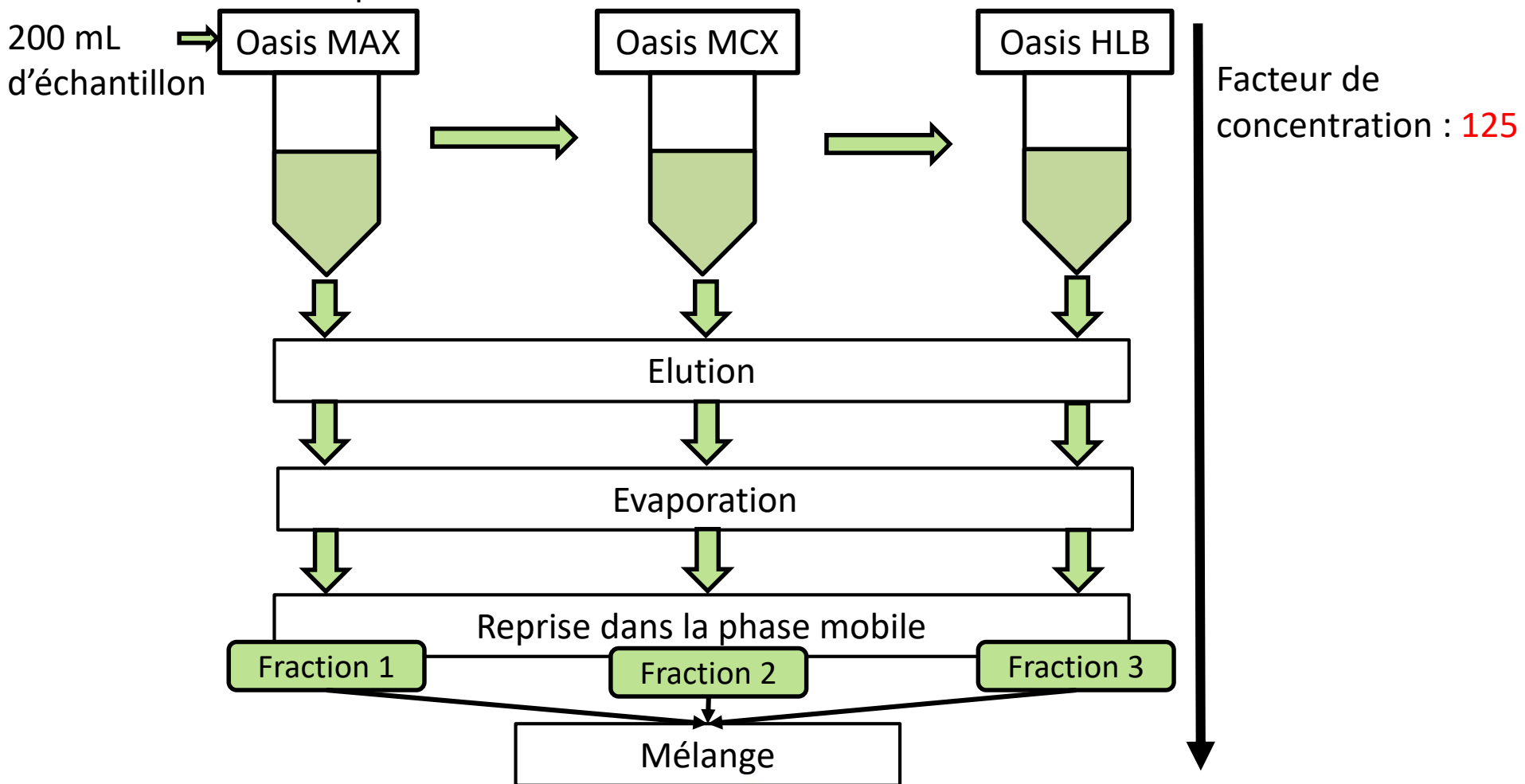
- Entrée de la station après dégrillage
- Sorties de la station après décantation

Eau de surface : le Clain

- Panache du rejet des eaux traitées dans le Clain
- Aval du rejet à environ 30 m de distance
- Amont du rejet à environ 2 km de distance

Préparations d'échantillons

- Centrifugation et filtration sur filtre en microfibre de verre GF/F 0,7 μm
- Extraction sur phase solide SPE



Analyse des échantillons par chromatographie liquide couplée spectrométrie de masse

ET Analyse directe après centrifugation et filtration
Analyse après extraction sur phase solide

Conditions chromatographiques

- Chromatographie liquide en phase inverse : Colonne Acquity HSS T3 Waters
- Phase mobile : Méthanol+0,1% d'acide formique, Eau ultra-pure +0,1% d'acide formique

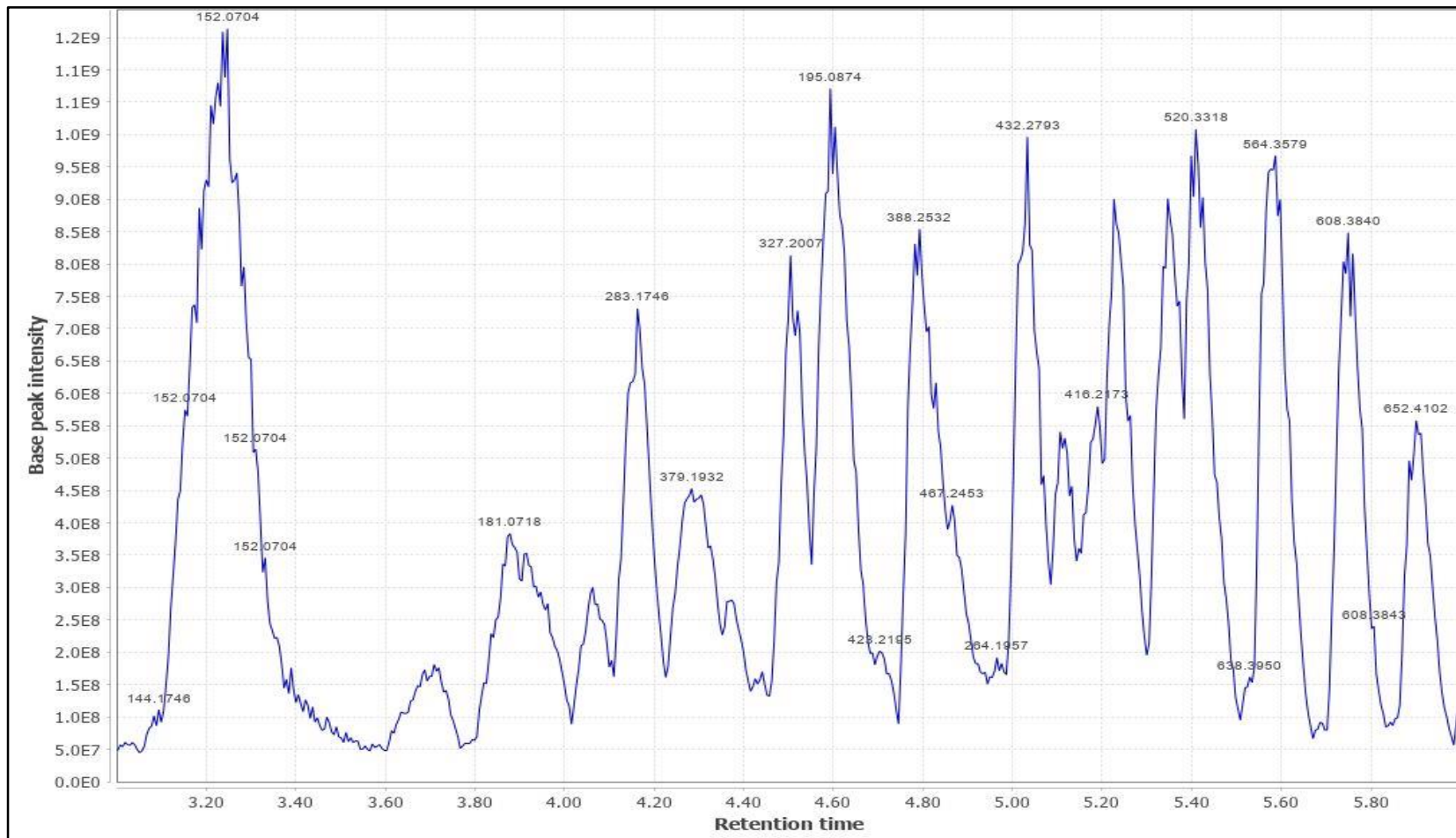
Spectrométrie de masse haute résolution

- Thermo Q-Exactive
- Résolution : 70 000, précision en masse inférieure à 2 ppm au m/z 200



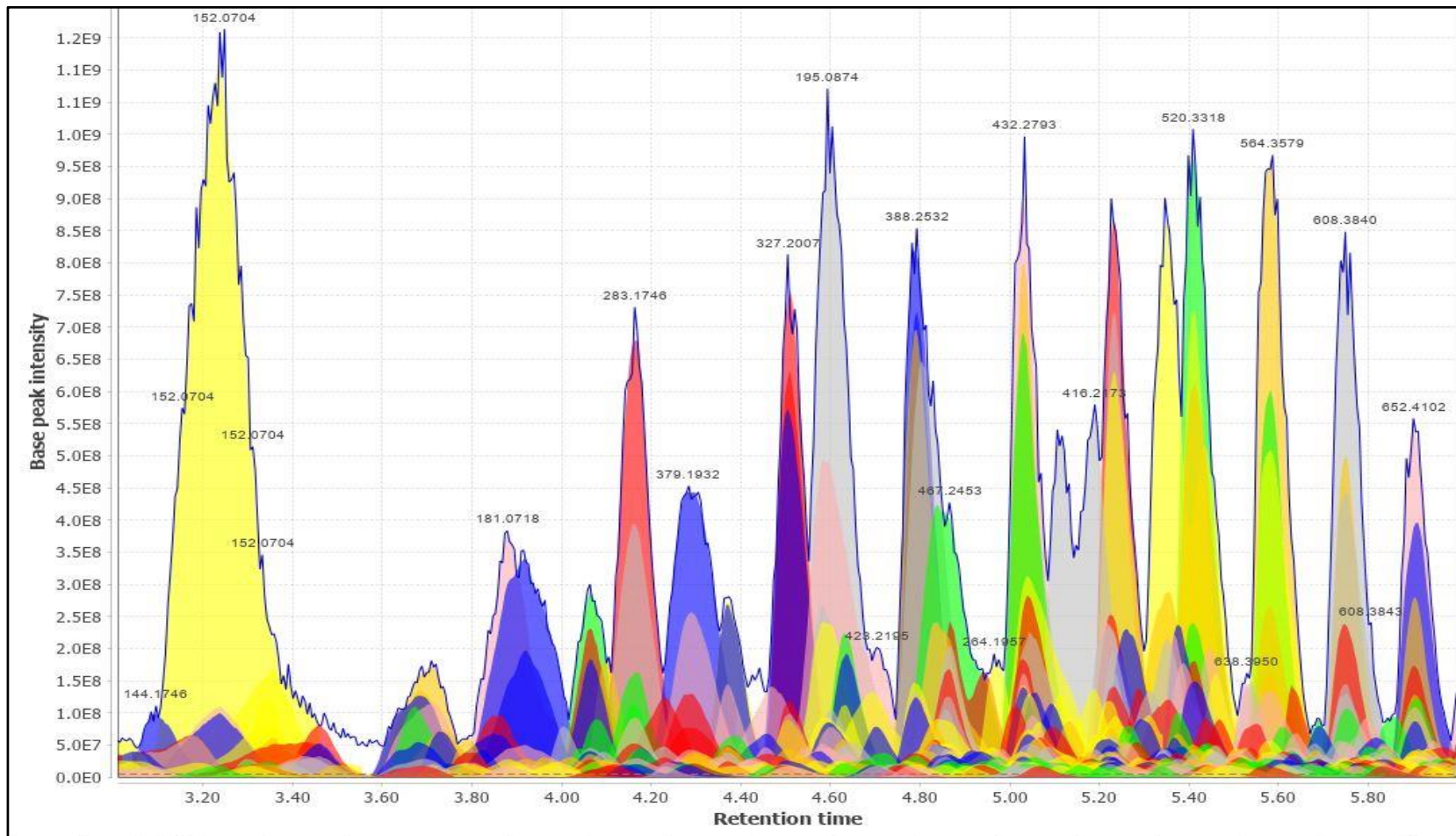
Traitement des données

Objectif : Obtention à partir des données brutes d'une table comprenant les signaux/pics réels détectés à travers tous les échantillons étudiés avec leurs m/z, temps de rétention, Intensité propres



Traitement des données

Objectif : Obtention à partir des données brutes d'une table comprenant les signaux/pics réels détectés à travers tous les échantillons étudiés avec leurs m/z, temps de rétention, Intensité propres



Traitement des données

Deux méthodes utilisant des logiciels différents ont été employées :

- Détection des pics
- Alignement des pics détectés à travers l'ensemble des échantillons considérés
- Détection des adduits classiques et des pics isotopiques
- Elimination des pics dont l'intensité est inférieure à 5 fois l'intensité du blanc
- Obtention d'un tableau comprenant tous les signaux détectés sur l'ensemble des échantillons

Mzmine 2

Excel

R 3.5.1 « Non target »

- Correction par les blancs
- Elimination des pics dont le coefficient de variation de l'intensité est supérieur à 30%

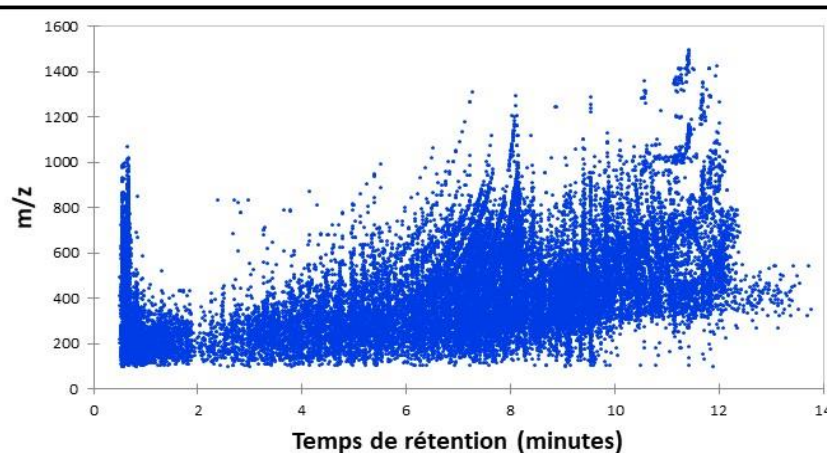
Compound Discoverer

- Regroupements sous un seul pic des pics monoisotopiques, des isotopes et des adduits
- Calcul des poids moléculaires

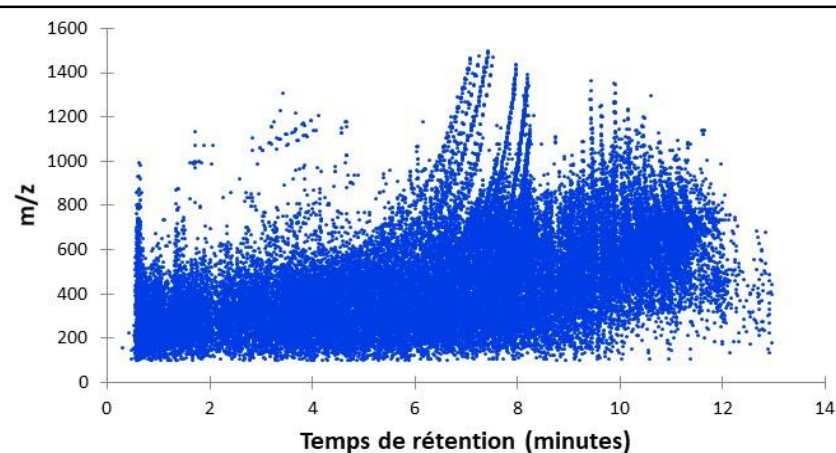
Impact de la SPE sur les empreintes

Entrée

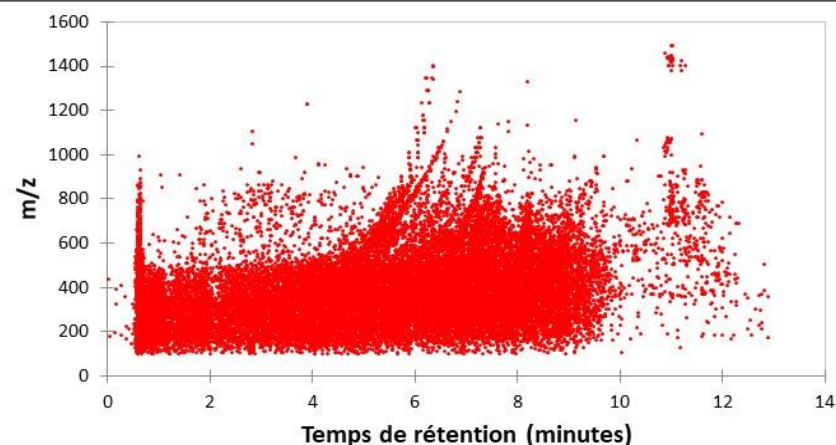
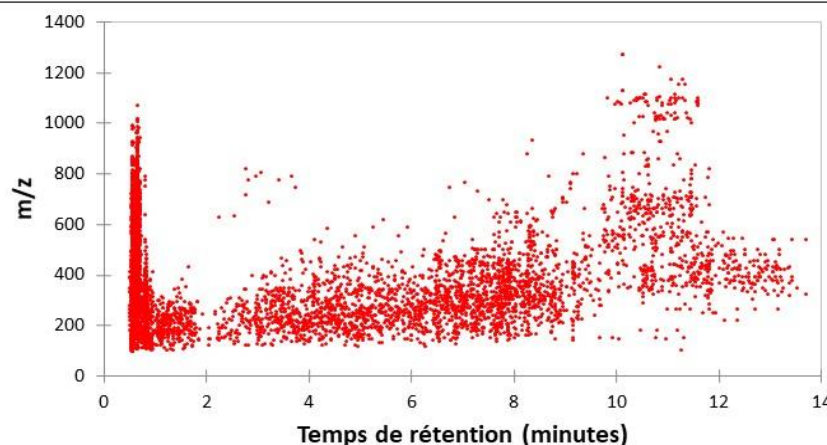
Sans SPE



Avec SPE

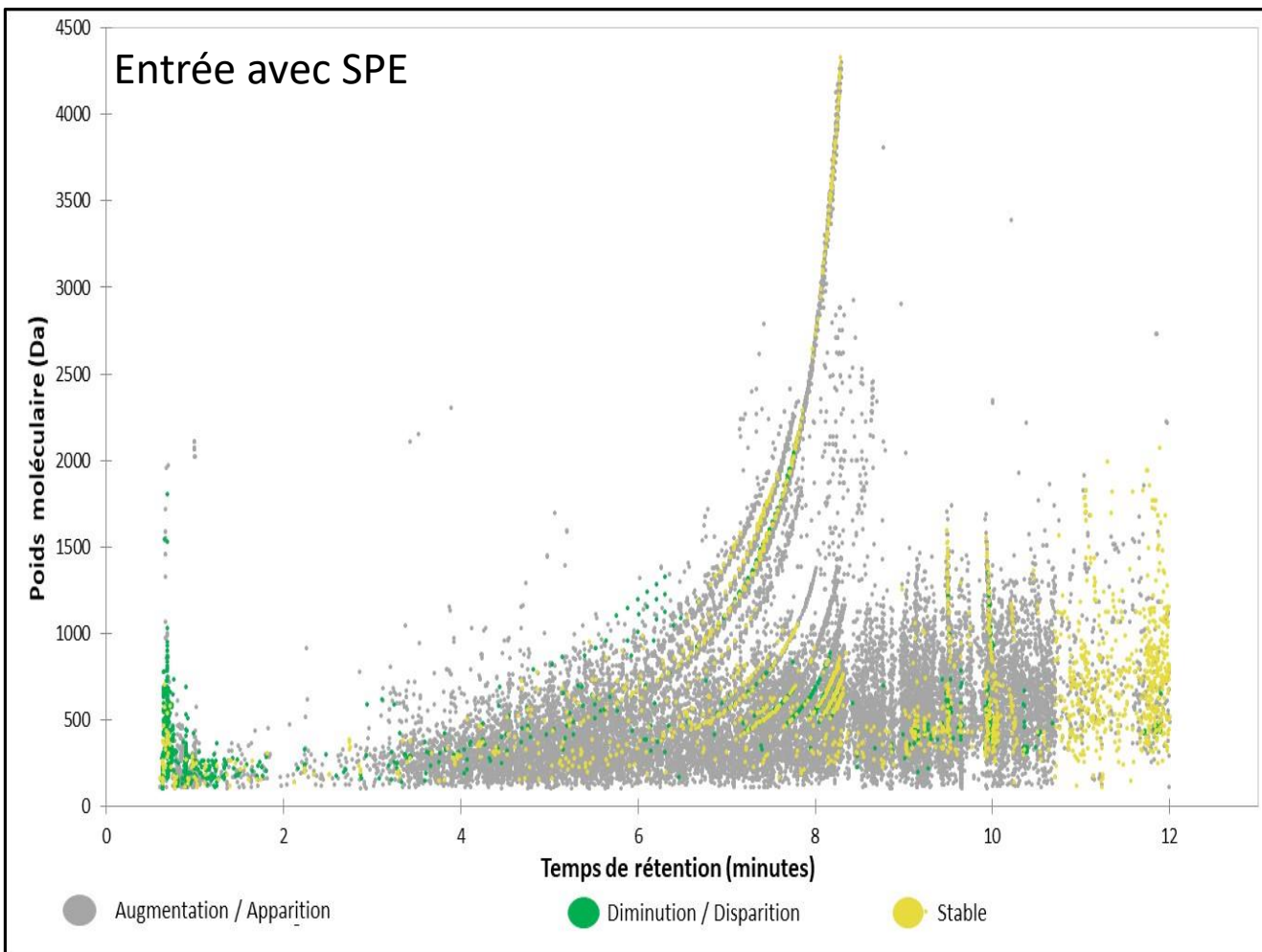


Sortie



Augmentation du nombre de signaux détectés dans les échantillons traités par SPE

Impact de la SPE sur les empreintes



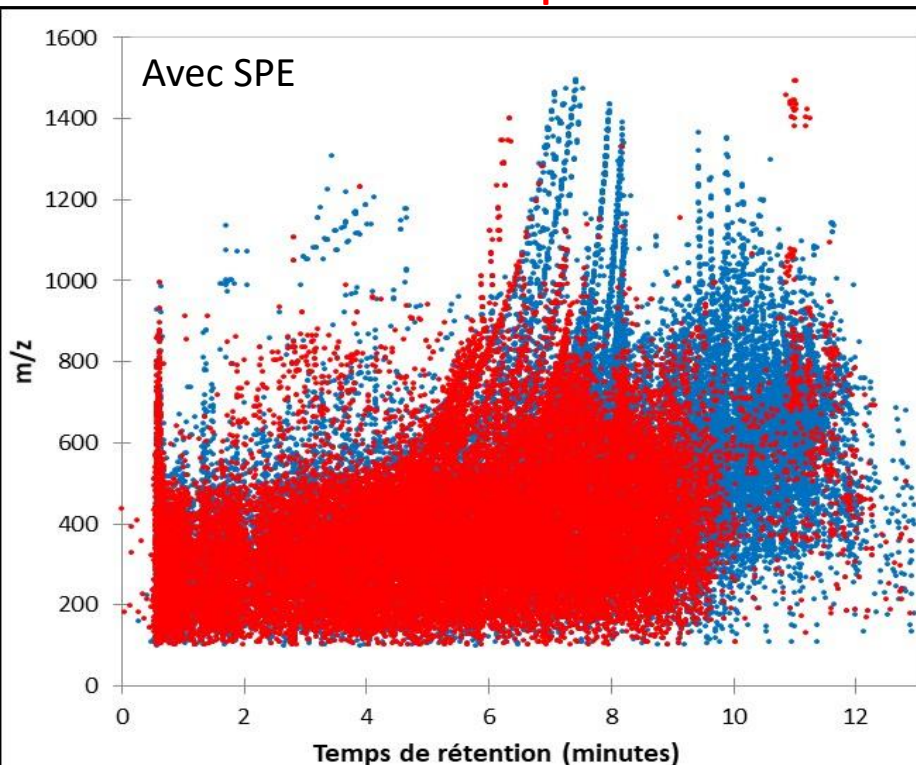
➔ Comparaison par rapport à l'empreinte sans SPE

Augmentation de l'intensité de la majorité (>85%) des composés détectés

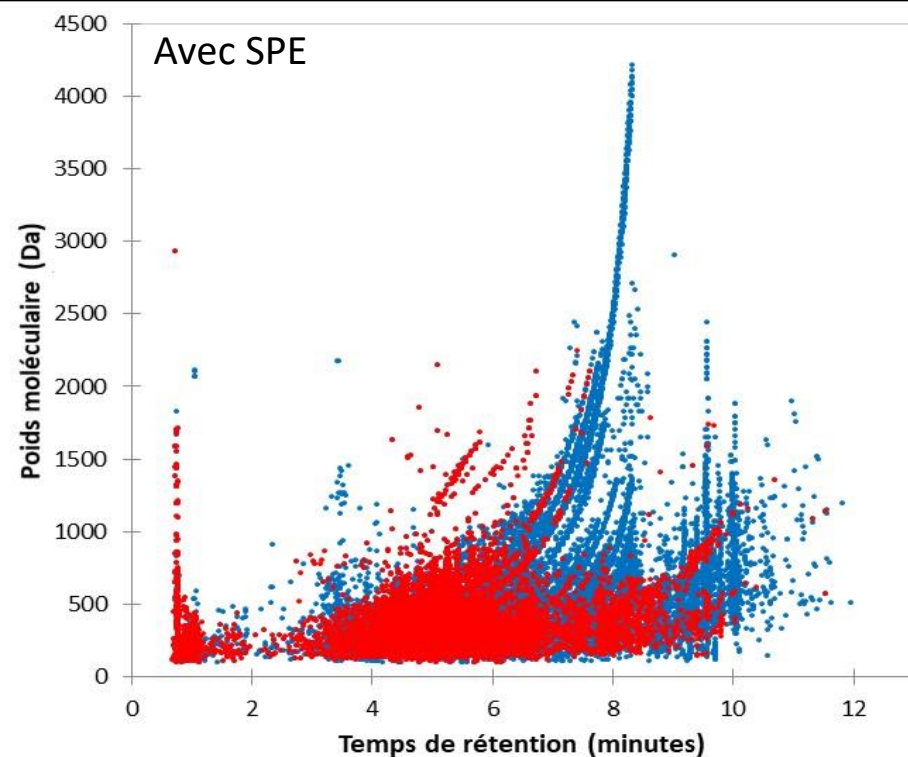
MAIS diminution de l'intensité de certains (<5%) des composés détectés

Certains composés ont également une intensité qui apparaît comme stable (<8% des signaux)

Impact du traitement des eaux usées



Mzmine



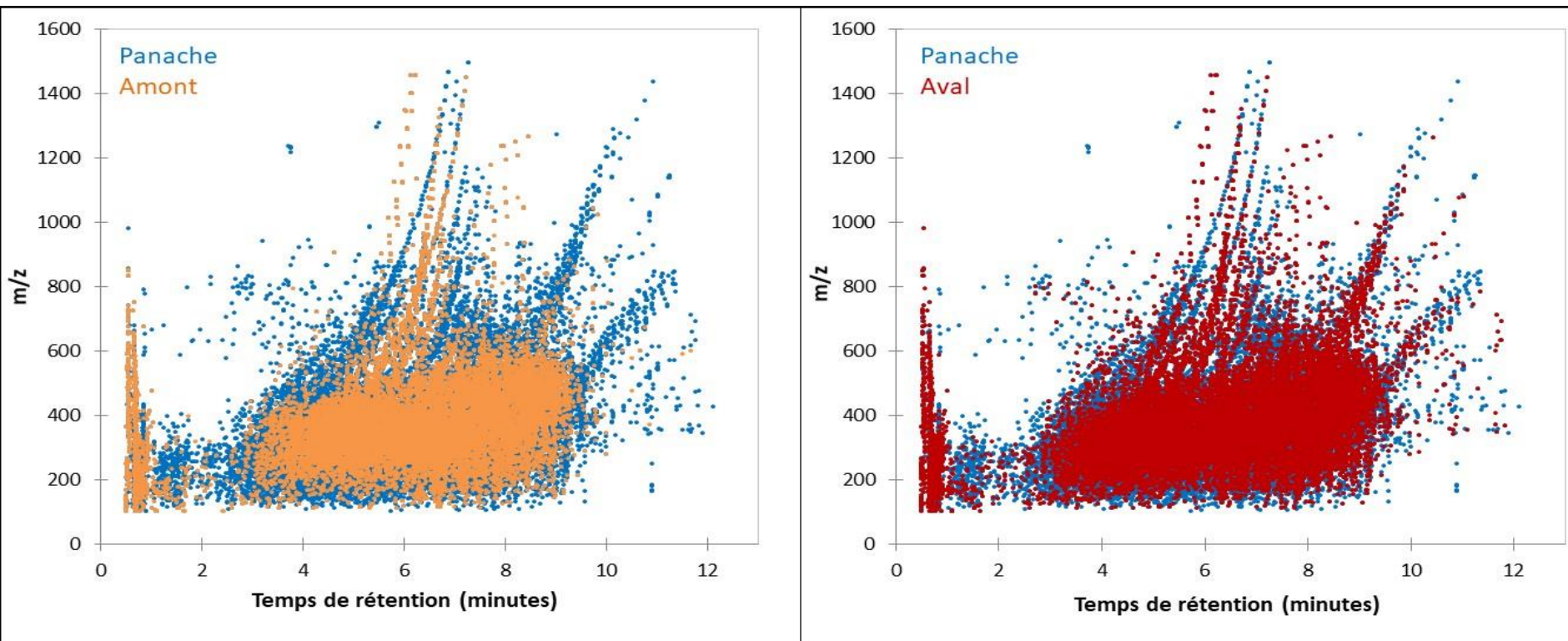
Compound Discoverer

En rouge : empreinte d'une sortie de STEP

En bleu : empreinte d'une entrée de STEP

Diminution du nombre de signaux détectés dans les eaux traitées majoritairement des signaux de haut poids moléculaire et/ou ayant un temps de rétention supérieur à 9 minutes

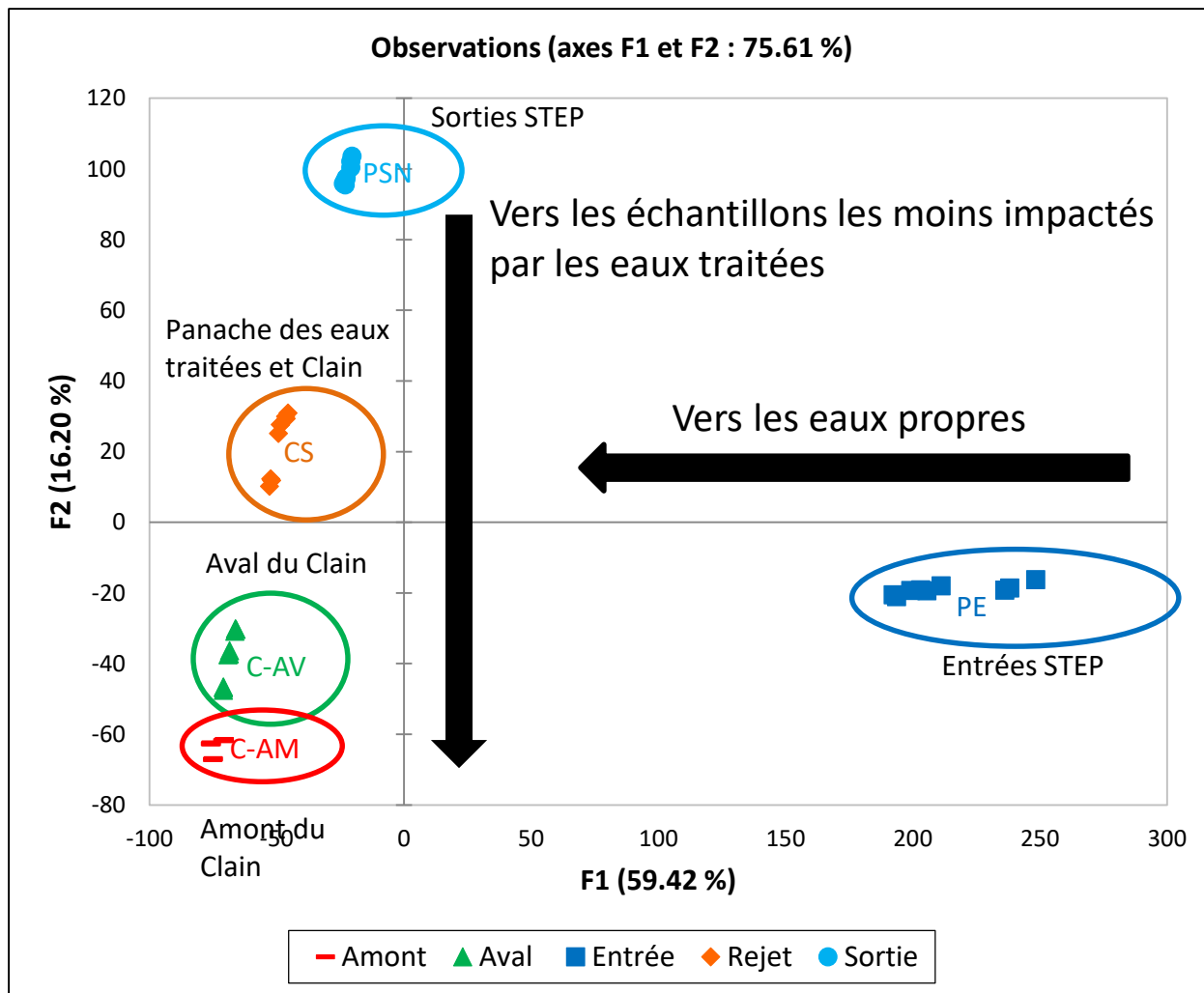
Impact du rejet de la station d'épuration sur la rivière



Augmentation du nombre de signaux détectés dans le panache des eaux vis-à-vis de l'amont
➡ Apport de nouveaux signaux dans la rivière absent en amont

L'empreinte de l'aval immédiat possède des caractéristiques des empreintes de l'amont et du panache
➡ Impact de ces nouveaux signaux sur la qualité de la rivière ?

Analyse en Composantes Principales ACP



Regroupement entre eux des échantillons de même type d'eau.

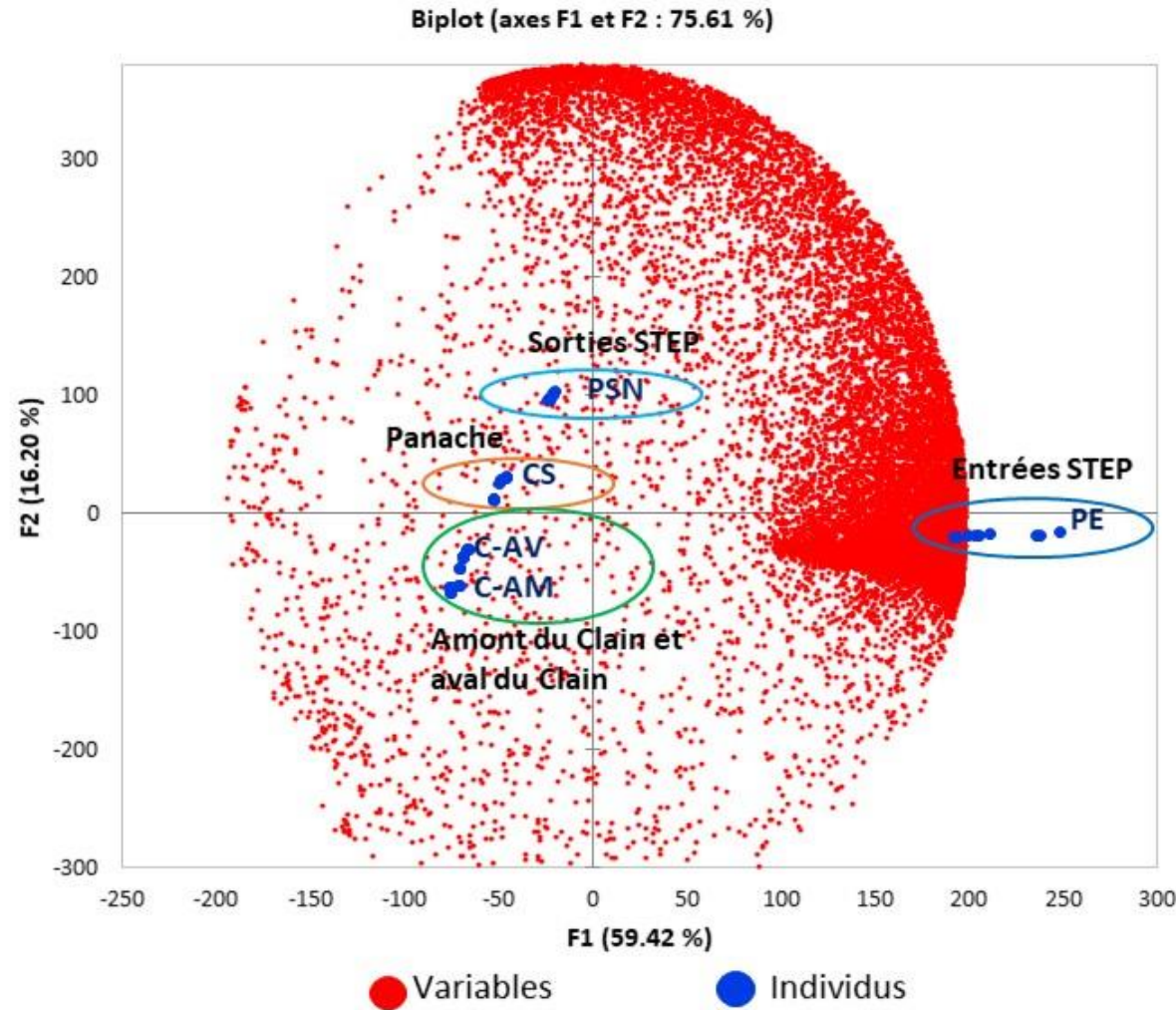


Séparation distincte entre les eaux « propres » et les eaux usées par l'axe F1



Séparation des eaux de rivières et des eaux traitées le long de l'axe F2

ACP : Biplot des échantillons et des signaux



Regroupement des signaux vers les entrées des STEP ou vers les sorties de STEP

Corrélation entre le type d'échantillons et certains signaux

Les signaux dont l'intensité diminue durant le traitement des eaux sont corrélés avec l'entrée et ceux dont l'intensité augmente sont corrélés avec la sortie

Mise en évidence de **produits de transformations**

Conclusions des résultats préliminaires

- La représentation des empreintes permet de visualiser rapidement l'impact du traitement des eaux usées à une échelle « globale » :
 - ➔ la réduction du nombre de signaux majoritairement de haut poids moléculaire et plutôt apolaires
- Les eaux traitées ont une empreinte différente de l'amont de la rivière et par conséquent apporte de nouveaux signaux lors du rejet.
- L'empreinte de l'aval immédiat comporte des signaux présents dans les empreintes de l'amont et du panache.
- L'Analyse en Composantes Principales montre une séparation nette des eaux « propres » et des eaux usées et une légère différenciation des eaux de rivière

Poursuites des travaux

- Approfondir l'exploitation des biplots pour relier des signaux spécifiques à des groupes d'échantillons
- Réduction du volume de données pour la mise en évidence de signaux/contaminants pertinents
- Tentative d'identification des signaux sélectionnés
- Couplage avec l'analyse de suspects à partir d'une liste de micropolluants
- Impact de traitements complémentaires et association à un indicateur d'effet

Merci de votre attention

Les travaux présentés ont mis en œuvre des équipements financés par l'Union Européenne (FEDER) et la Région Nouvelle-Aquitaine (CPER)