



HAL
open science

La spectrométrie de masse haute résolution pour la recherche de micropolluants organiques dans l'environnement

Coralie Soulier, Virginie Boiteux, Patrick Candido, Emilie Caupos, Mathilde Chachignon, Guillaume Couturier, Xavier Dauchy, Marie-Hélène Devier, Mar Esperanza, Aurélie Fildier, et al.

► **To cite this version:**

Coralie Soulier, Virginie Boiteux, Patrick Candido, Emilie Caupos, Mathilde Chachignon, et al.. La spectrométrie de masse haute résolution pour la recherche de micropolluants organiques dans l'environnement. TSM. Techniques Sciences Méthodes – Génie urbain, génie rural, 2021, 6, pp.43-54. <10.36904/tsm/202106043>. <hal-03274374>

HAL Id: hal-03274374

<https://hal.science/hal-03274374v1>

Submitted on 6 Jul 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

1 LA SPECTROMETRIE DE MASSE HAUTE RESOLUTION POUR LA RECHERCHE DE
2 MICROPOLLUANTS ORGANIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT

3 SCREENING OF ORGANIC MICROPOLLUTANTS IN ENVIRONMENT BY HIGH RESOLUTION MASS
4 SPECTROMETRY

5 SOULIER Coralie¹, BOITEUX Virginie², CANDIDO Patrick³, CAUPOS Emilie⁴, CHACHIGNON Mathilde⁵,
6 COUTURIER Guillaume³, DAUCHY Xavier², DEVIER Marie-Hélène⁶, ESPERANZA Mar⁷, FILDIER
7 Aurélie⁸, GARDIA-PAREGE Caroline⁶, GUIBAL Robin⁹, LE ROUX Julien⁴, LEROY Gaëla⁵, LESTREMAU
8 François¹⁰, LISSALDE Sophie⁹, NOYON Naïke⁷, PIRAM Anne¹¹, VULLIET Emmanuelle⁸, MARGOUM
9 Christelle^{12*}

10 ¹ BRGM, F-45060 Orléans, France

11 ² ANSeS – Laboratoire d'Hydrologie de Nancy, 40 rue Lionnois, 54000 Nancy, France

12 ³ Eau de Paris, DRDQE, 33 Avenue Jean Jaurès, 94200 Ivry-sur-Seine, France

13 ⁴ LEESU, Ecole des Ponts ParisTech, Université Paris-Est Créteil, 61 avenue du Général de Gaulle, 94010
14 Créteil Cedex, France

15 ⁵ Veolia Recherche et Innovation, Chemin de la Digue, 78600 Maisons-Laffitte, France

16 ⁶ Univ Bordeaux, EPOC, LPTC, UMR 5805, 351 Crs Libérat, F-33400 Talence, France

17 ⁷ CIRSEE - SUEZ, 38 rue du président Wilson. 78230 Le Pecq, France

18 ⁸ Univ Lyon, CNRS, Université Claude Bernard Lyon 1, Institut des Sciences Analytiques, UMR 5280, 5 rue
19 de la Doua, F-69100 Villeurbanne, France

20 ⁹ Université de Limoges, Laboratoire Peirene, 123 avenue Albert Thomas, 87060 Limoges Cedex, France

21 ¹⁰ INERIS, Unité ANAE, Parc Alata, F-60550 Verneuil En Halatte, France

22 ¹¹ Aix-Marseille Univ, CNRS, LCE, 13000 Marseille, France

23 ¹² INRAE, UR RiverLy, 5 rue de la Doua, F-69625 Villeurbanne, France

24

25 * christelle.margoum@inrae.fr, +33 4 72 20 87 11

26

27 **CATEGORIE DE L'ARTICLE** : *Retour d'expérience*

28 **FORMAT DE L'ARTICLE** : *Article scientifique/technique*

29 **Résumé**

30 L'analyse non ciblée connaît une forte période de croissance dans le domaine de l'analyse environnementale
31 car elle ouvre le champ des investigations de la qualité des milieux à un très grand nombre de composés. Cet
32 article consiste en un retour d'expérience de 12 laboratoires français sur les pratiques et les précautions à
33 considérer lors de la réalisation d'analyses non ciblées, en particulier pour la recherche de composés suspects
34 dans les échantillons issus des milieux aquatiques. En effet, si cette technique apporte des informations
35 nouvelles et très prometteuses, elle n'en reste pas moins une technique complexe qu'il convient d'utiliser avec
36 de nombreuses précautions pour assurer des résultats de qualité. La réflexion commune entreprise dans le
37 groupe de laboratoires, a permis de synthétiser des informations techniques afin de présenter les enjeux de
38 cette méthodologie d'intérêt majeur en analyse environnementale de façon simple et accessible aux
39 laboratoires, demandeurs d'analyse ou toute personne intéressée par ce type d'approche. Les verrous liés à
40 la spécificité des analyses non ciblées, au développement de méthodes et au rendu de résultats ont été
41 développés pour fournir des clés de compréhension pour les laboratoires et les utilisateurs de résultats. Ce
42 travail s'attache ainsi à être un guide de découverte de la technique pour les personnes désireuses de voir ce
43 que peut apporter l'analyse non ciblée mais également un guide de bonnes pratiques pour celles et ceux qui
44 acquièrent ou qui analysent des données issues de ces techniques.

45

46 Mots-clés : spectrométrie de masse haute résolution, contaminants organiques, milieux aquatiques,
47 identification, contrôles qualité, fiabilité des données

48

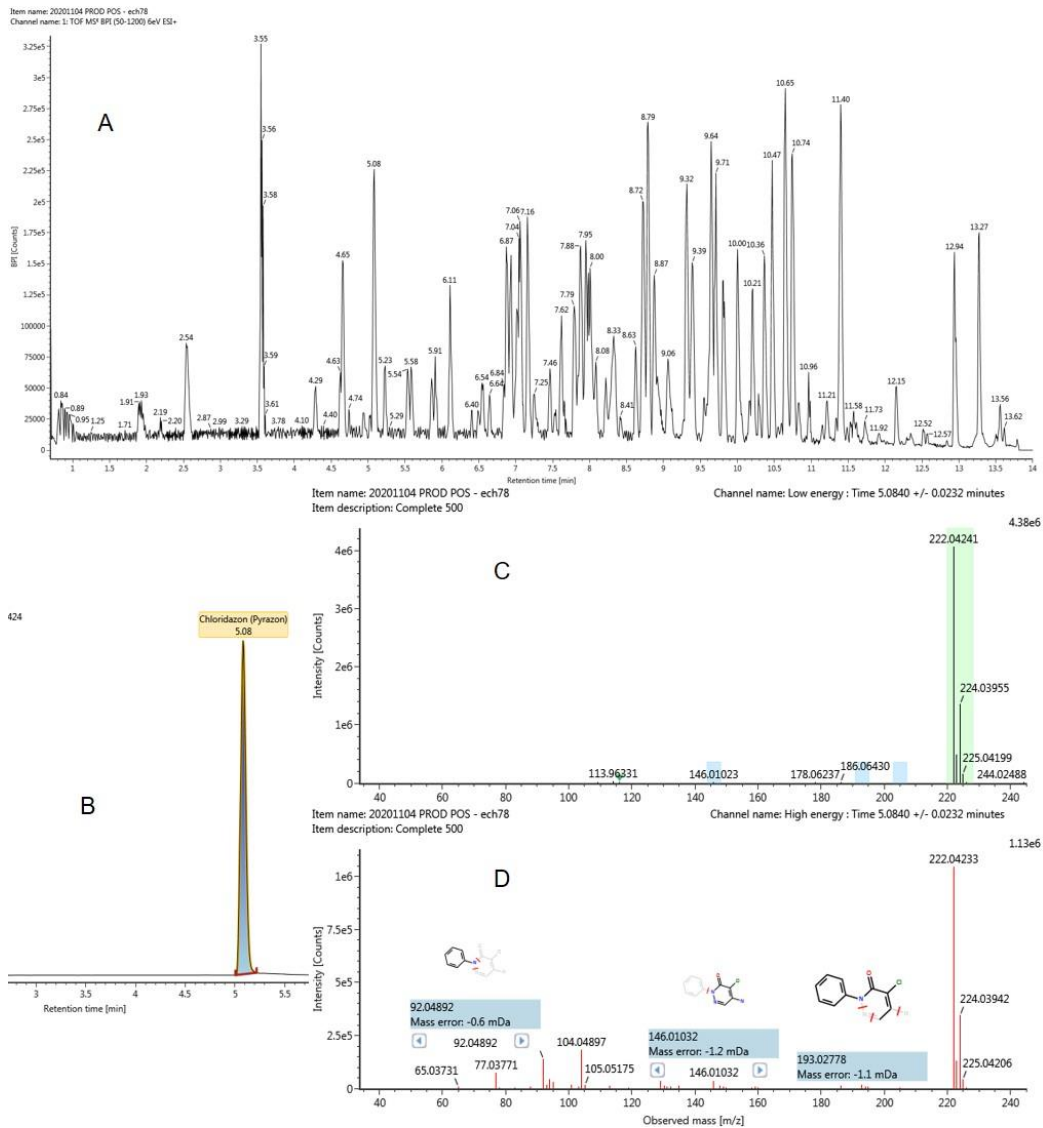
49 **Abstract**

50 Non-targeted analysis is currently experiencing significant developments in the field of environmental analysis
51 since it opens up investigations of environmental quality to a very large number of compounds. This article
52 consists of feedback from 12 French laboratories on the practices and cautions to be considered when carrying
53 out non-targeted analyses, in particular for the detection of suspect compounds in samples from aquatic
54 environments. Although this analytical approach provides new and very promising information, it is still a
55 complex technique that must be used with many precautions to ensure high-quality results. The joint
56 discussions carried out within the group of laboratories make it possible to synthesise technical information in
57 order to present the challenges of this methodology of major interest in environmental analysis. These issues
58 are presented in a simple and accessible way to laboratories, to those requesting analysis or anyone interested
59 in this new analytical approach. We also address locks related to the specificity of non-targeted analyses, the
60 development of methods and the reporting of results, in order to provide keys of understanding for the
61 laboratories and the end-users of the results. This work is thus intended to be a technical guide to discover the
62 benefits and opportunities of non-targeted analysis, and also a set of good practices for those who collect or
63 analyse data obtained with such analytical technologies.

64 Keywords: high-resolution mass spectrometry, organic contaminants, aquatic environments, identification,
65 quality control, data reliability

67 **Introduction**

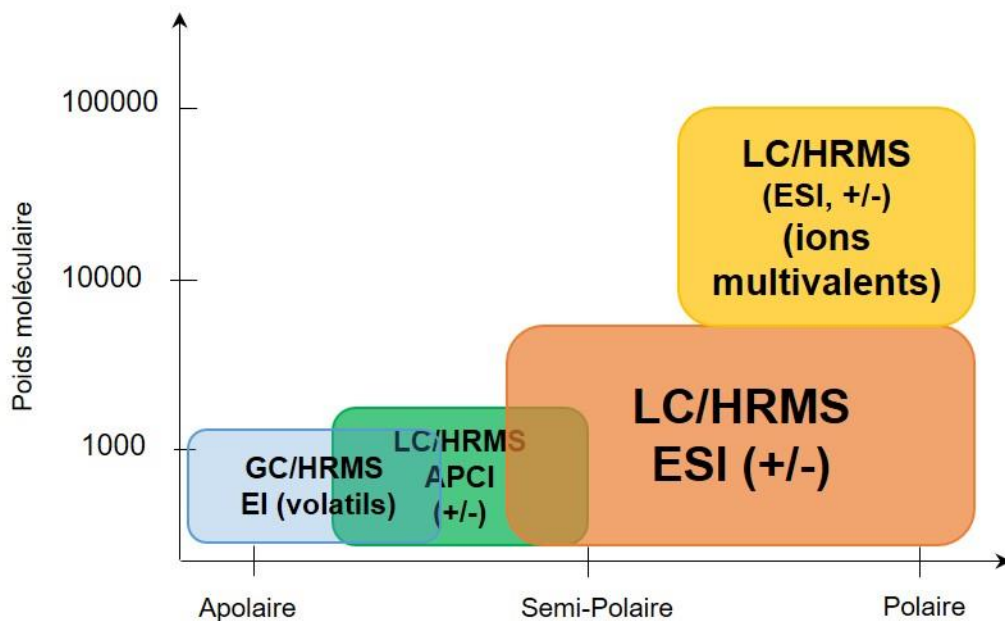
68 La recherche d'une gamme élargie de micropolluants organiques (ex. substances pharmaceutiques,
69 pesticides, drogues...) dans l'environnement est d'un intérêt scientifique croissant, notamment pour répondre
70 aux exigences de la Directive Cadre Européenne sur l'Eau [EC, 2000] qui vise à améliorer la qualité des
71 milieux aquatiques. Les moyens analytiques actuels permettent de détecter et de quantifier les micropolluants
72 présents à l'état de traces voire d'ultra-traces dans les milieux aquatiques [COQUERY *et al.*, 2011 ;
73 NOGUERA-OVIEDO et AGA, 2016 ; SCHMIDT, 2018]. Pour y parvenir, il est souvent nécessaire d'employer
74 des techniques de préparation d'échantillon, pour concentrer les micropolluants mais aussi éliminer les
75 interférents présents dans la matrice, en amont d'une analyse par chromatographie, liquide (LC) ou gazeuse
76 (GC), couplée à la spectrométrie de masse en tandem [RICHARDSON et KIMURA, 2020]. La limite de ces
77 techniques quantitatives ciblées est la nécessité de sélectionner une liste de micropolluants en amont de
78 l'analyse. Or la tendance est de vouloir rechercher une gamme de molécules toujours plus large sans *a priori*,
79 par exemple pour améliorer les liens entre indicateurs chimiques et état écologique [COQUERY, 2009 ; EC,
80 2000]. L'utilisation de couplage entre la chromatographie (LC ou GC) et la spectrométrie de masse haute
81 résolution (HRMS) offre désormais cette possibilité [ESCHER *et al.*, 2020], on parle alors d'analyse non ciblée.
82 Cette avancée technologique est rendue possible par la non sélectivité du détecteur et sa résolution. La
83 résolution en masse du détecteur conditionne la capacité à différencier deux molécules de masses
84 moléculaires très proches : plus la résolution est élevée, meilleure sera la séparation des masses. De ce fait,
85 la HRMS offre une précision en masse de l'ordre de 0,1 mDa (soit une masse molaire exprimée à 0,1 mg/mol
86 près) alors qu'elle est seulement de 100 mDa pour la spectrométrie de masse quantitative ciblée. Une
87 meilleure précision en masse permet d'avoir accès plus facilement à la composition élémentaire, à la structure
88 moléculaire ainsi qu'au massif isotopique des molécules détectées à partir des spectres de masses non
89 fragmentés (MS) et fragmentés (MS/MS). La *figure 1* illustre un exemple d'informations obtenues avec la LC-
90 HRMS.



91

92 *A : Chromatogramme d'un échantillon d'eau analysé par LC-HRMS. B : Pic extrait du chromatogramme pour*
 93 *la masse théorique 222,0428 Da au temps de rétention 5,08 min. C : Spectre de masse MS du pic à 5,08 min*
 94 *avec le massif isotopique en vert représentant la masse moléculaire expérimentale (222,0424) et la présence*
 95 *d'isotopes. D : Spectre de masse MS/MS du pic à 5,08 min représentant les fragments issus de la masse*
 96 *moléculaire expérimentale.*

97 Figure 1 : Exemple de résultats obtenus dans un échantillon d'eau analysé par chromatographie liquide
 98 couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (LC-HRMS), pour un pic chromatographique de masse
 99 222,0428 Da au temps de rétention 5,08 min.



100

101 *EI* : Impact électronique ; *APCI* : Ionisation chimique à pression atmosphérique ; *ESI* : Ionisation par
 102 *electrospray*

103 Figure 2 : Schéma de positionnement de différents couplages chromatographie-spectrométrie de masse en
 104 fonction de la masse et la polarité des molécules modifié à partir de [HALKET *et al.*, 2005 ; CHUNANG *et al.*,
 105 2016]

106 Pour pouvoir rechercher une gamme étendue de molécules présentes dans un échantillon d'eau, la LC-HRMS
 107 est la technique la plus répandue dans les laboratoires (*figure 2*). Des méthodes de GC-HRMS peuvent aussi
 108 être un bon complément pour accéder à des molécules plus volatiles ou moins polaires [PORTOLES *et al.*,
 109 2014]. Dans la plupart des cas, une étape préalable de préparation de l'échantillon est nécessaire pour
 110 éliminer les interférents de la matrice et concentrer les micropolluants dans l'extrait. Cette étape conduit
 111 nécessairement à une sélection des molécules présentes dans l'échantillon initial selon leurs propriétés
 112 physico-chimiques. Le laboratoire doit alors tout mettre en œuvre pour développer des méthodes de
 113 préparation d'échantillon les plus exhaustives et répondant aux objectifs de l'étude.

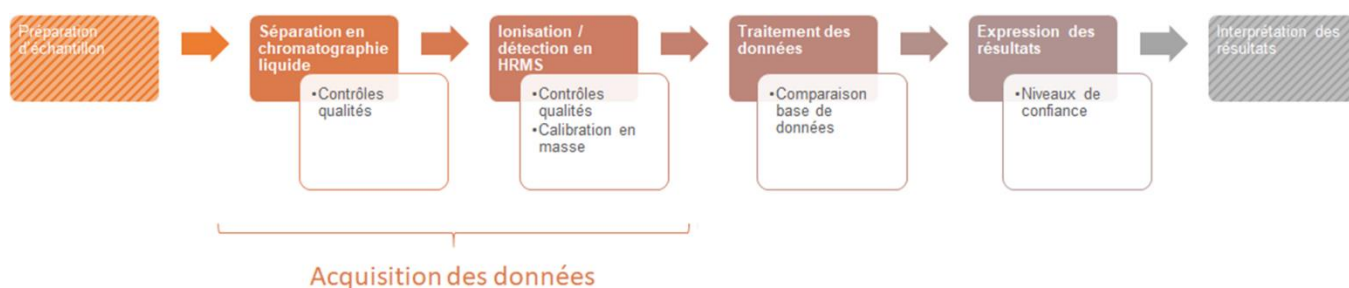
114 Une analyse non-ciblée par chromatographie couplée à la HRMS permet que tous les signaux, caractérisés
 115 par le couple « masse/charge (m/z) - temps de rétention (T_r) », présents dans l'extrait soient acquis et
 116 enregistrés, dans la mesure où ils sont analysables par la méthode utilisée (*figure 2*). Ainsi, pour chaque
 117 échantillon, il peut y avoir des milliers de signaux détectés. Pour identifier les molécules correspondantes,
 118 deux types de traitement de ces signaux peuvent être utilisés ensuite : une recherche de suspects, à partir de
 119 liste(s) de molécules d'intérêt en comparant leurs critères d'identification à ceux de bases de données (BDD),
 120 ou l'identification d'inconnus sans *a priori* [BERGÉ *et al.*, 2018 ; GOSETTI *et al.*, 2016 ; LEROY *et al.*, 2017 ;
 121 NORMAN, 2020 ; POURCHET *et al.*, 2020 ; TIAN *et al.*, 2020].

122 L'article proposé ici est un retour d'expérience de douze laboratoires français sur la méthodologie en lien avec
 123 l'analyse environnementale non-ciblée en LC-HRMS et la recherche de suspects dans les échantillons issus

124 des milieux aquatiques. Son objectif est double : 1) proposer aux laboratoires un état des lieux des pratiques
125 et un consensus sur la méthodologie à adopter pour rendre des résultats fiables, 2) améliorer la
126 compréhension des résultats issus de l'analyse non-ciblée en LC-HRMS par les demandeurs d'analyse. Cet
127 article considère l'ensemble des étapes d'analyse hormis la préparation d'échantillons. Il est le fruit d'une
128 réflexion commune prenant en compte la diversité des appareillages, des approches et des problématiques
129 de chaque laboratoire, pour mettre en évidence les points critiques considérés comme un minimum requis
130 pour assurer la fiabilité des résultats obtenus avec ce type d'approche analytique.

131 Pour répondre à cet objectif, l'article est composé de deux parties. La première décrit l'acquisition des données
132 en LC et HRMS en lien avec les contrôles qualité conseillés, les critères clés à considérer et les bases de
133 données utilisées au cours des traitements. La seconde partie est consacrée au traitement des données
134 acquises par LC-HRMS. Une classification simplifiée des niveaux de confiance accordée à l'identification d'une
135 molécule et des recommandations sur les informations minimales à fournir avec les résultats sont proposées.
136 L'ensemble de ces étapes successives est représenté sur la *figure 3*.

137



138

139 Figure 3 : Illustration des principales étapes du processus analytique LC-HRMS, sont grisées celles non
140 abordés dans cet article.

141 Pour faciliter la lecture, les auteurs proposent une uniformisation du vocabulaire LC-HRMS dans le *tableau I*.

142 1. Matériels et méthodes

143 1.1. Acquisition de la donnée

144 1.1.1 Séparation en chromatographie liquide

145 L'analyse LC en phase inverse est largement utilisée pour les méthodes quantitatives ciblées [SCHMIDT,
146 2018]. Elle permet la séparation de molécules appartenant à une large gamme de polarité (de composés
147 polaires à moyennement polaires). En effet, on cherche à ce que les conditions de séparation des composés
148 soient suffisamment peu spécifiques pour analyser un maximum de molécules en présence. Dans cette
149 optique, les phases stationnaires à base de silice greffées alkyle, notamment C18, sont majoritairement
150 employées pour l'analyse de micropolluants organiques dans l'environnement. Toutefois d'autres phases
151 (carbone graphitique poreux, phases mixtes, HILIC...) peuvent également être utilisées en seconde intention
152 afin de confirmer et/ou compléter des premières analyses.

153 1.1.2 Ionisation

154 Dans le but de limiter au maximum la sélectivité de la détection, la source d'ionisation utilisée doit être la plus
155 universelle possible (*figure 2*). C'est pourquoi l'ionisation par électrospray (ESI) est la source à privilégier pour
156 l'analyse non-ciblée LC-HRMS de micropolluants organiques dans l'environnement. L'ESI est par ailleurs
157 recommandée dans les modes positif et négatif pour leur complémentarité. La source d'ionisation chimique à
158 pression atmosphérique (APCI) peut être employée en complément pour avoir accès à des molécules moins
159 polaires. A l'inverse, les autres types de sources, par photo-ionisation à pression atmosphérique (APPI) par
160 exemple, sont trop spécifiques pour permettre une analyse représentative d'un maximum de micropolluants.

161 Afin de permettre une analyse non ciblée LC-HRMS, les détecteurs doivent présenter une résolution
162 supérieure à 10 000 et une précision en masse inférieure à 10 ppm pour permettre la séparation d'ions de
163 rapport masse sur charge (m/z) proches (par exemple pour discriminer deux composés de différences de
164 masse d'au moins 0,1 mDa). La fragmentation doit être également possible, c'est pourquoi, les spectromètres
165 les plus couramment utilisés sont de type hybride Q-TOF (quadripôle-temps de vol) et Q- ou LTQ-Orbitrap
166 (quadripôle ou trappe d'ions linéaire-Orbitrap).

167 1.1.3 Détection en HRMS

168 Contrairement aux analyses ciblées, où seuls les ions spécifiques des molécules visées sont analysés, les
169 analyses non ciblées en LC-HRMS sont réalisées en mode scan total. Celui-ci permet de balayer toute une
170 gamme de valeurs de m/z afin d'acquérir le maximum d'informations utiles à l'identification des molécules
171 [KIND et FIEHN, 2007]. Avant toute analyse, il est nécessaire d'anticiper le mode d'acquisition des données
172 en vue de la sauvegarde des fichiers générés. Il est possible de collecter les données de spectrométrie de
173 masse (MS) en mode profil ou centroïde. Avec le mode profil tous les points qui constituent un spectre de
174 masse sont enregistrés. L'avantage est que pour chaque m/z détecté, le pic gaussien est sauvegardé en
175 totalité c'est-à-dire que toute l'information liée à l'analyse est enregistrée et donc réexploitable. L'inconvénient
176 est la taille conséquente du fichier généré (quelques giga-octets) nécessitant d'investir dans une plateforme
177 de stockage des données. Le mode centroïde sauvegarde uniquement la médiane du pic gaussien, donc une
178 information partielle de l'analyse. Son intérêt est d'engendrer des fichiers de taille plus petite (inférieure à un
179 giga-octet) et plus facile à stocker mais il rend le traitement et la réexploitation moins fiables.

180 Suivant la technologie et/ou le fournisseur, deux modes d'acquisition peuvent être proposés.

181 - Le mode DDA (Data Dependent Acquisition) correspond à une alternance d'acquisition de spectres MS
182 et de spectres MS/MS (spectre de masse fragmenté) dans une même analyse. La sélection des ions à
183 fragmenter en MS/MS peut être déclenchée selon plusieurs types d'acquisition : i) « classique », basé
184 uniquement sur l'intensité des ions précurseurs, ii) « fermé », à partir d'une liste définie d'ions à
185 rechercher, iii) « mixte », basé à la fois sur une liste définie d'ions à fragmenter de préférence et sur les
186 ions les plus abondants de l'échantillon.

187 - Le mode DIA (Data Independent Acquisition) correspond à une alternance d'acquisition de spectres MS
188 et MS/MS sans sélection au préalable d'ions précurseurs. Les ions formés en source sont tous
189 fragmentés dans la cellule de collision. Il en résulte un spectre MS et un spectre MS/MS de tous les ions
190 présents.

191 Enfin, quel que soit le spectromètre (Q-TOF, Q- ou LTQ-Orbitrap), les paramètres majeurs qui influent
192 directement sur la qualité des spectres obtenus doivent être optimisés : l'énergie de collision variable (pour
193 augmenter les probabilités d'obtenir des fragments différents) et la fréquence d'acquisition responsable de la
194 définition d'un pic.

195 **1.1.4 Assurance Qualité et Contrôle Qualité**

196 Certains contrôles qualité utilisés dans les analyses quantitatives ciblées peuvent être transposés à l'analyse
197 non-ciblée LC-HRMS, comme par exemple l'ajout de quelques étalons marqués (en général homologues
198 deutérés de molécules) dans tous les extraits pour contrôler la qualité de l'injection, la stabilité du système,
199 les effets matrices... Il est important de rappeler que l'analyse non-ciblée LC-HRMS permet de détecter de
200 nombreuses molécules mais également beaucoup d'interférents ; ceux-ci peuvent provenir de l'échantillon lui-
201 même mais aussi d'une contamination liée au prélèvement, aux solvants, aux fluides, à l'instrument analytique
202 et aux consommables utilisés. Cette technique très sensible nécessite donc l'usage de matériels et solvants
203 de très haute pureté. Les contrôles qualité sont gages de la fiabilité des résultats générés pour éviter au
204 maximum les faux positifs et négatifs d'analyse [SCHULZ *et al.*, 2019].

205 La calibration du spectromètre de masse permet de s'assurer de l'exactitude en masse sur tout le domaine
206 d'acquisition. La gamme de masse doit être précisée par l'analyste. Pour les micropolluants organiques dans
207 les matrices environnementales, il est généralement admis de travailler sur une gamme s'étalant de 50-80 à
208 1200-2000 Da [SCHULZE *et al.*, 2020]. Avant une séquence d'analyses, la calibration est effectuée à l'aide
209 d'une solution de calibrant dont la nature est propre à chaque constructeur ou laboratoire. Selon la
210 configuration de l'instrument, cette calibration est complétée par l'infusion en continu d'une solution de
211 référence (lockmass) permettant la correction en masse au cours de l'analyse. La fréquence et le mode de
212 calibration dépendent de l'appareillage utilisé et des analyses effectuées.

213 La sensibilité et la répétabilité du couplage LC-HRMS sont vérifiées à l'aide de solutions d'étalons analytiques
214 non marqués. Il est recommandé de suivre la stabilité des masses, les temps de rétention et les intensités au
215 cours du temps. Pour cela, cette solution étalon est injectée au minimum en début de séquence d'analyses ;
216 elle doit contenir plusieurs molécules détectables par la méthode LC-HRMS utilisée et choisies de façon
217 pertinente pour couvrir à la fois la gamme de masse et de temps de rétention. L'injection régulière de cette
218 solution au cours d'une séquence permet de contrôler l'absence d'une dérive instrumentale.

219 Enfin, des blancs solvants sont régulièrement injectés pour évaluer l'état de contamination du système. Des
220 mesures régulières « à blanc » sont également utilisées pour évaluer la contamination apportée par
221 l'échantillonnage, le matériel (verrerie, appareillage...), les solvants, les réactifs et les contaminations croisées.
222 Ces vérifications peuvent être effectuées, lors de chaque série d'analyse, par l'utilisation d'un blanc solvant et
223 d'un blanc de procédure. Compte tenu de la démarche appliquée qui se veut la moins sélective possible, des
224 signaux sont toujours détectés quelle que soit la nature du blanc. Il revient alors à l'analyste d'identifier les
225 signaux qui interfèrent avec ceux présents dans les extraits.

226 En résumé, chaque séquence d'analyse devrait inclure *a minima* : des solutions d'étalons, des blancs solvants,
227 des blancs de procédure.

228 1.2. Informations disponibles après une analyse non-ciblée LC-HRMS

229 La qualité et la pertinence des résultats obtenus en analyses non-ciblée LC-HRMS dépendent autant de
230 l'exploitation et la validation des données obtenues que des modes d'acquisition de celles-ci. Les données
231 obtenues par l'analyse non-ciblée LC-HRMS peuvent être exploitées de plusieurs façons : recherche de
232 suspects, présentée dans ce document, ou identification d'inconnus. Cette dernière ne sera pas abordée ici
233 car, extrêmement complexe à mettre en œuvre, elle est actuellement plutôt réservée à des fins de recherche
234 très spécifiques par des laboratoires spécialisés. La recherche de suspects consiste à identifier des molécules
235 présentes dans un extrait en comparant leurs critères d'identification à ceux de bases de données (BDD
236 internes ou externes). Cette section détaille l'ensemble des critères utilisés en recherche de suspects pour la
237 validation des données expérimentales acquises et les seuils acceptables.

238 L'injection d'un extrait génère un chromatogramme et des informations spectrales contenant l'ensemble des
239 critères utilisés pour identifier les molécules présentes dans ledit extrait (*figure 1*). Il est indispensable de
240 s'assurer de la fiabilité des données expérimentales à exploiter. Pour cela, il existe plusieurs procédures ou
241 filtres dépendant des logiciels de traitement (constructeurs ou en libre accès) [DULIO *et al.*, 2020 ;
242 OBERACHER *et al.*, 2020]. Par exemple, les échantillons peuvent être analysés en triplicat et seules les
243 entités présentes dans les trois injections avec une intensité et un rapport signal/bruit (S/N) prédéfinis par
244 l'analyste seront conservés. Les entités détectées à la fois dans les extraits et dans les différents blancs
245 d'analyse doivent être repérées. Seules les entités dont le rapport entre l'intensité dans l'extrait et dans les
246 blancs est supérieur à une valeur définie par le laboratoire sont retenues. Les auteurs du présent article
247 préconisent une valeur de 10 pour ce critère de sélection. L'expertise de l'opérateur est essentielle pour le tri
248 des données.

249 Dans le cas d'une recherche de suspects, les informations clés à extraire (*figure 1*) pour chaque entité sont :

- 250 - la masse exacte de l'ion ou adduit moléculaire qui représente le premier critère pour l'identification d'une
251 entité en HRMS. L'identification de l'entité n'est prise en compte que si la différence entre la masse exacte
252 expérimentale et celle issue de la base de données n'excède pas l'incertitude fixée par le laboratoire.
253 L'écart acceptable entre la masse exacte expérimentale et théorique ne doit pas excéder 10 ppm.
254 Plusieurs molécules peuvent respecter la tolérance définie, ce qui a pour conséquence une sélection de
255 plusieurs molécules pour une même masse exacte expérimentale ;
- 256 - le spectre de fragmentation (MS/MS). Afin d'améliorer la fiabilité d'identification d'une entité, des données
257 de fragmentation sont utilisées lorsqu'elles ont pu être acquises (selon la sensibilité et la nature de la
258 molécule). Plus le nombre de fragments communs entre les données expérimentales et ceux des bases
259 de données est important, plus ce critère sera pertinent. Les auteurs préconisent qu'un minimum de 70%
260 de fragments détectés expérimentalement soit commun aux fragments présents dans la BDD. Deux
261 fragments sont considérés comme similaires si la différence entre leurs masses exactes est inférieure à
262 10 ppm ;
- 263 - le massif isotopique, autre critère utile pour la confirmation d'une entité lorsque celle-ci contient des
264 halogènes, notamment du chlore ou du brome. Ces deux éléments produisent en effet des massifs

265 isotopiques caractéristiques qui permettent de valider leur présence ;
266 - le temps de rétention (Tr) qui, s'il est présent dans la BDD et s'il a été acquis avec la même méthode
267 analytique, permet d'apporter un critère d'identification supplémentaire liée à la séparation par
268 chromatographie en amont de la HRMS. Une tolérance doit être fixée sur ce critère. Les auteurs du
269 présent article préconisent un écart acceptable compris entre 0,15 à 0,5 min en fonction de la provenance
270 du Tr de référence. Lorsque ce dernier a été prédit par modélisation, l'écart toléré sera plus important
271 [BRIDE *et al.*, 2020]. Dans ce dernier cas, l'utilisation du temps de rétention permet surtout d'éliminer des
272 candidats aberrants ;
273 - enfin, la valeur de section efficace de collision (CCS - Collision Cross Section), si le laboratoire dispose
274 d'un spectromètre de masse avec la mobilité ionique en amont du détecteur [BIJLSMA *et al.*, 2019].

275 **1.3. Bases de données (BDD) pour la recherche de suspects**

276 Une base de données regroupe, dans le meilleur des cas, l'ensemble des critères et informations listés ci-
277 dessus. On peut classer les BDD selon leur origine, leur nature et la quantité des informations disponibles.

278 **1.3.1 Bases de données internes**

279 Ce type de base de données est spécifique à un modèle d'instrument et une méthodologie. Elles sont créées
280 au sein du laboratoire d'analyse. Celles provenant des constructeurs peuvent être aussi considérées comme
281 internes seulement si les conditions d'analyse (modèle d'instrument et méthodologie) sont identiques et si les
282 critères d'identification sont complets.

283 De telles BDD sont construites en injectant chaque molécule (étalon analytique) individuellement. Toute
284 modification dans la méthode analytique implique une mise à jour des informations des BDD internes ou la
285 construction d'une nouvelle BDD. Il est préconisé, pour chaque molécule, d'acquérir ces informations en deux
286 étapes : une première pour repérer, à forte concentration, les critères d'identification, et une seconde pour
287 évaluer leur concordance à des niveaux de concentrations plus faibles en adéquation avec les niveaux
288 attendus dans les échantillons environnementaux.

289 Ainsi, pour chaque molécule, les informations suivantes sont obligatoirement collectées :

290 a) identité de la molécule : il convient d'être particulièrement vigilant sur la forme des molécules prise en
291 compte (isomères, sels, etc.) et sur l'homogénéité des noms provenant de sources différentes (nom anglais,
292 français, abréviation...). Il est ainsi conseillé d'associer d'autres identifiants internationaux (ex. numéro CAS,
293 Inch code, SMILES) à chaque substance enregistrée afin de pouvoir faire le lien avec un système de
294 référencement international ;

295 b) formule brute/masse exacte ;

296 c) mode d'ionisation (positif / négatif) et adduits (MH⁺/MH⁻, MNa⁺, ...) ;

297 d) fragments associés aux énergies ou rampes de collision utilisées (selon les constructeurs) ;

298 e) temps de rétention.

299 Des informations supplémentaires peuvent être mentionnées en fonction des exigences que se fixe le
300 laboratoire ou suivant les équipements dont il dispose :

301 f) estimation de la sensibilité et de la linéarité par l'injection d'une gamme d'étalonnage ;

302 g) valeur de section efficace de collision (CCS) pour les instruments équipés en mobilité ionique.

303 Les BDD internes peuvent être incrémentées par ajout de nouvelles molécules, uniquement si la méthodologie
304 analytique est identique. Dans le cas contraire, une nouvelle BDD doit être créée. Si le laboratoire ne dispose
305 plus des étalons analytiques, une tolérance plus importante sur le critère temps de rétention pourra être
306 acceptée et laissée à l'appréciation de l'expert.

307 **1.3.2 Bases de données externes**

308 Les constructeurs proposent, pour chacun de leur instrument, des BDD élaborées avec des méthodes
309 analytiques suffisamment génériques pour être transposées dans les laboratoires et utilisées pour une
310 recherche de suspects. Elles contiennent généralement les mêmes types d'informations que les BDD internes
311 à l'exception des informations sur la sensibilité. L'utilisation de BDD constructeur permet au laboratoire d'initier
312 une première recherche de suspects sans avoir à élaborer une base de données interne, mais en restant
313 vigilant sur l'identité des molécules et leur rétention chromatographique qui n'est parfois même pas
314 renseignée. De plus, ces BDD peuvent être incomplètes et le mode de détermination des critères est souvent
315 inconnue (théorique ou expérimentale sans indication précise sur l'appareil utilisé, la colonne ou le mode de
316 détection). Ces BDD externes sont, à l'heure actuelle, souvent créées par familles de substances (ex.
317 pesticides, composés pharmaceutiques...). Comme pour les BDD internes, cela exclut de facto la possibilité
318 d'identifier des substances d'autres familles que celles présentes dans ces bases. De la même manière, les
319 métabolites ou produits de dégradation sont encore peu inclus dans ces BDD même si les constructeurs
320 mettent à jour ces listes de substances régulièrement.

321 Le laboratoire peut également faire une recherche de suspects à partir d'informations spectrales collectées :

322 - sur des bases de données externes en libre accès et consultables sur internet, telles que MassBank
323 (<https://massbank.eu/MassBank/>) ou mz Cloud (www.mzcloud.org). Elles sont indépendantes des
324 fournisseurs et visent à collecter un maximum d'informations de façon participative. Après validation par
325 un comité scientifique, chaque institut ou laboratoire peut contribuer à alimenter ces BDD avec ses
326 données expérimentales ou théoriques. Certaines sont plus complètes que d'autres et vont jusqu'à
327 indiquer les conditions dans lesquelles ont été produites les données expérimentales fournies (conditions
328 chromatographiques, mode d'acquisition, appareil...). Il est possible d'utiliser ces bases sous réserve de
329 s'assurer de l'adéquation de la technologie HRMS (Q-TOF et Q- ou LTQ-Orbitrap) et de fragmentation
330 mises en œuvre, avec l'équipement du laboratoire ;

331 - grâce à des modèles de prédiction *in silico*. Des outils logiciels peuvent être fournis par les constructeurs,
332 disponibles en libre accès (ex. Metfrag, <https://msbi.ipb-halle.de/MetFrag/>), ou développés en interne
333 pour apporter des informations théoriques sur la fragmentation d'une molécule. Celles-ci peuvent
334 compléter les lacunes des bases de données constructeur [BLETSOU *et al.*, 2015] ;

335 - dans la littérature scientifique où sont fournies les données spectrales de certaines molécules : exemple
336 avec les études de GOSETTI *et al.* [2016] ou TIAN *et al.* [2020].

337

338 2. Retraitement et expression des résultats

339 Les informations acquises suite à une analyse LC-HRMS sont traitées en deux étapes :

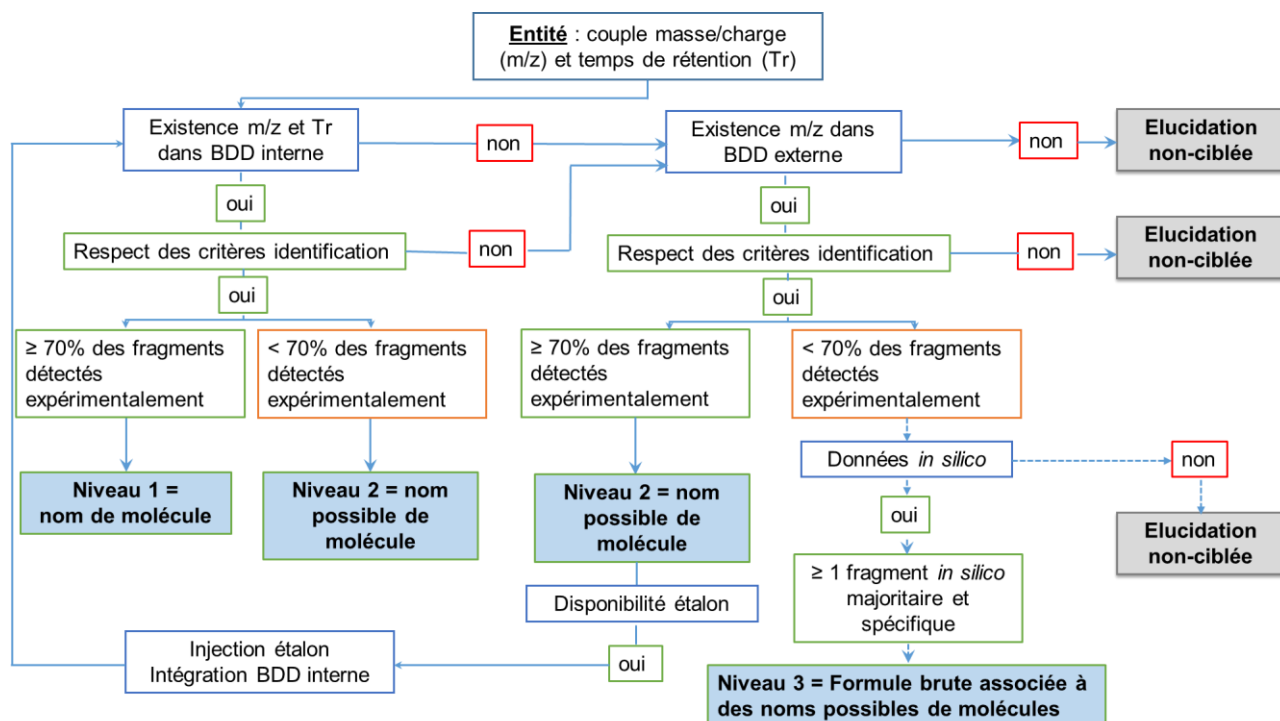
340 - pour chaque entité d'une injection, attribution d'un niveau de confiance qui s'appuie sur les critères décrits
341 en 1.2 ;

342 - pour chaque molécule identifiée, confirmation de sa présence réelle dans chacun des extraits, en tenant
343 compte des blancs et des répliquats d'injections.

344 2.1. Niveau de confiance des entités et confirmation de présence des molécules

345 Dans un premier temps, la recherche de suspects se base sur la comparaison des données expérimentales
346 avec celles contenues dans une BDD interne ou externe (1.3). Dans certains cas, la totalité des informations
347 (expérimentales ou théoriques) n'est pas disponible ce qui rend l'identification incertaine. Il est donc essentiel
348 d'attribuer un niveau de confiance aux entités dites identifiées.

349 SCHYMANSKI *et al.* [2014] ont proposé une classification qui détermine cinq principaux niveaux de confiance
350 pour la recherche de suspects. Pour simplifier la compréhension des résultats et pour les rendre plus
351 opérationnels, une classification réduite à trois niveaux (*figure 4*) est proposée par les auteurs du présent
352 article. Elle résulte de la mise en commun des pratiques de l'ensemble des organismes participant à cet article.



353

354 Figure 4 : Classification réduite à trois niveaux de confiance basée sur les travaux de SCHYMANSKI *et al.*
355 [2014], le niveau 1 étant le niveau maximal de confiance

356 Pour chaque entité présente dans l'extrait, l'opérateur vérifie si la BDD interne du laboratoire contient le couple
357 (m/z, Tr) et dans ce cas, si les critères énoncés en 1.2 sont respectés, l'identification de la molécule sera alors
358 confirmée au niveau 1 (niveau maximal) ou 2. La différenciation entre les deux niveaux se fait par un troisième
359 critère qui est la présence de fragments spécifiques. S'il y a correspondance des données de fragmentation
360 pour au moins 70% des fragments expérimentaux, la molécule est identifiée au niveau 1 et un nom lui est
361 attribué ; dans le cas contraire, il s'agit d'une identification de niveau 2 avec un nom possible de molécule.

362 Si le couple (m/z, Tr) de l'entité n'est pas trouvé dans la BDD interne ou que le laboratoire n'en dispose pas,
363 il est possible de rechercher le m/z dans une BDD externe en respectant l'écart en masse maximal de 10 ppm.
364 Si les données de fragmentations expérimentales et théoriques correspondent pour au moins 70% des
365 fragments, la molécule est identifiée au niveau 2, avec un ou plusieurs noms de molécules possibles. En
366 complément, la prédiction des temps de rétention peut permettre de réduire cette liste de candidats. Il est à
367 noter que le niveau de confiance peut être reclassé au niveau 1 si le laboratoire se procure l'étalon, qu'il
368 l'injecte, l'incrémente dans la BDD interne et que les critères définis au paragraphe précédent sont respectés.

369 Si la BDD externe ne contient pas de données de fragmentation, certains logiciels de fournisseur ou en libre
370 accès permettent de les prédire à partir de la structure moléculaire d'une molécule avec des outils *in silico*.
371 Dans ce cas, si au minimum un fragment majoritaire et spécifique obtenu par modélisation *in silico* correspond
372 aux données expérimentales, l'identification est au niveau 3, avec une proposition de formule brute à laquelle
373 peuvent-être associés un ou des noms probables de molécules. Sinon, une recherche d'inconnus pourra être
374 menée par élucidation structurale, afin de déterminer la structure chimique d'une molécule à partir des
375 données issues de la spectrométrie de masse.

376 Dans un deuxième temps, il convient à l'opérateur de vérifier la cohérence entre tous les échantillons d'une
377 même série analytique. Pour confirmer la présence d'une molécule dans un échantillon, celle-ci doit être
378 détectée dans l'ensemble des répliqués d'injections et absente des blancs de manière significative (au
379 maximum 10% de l'intensité).

380 **2.2. Expression des résultats**

381 Compte tenu des recommandations précédentes, il est nécessaire qu'un rapport présentant les résultats issus
382 d'une recherche de suspects par une analyse non-ciblée LC-HRMS contienne un certain nombre
383 d'informations liées aux méthodes employées (ou métadonnées). Ces informations doivent contenir *a minima*
384 un descriptif rapide de la méthodologie mise en œuvre (type de prélèvement, préparation d'échantillon et
385 méthode analytique) et la liste des molécules identifiées avec le niveau de confiance associé (nom pour le
386 niveau 1, nom(s) possibles(s) pour le niveau 2, formule brute, identifiants internationaux). Un exemple de
387 rendu de résultats pour des molécules identifiées dans plusieurs échantillons est proposé dans le *tableau II*.

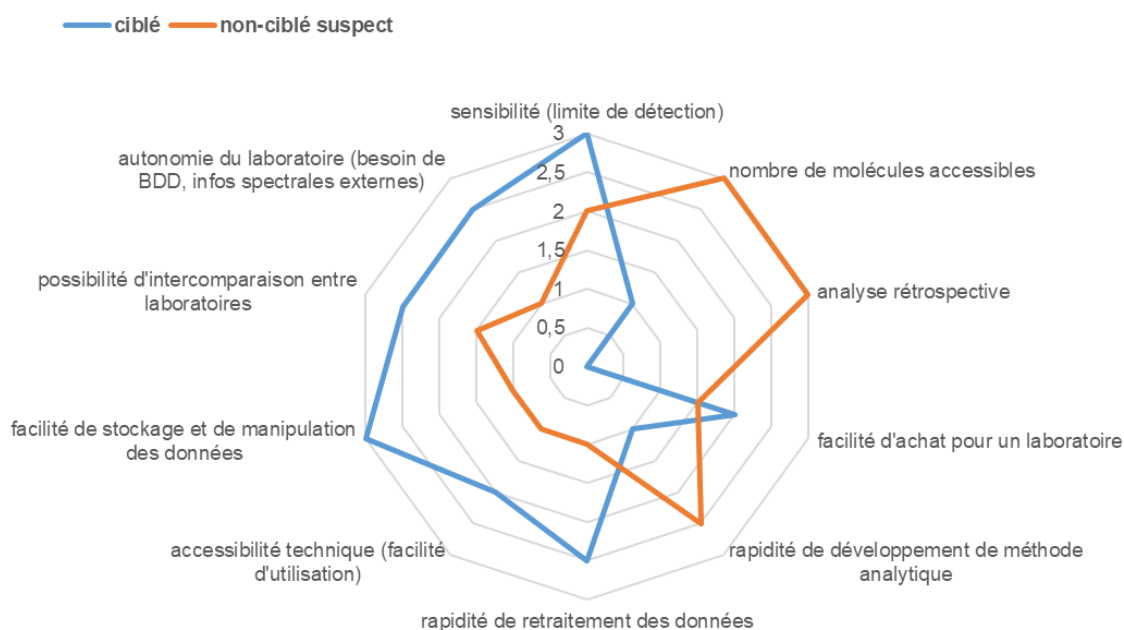
388 En complément, certains laboratoires pourront également mentionner les formules brutes des entités (niveau
389 de confiance 3) et les résultats d'élucidations structurales non ciblées (recherche d'inconnus).

390 **Conclusion et perspectives**

391 L'analyse non ciblée par LC-HRMS présente un intérêt certain pour le suivi des micropolluants organiques

392 dans l'environnement car elle permet l'accès à un nombre très important de molécules par rapport aux
 393 méthodes quantitatives ciblées, dédiées à des listes de molécules. Les laboratoires peuvent s'appuyer sur
 394 leur expérience avec les analyses ciblées (par LC-MS en particulier) ; certaines bonnes pratiques étant
 395 communes (ex. contrôles qualité) ou pouvant être adaptées à l'analyse non ciblée. Un certain nombre de
 396 particularités propres aux analyses non ciblées sont cependant à considérer : la nature qualitative et non
 397 quantitative des résultats, la sensibilité plus faible du fait de l'acquisition en mode scan total, le besoin
 398 d'expertise du personnel pour le développement analytique et le traitement des données, le coût
 399 (investissement, maintenance, stockage des données) ainsi que le temps de personnel importants pour le
 400 retraitement, mais également l'interprétation différente des données (ex. niveau de confiance associé), et la
 401 possibilité d'études rétrospectives en recherchant a posteriori la présence de molécules d'intérêts dans des
 402 extraits injectés auparavant (figure 5).

403 Il est important que le laboratoire et le demandeur d'analyses échantent au préalable pour bien définir les
 404 besoins et objectifs de l'étude afin d'adapter le traitement de données. Par ailleurs le rendu de résultats
 405 d'analyses non ciblées doit être systématiquement accompagné de métadonnées (méthode d'analyse et de
 406 traitement) et d'un niveau de confiance attribué à l'identification des molécules suspectées, avec les critères
 407 utilisés pour définir ce niveau.



408

409 Figure 5 : Intérêts croisés de l'analyse ciblée par LC-MS (bleu) et de la recherche de suspects par analyse
 410 non-ciblée LC-HRMS (orange). Les valeurs élevées sur l'échelle de notation arbitraire d'un axe indiquent des
 411 performances meilleures pour le critère considéré.

412 Les perspectives offertes par les analyses non ciblées en LC-HRMS sont nombreuses. En particulier, une
 413 estimation des niveaux de concentration (semi-quantification) de molécules suspectées, pour lesquelles le
 414 laboratoire ne dispose pas ou plus d'étalons analytiques, peut être envisagée en utilisant les étalons de

415 molécules possédant des propriétés physico-chimiques équivalentes. Ce type d'approche comporte
416 cependant une forte incertitude, et ne peut donc fournir qu'un intervalle indicatif et ne peut en aucun cas être
417 utilisé comme une valeur assimilée à une concentration précise (qui serait par exemple nécessaire pour une
418 comparaison avec une valeur réglementaire ou une utilisation dans un calcul d'abattement au cours d'un
419 traitement). Dans le cadre d'analyses rétrospectives d'échantillons, il est également possible d'estimer le
420 niveau de concentration d'une molécule identifiée par la réalisation d'une gamme d'étalonnage *a posteriori* et
421 sous réserve que les contrôles qualités aient bien été réalisés. Le fait que l'étalonnage et l'injection de
422 l'échantillon ne soient pas réalisés au cours de la même séquence analytique entraîne toutefois un biais, qui
423 peut être conséquent si la durée entre les deux injections est importante. Comme dans le cas précédent, le
424 résultat issu de cet exercice ne peut être qu'une indication d'un niveau de contamination de la molécule dans
425 l'échantillon.

426 Beaucoup d'efforts sont actuellement réalisés pour améliorer l'intercomparaison des méthodes et des résultats
427 obtenus par différents laboratoires, notamment par l'organisation d'essais interlaboratoires [SCHYMANSKI *et*
428 *al.*, 2015 ; NORMAN, 2020]. A cet effet, des difficultés liées au stockage et au partage des données entre
429 laboratoire se font sentir, notamment par la faible compatibilité des formats de données entre les différents
430 constructeurs d'instruments et la difficulté de mise en œuvre des outils libres d'accès permettant d'y remédier.
431 Des guides sont rédigés pour aider au développement et à l'interprétation de ce type d'analyse [SCHULZ *et*
432 *al.*, 2019], et sont également dédiés à l'identification de molécules inconnues, autre application de la LC-HRMS
433 qui nécessite encore plus d'expertise et de temps que les analyses en mode suspect. Des réflexions sont
434 également en cours pour porter ces méthodologies analytiques à la normalisation nationale et internationale
435 [TOGOLA *et al.*, 2018].

436 **Remerciements**

437 Les auteurs tiennent à remercier BONNEFILLE Benilde, BULETE Audrey, COUREAU Charlotte, GUILLEMAIN
438 Céline, GUILLON Amélie, LAVISON-BOMPARD Gwenaëlle, et TOGOLA Anne pour leur participation aux
439 échanges en amont de la rédaction de cet article ; l'ensemble des instituts et en particulier le BRGM et INRAE
440 pour leur soutien financier ; et les collègues pour leur contribution grâce à une relecture attentive et avisée.

441 **Bibliographie**

442 BERGÉ A., BULETÉ A., FILDIER A., GASPERI J., MAILLER R., ROCHER V., VULLIET E. (2018) : « La
443 spectrométrie de masse haute résolution : un outil innovant de caractérisation des ouvrages
444 d'assainissement. » *Techniques Sciences Méthodes* ; 12 : 51-66.

445 BIJLSMA L., BERNTSSEN M. H. G., MEREL, S (2019) : « A Refined Nontarget Workflow for the Investigation
446 of Metabolites through the Prioritization by in Silico Prediction Tools. » *Analytical Chemistry* ; 91(9) : 6321-
447 6328.

448 BLETSOU A. A., JEON J., HOLLENDER J., ARCHONTAKI E. , THOMAIDIS N. S. (2015) : « Targeted and
449 non-targeted liquid chromatography-mass spectrometric workflows for identification of transformation products
450 of emerging pollutants in the aquatic environment. » *TrAC Trends in Analytical Chemistry* ; 66 : 32-44.

451 BRIDE E., HEINISCH S., BONNEFILLE B., GUILLEMAIN C., MARGOUM C. (2020) : « Suspect screening of
452 environmental contaminants by UHPLC-HRMS and transposable Quantitative Structure-Retention
453 Relationship modelling. » *Journal of Hazardous Materials* : in press.
454 <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124652>

455 CHUNANG C., RUSSEL D. et YEHL P. (2016) : « Application of LCMS in small-molecule drug development. »
456 *European Pharmaceutical Review* ; 4 : Digital edition.

457 COQUERY M. (2009) : « Le contrôle et la réduction des apports de substances chimiques vers les milieux
458 aquatiques. Panorama des programmes en cours, en France et en Europe. » *Techniques Sciences Méthodes* ;
459 4 : 18-32.

460 COQUERY M., POMIES M., MARTIN-RUEL S., BUDZINSKI H., MIÈGE C., ESPERANZA M., SOULIER C.,
461 CHOUBERT J.-M. (2011) : « Mesurer les micropolluants dans les eaux usées brutes et traitées Protocoles et
462 résultats pour l'analyse des concentrations et des flux. » *Techniques Sciences Méthodes* ; 1/2 : 25-43.

463 DULIO V., KOSCHORRECK J., B. VAN BAVEL B., VAN DEN BRINK P., HOLLENDER J., MUNTHE J.,
464 SCHLABACH M., AALIZADEH R., AGERSTRAND M., AHRENS L., ALLAN I., ALYGIZAKIS N., BARCELO D.,
465 BOHLIN-NIZZETTO P., BOUTROUP S., BRACK W., BRESSY A., CHRISTENSEN J. H., CIRKA L., COAVCI
466 A., DERKSEN A., DEVILLER G., DINEGEMANS M. M. L., ENGWALL M., FATTA-KASSINOS D., GAGO-
467 FERRERO P., HERNANDEZ F., HERZKE D., HILSCHEROVA K., HOLLERT H., JUNGHANS M., KASPRZYK-
468 HORDERN B., KEITER S., KOOLS S. A. E., KRUIVE A., LAMBROPOULOU D., LAMOREE M., LEONARDS
469 P., LOPEZ B., LOPEZ DE ALDA M., LUNDY L., MAKOVINSKA J., MARIGOMEZ I., MARTIN J. W., MCHUGH
470 B., MIÈGE C., O'TOOLE S., PERKOLA N., POLESSELLO S., POSTHUMA L., RODRIGUEZ-MOZAZ S.,
471 ROESSINK I., ROSTKOWSKI P., RUEDEL H., SAMANIPOUR S., SCHULZE T., SCHYMANSKI E. L., SENGL
472 M., TABAREK P., TEN HULSCHER D., THOMAIDIS N., TOGOLA A., VALSECCHI S., VAN LEEUWEN S.,
473 VON DER OHE P., VORKAMP K., VRANA B., SLOBODNIK J. (2020) : « The NORMAN Association and the
474 European Partnership for Chemicals Risk Assessment (PARC) : let's cooperate! » *Environmental Sciences*
475 *Europe* ; 32(1) : 100.

476 EC (2000) : « Directive 2000/60/CE du Parlement Européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un
477 cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. » *JO L 327 du 22.12.2000* : 1-73.

478 ESCHER B. I., STAPLETON H. M., SCHYMANSKI, E. L. (2020) : « Tracking complex mixtures of chemicals
479 in our changing environment. » *Science* ; 367(6476) : 388-392.

480 GOSETTI F., MAZZUCCO E., GENNARO M. C., MARENGO E. (2016) : « Contaminants in water : non-target
481 UHPLC/MS analysis. » *Environmental Chemistry Letters* ; 14(1) : 51-65.

482 HALKET J.M., WATERMAN D., PRZYBOROWSKA A.M., PATEL R.K.P., FRASER P.D. et BRAMLEY P.M.
483 (2005) : « Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolomics profiling by GC/MS and
484 LC/MS/MS. » *Journal of Experimental Botany* ; 56(140) : 219-243.

485 KIND T., FIEHN O. (2007) : « Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by
486 accurate mass spectrometry. » *Bmc Bioinformatics* ; 8(105).

487 LEROY G., INGRAND V., BESSE J.-P., JEANDENAND S., LAFON D., VRIGNON S., HUAU M.-C. (2017) :
488 « Cartographie qualitative des micropolluants organiques et minéraux transitant dans le système
489 d'assainissement du bassin d'Arcachon. » *Techniques Sciences Méthodes* ; 10 : 45-58.

490 NOGUERA-OVIEDO K., AGA D. S. (2016) : « Lessons learned from more than two decades of research on
491 emerging contaminants in the environment. » *Journal of Hazardous Materials* ; 316 : 242-251.

492 NORMAN (2020) : <https://www.norman-network.com/>

493 OBEARCHER H., SASSE M., ANTIGNAC J. P., GUITTON Y., DEBRAUWER L., JAMIN E. L., SCHULZE T.,
494 KRAUSS M., COVACI A., CABALLERO-CASERO N., ROUSSEAU K., DAMONT A., FENAILLE F., LAMOREE
495 M., SCHYMANSKI E. L. (2020) : « A European proposal for quality control and quality assurance of tandem
496 mass spectral libraries. » *Environmental Sciences Europe* ; 32(1).

497 PORTOLES T., MOL J. G. J., SANCHO J. V., HERNANDEZ F. (2014) : « Use of electron ionization and
498 atmospheric pressure chemical ionization in gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry
499 for screening and identification of organic pollutants in waters. » *Journal of Chromatography A* ; 1339 : 145-
500 153.

501 POURCHET M., DEBRAUWER L., KLANOVA J., PRICE E. J., COVACI A., CABALLERO-CASERO N.,
502 OBERACHER H., LAMOREE M., DAMONT A., FENAILLE F., VLAANDEREN J., MEIJER J., KRAUSS M.,
503 SARIGIANNIS D., BAROUKI R., LE BIZEC B., ANTIGNAC J. P. (2020) : « Suspect and non-targeted
504 screening of chemicals of emerging concern for human biomonitoring, environmental health studies and
505 support to risk assessment : From promises to challenges and harmonisation issues. » *Environment*
506 *International* ; 139 : 105545.

507 RICHARDSON S. D., KIMURA S.Y. (2020) : « Water analysis : Emerging contaminants and current issues. »
508 *Analytical Chemistry* ; 92(1) : 473-505.

509 SCHULZ W., LUCKE T. et al. (2019) : « Non-target screening in water analysis - Guideline regarding the
510 application of LC-ESI-HRMS for screening. » Disponible en ligne : [https://www.wasserchemische-](https://www.wasserchemische-gesellschaft.de)
511 [gesellschaft.de](https://www.wasserchemische-gesellschaft.de).

512 SCHULZE B., JEON Y., KASERZON S., HEFFERNAN A. L., DEWAPRIYA P., O'BRIEN J., GOMEZ RAMOS
513 M. J., GHORBANI GORJI S., MUELLER J. F., THOMAS K. V., Samanipour S. (2020) : « An assessment of
514 quality assurance/quality control efforts in high resolution mass spectrometry non-target workflows for analysis
515 of environmental samples. » *TrAC Trends in Analytical Chemistry* ; 133 : 116063.

516 SCHYMANSKI E. L., JEON J., GULDE R., FENNER K., RUFF M., SINGER H. P., HOLENDER J. (2014) :
517 « Identifying Small Molecules via High Resolution Mass Spectrometry : Communicating Confidence. »
518 *Environmental Science and Technology* ; 48(4) : 2097-2098.

519 SCHMIDT T. C. (2018) : « Recent trends in water analysis triggering future monitoring of organic
520 micropollutants. » *Analytical and Bioanalytical Chemistry* ; 410(17) : 3933-3941.

521 TIAN Z., PETER K. T., GIPE A. D., ZHAO H., HOU F., WARK D. A., KHANGAONKAR T., KOLODZIEJ E. P.,

- 522 JAMES C. A. (2020) : « Suspect and Nontarget Screening for Contaminants of Emerging Concern in an Urban
523 Estuary. » *Environmental Science and Technology* ; 54(2) : 889-901.
- 524 TOGOLA A., LESTREMAU F., MARGOUM C., DULIO V., MIEGE C., SOULIER C. (2018) : « Synthèse des
525 actions européennes et nationales sur les techniques d'analyse chimique non ciblée. » *Rapport AQUAREF* ;
526 36p
- 527
- 528

Mots clés	Définition
Spectrométrie de masse haute résolution (HRMS) <i>High Resolution Mass Spectrometry</i>	La spectrométrie de masse est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse/charge (m/z). Les technologies dite " haute résolution" : TOF, Orbitrap... permettent d'atteindre une très grande précision en masse (masse monoisotopique exprimée en dalton- Da) et l'analyse simultanée d'un grand nombre de substances. La haute résolution permet de distinguer les isotopes naturels d'une molécule.
Analyse non-ciblée LC-HRMS <i>Non-target analysis</i>	Méthode d'acquisition non sélective basée sur le couplage chromatographie liquide (LC) et spectrométrie de masse haute résolution
Signal <i>Signal</i>	Couple masse/charge (m/z) et temps de rétention (Tr) obtenu par analyse non ciblée LC-HRMS et associé à une intensité
Entité <i>Feature</i>	Ensemble des signaux (isotopes, adduits, fragments) qui caractérise l'identité d'une molécule
Isotope <i>Isotope</i>	Chacun des éléments de même numéro atomique mais de masses atomiques différentes
Adduit <i>Adduct</i>	Produit issu d'une réaction d'addition ion-molécule
Fragment <i>Fragment</i>	Partie d'une molécule ou d'un ion produit dans le spectromètre de masse par l'application d'une énergie de collision
Recherche de suspects <i>Suspect screening or Known unknown</i>	Exploitation des données d'analyse non ciblée LC-HRMS pour la recherche et l'identification d'une liste de molécules présentes dans une base de données.
Recherche d'inconnus <i>Non-target screening or Unknown unknown</i>	Exploitation des données d'analyse non ciblée LC-HRMS pour l'identification d'une entité détectée inconnue. Une élucidation structurale est menée et peut conduire à des propositions de formule brute et d'identification de molécules.

530 Tableau I : Définitions des termes utilisés dans le présent article pour décrire la spectrométrie de masse
531 haute résolution et équivalents en anglais.

Molécules/ Familles	Formules brutes	CAS	InChI	SMILES	Niveau de confiance	
					Echantillon A	Echantillon B
Metazachlore/ Pesticides	C ₁₄ H ₁₆ ClN ₃ O	67129-08-2	1S/C14H16ClN3O/c1-11-5-3-6-12(2)14(11)18(13(19)9-15)10-17-8-4-7-16-17/h3-8H,9-10H2,1-2H3	N(c1c(cccc1C)C)(Cn1cccn1)C(CCl)=O	1	2
Sulfamethoxazole/ Pharmaceutiques	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	723-46-6	1S/C10H11N3O3S/c1-7-6-10(12-16-7)13-17(14,15)9-4-2-8(11)3-5-9/h2-6H,11H2,1H3,(H,12,13)	CC1=CC(NS(=O)(=O)C2=CC=C(N)C=C2)=NO1	2	2
Cocaïne/ Substances illicites	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	50-36-2	1S/C17H21NO4/c1-18-12-8-9-13(18)15(17(20)21-2)14(10-12)22-16(19)11-6-4-3-5-7-11/h3-7,12-15H,8-10H2,1-2H3/t12-,13+,14-,15+/m0/s1	CN1[C@H]2CC[C@@H]1[C@H]([C@H](C2)OC(=O)c3ccccc3)C(=O)OC	1	nd
BH-479-09-metazachlore/Métabolite de pesticides	C ₁₆ H ₁₉ N ₃ O ₄ S	-	1S/C16H19N3O4S/c1-12-5-3-6-13(2)16(12)19(11-18-8-4-7-17-18)14(20)9-24(23)10-15(21)22/h3-8H,9-11H2,1-2H3,(H,21,22)	CC1=CC=CC(C)=C1N(CN1C=CC=N1)C(=O)CS(=O)CC(O)=O	1	1

nd est utilisé dans le cas où le m/z n'est pas détecté ou si les données de fragmentation sont issues de données in silico

Tableau II : Exemple de rendu de résultats dans le cadre d'une recherche de suspects par une analyse non-ciblée LC-HRMS (niveaux d'identification 1 et 2) dans plusieurs échantillons d'une même série d'analyse ; résultats qui doivent être accompagnés de métadonnées (méthodes de préparation, d'analyses).