



HAL
open science

Analyse non ciblée de micropolluants organiques émergents dans les sédiments. Etat de l'art, développement méthodologique et application dans l'OSR

Tom Ducrocq, Sylvain Merel, Cecile Miege

► To cite this version:

Tom Ducrocq, Sylvain Merel, Cecile Miege. Analyse non ciblée de micropolluants organiques émergents dans les sédiments. Etat de l'art, développement méthodologique et application dans l'OSR. [Rapport de recherche] INRAE. 2024. hal-04653269

HAL Id: hal-04653269

<https://hal.science/hal-04653269v1>

Submitted on 26 Aug 2024

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.



Observatoire
des Sédiments
du Rhône

Analyse non ciblée de micropolluants organiques émergents dans les sédiments

*Etat de l'art, développement
méthodologique et application
dans l'OSR*

Analyse non ciblée de micropolluants organiques émergents dans les sédiments

Etat de l'art, développement méthodologique et application dans l'OSR

Rapport scientifique final

Version du 23 mai 2023

Observatoire des Sédiments du Rhône – 6^{ème} programme d'action

Axe B – Comprendre les sources et la dynamique des MES et des contaminants particuliers dans le bassin du Rhône

Action B2 – Identification et caractérisation des contaminants émergents

Sous Action B2.2 – Nouvelle approche globale de screening pour l'identification des contaminants organiques

Action B3 – Dynamique de stockage des contaminants émergents dans les sédiments immobilisés

Sous Action B3.3 – Historique des contaminants émergents

Personnes impliquées

Tom Ducrocq (INRAE, Unité RiverLy, Equipe LAMA) ; Sylvain Merel (INRAE, Unité RiverLy, Equipe LAMA), Cécile Miège (INRAE, Unité RiverLy, Equipe LAMA)

Pour citer ce rapport

Tom Ducrocq, Sylvain Merel, Cécile Miège. (2024). Analyse non ciblée de micropolluants organiques émergents dans les sédiments - Etat de l'art, développement méthodologique et application dans l'OSR. Rapport final. Observatoire des Sédiments du Rhône – 6^{ème} programme d'action. Actions B2.2 et B3.3. 56 p.

L'OSR est un programme animé par le Graie. Pour toute information vous pouvez contacter Bertrand Morandi (bertrand.morandi@graie.org)

Résumé

Le nombre des substances organiques d'origine anthropique détectées dans l'environnement aquatique ne cesse d'augmenter ; un grand nombre demeure inconnu des scientifiques et des pouvoirs publics. Les sédiments peuvent « capter » une fraction des contaminants organiques du milieu aquatique et les archiver. L'analyse ciblée par spectrométrie de masse conventionnelle ne permet que la détection et la quantification d'un nombre restreint de contaminants sélectionnés a priori. L'objectif de l'action B2.2 est de développer une méthode d'analyse combinant approches suspectée et non ciblée, basée sur la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) pour permettre une détection plus exhaustive des contaminants, notamment les émergents, dans les sédiments du Rhône.

Dans un premier temps, nous présentons les principales conclusions d'une étude bibliographique mettant en évidence la grande diversité des contaminants, dont des hydrophiles émergents, déjà mesurés au moins une fois dans les sédiments, à des concentrations de quelques ng/kg à plusieurs mg/kg de sédiment sec. Les connaissances sur les contaminants hydrophiles émergents restent très limitées (1 à 2 publications par substance). L'analyse par HRMS, couplée à la chromatographie liquide (LC) et suivie de stratégies suspectée et non ciblée, est prometteuse pour explorer dans les sédiments les contaminants émergents, comme les pharmaceutiques, cosmétiques, pesticides récents, perfluorés et produits industriels. Ensuite, nous comparons différents protocoles d'extraction par solvant avant analyse par LC-HRMS, ce qui a permis d'en choisir un adapté à l'extraction d'un panel le plus large possible de contaminants organiques émergents dans les sédiments. Nous présentons également les nouveaux workflows de traitement des gros jeux de données générées par HRMS, développés dans le cadre de cette étude. Pour l'analyse non ciblée, le logiciel libre MZmine3 est utilisé, alors que pour l'analyse suspectée, le logiciel libre jHRMS toolbox est utilisé avec les bases de données Waters et MassBank. Dans une dernière partie, nous présentons les résultats et de premières interprétations des analyses d'échantillons de matières en suspension (MES) de l'OSR, prélevés entre septembre 2021 et août 2022, en amont et aval de la métropole lyonnaise. L'analyse ciblée a permis de quantifier 17 pesticides et 25 pharmaceutiques. Des retardateurs de flammes, plastifiants, cosmétiques ou composés industriels ont été identifiés par analyse suspectée. La présence de composés chlorés et perfluorés a également été mise en évidence avec l'analyse non ciblée. Ces résultats doivent encore être consolidés et complétés.

Mots-clés

Rhône, Observatoire, Sédiments, OSR, Matières en Suspension (MES), Analyse non-ciblée, Micropolluants organiques, contaminants émergents

Table des matières

1. Introduction.....	6
2. Revue bibliographique sur la contamination des sédiments aquatiques continentaux par les micropolluants organiques	8
2.1 Méthodologie de sélection des articles	8
2.2 Caractéristiques des sédiments dans les articles sélectionnés.....	9
2.3 Une grande diversité de micropolluants organiques identifiés dans les sédiments	10
2.4 Une large gamme de concentrations mesurées même pour les micropolluants hydrophiles.....	11
2.5 L'absence d'une méthode d'extraction unique pour tous les micropolluants.....	14
2.6 La pertinence de l'analyse non ciblée par LC-HRMS pour explorer les contaminants émergents	15
3. Développement méthodologique	19
3.1 Introduction	19
3.2 Extraction par solvant des micropolluants de la matrice sédimentaire : comparaison de protocoles	19
3.2.1 <i>Méthodologie.....</i>	<i>19</i>
3.2.2 <i>Résultats</i>	<i>21</i>
3.3 Traitement des données HRMS pour une stratégie d'analyse non ciblée : comparaison des workflows	23
3.3.1 <i>Méthodologie.....</i>	<i>23</i>
3.3.2 <i>Résultats</i>	<i>25</i>
3.4 Traitement des données pour l'analyse suspectée : outils et bases de données utilisées	27
3.4.1 <i>Les bases de données et leur niveau de confiance associé</i>	<i>27</i>
3.4.2 <i>L'identification avec un outil en « libre accès »</i>	<i>28</i>
4. Analyses des MES du Rhône – Premiers résultats.....	32
4.1 Choix des échantillons	32
4.2 Analyses ciblées (niveau de confiance 1+, tableau 2).....	34
4.3 Analyses suspectées (niveau de confiance 2, tableau 2).....	37
4.4 Analyses non ciblées - Empreintes chimiques (niveau de confiance 5, tableau 2).....	38
4.5 Recherche de familles spécifiques (niveau 3 - 4, tableau 2).....	39
4.5.1 <i>La recherche de composés chlorés à partir des profils isotopiques (niveau 4, tableau 2)...</i>	<i>39</i>
4.5.2 <i>La recherche de composés perfluorés PFAS à partir du défaut de masse de Kendrick (niveau 3, tableau 2).....</i>	<i>41</i>

4.6	Analyses de clusters (niveaux 1 à 5, tableau 2)	42
5.	Perspectives.....	45
5.1	Continuer l'exploration des émergents dans les MES	45
5.2	Analyser des carottes sédimentaires	45
6.	Références bibliographiques	46
7.	Annexes.....	50
7.1	Annexe 1 – Equation de recherche bibliographique dans Web of Science	50
7.2	Annexe 2 – Cartographie de la diversité des contaminants organiques retrouvés dans les sédiments d'eaux de surface.....	51
7.3	Annexe 3 – Liste des composés utilisés pour le dopage des extraits de sédiment de travail et liste des composés analysés dans les MES du Rhône	52
7.4	Annexe 4 – Workflows de traitement de données non ciblées.....	53
7.5	Annexe 5 – Concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg}$, poids sec) et fréquences de quantification (%) obtenues après analyse ciblée des 24 échantillons de MES sélectionnés	54
7.6	Annexe 6 – Identification par analyse suspectée – exemple de la diphénylguanidine	56

1. Introduction

Avec plus de 150 millions de substances enregistrées au Chemical Abstract Services (CAS) en 2019 (**Hübner, 2019**) et 140 000 substances recensées par REACH dans l'Union Européenne, le nombre de molécules organiques synthétisées au niveau industriel ne cesse d'augmenter. Utilisées pour de multiples usages dans notre société, ces molécules couvrent une large gamme de propriétés physicochimiques et peuvent avoir une certaine activité biologique (désirée ou non). On y retrouve, par exemple, des agents conservateurs, des tensioactifs, des retardateurs de flammes, des biocides dont des pesticides, des cosmétiques ou encore des produits pharmaceutiques (antibiotiques, hormones, cytostatiques, antidépresseurs, etc.). Au cours de leur cycle de vie, ces molécules issues de la chimie de synthèse et leurs potentiels produits de dégradation peuvent contaminer les milieux aquatiques selon des voies différentes, comme par exemple le ruissellement des eaux pluviales sur des sols agricoles ou urbains, les rejets d'eaux usées (domestiques ou industriels), même après traitement partiel dans des stations d'épuration. Ces molécules deviennent alors des micropolluants organiques que les scientifiques peinent à caractériser et qui sont difficiles à prioriser et réglementer pour les pouvoirs publics.

Selon leurs propriétés physicochimiques, les micropolluants des milieux aquatiques se distribuent dans trois compartiments : sous forme dissoute dans la phase aqueuse, accumulés dans les organismes aquatiques (biote) ou transférés aux sédiments. L'analyse d'un échantillon d'eau permet de caractériser la contamination en un point géographique précis au moment du prélèvement. L'analyse d'un échantillon de biote permet quant à lui d'estimer la contamination sur une période de temps et sur une zone géographique qui sont plus larges et moins bien contrôlées (selon l'âge de l'individu et l'étendue sur laquelle il se déplace). Et, les matières en suspension sédimentent avec le temps, en couches superposées qui, si elles ne sont pas remobilisées, peuvent être analysées et permettre d'étudier l'historique de la pollution sur plusieurs décennies et dans une zone géographique précise.

L'analyse d'échantillons sédimentaires tels que des matières en suspension (MES), sédiments de surface ou carottes de sédiment a déjà été réalisée avec succès pour établir les historiques de contamination inorganique par certains métaux dans le Rhône (**Dendievel et al. 2020**). De la même manière, d'autres études portant sur des contaminants organiques ciblés tels que les polychlorobiphényles (PCB) ou les substances poly et perfluoroalkylées (PFAS) ont également été réalisées dans des carottes de sédiments afin de révéler des profils temporels de contamination

dans plusieurs fleuves français (**Mourier et al. 2014, Mourier et al. 2019**). Les sédiments sont donc un moyen pour étudier l'évolution de la contamination liée aux interdictions successives de certaines molécules particulièrement délétères pour l'environnement (par exemple les biocides atrazine et carbendazime), ou à la mise sur le marché de nouvelles molécules, ou encore à l'optimisation des systèmes de traitement des eaux usées et autres rejets liés aux activités humaines.

Afin d'analyser les contaminants organiques dans les sédiments, la méthode conventionnelle consiste à les extraire de la matrice sédimentaire pour ensuite les séparer par chromatographie et les détecter par spectrométrie de masse à basse résolution (MS) selon une approche dite « ciblée ». Cette approche est particulièrement sensible (limites de détection basses) et permet d'obtenir une concentration pour chaque molécule ciblée. Cependant, elle possède un inconvénient majeur. En effet, les contaminants à détecter doivent être sélectionnés *a priori* et leur nombre est relativement restreint (généralement entre 50 et 150, grand maximum) car l'approche « ciblée » requiert un étalon analytique pour chacun d'entre eux. Pour pallier cela, il convient alors de recourir à une détection selon une approche dite « non-ciblée », basée sur la spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS). Brièvement, cette autre approche analytique détecte l'ensemble des composés organiques présents dans un échantillon sans aucune sélection *a priori*, à la condition que ceux-ci puissent être ionisés dans le spectromètre de masse et que leur concentration soit suffisante. Les composés ainsi détectés sont caractérisés par leur temps de rétention chromatographique, par l'aire du pic chromatographique, par leur ratio masse/charge (m/z) et, parfois (selon l'instrument et la méthode employée pour l'acquisition des données), par leurs ions fragments spécifiques. L'identification des composés détectés est alors possible dans un second temps à l'aide de multiples approches dont la plus commune (dite « analyse suspectée ») consiste à comparer les données acquises à des bases de données comportant plusieurs milliers de contaminants organiques déjà connus et leurs caractéristiques (dont leur masse exacte et leurs ions fragments). Cependant, les données d'analyse non-ciblée par HRMS peuvent également être interprétées dans leur ensemble sans identification des molécules. On parle alors de l'analyse de l'empreinte chimique des échantillons. L'objectif est généralement de comparer l'intensité des signaux dans plusieurs échantillons formant une série temporelle ou spatiale afin de déterminer des groupes de composés au comportement similaire (**Merel et al., 2015**).

Pour l'action B2.2 du programme OSR6, nous proposons donc une approche originale basée sur l'analyse HRMS de matériel sédimentaire. Les différentes approches (ciblées, suspectées et non ciblées) sont réalisées sur des MES collectées par le réseau de suivi de l'OSR. Deux verrous scientifiques et techniques doivent être pris en considération. Le premier verrou réside dans l'extraction par solvants des contaminants organiques des sédiments. Les méthodes d'extraction disponibles dans la littérature ont été développées et optimisées pour l'analyse d'un nombre limité de contaminants par une approche « ciblée ». Or, pour l'analyse des sédiments par une approche non-ciblée, il s'agit d'optimiser et d'appliquer un protocole permettant d'extraire le plus grand nombre de contaminants possible avec le maximum de sensibilité. Le second verrou réside dans le traitement de la grande quantité de données issues de l'analyse non-ciblée par HRMS. Il est ici nécessaire de développer et valider une succession d'étapes (workflow) de tri des données afin de mettre en évidence de façon fiable le plus large panel possible de contaminants.

Ce rapport est composé de quatre parties : une étude bibliographique sur les contaminants organiques retrouvés dans les sédiments de lacs et de rivières à travers le monde (Chapitre 2) ; un résumé des développements analytiques réalisés, incluant le protocole d'extraction et les workflows de tri et de traitement des données issues de HRMS (Chapitre 3) ; des premiers exemples d'application de ces méthodes sur des MES de l'OSR (Chapitre 4) ; les perspectives de ce travail dans le programme de l'OSR 7 (Chapitre 5).

2. Revue bibliographique sur la contamination des sédiments aquatiques continentaux par les micropolluants organiques

2.1 Méthodologie de sélection des articles

L'objectif est de faire un état de l'art sur les types de matrices analysées (MES, sédiments de surface, carottes sédimentaires), la nature des contaminants et les niveaux de contamination mesurés, les techniques et protocoles pour les extraire et les stratégies analytiques mises en œuvre pour les détecter.

La recherche bibliographique a été réalisée en ciblant des publications scientifiques de rang A, sélectionnées avec Web of Science (WoS) à l'aide de l'équation de recherche détaillée dans l'**annexe 1**. Dans un premier temps, l'item « topic » de WoS a été utilisé pour sélectionner les

articles portant sur les sédiments et les MES. Ensuite, différents filtres ont été appliqués, comme le montre le détail de l'équation de recherche en **annexe 1**. Nous avons sélectionné les domaines de recherche « environmental sciences » et « analytical chemistry ». Nous avons conservés les documents publiés après 2010, date de publication du dernier état de l'art sur l'analyse des polluants organiques dans les sédiments (Parkinson and Dust 2010). Nous avons sélectionné les articles permettant de couvrir les diverses familles de contaminants organiques (soit un total de plus de 100 000 contaminants) répertoriées dans les bases de données du réseau européen Norman (www.norman-network.com/nds/susdat/). Enfin, nous avons sélectionné les articles mettant en œuvre la spectrométrie de masse pour la détection de contaminants organiques, ce qui nous a permis de rassembler 660 articles à la date du 12 avril 2023.

Les 660 articles sélectionnés dans WoS ont ensuite été examinés individuellement afin de retenir seulement les plus pertinents à l'aide des critères suivants :

- Les analyses devaient porter sur des échantillons environnementaux. Les articles de développement de méthodes sans application sur un sédiment naturel ont été rejetés, ainsi que les revues bibliographiques.
- Les échantillons analysés devaient être uniquement des sédiments d'eaux de surface, en zones continentales et côtières. Les articles portant uniquement sur des échantillons marins (hors zones côtières), des sols et des sédiments de bassins de décantation ou de station d'épuration des eaux usées ont été rejetés.

A l'issue de cette ultime sélection, 166 articles ont été conservés pour une étude approfondie. Pour chacun d'entre eux, les contaminants analysés ont été référencés avec leur concentrations maximum et minimum mesurées dans l'article. De la même manière, le type d'échantillon (carottes, MES, etc.), le prétraitement (séchage, stockage), la méthode d'extraction (technique, solvant, etc.) et le type d'analyse (LC ou GC, ciblée ou non ciblée) ont été renseignés.

2.2 Caractéristiques des sédiments dans les articles sélectionnés

Comme le montre la **figure 1**, les sédiments étudiés ont des provenances géographiques diverses. Plus des deux tiers sont des sédiments prélevés dans des eaux continentales en Europe (68) ou en Asie (47). Sur les 166 articles étudiés, 126 sédiments ont été prélevés dans des rivières, contre seulement 53 dans des lacs. Quant au type de sédiments, ce sont généralement des sédiments de surface. Cela s'explique par la plus grande facilité à les échantillonner, en comparaison des MES et

carottes de sédiments. En effet, les MES sont majoritairement récupérées par filtration de grands volumes d'eau et les carottes sédimentaires nécessitent un carottier et des études poussées de terrain pour choisir l'endroit le plus pertinent à carotter.

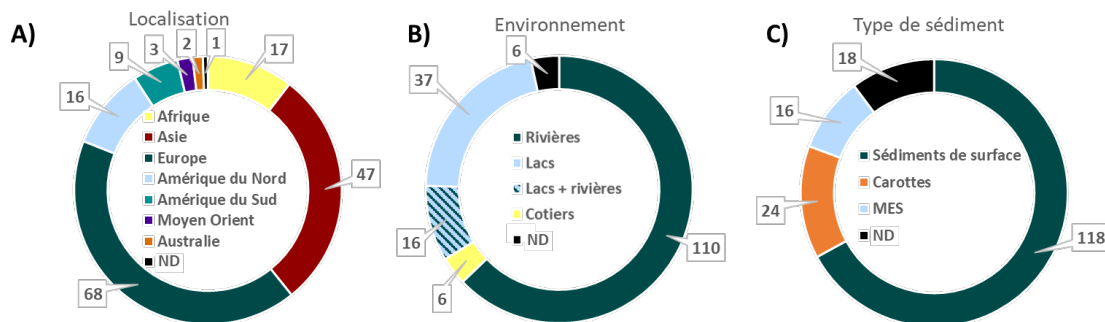


Figure 1 : A) Localisation, B) type d'environnement et C) type de sédiments étudiés dans les 166 publications. (ND : non disponible)

2.3 Une grande diversité de micropolluants organiques identifiés dans les sédiments

Dans les 166 articles, 1 184 micropolluants différents ont été recensés. Ils ont été classés en 11 catégories, listées dans la **figure 2**. La catégorie « autres » comprend différents types de composés comme les dioxines et furanes produits involontairement lors de combustions, ou encore des produits aux larges applications industrielles comme les nonylphénols. Au-delà de ces catégories, on peut définir deux grands groupes, les contaminants historiques (HC) et les émergents (CEC). Les HC comprennent les polychlorobiphényles (PCB), les retardateurs de flammes tels que les polybromodiphényléther (PBDE) ou ceux organo-phosphatés, les pesticides organochlorés (OCP) et les hydrocarbures, dont les composés aromatiques polycycliques (HAP). Les CEC incluent d'autres pesticides, les pharmaceutiques, les cosmétiques, les hormones, les perfluorés (PFAS) et les plastifiants. La **figure 2A** montre qu'environ 42% des CEC recensés dans notre revue bibliographique sont des pharmaceutiques ou des pesticides.

Nous observons que 82% des contaminants référencés ont été étudiés seulement dans une ou deux publications (**figure 2B**). Les contaminants cités dans plus de 10 références sont des HC, comme les 7 PCB indicateurs et les 16 HAP de l'US EPA (Agence de protection de l'environnement des États-Unis). D'autres PCB (parmi les 209 existants en théorie) et d'autres HAP (parmi les 50 référencés dans cette revue bibliographique) ont été aussi étudiés, mais dans moins de publications.

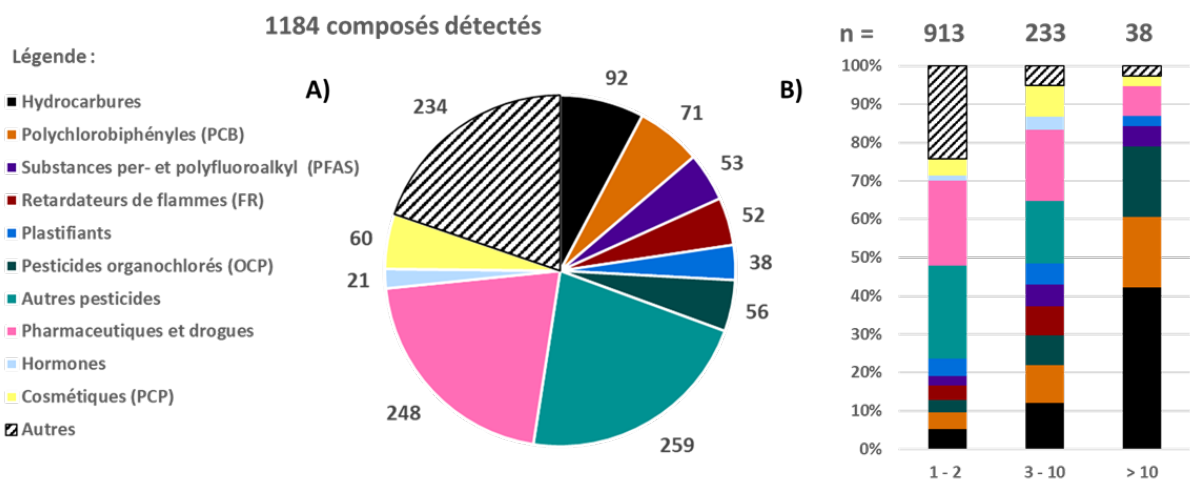


Figure 2 : Nombre de micropolluants détectés dans les matrices sédimentaires en fonction de A) leur catégorie et B) leur fréquence d'étude.

Au sein des catégories de CEC, nous observons une grande diversité de micropolluants et de nombreuses sous-catégories peuvent être définies. Les pharmaceutiques comprennent des antimicrobiens, des anxiolytiques, des bêtabloquants, des anticonvulsants, etc. Les drogues illicites ont également été associées à cette catégorie. Concernant les pesticides, au-delà des 3 grandes catégories insecticides / fongicides / herbicides, nous pouvons identifier plus de 80 sous-catégories, au regard des structures chimiques, avec par exemple, les herbicides triazines, les insecticides carbamates ou néonicotinoïdes, les fongicides azolés, etc. La figure en **annexe 2**, illustre cette grande diversité des contaminants retrouvés dans les sédiments.

Au sein des catégories de CEC, certains composés sont assez largement étudiés (dans > 10 publications), comme les pharmaceutiques carbamazépine, ibuprofène ou diclofénac ; l'antimicrobien triclosan présent dans les cosmétiques ; le plastifiant bisphénol A ou le pesticide atrazine. A l'inverse, au sein des catégories HC, des composés sont peu étudiés (dans 1 ou 2 publications) à l'image de certains nouveaux retardateurs de flamme comme le pentabromotoluène et tétrabromobisphénol A.

2.4 Une large gamme de concentrations mesurées même pour les micropolluants hydrophiles

La **figure 3A** montre la répartition des concentrations recensées (maximum et minimum de chaque contaminant par publication) regroupées par catégorie. L'examen des moyennes et médianes pour chaque catégorie permet de mettre en évidence une tendance à des niveaux de contamination

plus élevés pour les hydrocarbures et PCB ; et des niveaux plus bas pour les pharmaceutiques, cosmétiques et hormones. Néanmoins, pour toutes les catégories de micropolluants, les niveaux de concentrations sont mesurés sur une très large gamme (> 5 ordres de grandeur), répartis du ng/kg jusqu'à la centaine de mg/kg (poids sec).

La **figure 3B** montre que l'hydrophobie des composés ne suffit pas à expliquer les niveaux élevés de concentration des contaminants dans les sédiments. En effet, des composés avec un $\log K_{ow}$ ¹ très faible (donc très hydrophiles) sont retrouvés à de fortes concentrations, comme la caféine ($\log K_{ow} = -0,1$) dans le bassin de la rivière Jundiaí au Brésil (jusqu'à 3,3 mg/kg), l'antibiotique oxytétracycline ($\log K_{ow} = -1,6$) dans des sédiments de surface du fleuve Hai He en Chine (maximum de 2,4 mg/kg) ou la biotoxine anatoxin-a ($\log K_{ow} = 0,8$) retrouvée en Espagne à 1,12 mg/kg. Ces fortes concentrations peuvent s'expliquer par des productions / consommations élevées associées à des quantités rejetées dans les milieux aquatiques élevées et par une affinité pour les sédiments due à des interactions autres qu'hydrophobes, comme par exemple des interactions ioniques. Il est donc pertinent d'explorer les contaminants hydrophiles dans les sédiments ; les connaissances dans le domaine sont aujourd'hui lacunaires.

¹ Le K_{ow} est le ratio de la concentration à l'équilibre d'une substance chimique dans l'octanol sur la concentration de cette même substance dans l'eau.

Légende :

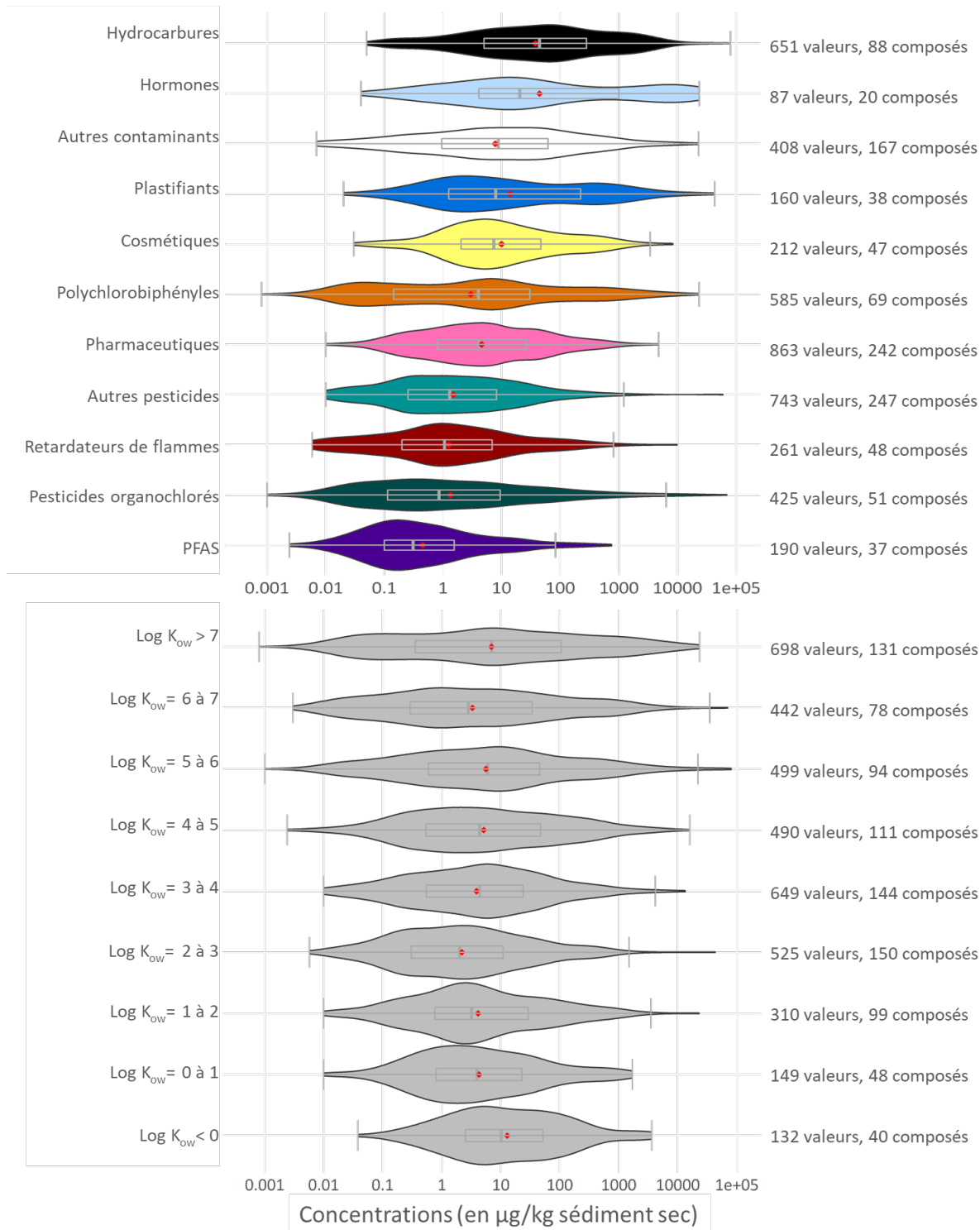
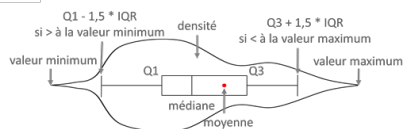


Figure 3 : Répartition des concentrations de micropolluants mesurés (µg/kg poids sec) dans les matrices sédimentaires A) par catégorie et B) en fonction du Log K_{ow} (source PubChem).

En fonction du type de sédiment, la nature des composés détectés peut être différente. Dans certaines études, les auteurs ont analysé à la fois des sédiments de surface et des MES sur une même zone géographique. Les contaminants plus hydrophiles, comme les pharmaceutiques et les hormones, sont retrouvés à plus fortes concentrations dans les MES vs. les sédiments de surface (**Aminot et al., 2015 ; De Sousa et al., 2018**). A contrario, les composés plus hydrophobes, comme les PCB ou le PFAS acide perfluorooctanoïque, sont retrouvés en plus fortes concentrations dans les sédiments de surface vs. les MES (**Montuori et al., 2014 ; Mudumbi et al., 2014**).

Quant aux concentrations dans les couches superposées des carottes sédimentaires, elles permettent de dresser des historiques de contamination. Pour certains composés, les concentrations diminuent avec le temps (du bas vers le haut de la carotte) comme le bisphénol A remplacé par le bisphénol S dans une carotte du parc national de Derdap en Serbie (**Hagemann et al., 2019**), les OCP dans la rivière Mei en Chine (**He et al., 2020**) ou encore les PCB dans une carotte du Rhône (**Mourier et al., 2014**). L'inverse se produit pour d'autres composés, témoignant d'une augmentation de leurs rejets au cours du temps. C'est le cas des PBDE et des HAP dans une carotte du lac Poyang en Chine (**Wan et al., 2020**), ou des pesticides irgarol, terbutryne, et prométryne dans les carottes des lacs Greifen et Lugano en Suisse (**Chiaia-Hernández et al., 2020b**).

2.5 L'absence d'une méthode d'extraction unique pour tous les micropolluants

Avant d'analyser un composé, il doit d'abord être extrait du sédiment par des solvants organiques. On distingue les techniques d'extraction à haute température et haute pression de celles réalisées dans des conditions plus douces. Parmi les extractions douces, on retrouve l'extraction assistée par ultrason (US), la méthode d'extraction QuEChERS (pour Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged and Safe), et l'extraction par agitation à température ambiante. Les extractions à haute température sont les extractions par liquide pressurisé (PLE) comme celle utilisant l'appareil ASE (Accelerated Solvent Extraction), l'extraction Soxhlet et l'extraction assistée par microondes (MAE). Excepté pour quelques composés thermolabiles comme les estrogènes ou des toxines, les techniques d'extraction mentionnées ci-dessus ont déjà été mises en œuvre avec succès pour la plupart des contaminants référencés dans cette revue (dans des conditions différentes selon la nature des composés à extraire). L'extraction Soxhlet est préconisée dans d'anciennes méthodes de l'US EPA, et elle est encore largement utilisée, notamment pour des HC. Cependant, d'après

notre revue, les techniques d'extraction largement majoritaires sont l'ASE et l'US, qui sont utilisées respectivement 46 et 69 fois dans les 166 publications.

Si l'efficacité de l'extraction des contaminants étudiés ne dépend pas (ou peu) de la technique d'extraction, elle dépend fortement de la nature du ou des mélanges de solvant utilisé(s). Avant une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse à basse résolution (GC-MS) de composés plutôt hydrophobes, les solvants d'extraction utilisés majoritairement sont l'acétone, l'hexane et le dichlorométhane. Pour les extractions de composés hydrophiles à modérément hydrophobes, avant une analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS), les solvants classiquement utilisés sont le méthanol, l'eau et l'acétonitrile.

D'autres paramètres peuvent influencer l'efficacité de l'extraction comme la masse de sédiments extrait, l'ajout d'une étape de purification, le volume de reprise, le nombre de cycles d'extraction, etc. Ces paramètres sont optimisés plus finement en fonction des propriétés des composés pré-ciblés, et aussi du type de sédiment à analyser (niveaux de contamination, teneur en matière organique ...). Pour des analyses non ciblées ou pour étudier un large panel de composés caractérisés par des propriétés physico-chimiques variées, il n'existe pas de méthode unique d'extraction. Dans ce cas, il convient de combiner différentes conditions et natures de solvants pour couvrir un maximum de micropolluants différents.

2.6 La pertinence de l'analyse non ciblée par LC-HRMS pour explorer les contaminants émergents

Sur les 166 articles étudiés, 89 utilisent la LC-MS, et 88 la GC-MS. Les HC ont tendance à être analysés plutôt par GC-MS, tandis que les CEC le sont plus souvent par LC-MS. Cependant, certains HC, comme les HAP, peuvent aussi être étudiés par LC-MS et certains CEC, comme des pesticides non organochlorés ou des cosmétiques, par GC-MS (cf. **figure 4**).

Dans certains cas, les auteurs mettent en œuvre une dérivation avant analyse GC-MS (cf. **figure 4**). C'est une réaction chimique qui permet de rendre des composés plus volatils et donc d'analyser par GC-MS des composés généralement analysés par LC-MS, comme par exemple l'anti-inflammatoire naproxène par **Chakraborty et al. (2018)** ou le pesticide simazine par **Chiaia-Hernández et al. (2020b)**.

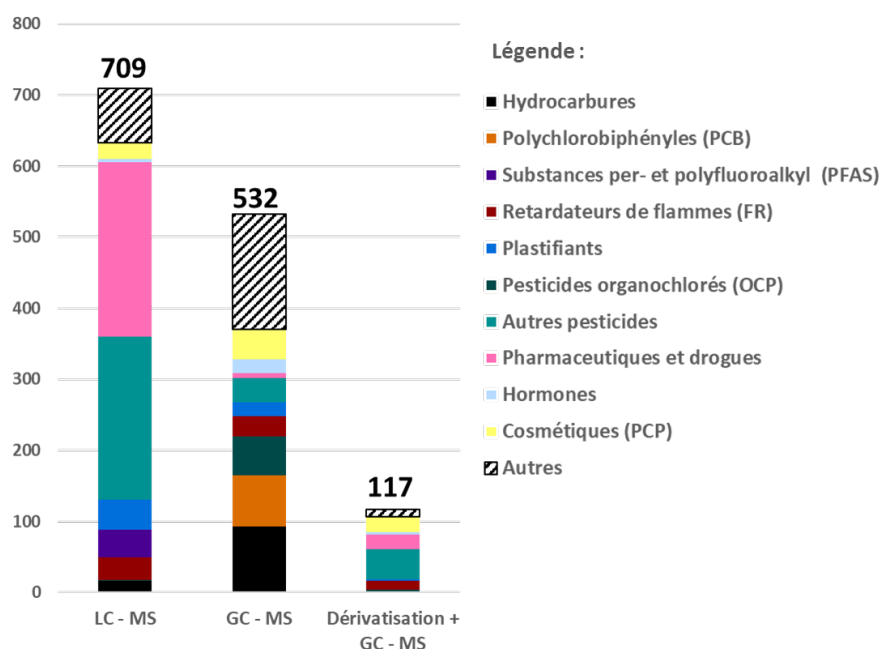


Figure 4 : Nombre de composés détectés dans les sédiments en fonction de la méthode d’analyse chromatographique (LC-MS vs CG-MS avec ou sans dérivation).

Dans plus de 85% des articles, les auteurs font de **l’analyse ciblée** avec spectrométrie de masse couplée à de la chromatographie liquide ou gazeuse (LC-MS ou GC-MS). Certains se focalisent sur un nombre limité de catégories de micropolluants. D’autres tentent d’en mesurer plusieurs centaines, comme **Babic et al. (2018)** et **Skrbic et al. (2018)** qui ont cherché à quantifier respectivement 104 et 313 composés dans des sédiments de la région du Danube en Serbie et en Croatie. Le nombre moyen de composés mesurés par analyse ciblée est de 17.

En comparaison, **l’analyse suspectée** avec spectrométrie de masse à haute résolution (HRMS) permet de scruter la présence d’un plus grand nombre de composés. Nous avons trouvé 12 publications (7 en GC-HRMS, 5 en LC-HRMS) avec de l’analyse suspectée sur des sédiments de lac ou de rivière. Par exemple, grâce à la GC-HRMS, **Chiaia-Hernández et al. (2020a)** ont détecté 69 composés, tandis que **Chamorro et al. (2012)** ont détecté 33 composés qui n’avaient pas encore été mis en évidence dans des sédiments. Nous avons trouvé seulement 5 articles avec analyses suspectées par LC-HRMS : 1) 25 PFAS ont été mis en évidence dans les 5 principaux fleuves français (**Munoz et al., 2016**), dont des PFAS recensés une seule fois dans cette revue, avec des structures peu communes ; c’est le cas du N,N-diméthyl-3-(perfluorooctanamido)propan-1-amine oxyde ou du N,N,N-triméthyl-3-(perfluorooctylsulfonamido)propan-1-aminium ; 2) 11 HAP dans des sédiments du Fjord du Roi au Svalbard (**Nejuma et al., 2017**), dont certains HAP qui ne font pas partis de la liste des 16 classiquement analysés (par exemple le 2-mercaptobenzothiazole et le

dibenzothiophène) ; 3) 2 cosmétiques (triclocarban et dichlorocarbanilide) et un produit de dégradation (méthyltriclosan) dans une carotte lacustre en Suisse (**Chiaia-Hernández et al., 2013**) ; 4) 2 pharmaceutiques (naproxène et métoprolol) dans des sédiments de surface à Stockholm (**Minten et al., 2010**) ; 5) **Ye et al. (2021)** ont détecté les retardateurs de flamme phosphatés classiques avec l'analyse ciblée et ont étendu leur liste avec 15 autres retardateurs de flamme phosphatés trouvés par analyse suspectée.

Enfin, les analyses par HRMS permettent également d'explorer des groupes de composés sans leur donner un nom précis. C'est ce que l'on appelle l'**analyse non ciblée**. Par exemple, Peng H et al. ont recherché tous les composés bromés (**Peng et al., 2016a**) et iodés (**Peng et al., 2016b**) dans des sédiments du lac Michigan aux Etats-Unis. Ils ont ainsi détecté plus de 3 000 composés iodés et 2 520 composés bromés. Une autre démarche non ciblée a été suivie par **Chiaia-Hernandez et al. (2017)** pour l'analyse d'une carotte sédimentaire du lac Greifen en Suisse : ils ont réalisé une classification ascendante hiérarchique sur les signaux détectés par LC-HRMS et ont pu ainsi mettre en évidence 4 groupes de composés, parmi lesquels : 1) un groupe de 1469 composés dont la concentration augmente à partir des années 1940 et qui sont réduits par l'implantation d'une station d'épuration en 1954 ; et 2) un deuxième groupe de composés apparaissant après l'implantation de la station et qui sont réduits après l'amélioration du procédé de traitement des eaux en 1974 (**figure 5**).

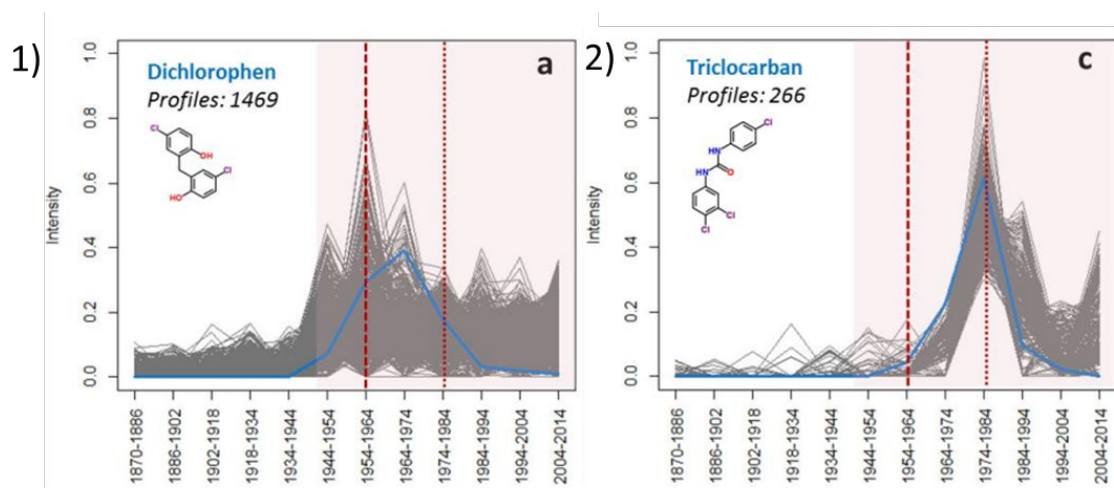


Figure 5 : Profils temporels des groupes de composés impactés par 1) l'implantation et 2) l'amélioration d'une station d'épuration dans le lac Greifen en Suisse ; tiré de Chiaia-Hernandez et al. (2017).

En résumé

- 1 184 composés organiques différents ont été retrouvés dans les 166 publications sélectionnées mettant en œuvre des analyses par spectrométrie de masse pour la détection des micropolluants organiques dans des sédiments d'eaux de surface ;
- Une grande diversité de micropolluants est présente dans les sédiments, à des concentrations de quelques ng à plusieurs mg/kg de sédiment sec ;
- Les composés hydrophiles ($\log K_{ow} < 3$) peuvent également être retrouvés à de fortes concentrations ($> \text{mg/kg}$), comme par exemple certains antibiotiques (ofloxacine, sulfaméthoxazole, tétracycline et oxytétracycline, ...), des insecticides comme le diméthoate, des agents de conservation comme l'alcool benzylique (utilisé dans les cosmétique, entre autres).
- La spectrométrie de masse à haute résolution couplée à la chromatographie liquide (LC-HRMS) est adaptée pour l'exploration de contaminants émergents dans les sédiments ;
- La spectrométrie de masse à haute résolution avec les stratégies d'analyses suspectées et non ciblées est prometteuse pour améliorer les connaissances sur la contamination des sédiments par les micropolluants organiques d'origine anthropique.

3. Développement méthodologique

3.1 Introduction

Suite à l'étude bibliographique, nous avons choisi de nous concentrer sur l'analyse LC, bien adaptée à l'exploration des micropolluants émergents dans les sédiments. La **figure 6** illustre l'ensemble des étapes pour cette exploration, incluant l'analyse LC-HRMS ou LC-MS/MS, et pointe (en vert) les étapes qui ont été testées/optimisées dans le cadre de l'action B2.2 de l'OSR. Ces étapes sont présentées dans ce Chapitre 3. Il s'agit : 1) de l'extraction par solvant des micropolluants contenus dans les sédiments, 2) du traitement des données HRMS pour l'analyse non ciblée, et 3) du traitement des données HRMS pour l'analyse suspectée.

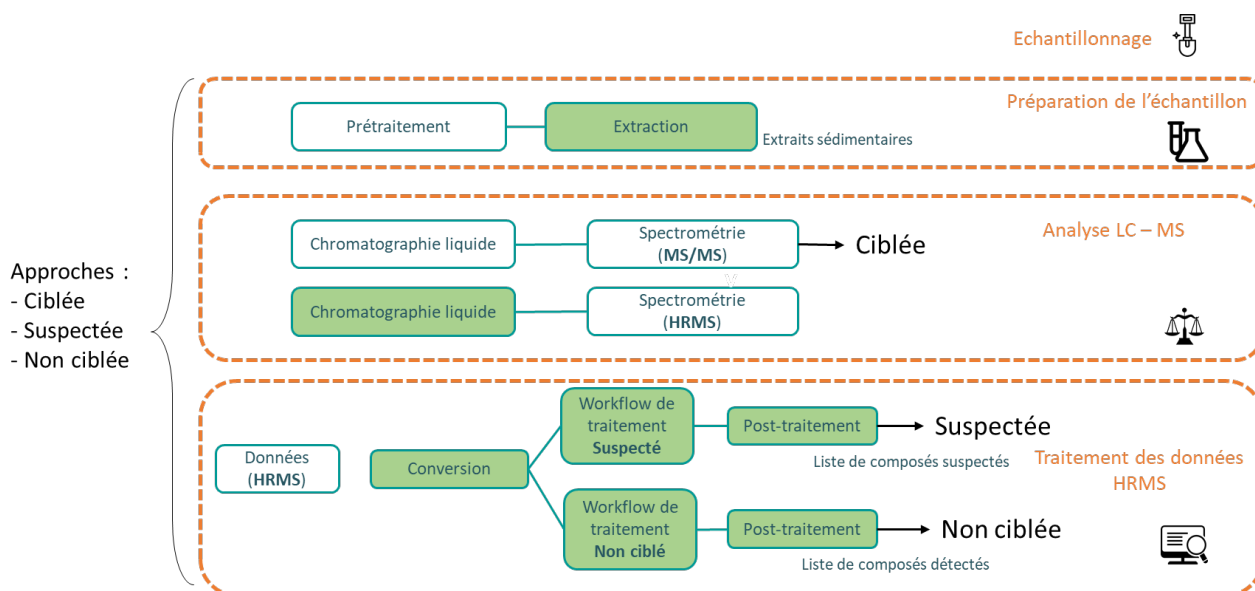


Figure 6 : Analyse des micropolluants organiques dans les sédiments. En vert : les étapes optimisées pour les analyses non ciblées et suspectées.

3.2 Extraction par solvant des micropolluants de la matrice sédimentaire : comparaison de protocoles

3.2.1 Méthodologie

Parmi les différentes techniques d'extraction possibles, l'extraction par ultrasons (US) et celle par ASE ont été retenues car l'étude bibliographique a montré que ce sont les deux techniques majoritairement mises en œuvre pour les sédiments. De la même manière, sur la base de la littérature, les solvants sélectionnés pour extraire un panel large de micropolluants avant une analyse par LC-MS sont le méthanol (relativement polaire) et l'acétone (modérément apolaire).

L'optimisation de la méthode d'extraction est fondée sur des expérimentations réalisées à l'aide d'un sédiment de travail disponible en grande quantité au laboratoire. Il s'agit d'un sédiment naturel prélevé sur l'Helpe Mineur, aussi utilisé pour la validation du workflow de traitement des données HRMS (cf. § 3.4). Ce sédiment a été dopé avec 8 contaminants organiques deutérés potentiellement détectables dans le Rhône dont 5 pharmaceutiques (aténolol_D7, noréthindrone_D6, carbamazépine_D10, sulfaméthoxazole_D4, amitriptyline_D6) et 3 pesticides (diuron_D6, tébuconazole_D6, simazine_D5). Puis, l'extraction a été réalisée par ultrason ou par ASE, en utilisant successivement un mélange acétone/méthanol (50/50, V/V), puis du méthanol pur. Pour chaque technique, l'influence du nombre de cycle(s) d'extraction a été examinée. De plus, l'efficacité de l'extraction par ASE a été testée avec une température basse (50°C) et une température haute (100°C). Les expériences ont été réalisées en triplicatas et chaque échantillon a été analysé par LC-HRMS (chaîne Waters ACQUITY UPLC H-Class couplée à un Xevo G2-S QToF). Une deuxième série d'extractions a ensuite été réalisée pour optimiser les effets matrices vs. les limites de détection, avec comparaison de deux prises d'essai (0,5 g et 1 g masse sèche), étude de l'impact d'une purification par (d)SPE (Dispersive Solid Phase Extraction), et de la dilution des extraits sédimentaires (dilué 2, 5 et 10 fois). Les différents protocoles et paramètres testés sont synthétisés dans la **figure 7**.

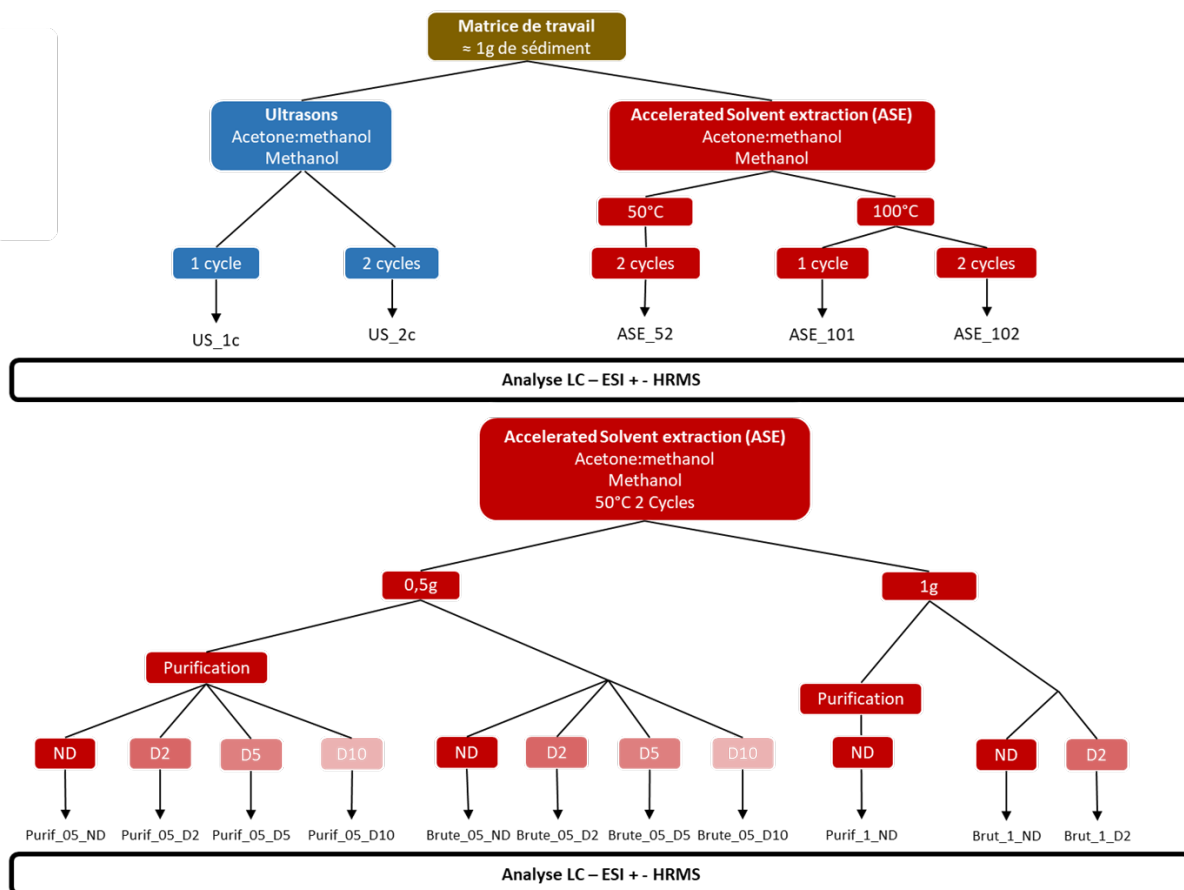


Figure 7 : Démarche et paramètres testés pour l’optimisation de la méthode d’extraction des sédiments avant analyse non ciblée. (ND : non dilué ; D2, D5, D10 : facteur de dilution de l’extrait avant analyse).

3.2.2 Résultats

Nous faisons l’hypothèse que le meilleur protocole pour l’analyse non ciblée est celui qui permet d’extraire le plus grand nombre de composés, avec des intensités les plus hautes et ayant une variation la plus faible entre les triplicatas. Ce protocole optimisé doit aussi couvrir une large gamme de composés sur l’espace masse sur charge = f(temps de rétention).

Concernant le nombre de cycle d’extraction (1 ou 2), les résultats sont illustrés dans la **figure 7**. Que ce soit pour l’ASE ou l’US, réaliser 2 cycles d’extraction au lieu d’un seul permet de détecter un plus grand nombre de composés. La différence est plus marquante pour l’ASE que pour les US. Après un cycle, 2 270 et 3 087 composés sont extraits par ASE et US respectivement ; cela atteint 3 519 et 3 541 composés après un second cycle d’extraction. Les intensités sont aussi significativement supérieures pour l’ASE après deux cycles (**figure 8A**) ; alors qu’avec les US, aucune différence significative n’est remarquée entre 1 et 2 cycles. La variabilité des intensités (**figure 8B**) est plus faible pour l’ASE après deux cycles ; alors qu’elle est similaire avec les US après

1 ou 2 cycles. Enfin, plus de composés sont détectés après deux cycles d'US pour les composés de petites masses, sortant à la fin de la séparation chromatographique (**figure 8C et D, cercle rouge**).

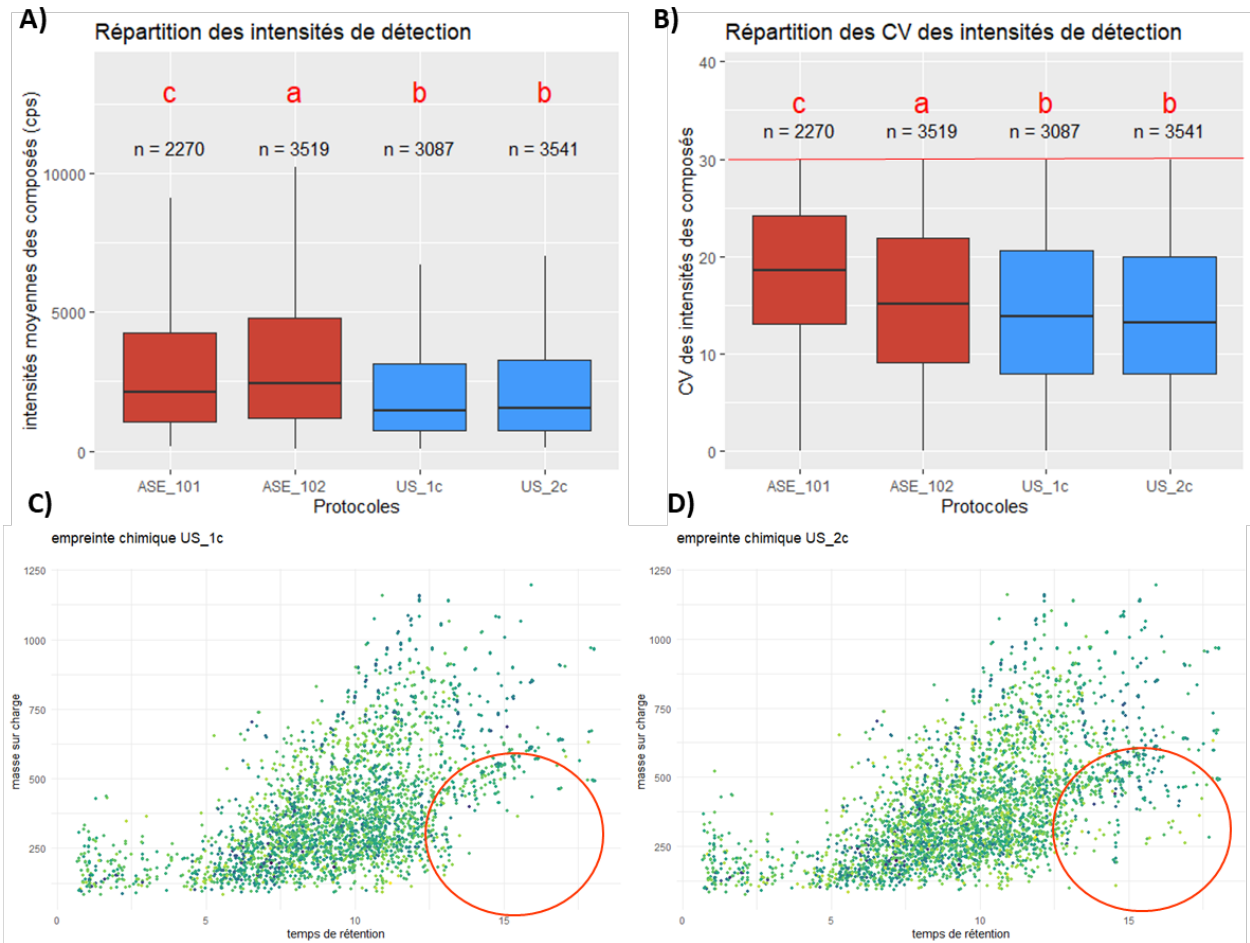


Figure 8 : Résultats de la comparaison du nombre de cycles d'extraction. Diagrammes de quartiles sur A) les intensités des composés détectés et B) la variabilité des intensités au sein des triplicatas. (n = nombre de composés ; lettre = significativité des différences des moyennes par le test de Tuckey ; CV : coefficient de variation en %). Empreintes chimiques HRMS après C) 1 cycle d'US et D) 2 cycles d'US.

Cette même démarche a été appliquée pour les autres conditions (i.e. température pour l'ASE, technique ASE vs US ; prise d'essai, purification des extraits, dilution des extraits), ce qui a permis de dresser le **tableau 1** récapitulatif ci-dessous.

Tableau 1 : Synthèse des résultats de comparaison des protocoles d'extraction des sédiments. Les informations reportées spécifient le choix le plus favorable pour chacun des critères étudiés.

	Cycles 1 ou 2	Température 50 ou 100°C	Purification Oui ou Non	Prise d'essai 0,5g ou 1g	Dilution ND D2 D5 D10	Technique ASE ou US
Nombre total de composés	2	=	=	1g	Dilution	=
Diagramme de quartiles sur l'intensité Efficacité	2	=	Purification	1g	Dilution	ASE
Diagramme de quartiles sur le CV* Fiabilité	2	100°C	=	0,5g	D2 - D5	US
Diagramme de Venn Similarité	=	=	=	=	Dilution	=
Empreintes chimiques Couverture m/z Rt	2	50°C	Purification	=	Dilution	ASE
Facteurs Pratiques et écologiques	1	50°C	Purification	0,5g	Dilution	US
TOTAL	2	=	Purification	=	Dilution	=

ND : non dilué, Dx : dilué x fois, CV : coefficient de variation, m/z : masse / charge, Rt : temps de rétention.

Au final, seuls le nombre de cycles d'extraction (2 au lieu d'une seule), l'absence de purification et de dilution influencent favorablement l'efficacité de l'extraction. Dans un dernier temps, l'aspect pratique et écologique de la méthode a été considéré (avec une préférence donnée aux protocoles à basse température, consommant le moins de solvant, les plus courts, etc.). Nous avons donc sélectionné le protocole suivant : 0,5 g de prise d'essai, extraction par ultrasons, avec 2 cycles d'extraction, sans purification, ni dilution avant analyse par LC-HRMS. C'est ce protocole qui est utilisé pour l'analyse des échantillons de MES de l'OSR dans la suite de cette étude.

3.3 Traitement des données HRMS pour une stratégie d'analyse non ciblée : comparaison des workflows

3.3.1 Méthodologie

Les analyses LC-HRMS ont été réalisées sur une chaîne Waters ACQUITY UPLC H-Class couplée à un Xevo G2-S QToF, avec une ionisation positive par électrospray. Pour tester différents workflows (c'est-à-dire le processus de traitement des données obtenues après analyse par LC-HRMS), un jeu réduit d'échantillons est sélectionné. Ce sont des extraits du sédiment de travail dopés avec un mélange de 80 composés (liste de composés détaillée dans l'annexe 3). Pour évaluer les performances des différents workflows par rapport aux effets matrice (à réduire au mieux) et à la sensibilité analytique (à améliorer au mieux), les extraits de sédiment sont injectés dilués par 2, 5, 10 et non dilués. Un blanc d'extraction (du sable d'Ottawa, sans la matrice sédiment) dopé, ainsi

qu'un blanc d'eau ultra-pure non dopé (blanc EUP) permettent de vérifier la sensibilité analytique (ou seuils de détection) sans effet matrice et l'absence de contamination pendant tout le processus d'analyse. Pour estimer la variabilité de chaque workflow, chaque échantillon est analysé par LC-HRMS avec un triplicatas d'injection, comme décrit dans la **figure 9**.

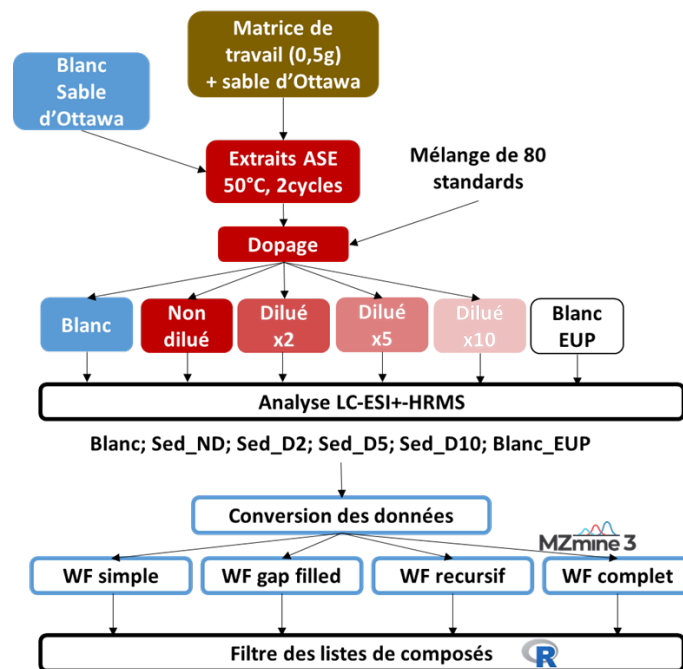


Figure 9 : Comparaison de 4 workflows de traitement de données HRMS pour une approche d'analyse non ciblée. ESI : ionisation par Electrospray, WF : workflow (= processus de traitement de données), logo R : logiciel libre R de traitement de données, logo mzmine3 : logiciel libre de traitement de données HRMS.

Le traitement des données est réalisé avec le logiciel MZmine3, à la suite d'une conversion des données en format libre et sous forme centroidée. Un composé est représenté par sa masse sur charge (m/z), son temps de rétention (R_t) et une intensité. La liste de composés détectés par MZmine3 est filtrée avec un script R « fait maison », pour éliminer les composés non pertinents, à savoir ceux présents dans les blancs (i.e. les composés non détectés dans 100% de chaque triplicata) et les composés ayant un CV de leur l'intensité supérieur à 30%.

Nous avons comparé 4 workflows de complexité croissante. Le « workflow simple », le plus basique, est constitué d'une simple détection de pics chromatographiques et d'un alignement des R_t pour tous les échantillons. L'alignement est l'étape qui permet de lier les pics correspondant à un même composé à travers les différents échantillons analysés. Le « workflow gap filled » inclut en plus une étape dite de « gap filling » après alignement, qui va permettre de rechercher à

nouveau dans chaque échantillon les signaux des pics potentiellement ratés lors de la première détection et de les ajouter à la liste. Le « workflow récursif » retourne dans les données brutes détecter les pics en ciblant les m/z et Rt de la liste des pics extrait du « workflow gapfilled » (= target detection), toujours dans le but de récupérer les pics potentiellement manqués. Enfin, pour passer d'une liste de pics à une liste de composés, il reste à regrouper les pics correspondant à un même composé, c'est-à-dire les isotopes et les adduits. C'est ce qui est fait avec le « workflow complet ». Les différents workflows sont schématisés dans la **figure 4**.

Pour comparer les workflows, trois critères sont observés :

- **Les traceurs dopés** dans les échantillons doivent être retrouvés dans la liste finale ;
- **Le nombre de composés spécifiques** aux échantillons dilués doit être faible. On s'attend à ce qu'un composé visible dans l'extrait de l'échantillon dilué X fois, soit aussi visible dans les extraits du même échantillon moins ou non dilués ;
- Enfin des **analyses en composantes principales** ont été réalisées pour vérifier si les différences de composés détectés par chaque workflow améliorent la compréhension statistique du jeu d'échantillons (i.e. distinction et répartition entre les échantillons de sédiments plus ou moins dilués et les contrôles qualité : eau ultrapure, sable d'Ottawa non contaminé dopés, sédiments dopés).

3.3.2 Résultats

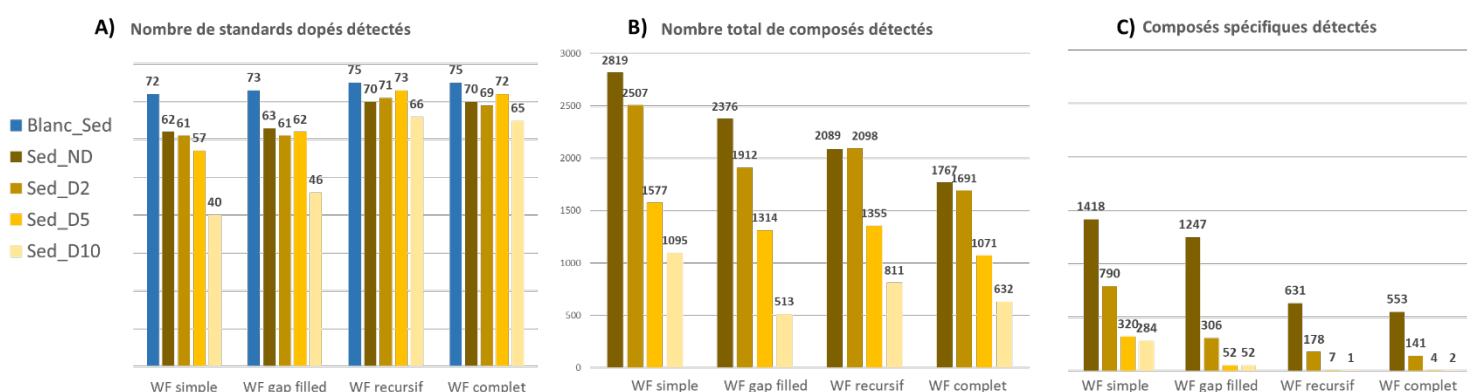


Figure 10 : Comparaison du A) nombre de composés dopés, B) nombre de composés totaux et C) nombre de composés spécifiques, détectés après chaque workflow de traitement de données HRMS.

La **figure 10** illustre le nombre de composés retrouvés dans les différents échantillons en fonction des workflows appliqués. C'est dans les blancs d'extraction (i.e. sans sédiment mais avec les composés dopés, en bleu dans la **figure 10A**) que le plus de composés dopés sont détectés, et ceci

sans influence du workflow. Cela s'explique facilement par l'absence d'effet matrice et donc plus de facilité à détecter les composés dopés. Dans les extraits de sédiments dopés et plus ou moins dilués (en dégradés de marron et orange), les deux workflows les plus simples (dits simple et gap filled) permettent de détecter un moins grand nombre de composés que les deux workflows plus élaborés (dits récursif et complet). Si l'on considère les composés totaux retrouvés dans les extraits de sédiment (**figure 10B**), c'est l'inverse : il y en a moins qui sont détectés par les workflows les plus élaborés en comparaison avec les workflows les plus simples. Cela s'explique par le fait que les workflows plus élaborés permettent de supprimer des signaux non pertinents (i.e. dans le bruit de fond ou fortement impactés par des effets matrice).

Si l'on considère le nombre de composés spécifiques (**figure 10C**), il est presque nul avec les deux workflows plus élaborés dans les échantillons de sédiment dilués ; ce qui est une preuve d'efficacité (les composés sont vus dans l'extrait sans besoin de le diluer). A l'inverse, avec le workflow le plus simple, on voit 320 et 284 composés dans les extraits dilués 5 et 10 fois ; ces composés n'ont pas pu être détectés dans l'extrait non dilué à cause des effets matrice. Ici encore, les workflows plus complexes permettent de s'affranchir des effets matrice.

Pour finir, nous avons réalisé des ACP pour observer la répartition statistique des échantillons en fonction des workflows (**figure 11**). Sur le « workflow simple », les échantillons correspondant au blanc d'eau ultra-pure non dopé (EUP), au sédiment dilué 10 fois et 5 fois sont presque confondus (non étiquetés car superposés, dans le rond rouge, en haut à gauche). Le « workflow gap filled » permet de mieux séparer tous les échantillons, mais la répartition des différents échantillons reste encore difficile à interpréter. Les deux workflows plus élaborés (récursif et complet) permettent de bien mieux distinguer les échantillons avec une répartition logique des échantillons non dilués jusqu'au blanc EUP, en passant par chaque niveau de dilution décroissant. Cette mise en évidence statistique de l'amélioration du jeu de données HRMS caractérisant chaque échantillon avec les deux workflows plus élaborés s'explique par la suppression des isotopes et adduits ; alors que ceux-ci encore présents avec les workflows les plus simples induisent des covariances qui brouillent la distinction des échantillons dans les ACP.

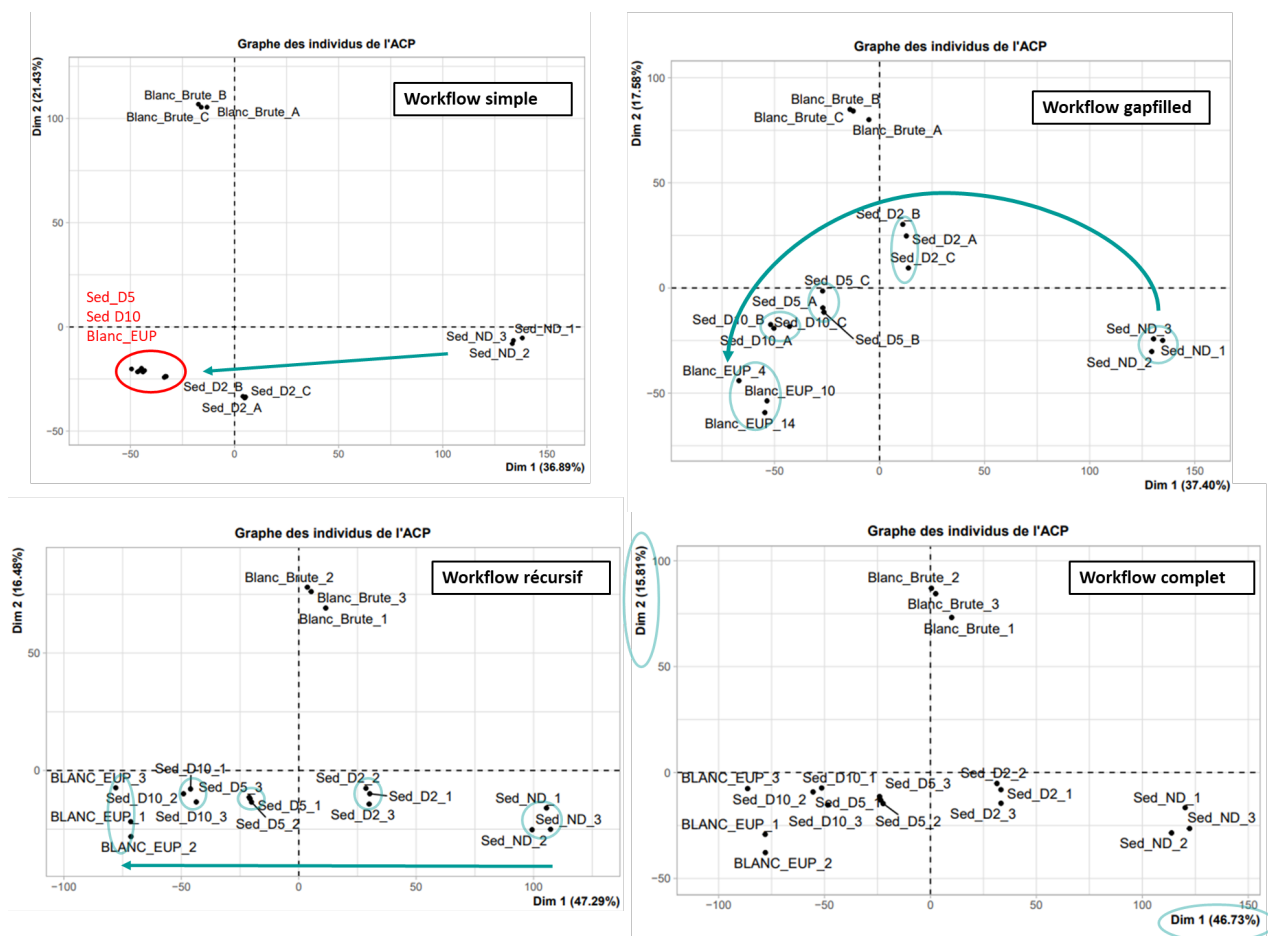


Figure 11 : Analyses en composantes principales (ACP) sur les blancs et échantillons de sédiment en fonction du workflow de traitement de données HRMS. Les flèches bleues illustrent le gradient des échantillons les plus contaminés vers les moins contaminés.

3.4 Traitement des données pour l'analyse suspectée : outils et bases de données utilisées

3.4.1 Les bases de données et leur niveau de confiance associé

L'analyse suspectée permet d'identifier des composés en fonction de leur m/z et du m/z de leurs fragments. D'autres informations, comme le profil isotopique ou le temps de rétention, peuvent être utilisées pour améliorer la confiance dans l'identification des composés détectés. Une échelle des niveaux de confiance, de 1 à 5, a été proposée par **Schymanski et al. (2014)**. Brièvement, le niveau 1 correspond à une identification confirmée avec un étalon analytique, c'est-à-dire que l'étalon a été injecté dans la même séquence analytique (dans notre cas, par LC-HRMS). Les niveaux 2 et 3 correspondent à des identifications probables, appuyées par la détection de fragments (niveau suspecté, le composé est nommé mais avec une incertitude plus ou moins grande). Les niveaux 4 et 5 ne permettent pas d'identifier le composé (niveau non ciblé, le

composé est détecté sans pouvoir être nommé). Cependant le niveau 4 apporte quelques informations sommaires sur la structure de la molécule, là où un composé du niveau 5 est identifié uniquement par ses caractéristiques d'analyse (m/z et Rt).

Nous avons environ 80 étalons analytiques disponibles au laboratoire (LAMA/RiverLy, INRAE) permettant d'identifier ces composés dans les échantillons analysés par LC-HRMS avec un niveau de confiance de 1. Lorsque ces composés ont également été quantifiés dans les sédiments par analyse ciblée (MS basse résolution), on leur assigne le niveau 1+. Nous les différencions des composés détectés par LC-HRMS, mais non quantifiés (niveau 1).

Deux bases de données ont été utilisées et adaptées à l'outil libre sélectionné pour le traitement des données suspectées (jHRMS toolbox, cf. § 3.4.2) pour élargir le panel de composés à explorer dans les sédiments, avec un niveau de confiance de 2. La première est la base de données du fabricant de notre appareil LC-HRMS (Waters), comprenant environ 3000 composés, majoritairement pharmaceutiques et pesticides. La deuxième est la base de données MassBank (https://massbank.eu/MassBank*), dont nous avons récupéré des informations pour environ 2000 composés, y compris des composés pharmaceutiques, des pesticides non organochlorés, des plastifiants et des PFAS. C'est une base de données publique, c'est-à-dire que tous les laboratoires peuvent l'alimenter. Avec cette base de données, le niveau de confiance obtenu est inférieur à celui avec la base de donnée Waters. En effet, les informations viennent de laboratoires et d'appareil différents. Il peut y avoir des différences dans les méthodes, des contaminations peuvent se glisser parmi les fragments référencés, etc.

Enfin, il est également possible de prédire (par modélisation) la fragmentation de certains composés supplémentaires en se basant sur leur structure. La confiance associée à ces derniers composés est de 3.

3.4.2 L'identification avec un outil en « libre accès »

Il existe peu d'outils en libre accès pour faire de l'analyse suspectée sur des données LC-HRMS, avec notre méthode de fragmentation (méthode MSe de Waters). Cette méthode fragmente tous les ions qui passent dans l'appareil. Les fragments des composés avec un même temps de rétention sont mélangés. Il n'est donc pas possible de savoir directement à quel ion appartient le fragment. D'autres méthodes ciblent et fragmentent seulement une masse à la fois (méthode MS²). Cela

permet d'identifier plus facilement et avec plus de confiance le pic, mais la plupart des composés ne sont pas fragmentés.

L'outil que nous avons utilisé est jHRMS toolbox (Samanipour et al., 2019, 2018). Il est développé par le groupe Environmental Modeling & Computational Mass Spectrometry (EMCMS). Une interface graphique est en cours de développement. Son algorithme de détection des pics est dit « self adjusting », c'est à dire qu'il y a peu de paramètres à régler. A partir des résultats obtenus avec jHRMS toolbox, de nombreux filtres sont ensuite appliqués, avec un script R « fait maison », pour sélectionner les fragments et les composés pertinents.

Selon la méthode que nous avons développée, les composés suspectés doivent :

- Avoir une intensité 3 fois supérieure à celle du blanc ;
- Etre détectés dans tous les échantillons de chaque triplicata ;
- Avoir une erreur en masse inférieure à 5 ppm ;
- Etre fragmentés à 20% minimum (i.e. l'intensité de l'ion dans la donnée fragmentée a diminué d'au moins 20% par rapport à celle dans la donnée non fragmentée) ;
- Avoir au minimum 2 fragments ;
- Avoir des fragments avec une intensité inférieure à celle du composé non fragmenté correspondant.

Pour vérifier la qualité des pics détectés, les données brutes sont ensuite observées avec MZmine3. Cette étape étant très chronophage, il est important de bien filtrer les données au préalable. En fonction du nombre de fragments trouvés par rapport au nombre de fragments renseignés dans la base de données, le niveau de confiance est ajusté.

Les niveaux de confiance que nous avons établis dans cette étude, à partir de l'échelle initiale développée par Schymanski et al. (2014), sont synthétisés dans le **tableau 2**.

Tableau 2 : Niveaux de confiance pour l'analyse suspectée dans les sédiments, adaptés par rapport à l'échelle de Schymanski et al. (2014).

Niveaux de confiance	de Analyse	Informations
1+	Ciblée (basse résolution)	Concentration dans les sédiments
1	Suspectée (HRMS)	Etalons disponibles avec Rt vérifié
2a +	Suspectée (HRMS)	Base de données Waters 3 fragments ou plus
2a -	Suspectée (HRMS)	Base de données Waters 2 fragments
2b +	Suspectée (HRMS)	Base de données MassBank 3 fragments ou plus
2b -	Suspectée (HRMS)	Base de données MassBank 2 fragments
3	Suspectée (HRMS)	Fragments prédits
4	Non ciblée (HRMS)	Information sur une partie de la structure
5	Non ciblée (HRMS)	Masse sur charge, Rt et intensité

En Résumé

- Plusieurs étapes du processus d'analyse ont été optimisées et testées, depuis la préparation de l'échantillon de sédiment jusqu'au traitement des données suite à l'analyse non ciblée par LC-HRMS pour la détection de contaminants organiques émergents.

Extraction

- Cette étude a permis de définir le protocole de préparation des échantillons le plus efficace pour l'analyse LC-HRMS. Il consiste en une extraction assistée par ultrasons, avec une prise d'essai de 0,5 g (masse sèche), 2 cycles d'extraction (avec du méthanol, puis un mélange de méthanol/acétonitrile), sans purification, ni dilution de l'extrait avant analyse. C'est ce protocole qui est appliqué pour les échantillons de l'OSR dans la suite de cette étude.

Analyse non ciblée

- Le logiciel libre MZmine3 est utilisé pour la détection de pics, couplé à R pour filtrer la liste de composés.
- Le workflow complet permet d'obtenir une liste de composés optimisée. Les multiples retours dans les données brutes (gap filling + target detection) pour vérifier que des pics n'ont pas été manqués semblent primordiaux.

Analyse suspectée

- L'identification est réalisée avec le logiciel libre jHRMS toolbox, également couplé à R pour filtrer la liste de composés. La validation de l'identification des composés est réalisée par une visualisation des pics avec MZmine3.
- L'identification des composés est associée à différents niveaux de confiance qui résultent de l'utilisation de différentes bases de données que nous avons rassemblées et adaptées à notre workflow mettant en œuvre des logiciels libres.

4. Analyses des MES du Rhône – Premiers résultats

4.1 Choix des échantillons

La dernière année du programme OSR6 inclut l'application de la méthodologie développée à l'analyse de sédiments du Rhône. Cette application, qui se poursuivra dans le programme OSR 7, vise à i) consolider et/ou finir d'optimiser la méthodologie sur des échantillons réels, ii) apporter de nouvelles connaissances sur la contamination des sédiments du Rhône.

Le nombre d'échantillons de MES (plus de 1700) collectés et bancarisés, essentiellement par piège à particules ou centrifugeuse en continue, à différents points du Rhône, à l'occasion des différents programmes OSR successifs est considérable (**Gruat et al., 2022**). Pour certaines stations de prélèvement, ces échantillons permettent de retracer une période allant de 1 à 15 ans.

Pour notre étude, les échantillons de MES prélevés par piège à particules (exposition et intégration de la contamination sur 1 mois), ont été sélectionnés pour répondre à deux questions :

- **Question 1 : Quel est l'impact global de la zone urbaine de Lyon sur la contamination en micropolluants organiques des MES ?**

La démarche est d'analyser des MES prélevées en amont et en aval de Lyon afin de caractériser le nombre et la nature des contaminants apportés par la métropole. C'est une question qui a déjà été abordée en considérant spécifiquement les métaux et les HAP dans une action de l'axe B de l'OSR6 portant sur la détermination des sources de MES et des contaminants apportés au Rhône (**stage M2 de J. Roger en 2021, stage M2 de J. Alkhoury en 2022, Delille et al., rapport OSR, 2021**). Une analyse ciblée et non-ciblée d'échantillons de MES prélevés au cours d'une année hydrologique aux stations de Jons, Saône et Andancette permet d'aborder cette question sous l'angle de la contamination par les micropolluants organiques au sens plus large, avec un focus sur les émergents.

- **Question 2 : Peut-on mettre en évidence une saisonnalité dans la nature et l'abondance des micropolluants organiques dans les MES ?**

Certains contaminants organiques peuvent avoir des rejets influencés par les saisons. Par exemple, les pesticides d'usage agricole peuvent être mobilisés et arriver dans le fleuve Rhône en plus grande quantité pendant les périodes de leur utilisation et aussi lors

d'épisodes pluvieux. De même, les antihistaminiques rejetés avec les effluents de stations d'épuration peuvent également être plus abondants dans le Rhône à la période de l'année où ils sont le plus prescrits (printemps/été). L'analyse ciblée et non-ciblée de MES prélevées pendant une année sur une station chargée en contaminants (par exemple, la station située à Andancette, en aval de Lyon) permet d'étudier des profils temporels sur un large panel de contaminants organiques.



Figure 12 : Carte des stations du réseau de suivi des MES de l'OSR. Nombre d'échantillons (n) considérés dans cette étude à la station sur la Saône et aux deux stations sur le Rhône (Jons et Andancette).

Pour répondre à ces deux questions, nous avons sélectionné les MES échantillonnées à Andancette, dans le Rhône en aval de Lyon, tous les mois entre septembre 2021 et août 2022 ; ainsi que les MES collectées en amont de Lyon dans la Saône et à Jons dans le Rhône, aux mois d'octobre et décembre 2021 et janvier, mars, mai et juin 2022 ; soit un total de 24 échantillons. Les lieux d'échantillonnage sont indiqués sur la **figure 12**.

4.2 Analyses ciblées (niveau de confiance 1+, tableau 2)

Après extraction par solvant des micropolluants contenus dans les MES, les extraits ont été analysés par spectrométrie de masse haute résolution (analyses suspectées et non ciblées ; cf. Chapitre 3) et basse résolution (analyses ciblées ; Dabrin et al. 2021).

Les résultats des analyses ciblées dans les 24 échantillons de MES sélectionnés ont permis d'identifier et quantifier 42 composés parmi les 78 ciblés (cf. **annexe 3**), notamment des pesticides et des pharmaceutiques. L'ensemble des résultats (concentrations et fréquences de quantification) est détaillé dans l'**annexe 5**.

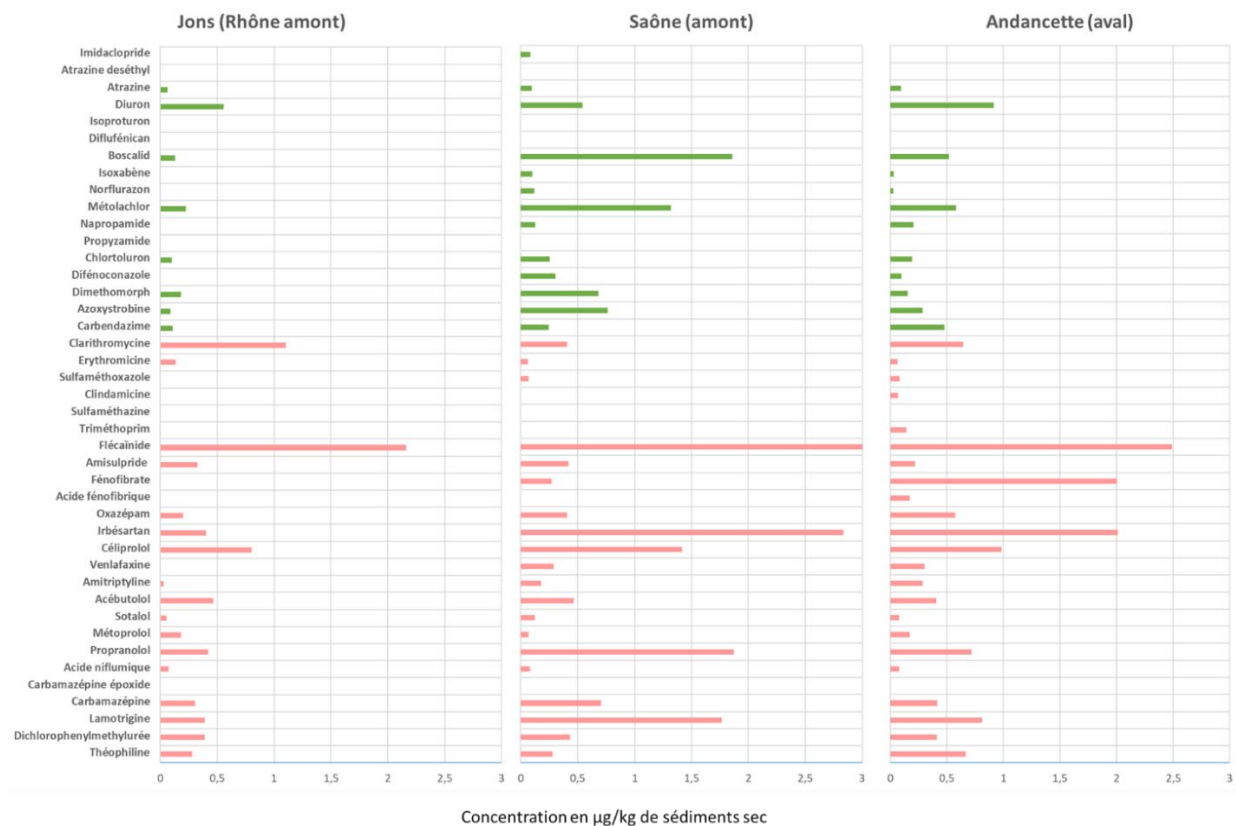


Figure 13 : Concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg}$ poids sec) des micropolluants organiques mesurées par analyse ciblée dans 3 échantillons de MES échantillonnés en octobre 2021 en amont et aval de Lyon. Vert : pesticides ; Rose : pharmaceutiques.

La **figure 13** montre un exemple des composés détectés et leur concentration dans les MES collectées en amont et aval de Lyon, en octobre 2021. On observe que les MES du Rhône en amont de Lyon, à Jons, sont déjà contaminées par un certain nombre de micropolluants (ex. : l'antibiotique clarithromycine, l'anti-arythmique flécaïnide, le bêtabloquant céliprolol et le pesticide diuron). En aval de Lyon, dans les MES du Rhône à Andancette, de nombreux composés sont présents en plus forte concentration qu'en amont (ex. : fénofibrate, théophylline,

amitriptyline). Cette augmentation de la contamination des MES dans le Rhône entre l'amont et l'aval de Lyon peut s'expliquer en partie par l'apport de MES contaminées en provenance de la Saône² et par le rejet de contaminants dans les phases dissoute ou particulaire dans la zone urbaine de Lyon. Dans la **figure 13**, on constate en effet que les MES de la Saône en amont de Lyon, sont déjà contaminées par un grand nombre de pesticides (ex : boscalid, diméthomorphe, métolachlore, ...) et de pharmaceutiques (flécaïnide, irbésartan, propranolol, lamotrigine, ...).

La saisonnalité de la contamination dans les MES du Rhône varie en fonction du contaminant, de ses usages et sources de contamination ; et aussi en fonction du débit du fleuve et des concentrations en MES, paramètres liés en partie aux précipitations. Les variations dépendent aussi des propriétés physico-chimiques du composé qui conditionnent son devenir (dégradabilité) et son transfert vers les MES (distribution entre phases dissoute et particulaire). La **figure 14** montre les concentrations des deux pesticides (chlortoluron et diuron) et deux pharmaceutiques (irbésartan et flécaïnide) les plus concentrés, détectés tous les mois entre septembre 2021 et août 2022, à Andancette en aval de Lyon.

Pour l'irbésartan, qui est un pharmaceutique luttant contre l'hypertension, on observe que sa concentration dans les MES est plus élevée en hiver avec un pic à 3,58 µg/kg de sédiment en novembre. A ce stade, nous ne pouvons pas encore expliquer ce résultat, ni en fonction de l'usage, ni du débit du Rhône, ni des précipitations, ni des flux et concentrations de MES. La flécaïnide qui aide à lutter contre les troubles cardiaques est présente tous les mois, avec un pic en mars et un autre en mai. Sa courbe de concentration tend à être inversement corrélée au flux de MES. L'herbicide chlortoluron, appliqué en post-levée sur les cultures de blés tendres (entre autres), est logiquement retrouvé en forte concentration à partir du mois d'octobre, période à laquelle le blé est semé (culture principale de la région – FranceAgriMer, chiffres clés 2020/21, source : draaf.auvergne-rhone-alpes.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/grandes_cultures-chiffres-cles_2020-2021-region_auvergne-rhone-alpes-2.pdf). Enfin, le diuron est un pesticide et aussi un biocide présent notamment dans les peintures de bâtiments et peut être amené au Rhône via les eaux de ruissellements en zone urbaine. Sa concentration plus élevée aux mois d'octobre, décembre et

² Le flux total de MES en tonne/mois en provenance de la Saône représentait 21% du flux à Andancette en octobre 2021 selon les données de BDOH (<https://bdoh.irstea.fr/OBSERVATOIRE-DES-SEDIMENTS-DU-RHONE/>)

juin pourrait s'expliquer par des pics de précipitation. En revanche, le pic de diuron le plus intense en mars n'est pas expliqué par les précipitations.

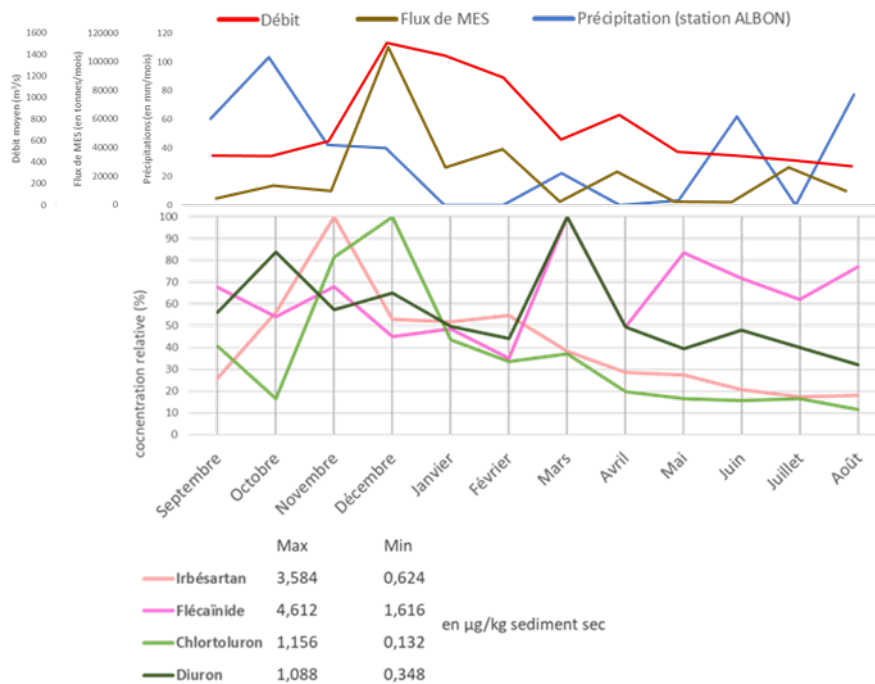


Figure 14 : Evolution de la concentration (en % par rapport à la concentration maximale mesurée sur l'année) de 4 micropolluants (2 pharmaceutiques : irbésartan et flécaïnide, et 2 pesticides : chlortoluron et diuron) à Andancette, en aval de Lyon, au cours de l'année 2021/2022, par rapport aux flux mensuel de MES (en tonne/mois, source BDOH), au débit moyen mensuel du Rhône (en m³/s, source BDOH), aux précipitations moyennes mensuelles (en mm, source donneespublique.meteofrance.fr³).

L'interprétation environnementale de ces premiers résultats n'est pas simple car elle combine l'influence de différents facteurs : l'usage de ces substances, leurs sources, leurs propriétés physico-chimiques et la distribution entre phases dissoute et particulaire, les précipitations, conditions hydrologiques et l'origine des MES. Elle sera poursuivie dans l'OSR7. Ces résultats issus de l'analyse ciblée seront aussi discutés par rapport aux résultats obtenus par les analyses suspectées et non ciblées.

³ Les données de précipitations correspondent la somme des relevés journaliers des précipitations à la stations ALBON (à 4km d'Andancette) sur la période d'exposition de chaque piège (https://donneespubliques.meteofrance.fr/?fond=produit&id_produit=111&id_rubrique=37).

4.3 Analyses suspectées (niveau de confiance 2, tableau 2)

Pour l'analyse suspectée, le **tableau 3** montre les composés identifiés, avec leur niveau de confiance pour les trois stations au mois d'octobre 2021. Les informations nécessaires pour l'identification sont présentées en **annexe 6** pour la diphénylguanidine détectée à Andancette. L'analyse suspectée permet de rechercher des groupes de composés plus variés qu'avec l'analyse ciblée : par exemple les plastifiants phthalates ou les retardateurs de flammes triéthylphosphate et tris(2-éthylhexyl) phosphate (qui ont remplacé les PBDE après leur interdiction, qui eux même remplaçaient les PCB). Beaucoup de composés naturels ont également été détectés et sont présentés en grisés dans le **tableau 3**, comme les terpénoïdes, les mycotoxines, certaines hormones, etc.

Nous avons également détecté des composés comme le 1,3-diphénylguanidine, un composé présent dans les pneus, qui est transporté des routes vers le Rhône par des eaux de ruissellement. Le triphénylphosphine oxide est, quant à lui, un sous-produit de synthèse industriel et témoigne de l'activité industrielle dans le couloir de la chimie au sud de Lyon.

La liste du tableau comprend uniquement les composés détectés par ionisation positive dans trois échantillons de MES. Elle doit être complétée par les composés détectés par ionisation négative (analyses réalisées pour tous les échantillons, mais restant à exploiter). Les composés avec un niveau de confiance 3 (fragmentation prédite) ne sont pas considérés ici. A noter que pour identifier un composé de façon fiable, le composé doit dépasser une intensité minimum (variable en fonction du composé). C'est-à-dire qu'il doit être à un niveau de concentration suffisant, s'ioniser (pour pouvoir être mesuré par spectrométrie de masse) et se fragmenter (voir partie 3.4.2) pour permettre une identification de sa structure. Cela explique donc que malgré les 5000 composés recherchés, on dépasse rarement la centaine de contaminants identifiés dans un échantillon. A noter également que les contaminants historiques PCB et pesticides organochlorés ne sont pas recherchés (analysés par chromatographie en phase gazeuse).

Tableau 3 : Composés suspectés identifiés dans les échantillons de MES prélevés au mois d'octobre 2021, en amont (Saône et Rhône à Jons) et aval (Rhône à Andancette) de Lyon, avec les niveaux de confiance associés. En gris : des composés naturels.

Composé	Utilisations	Confiance	Station
4-Hydroxycoumarine	Composé naturel	2b+	Jons
Acide 2-Benzothiazolesulfonique	Anticorrosif	2b+	Jons
Adénosine	Composé naturel	2a+	Jons
Aflatoxine B2	Composé naturel	2b	Jons
Butyl octyl phthalate	Plastifiant	2a+	Jons
Dihydrojasmane	Composé naturel	2b-	Jons
Diisononyl phthalate	Plastifiant	2b-	Jons
Diméthylphthalate	Plastifiant	2b+	Jons
Vanillate d'éthyle	Arome synthétique	2b-	Jons
Isatine	Composé naturel	2b+	Jons
Méthyleugénol	Composé naturel	2a-	Jons
Méthylparabène	Cosmétique	2a-	Jons
Acide o-anisique	Composé naturel	2b-	Jons
Phthalic anhydride	Industriel	2a+	Jons
Quinoline N-oxide	Industriel	2b+	Jons
1,3-Diphénylguanidine	Caoutchouc (pneus)	2a+	Saône
Dicrotophos	Insecticide	2a-	Saône
Méthyleugénol	Composé naturel	2a-	Saône
Triéthylphosphate	Retardateur de flamme	2b-	Saône
Tris(2-éthylhexyl)phosphate	Retardateur de flamme	2b+	Saône
Vérapamil	Pharmaceutique (anti-calcium)	2b+	Saône
Verbénone	Composé naturel	2a-	Saône
1,3-Diphénylguanidine	Caoutchouc (pneus)	2a+	Andancette
19-Norandrostérone	Composé naturel	2a-	Andancette
3,6,9,12-Tetraoxatétracosan-1-ol	Multiple (solubilisant, émulsifiant, etc.)	2b+	Andancette
Chrysine	Composé naturel	2b+	Andancette
Coumarine	Composé naturel	2b-	Andancette
Dihydrojasmane	Composé naturel	2b-	Andancette
Flubendazole	pharmaceutique (anti-parasitaire)	2b-	Andancette
Triphénylphosphine oxide	Industriel	2a-	Andancette
Tris(1-chloro-2-propyl) phosphate	Retardateur de flamme	2a+	Andancette
Tris(2-butoxyéthyl) phosphate	Retardateur de flamme	2b-	Andancette
Vérapamil	Pharmaceutique (anti-calcium)	2b-	Andancette

4.4 Analyses non ciblées - Empreintes chimiques (niveau de confiance 5, tableau 2)

La spectrométrie de masse à haute résolution permet la détection de plusieurs milliers de pics lors d'une même analyse. Une liste de composés est produite grâce à des logiciels et algorithmes qui permettent de détecter, trier et aligner les pics dans les différents échantillons (cf. partie 3.3). Il est alors possible pour chaque échantillon de MES de représenter tous ces composés (sans identité) sous la forme d'une empreinte chimique ($R_t = f(m/z)$) comme illustré dans la **figure 15**.

Les graphiques de la **figure 15-haut** représentent les composés détectés en amont de Lyon (Saône et Jons sur le Rhône). En aval du Rhône, il y a plus de composés détectés (**figure 15-bas**). La **figure 15-bas** montre les composés spécifiques à l'aval de Lyon, c'est-à-dire les composés qui apparaissent à Andancette et qui sont probablement issus de la métropole lyonnaise.

En fonction des workflows de filtration des données (i.e. des blancs considérés [blanc solvant, blanc d'extraction, blanc sédiment, etc.], du seuil d'intensité et de variabilité minimum des signaux, du regroupement des adduits et des isotopes, etc.), le nombre de composés varie d'une centaine à plusieurs milliers.

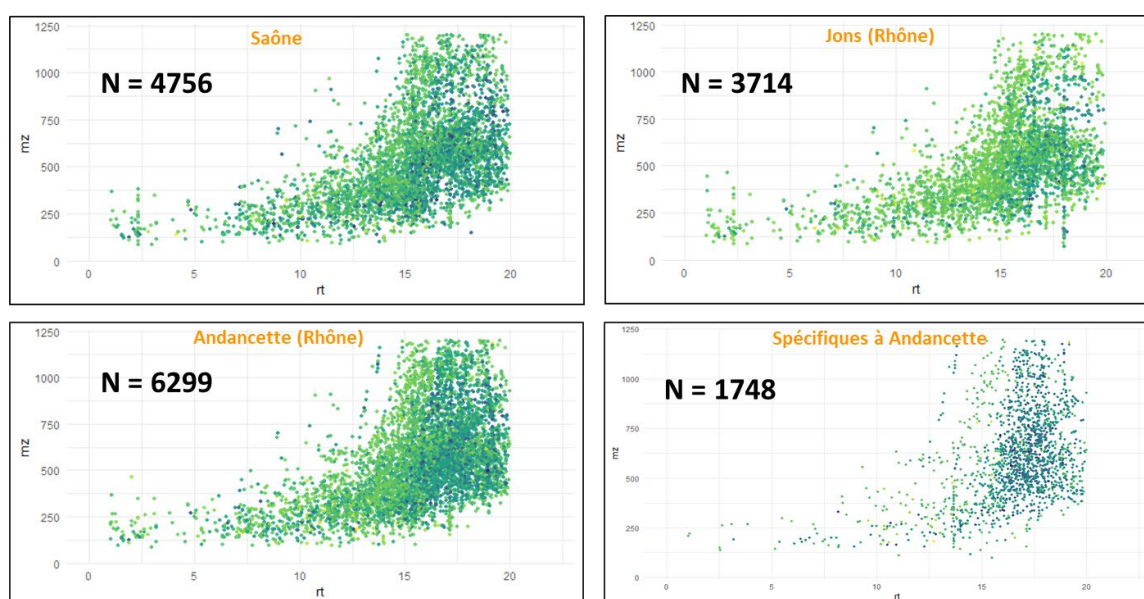


Figure 15 : Empreintes chimiques des composés détectés par analyse non ciblée dans des échantillons de MES prélevés au mois d'octobre 2021 en amont (Saône et Rhône à Jons) et aval (Rhône à Andancette) de Lyon.

4.5 Recherche de familles spécifiques (niveau 3 - 4, tableau 2)

Sur la base des empreintes chimiques, il existe des stratégies pour aller rechercher et faire ressortir des familles de composés spécifiques, sans obligatoirement donner de formules chimiques précises.

4.5.1 La recherche de composés chlorés à partir des profils isotopiques (niveau 4, tableau 2)

Certains éléments comme le carbone ou le chlore présentent des profils isotopiques spécifiques. Pour illustrer, le carbone 13 est présent avec une abondance de 1% comparée à celle du carbone

12 (le plus abondant naturellement). Le chlore 37 a une abondance de 32% comparé à celle du chlore 35. C'est-à-dire qu'une molécule avec 1 atome de chlore va présenter un second pic avec une masse décalée de 2Da, et un niveau d'intensité de 32% comparé au premier pic (de référence). On peut ainsi repérer, dans l'empreinte chimique, des composés chlorés et calculer leur nombre de chlores. En guise d'exemple, La **figure 16** présente les profils isotopiques d'éléments halogénés et du tris(1-chloro-2-propyl) phosphate.

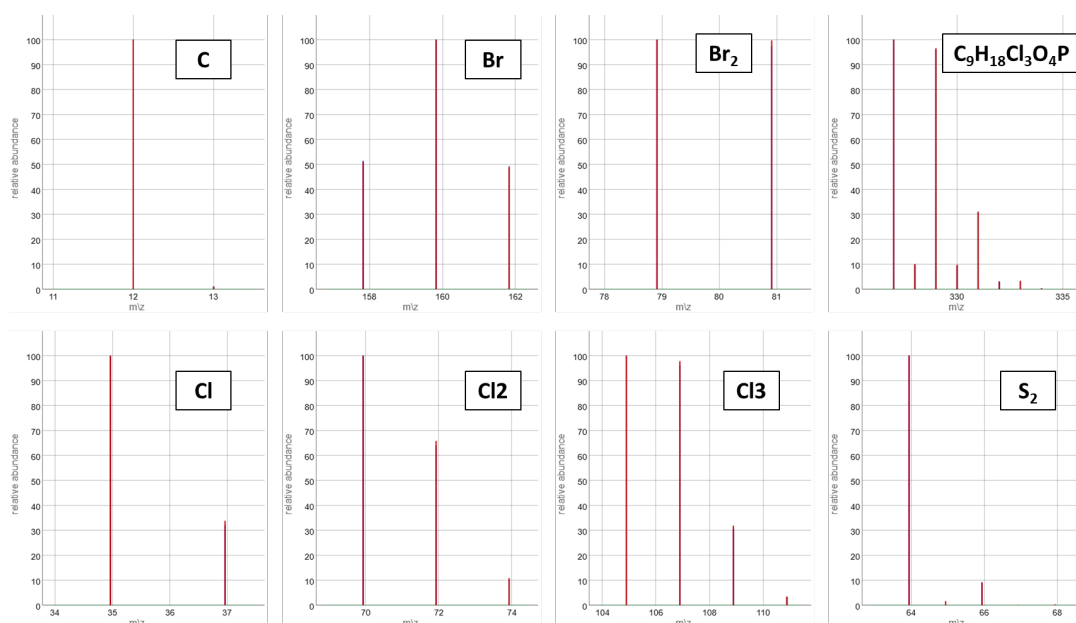


Figure 16 : Profil isotopique de différents éléments et groupes d'éléments (source www.envipat.eawag.ch/).

La détection des isotopes spécifiques aux éléments chlorés a été faite avec l'outil Haloseeker 2.0.3.3 (Leon et al., 2020). La **figure 17** montre une empreinte des composés chlorés détectés dans les MES d'Andancette prélevées au mois d'octobre 2021. Le point correspondant au tris(1-chloro-2-propyl) phosphate ($m/z = 327$ Da, $R_t = 13,7$ min) de formule brute $C_9H_{18}Cl_3O_4P$ identifié par l'analyse suspectée (cf. tableau 3, § 4.3) a bien été annoté avec l'outil Haloseeker comme ayant 3 chlores. Cela augmente la confiance que l'on peut avoir en son identification. On procède de la même façon pour la lamotrigine ($m/z = 256$ Da, $R_t = 9,3$ min) de formule $C_9H_7Cl_2N_5$.

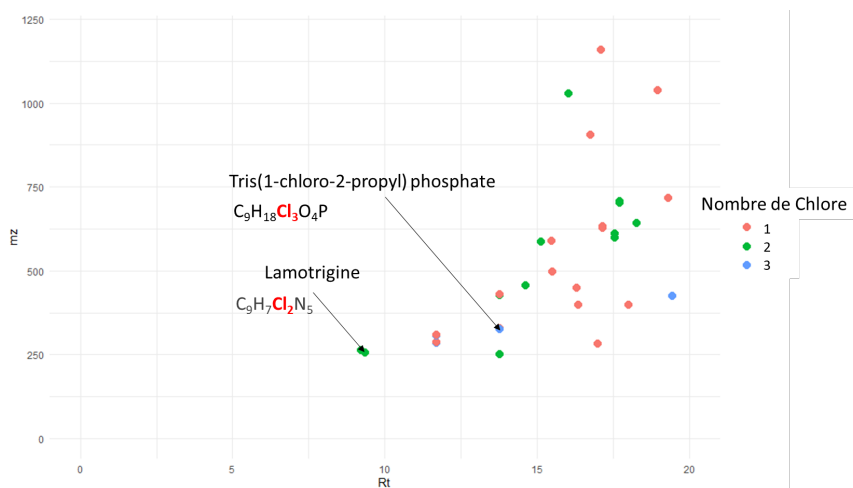


Figure 17 : Composés chlorés détectés dans les MES prélevées en aval de Lyon, à Andancette, au mois d’octobre 2021.

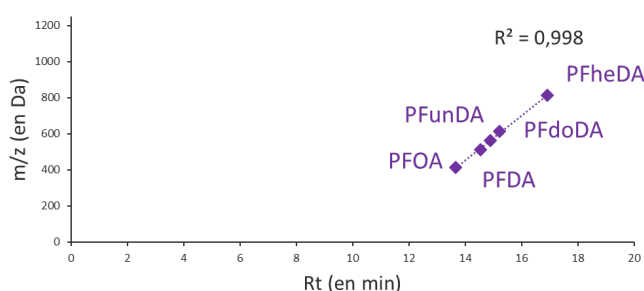
L’acide fénofibrique et le fénofibrate sont des composés chlorés qui ont été quantifiés en analyse ciblée, mais leurs concentrations sont trop faibles (<2ng/g) pour pouvoir détecter leur profil isotopique relatif au chlore par l’analyse non ciblée.

4.5.2 La recherche de composés perfluorés PFAS à partir du défaut de masse de Kendrick (niveau 3, tableau 2)

Il est possible d’identifier des PFAS sans avoir d’information sur leurs fragments, en utilisant la stratégie du défaut de masse de Kendrick (**Merel, 2023, Bugsel et al., 2023**). Cette stratégie aide à repérer des séries de composés ayant une structure similaire, variant simplement par un groupe d’élément. Dans le cas des PFAS, on cherche les composés séparés d’un ou plusieurs CF₂. Un fois qu’un composé est identifié, il est plus simple d’identifier les autres composés de la série. Pour cela, il faut combiner plusieurs informations :

- 1) *Le défaut de masse.* Le défaut de masse est la différence entre et la masse atomique théorique arrondie et la masse réelle. Le défaut de masse des PFAS est généralement faible, entre -0,25 et 0,1 Da. Pour l’acide perfluorooctanesulfonique, la masse théorique arrondie est 499, la masse réelle 498,9302 et son défaut de masse est donc de -00698.
- 2) *Les masses théoriques des PFAS connus.* Sur ce point, les bases de données de masses du réseau NORMAN (norman-network.com/nds/susdat/), contenant plus de 5000 PFAS, ont été utilisées.
- 3) *Les fragments théoriques* correspondant aux PFAS avec une perte d’élément ou de groupe d’éléments (par exemple CF₂O, HF, C₂F₄, CF₂SO₃).

- 4) Le défaut de masse de Kendrick (KMD), qui permet de normaliser le défaut de masse par rapport à un groupe d'atomes. Pour les PFAS, la normalisation se fait par rapport au CF_2 , c'est-à-dire que les composés qui diffèrent d'un ou plusieurs groupes CF_2 ont le même KMD, ils correspondent à une même série de PFAS.
- 5) Les temps de rétention d'une même série de PFAS. Par exemple, si l'on étudie la série des PFAS avec un nombre croissant de groupements chimiques CF_2 : leur temps de rétention augmente avec la chaîne carbonée qui se rallonge. Les PFAS de cette série sont donc distribués de façon plus ou moins linéaire sur l'espace $m/z = f(Rt)$ (**figure 18**).



Nom	Mz (Da)	Rt (min)	KendrickMass	KMD
Acide perfluorooctanoïque	412,9659	13,66	412,9922	0,9922
Acide perfluorodécanoïque	512,9596	14,55	512,9923	0,9923
Acide perfluoroundécanoïque	562,957	14,89	562,9929	0,9929
Acide perfluorododécanoïque	612,9539	15,21	612,993	0,993
Acide perfluorohexadécanoïque	812,9434	16,92	812,9953	0,9953

Figure 18 : Identification de 5 PFAS dans les MES prélevées à Andancette sur le Rhône en octobre 2021.

La **figure 18** montre la mise en évidence de 5 PFAS d'une même série (même structure, seul le nombre de CF_2 diffère). Ces 5 PFAS ont été retrouvés au mois d'octobre 2021 sur les trois stations en amont et en aval de Lyon.

Cette stratégie utilisant le défaut de masse de Kendrick est appropriée pour toutes les familles de composés formés de chaînes carbonées linéaires. Elle peut également s'appliquer pour les composés avec des ammoniums quaternaires, en normalisant avec CH_2 par exemple.

4.6 Analyses de clusters (niveaux 1 à 5, tableau 2)

Après l'analyse ciblée, suspectée et la recherche de familles spécifiques, la plupart des composés détectés par LC-HRMS restent inconnus. Un traitement statistique par classification ascendante

hiérarchique sur les intensités de l'ensemble de ces composés, même ceux inconnus, peut être réalisé pour mettre en évidence des groupes avec un même profil de comportements spatio-temporels, comme fait par **Chiaia-Hernández et al. (2017, 2020b)** et présenté dans la **figure 5**. Un tel traitement statistique a été initié avec les MES de l'OSR et il permet de mettre en évidence 5 groupes de composés. La **figure 19** illustre le profil de comportement pour l'un de ces groupes de composés, dans les MES prélevées en amont et aval de Lyon, en mars 2022. Ces premiers résultats et leur interprétation doivent encore être consolidés.

Groupe n°2/5
 3809 Composés 15 composés chlorés
 Composés suspects :

Composé	Utilisation	Confiance
19 - Nordandrostérone	Hormone naturelle	2a-
3-Aminoacetophenone	Composé aromatique naturel	2b-
Acide férulique	Composé naturel	2a-
Adénosine	Composé naturel	2a+
Aflatoxine B2	Toxine naturelle	2b-
Allopurinol	Pharmaceutique	2b-
Boscalid	Fongicide	1
Carbamazépine-10,11-époxyde	Pharma (métabolite)	1
Chrysine	Composé naturel	2b+
Clarithromycine	Pharma (antibiotique)	1
Clindamycine	Pharma (antibiotique)	1
Cyclophosphamide	Pharma (anticancéreux)	1
Diazépam	Pharma (benzodiazépine)	1
Diméthomorph	Fongicide	1
Fenhexamide	Fongicide	1
Irbésartan	Pharma (antihypertenseur)	1
Méthyleugenol	Composé aromatique naturel	2a-
Métoprolol	Pharma (bêta-bloquant)	1
Nordazépam	Pharma (benzodiazépine)	1
Oxazépam	Pharma (benzodiazépine)	1
Salbutamol	Pharma (bronchodilatateur)	1
Sulfaméthoxazole	Pharma (antibiotique)	1
Tyrosine	Composé naturel	2b+
Vanillate d'éthyl	Arome synthétique	2b-

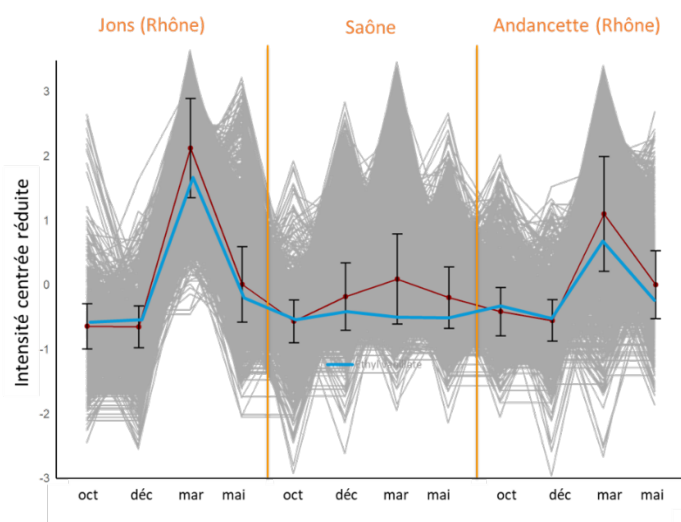


Figure 19 : Profil de comportement d'un groupe de composés, et liste de composés associés à ce groupe, dans les MES prélevées en amont (Saône et Rhône à Jons) et aval (Rhône à Andancette) de Lyon, en mars 2022. Rouge : profil-spatio temporel moyen ; Bleu : profil du vanillate d'éthyle.

En Résumé

- L'analyse ciblée apporte des premières informations quantitatives (résultats en concentrations) sur un nombre limité de composés (ici 25 pharmaceutiques et 17 pesticides).
 - ⇒ La contamination en composés pharmaceutiques et pesticides augmente entre le Rhône en amont de Lyon (Jons) et le Rhône en aval de Lyon (Andancette). L'affluent de la Saône contribue à cette augmentation de la contamination des MES à l'aval de Lyon.
- L'analyse suspectée permet de balayer davantage de catégories de contaminants et donne des informations qualitatives (identification de la structure, sans donner de concentration). La sensibilité analytique moins basse en spectrométrie de masse haute résolution par rapport à la basse résolution est probablement un frein à l'identification d'un grand nombre des composés.
 - ⇒ Des retardateurs de flammes, plastifiants, composés industriels ont été identifiés dans les MES.
- Les empreintes chimiques issues d'analyses non ciblées offrent une vision plus globale de la pollution.
 - ⇒ En aval de Lyon, les MES sont plus contaminées qu'en amont en termes de nombre de contaminants détectés.
- Des stratégies analytiques complémentaires à l'analyse non ciblée (calcul du défaut de masse de Kendrick, détection de profils isotopiques, recherche de fragments non spécifiques) permettent d'identifier des groupes de composés.
 - ⇒ Des PFAS et des composés chlorés ont été mis en évidence dans les MES du Rhône.
- La classification ascendante hiérarchique permet de regrouper toutes les informations précédentes (ciblée, suspectée, PFAS, halogénés, etc.) et de mettre en évidence des profils spatio-temporels de contaminants.
- Ces premiers résultats et leur interprétation sont en cours de consolidation.

5. Perspectives

5.1 Continuer l'exploration des émergents dans les MES

L'acquisition des données par analyses ciblées, suspectées et non ciblées est finalisée pour les 24 échantillons de MES du Rhône sélectionnés. Le chapitre 4 présente un début d'interprétation des résultats pour quelques-uns de ces échantillons. L'ensemble des données acquises restent à interpréter pour les 24 échantillons de MES analysés. La recherche de composés PFAS, par exemple, doit être poursuivie pour compléter la liste des 5 composés déjà identifiés. Les interprétations des résultats d'analyses statistiques doivent être consolidées pour voir s'il est possible de caractériser des groupes de composés présentant des comportements ou des tendances (temporelles ou spatiales) similaires. Enfin, dans la mesure du possible, ces résultats seront interprétés d'ici fin 2024, au regard des métadonnées pertinentes disponibles (concentrations en MES, débit des fleuves, niveau de précipitation, ...).

5.2 Analyser des carottes sédimentaires

En lien avec l'action B1 « Caractériser la contamination (actuelle et historique) aux composés perfluorés – PFAS » du programme OSR7, il est prévu d'analyser des carottes sédimentaires et d'appliquer les stratégies d'analyses ciblées et non ciblées présentées dans ce rapport. Deux carottes ont déjà été sélectionnées (déjà datées) : 1/ une carotte en aval de Lyon, échantillonnée dans le Rhône à Pierre Bénite, qui permet de remonter jusqu'aux années 1990 ; et 2/ une carotte échantillonnée en amont de Lyon à Jons dans le Rhône, qui permet de remonter aux années 1980. Les extractions des échantillons de sédiments de ces deux carottes et les analyses sont prévues en 2025 ; ainsi que le traitement de données et l'interprétation des résultats qui se poursuivront en 2026. Des compléments de financement seront recherchés (avec les acteurs de la DREAL, de l'Agence de l'eau RMC, de la Métropole de Lyon, et dans le cadre du projet européen PARC), pour poursuivre l'application de la méthodologie développée pour la caractérisation de MES et de nouvelles carottes sédimentaires.

6. Références bibliographiques

- Alkhoury, J., 2022. Caractérisation et quantification des apports urbains de contaminants particuliers dans le Rhône. Stage de M2 Sciences de l'eau. Université Bourgogne Franche-Comté.
- Aminot, Y., Litrico, X., Chambolle, M., Arnaud, C., Pardon, P., Budzindki, H., 2015. Development and application of a multi-residue method for the determination of 53 pharmaceuticals in water, sediment, and suspended solids using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 407, 8585–8604. doi.org/10.1007/s00216-015-9017-3
- Babić, S., Barišić, J., Stipaničev, D., Repec, S., Lovrić, M., Malev, O., Martinović-Weigelt, D., Čož-Rakovac, R., Klobučar, G., 2018. Assessment of river sediment toxicity: Combining empirical zebrafish embryotoxicity testing with in silico toxicity characterization. *Science of The Total Environment* 643, 435–450. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.124
- Bugsel, B., Zweigle, J., Zwiener, C., 2023. Non-target screening strategies for PFAS prioritization and identification by high resolution mass spectrometry: A review. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 40, e00216. doi.org/10.1016/j.teac.2023.e00216
- Chakraborty, P., Mukhopadhyay, M., Sampath, S., Ramaswamy, B.R., Katsoyiannis, A., Cincinelli, A., Snow, D., 2019. Organic micropollutants in the surface riverine sediment along the lower stretch of the transboundary river Ganga: Occurrences, sources and ecological risk assessment. *Environmental Pollution* 249, 1071–1080. doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.115
- Chamorro, S., Hernández, V., Matamoros, V., Domínguez, C., Becerra, J., Vidal, G., Piña, B., Bayona, J.M., 2013. Chemical characterization of organic microcontaminant sources and biological effects in riverine sediments impacted by urban sewage and pulp mill discharges. *Chemosphere* 90, 611–619. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.08.053
- Chiaia-Hernández, A.C., Günthardt, B.F., Frey, M.P., Hollender, J., 2017. Unravelling Contaminants in the Anthropocene Using Statistical Analysis of Liquid Chromatography–High-Resolution Mass Spectrometry Nontarget Screening Data Recorded in Lake Sediments. *Environ. Sci. Technol.* 51, 12547–12556. doi.org/10.1021/acs.est.7b03357
- Chiaia-Hernandez, A.C., Krauss, M., Hollender, J., 2013. Screening of Lake Sediments for Emerging Contaminants by Liquid Chromatography Atmospheric Pressure Photoionization and Electrospray Ionization Coupled to High Resolution Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 47, 976–986. doi.org/10.1021/es303888v
- Chiaia-Hernández, A.C., Scheringer, M., Müller, A., Stieger, G., Wächter, D., Keller, A., Pintado-Herrera, M.G., Lara-Martin, P.A., Bucheli, T.D., Hollender, J., 2020a. Target and suspect screening analysis reveals persistent emerging organic contaminants in soils and sediments. *Science of The Total Environment* 740, 140181. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140181
- Chiaia-Hernández, A.C., Zander, P.D., Schneider, T., Szidat, S., Lloren, R., Grosjean, M., 2020b. High-Resolution Historical Record of Plant Protection Product Deposition Documented by Target and Nontarget Trend Analysis in a Swiss Lake under Anthropogenic Pressure. *Environ. Sci. Technol.* 54, 13090–13100. doi.org/10.1021/acs.est.0c04842
- Dabrin A., Delile H., Mathon B., Bretier M., Dherret L., Daval A., Grisot G., Miège C. Coquery M., 2021. Contribution relative des flux de contaminants particuliers et dissous dans le Gier. Rapport Final.

Observatoire des Sédiments du Rhône (OSR), 5ème Programme d'Actions, 34 p.
<https://hal.science/OSR/hal-03293153v1>

- Delile, H., Gruat, A., Coquery, M., Masson, M., Dabrin, A., Le Coz, J., Miège, C., Lagouy, M., Radakovitch, O., 2021. Evaluation multi-échelle des flux de MES et de contaminants associés dans le bassin du Rhône. Rapport Final. Observatoire des Sédiments du Rhône (OSR), 5ème Programme d'Actions.
<https://hal.science/OSR/hal-03291035v1>
- Dendievel, A.-M., Mourier, B., Dabrin, A., Delile, H., Coynel, A., Gosset, A., Liber, Y., Berger, J.-F., Bedell, J.-P., 2020a. Metal pollution trajectories and mixture risk assessed by combining dated cores and subsurface sediments along a major European river (Rhône River, France). *Environment International* 144, 106032. doi.org/10.1016/j.envint.2020.106032
<https://hal.science/OSR/hal-02971683v1>
- Dendievel, A. M., Mourier, B., Coynel, A., Evrard, O., Labadie, P., Ayrault, S., et al., 2020b. Spatio-temporal assessment of the polychlorinated biphenyl (PCB) sediment contamination in four major French river corridors (1945–2018). *Earth System Science Data*, 12(2), 1153-1170. hal.archives-ouvertes.fr/cea-02615076v1
- De Sousa, D.N.R., Mozeto, A.A., Carneiro, R.L., Fadini, P.S., 2018. Spatio-temporal evaluation of emerging contaminants and their partitioning along a Brazilian watershed. *Environ Sci Pollut Res* 25, 4607–4620. doi.org/10.1007/s11356-017-0767-7
- Gruat A., Coquery M., Le Coz J., Thollet F., Lagouy M., et al., 2023. Fonctionnement du réseau d'observation des flux de matières en suspension et de contaminants particulaires. Rapport scientifique final. Observatoire des Sédiments du Rhône – 6^{ème} programme d'action. 43 p.
<https://hal.science/OSR/hal-04228357v1>
- He, W., Ye, M., He, H., Zhu, M., Li, Y., 2020. The decomposition and ecological risk of DDTs and HCHs in the soil-water system of the Meijiang River. *Environmental Research* 180, 108897.
doi.org/10.1016/j.envres.2019.108897
- Hübner, K., 2019. Chemical Abstract Service 150 Million Substances. *Chemie in Unserer Zeit*, 53, 147.
- Léon A, Cariou R, Hutinet S, Hurel J, Guitton Y, Tixier C, Munsch C, Dervilly-Pinel G, Antignac J-P, Le Bizec B. HaloSeeker 1.0, a user-friendly software application for highlighting halogenated chemicals in non-targeted high resolution mass spectrometry dataset. *Analytical Chemistry* 2019, 91 (5), 3500–3507. pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.8b05103
- Merel, S., Anumol, T., Park, M. and Snyder, S.A., 2015. Application of surrogates, indicators, and high-resolution mass spectrometry to evaluate the efficacy of UV processes for attenuation of emerging contaminants in water. *Journal of Hazardous Materials* 282, 75-85.
doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.09.008
- Merel, S., 2023. Critical assessment of the Kendrick mass defect analysis as an innovative approach to process high-resolution mass spectrometry data for environmental applications. *Chemosphere* 313, 137443. doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137443
- Minten, J., Adolfsson-Erici, M., Alsberg, T., 2011. Extraction and analysis of pharmaceuticals in polluted sediment using liquid chromatography mass spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 91, 553–566. doi.org/10.1080/03067311003657983
- Montuori, P., Cirillo, T., Fasano, E., Nardone, A., Esposito, F., Triassi, M., 2014. Spatial distribution and partitioning of polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide in water and sediment from

- Sarno River and Estuary, Southern Italy. *Environ Sci Pollut Res* 21, 5023–5035. doi.org/10.1007/s11356-013-2419-x
- Mourier, B., Desmet, M., Van Metre, P.C., Mahler, B.J., Perrodin, Y., Roux, G., Bedell, J.-P., Lefèvre, I. and Babut, M., 2014. Historical records, sources, and spatial trends of PCBs along the Rhône River (France). *Science of The Total Environment* 476-477, 568-576. <https://hal.science/OSR/halsde-00944281/>
- Mourier, B., Labadie, P., Desmet, M., Grosbois, C., Raux, J., Debret, M., Copard, Y., Pardon, P., Budzinski, H. and Babut, M., 2019. Combined spatial and retrospective analysis of fluoroalkyl chemicals in fluvial sediments reveal changes in levels and patterns over the last 40 years. *Environmental Pollution* 253, 1117-1125. doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.079
- Mudumbi, J.B.N., Ntwampe, S.K.O., Muganza, F.M., Okonkwo, J.O., 2014. Perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate in South African river water. *Water Science and Technology* 69, 185–194. doi.org/10.2166/wst.2013.566
- Munoz, G., Desrosiers, M., Duy, S.V., Labadie, P., Budzinski, H., Liu, J., Sauv e, S., 2017. Environmental Occurrence of Perfluoroalkyl Acids and Novel Fluorotelomer Surfactants in the Freshwater Fish *Catostomus commersonii* and Sediments Following Firefighting Foam Deployment at the Lac-Mégantic Railway Accident. *Environ. Sci. Technol.* 51, 1231–1240. doi.org/10.1021/acs.est.6b05432
- Nejuma, K.K., Dineep, D., Mohan, M., Krishnan, K.P., Aravind, U.K., Aravindakumar, C.T., 2018. Presence of bisphenol S and surfactants in the sediments of Kongsfjorden: a negative impact of human activities in Arctic? *Environ Monit Assess* 190, 22. doi.org/10.1007/s10661-017-6383-7
- Parkinson, D.-R., Dust, J.M., 2010. Overview of the current status of sediment chemical analysis: trends in analytical techniques. *Environ. Rev.* 18, 37–59. doi.org/10.1139/A09-015
- Peng, H., Chen, C., Cantin, J., Saunders, D.M.V., Sun, J., Tang, S., Codling, G., Hecker, M., Wiseman, S., Jones, P.D., Li, A., Rockne, K.J., Sturchio, N.C., Cai, M., Giesy, J.P., 2016a. Untargeted Screening and Distribution of Organo-Iodine Compounds in Sediments from Lake Michigan and the Arctic Ocean. *Environ. Sci. Technol.* 50, 10097–10105. doi.org/10.1021/acs.est.6b03221
- Peng, H., Chen, C., Cantin, J., Saunders, D.M.V., Sun, J., Tang, S., Codling, G., Hecker, M., Wiseman, S., Jones, P.D., Li, A., Rockne, K.J., Sturchio, N.C., Giesy, John.P., 2016b. Untargeted Screening and Distribution of Organo-Bromine Compounds in Sediments of Lake Michigan. *Environ. Sci. Technol.* 50, 321–330. doi.org/10.1021/acs.est.5b04709
- Rog e, J., 2021. Identification et quantification des sources urbaines de contaminants dans le Rhône. Stage de M2 et de fin d’ tude ENSIL-ENSCI, Universit  de Limoges.
- Samanipour, S., O’Brien, J.W., Reid, M.J., Thomas, K.V., 2019. Self-Adjusting Algorithm for the Nontargeted Feature Detection of High Resolution Mass Spectrometry Coupled with Liquid Chromatography Profile Data. *Anal. Chem.* 91, 10800–10807. doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02422
- Samanipour, S., Reid, M.J., B ek, K., Thomas, K.V., 2018. Combining a Deconvolution and a Universal Library Search Algorithm for the Nontarget Analysis of Data-Independent Acquisition Mode Liquid Chromatography–High-Resolution Mass Spectrometry Results. *Environ. Sci. Technol.* 52, 4694–4701. doi.org/10.1021/acs.est.8b00259

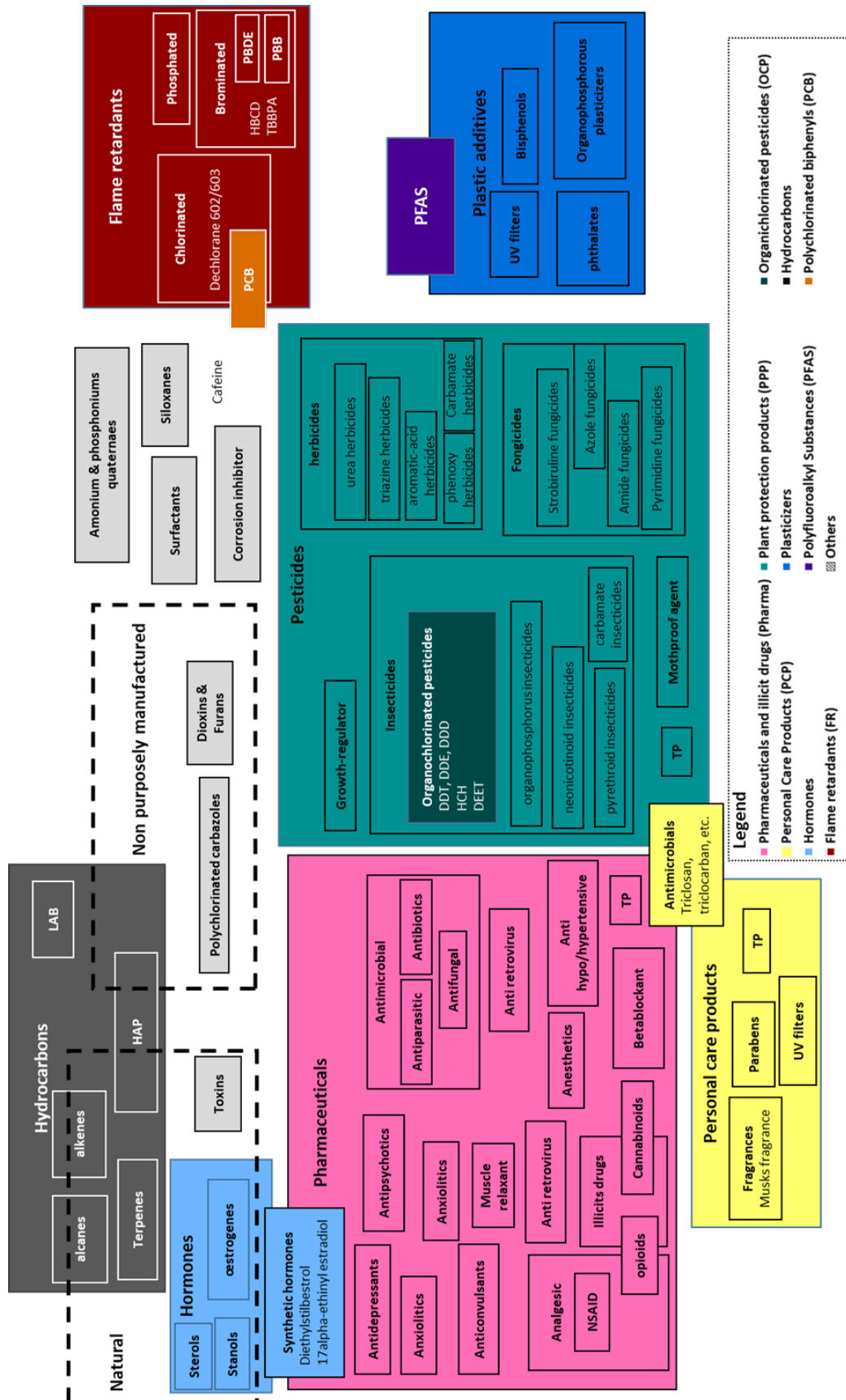
- Schymanski, E.L., Jeon, J., Gulde, R., Fenner, K., Ruff, M., Singer, H.P., Hollender, J., 2014. Identifying Small Molecules via High Resolution Mass Spectrometry: Communicating Confidence. *Environ. Sci. Technol.* 48, 2097–2098. doi.org/10.1021/es5002105
- Skrbic, B., Kadokami, K., Antic, I., Jovanovic, G., 2018. Micro-pollutants in sediment samples in the middle Danube region, Serbia: occurrence and risk assessment. *ENVIRONMENTAL SCIENCE AND POLLUTION RESEARCH* 25, 260–273. doi.org/10.1007/s11356-017-0406-3
- Wan, N., Zhuo, C., Qiao, L., Gong, J., Yang, Y., Ran, Y., 2020. Relationship between historical changes of PBDEs, PAHs, and algal organic matter in sediments of Poyang Lake under climate warming. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 26, 2390–2406. doi.org/10.1080/10807039.2020.1731300
- Ye, L., Meng, W., Huang, J., Li, J., Su, G., 2021. Establishment of a Target, Suspect, and Functional Group-Dependent Screening Strategy for Organophosphate Esters (OPEs): “Into the Unknown” of OPEs in the Sediment of Taihu Lake, China. *Environ. Sci. Technol.* 55, 5836–5847. doi.org/10.1021/acs.est.0c07825

7. Annexes

7.1 Annexe 1 – Equation de recherche bibliographique dans Web of Science

Sujets, étapes successives	Filtre WoS	Mot clef
Sédiment	Topic	sediment\$ OR suspended matter OR suspended solid\$
Chimie, Environnement	Research category	env sciences, chemistry analytical
Récent	Années	2010 – 2023
Micropolluants	Topic	"Contaminant of emerging concern" OR "emerging contaminant\$" OR Disinfectant\$ OR Pesticide\$ OR biocide\$ OR Acaricide\$ OR Bactericide\$ OR Fungicide\$ OR "Haulm destructor\$" OR Herbicide\$ OR Insecticide\$ OR Molluscicide\$ OR "Moss killer\$" OR "Plant growth regulator\$" OR Rodenticide\$ OR "soil sterilant\$" OR "Disinfection by product\$" OR drug\$ OR opioid\$ OR cannabionoid\$ OR "psychoactive compound\$" OR Sympathomimetic\$ OR PBDE\$ OR flame retardant\$ OR antioxidant\$ OR sweetener\$ OR "foam stabiliser\$" OR humectant\$ OR "food additive\$" OR "food contact chemical\$" OR "human metabolite\$" OR toxin\$ OR "industrial chemical\$" OR "Antifouling agent\$" OR "Benzothiazole\$" OR "Complexing agent\$" OR "Corrosion inhibitor\$" OR "Gasoline additive\$" OR Lubricant\$ OR antioxidant\$ OR Phenol\$ OR "Polyaromatic hydrocarbon\$" OR "Polymer stabiliser\$" OR pigment\$ OR Dyes OR phenol\$ OR perfluoroalkyl* OR perfluoroalkane\$ OR perfluoroalkene\$ OR fluorotelomer\$ OR perfluoroalcohol\$ OR perfluorophenol\$ OR PFAS OR PFOS OR PFOA OR PFC OR perfluorinated OR "toxic substance\$" OR antioxidant\$ OR fragrance\$ OR repellent\$ OR paraben\$ OR siloxane\$ OR sunscreen\$ OR "personal care product" OR "UV filter\$" OR Anaesthetic\$ OR Analgesic\$ OR Anorexic\$ OR Anthelmintic\$ OR Anti-inflammatory OR Antibacterial\$ OR Antibiotic\$ OR Anticonvulsant\$ OR Antidiabetic\$ OR Antiemetic\$ OR Antihistaminic\$ OR Antihypertensive\$ OR "Antimicrobial agent\$" OR Antineoplastic\$ OR Antipruritic\$ OR Antipsychotic\$ OR Antispasmodic\$ OR muscolotropic\$ OR Antiulcerative\$ OR Antiviral\$ OR Anxiolytic\$ OR "Beta-Blocker\$" OR "Blood viscosity agent" OR Bronchodilator\$ OR Diuretic\$ OR "Lipid regulator\$" OR "Muscle relaxant\$" OR NSAID\$ OR "Psychiatric drug\$" OR Sedative\$ OR hypnotic\$ OR Steroid\$ OR hormone\$ OR Stimulant\$ OR Veterinary OR Pharma* OR Phthalate\$ OR Bisphenol\$ OR Plasticizer\$ OR Surfactant\$ OR detergent\$ OR antifoaming\$
Spectrométrie de masse	All Fields	"mass spectrometry" OR "mass spectrometer"

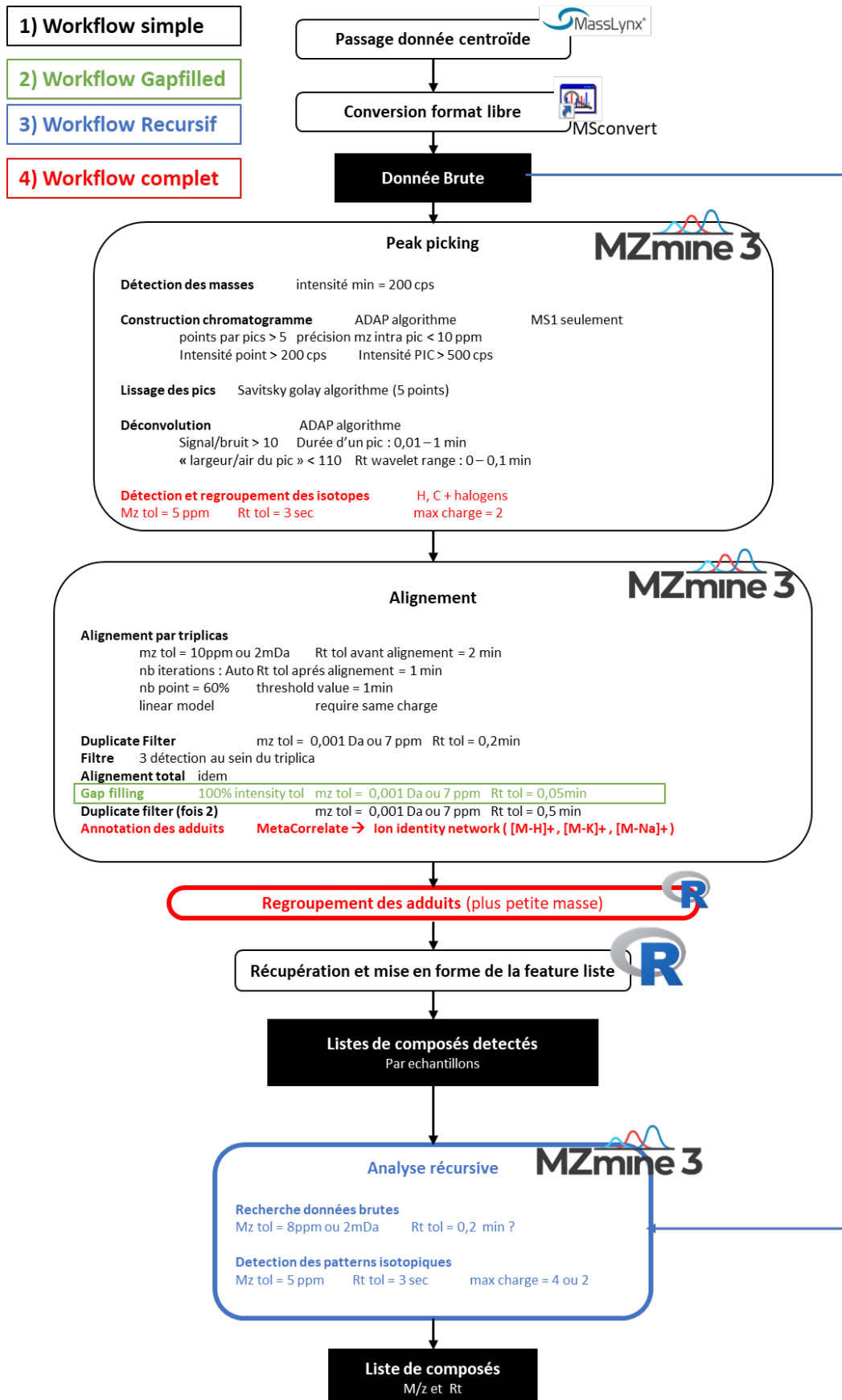
7.2 Annexe 2 – Cartographie de la diversité des contaminants organiques retrouvés dans les sédiments d’eaux de surface



7.3 Annexe 3 – Liste des composés utilisés pour le dopage des extraits de sédiment de travail et liste des composés analysés dans les MES du Rhône

Composés	Rt (en min)	m/z (Da)		Composés	Rt (en min)	m/z (Da)
Acébutolol	9.34	337.2127		Flurtamone	13.67	334.1054
Acétylsulfamethoxazole	10.04	296.0704		Imidaclopride	9.13	256.0601
Acide fénofibrique	14.73	319.0736		Indoxacarbe	15.39	528.0785
Alprazolam	12.93	309.0906		Irbésartan	13.22	429.2402
Amisulpride	7.94	370.18		Isoproturon	12.98	207.1497
Amitriptyline	12.56	278.1909		Isoproturon monodéméthyl	12.74	193.134
Aténolol	6.54	267.1708		Isoxabène	13.91	333.1814
Atrazine	12.89	216.1015		Kétoprofène	13.4	255.102
Atrazine-déséthyl	10.25	188.0702		Lamotrigine	9.59	256.0156
Atrazine-désisopropyl	13.93	174.0546		Linuron	13.72	249.0197
Azoxystrobine	13.59	404.1246		Métamitron	9.58	203.0932
Bézafibrate	13.87	362.1158		Métazachlore	12.93	278.1059
Boscalid	13.87	343.0404		Métolachlore	14.71	284.1417
Caféine	8.44	195.0881		Métoprolol	9.35	268.1907
Carbamazépine	12.32	237.1027		Métronidazole	6.41	172.0721
carbamazépine-1011-époxyde	10.93	253.0976		Napropamide	14.51	272.165
Carbendazime	7.84	192.0772		Naproxène	13.63	231.102
Céliprolol	10.02	380.2549		Acide Niflumique	14.95	283.0694
Chlorfenvinphos	15.1	358.9773		Nordazépam	13.34	271.0637
Chlorpyrifos ethyl	16.33	349.934		Norflurazon	13.14	304.0464
Chlortoluron	12.69	213.0794		Oxazépam	12.94	287.0587
Clarithromycine	13.32	748.4846		Acétominophène	6.54	152.0711
Clindamycine	11.29	425.1876		Pirimicarbe	9.73	239.1507
Cyclophosphamide	10.96	261.0326		Propranolol	11.06	260.1651
Diazépam	13.73	285.0788		Propyzamide	14.13	256.0295
Dichloroaniline	12.07	161.9877		Salbutamol	6.47	240.1599
Diclofénac	14.81	296.0244		Sotalol	6.2	273.1273
Difénoconazole	15.4	406.0724		Sulfaméthazine	8.22	279.0915
Diflufénican	15.5	395.0818		Sulfaméthoxazole	8.89	254.0599
Diméthoate	9.71	230.0074		Tébuconazole	14.99	308.1529
Diuron	13.14	233.0248		Terbutylazine	13.91	230.1172
Erythromycin	12.51	734.469		Terbutylazine-2-hydroxy	9.59	212.1511
Fenhexamide	14.38	302.0714		Terbutylazine-desethyl	11.85	202.0853
Fénofibrate	16.09	361.1206		Théophylline	7.64	181.0717
Fénoxycarb	14.69	302.1392		Triméthoprime	7.94	291.1448
Flazasulfuron	13.38	408.0589		Venlafaxine	10.75	278.2111
Flécaïnide	11.18	415.1456		Spiroxamine	13.3	298.2732
Fluazinam	NA	464.9591		Simazine	11.85	202.0851
Flumioxazine	13.38	355.1093		Dimethomorphe	13.97	388.131

7.4 Annexe 4 – Workflows de traitement de données non ciblées



7.5 Annexe 5 – Concentrations (µg/kg, poids sec) et fréquences de quantification (%) obtenues après analyse ciblée des 24 échantillons de MES sélectionnés

Echantillons	Station Date code	Jons	Concentration en µg/kg sec																							
			oct-21	déc-21	janv-21	févr-21	mars-21	avr-21	mai-21	juin-21	juil-21	août-21	sept-21	oct-21	nov-21	déc-21	janv-22	févr-22	mars-22	avr-22	mai-22	juin-22	juil-22	août-22		
Composé	LOQ	1722	1743	1763	1788	1809	1824	1731	1744	1765	1790	1811	1826	1701	1725	1736	1741	1768	1783	1792	1800	1807	1823	1831	2064	
Théophylline	0,04	0,28	0,084	0,568	0,568	0,238	0,344	0,23	0,372	0,208	1,052	0,14	0,84	0,54	0,664	0,92	0,576	0,26	0,764	0,768	0,4	0,32	0,428	0,74	0,468	0,148
Dichlorophenylméthylurée	0,04	0,388	0,288	0,32	0,148	0,236	0,372	0,432	0,252	0,176	0,34	0,264	0,268	0,588	0,408	0,468	0,38	0,408	0,576	0,4	0,76	0,324	0,376	0,32	0,3	0,3
Lamotrigine	0,2	0,388	0,204	0,508	<LOQ	0,144	0,308	1,764	0,44	0,68	0,416	0,244	0,844	0,532	0,812	1,288	0,492	0,812	<LOQ	0,124	0,284	0,452	0,548	0,656	0,624	0,624
Carbamazépine	0,04	0,304	0,168	0,304	0,26	0,392	0,212	0,704	0,428	0,352	0,96	0,612	0,756	0,336	0,412	0,688	0,304	0,472	0,32	0,432	0,304	0,432	0,396	0,328	0,34	0,34
Carbamazépine époxyde	0,04	ND	<LOQ	0,104	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,056	<LOQ	0,064	0,068	0,076	0,1	0,064	0,132	0,056	0,072	0,056	0,048	0,052	0,044	0,04	0,04
Acide niflumique	0,04	0,42	0,4	0,276	0,708	0,332	0,284	1,872	0,9	1,164	0,928	0,808	0,72	0,936	0,716	0,732	0,72	0,84	0,668	2,62	0,948	0,908	0,664	0,352	0,636	0,636
Propranolol	0,04	0,18	0,132	0,196	0,736	1,132	0,428	0,068	0,092	0,044	0,152	0,124	0,152	0,244	0,172	0,272	0,148	0,192	0,1	0,176	0,044	0,048	0,056	0,048	0,048	0,048
Sotalol	0,04	0,052	<LOQ	0,08	0,116	<LOQ	<LOQ	0,12	0,084	0,148	0,456	0,052	0,052	0,064	0,076	0,192	0,08	0,092	0,1	0,176	0,044	0,048	0,056	0,048	0,048	0,048
Acébutolol	0,04	0,464	0,328	0,412	0,536	0,308	0,28	0,464	0,468	0,384	0,556	0,34	0,568	0,608	0,404	0,528	0,428	0,376	0,36	1,1	0,244	0,404	0,488	0,352	0,532	0,532
Amiripitryline	0,04	0,028	0,052	ND	0,22	0,08	0,04	0,176	0,26	0,196	0,148	0,352	0,212	0,388	0,284	0,272	0,068	0,192	0,256	0,68	0,892	0,204	0,088	0,116	0,116	
Vénlafaxine	0,04	ND	<LOQ	<LOQ	0,888	0,08	0,04	0,288	0,208	0,112	0,188	0,304	0,264	0,188	0,304	0,264	0,144	<LOQ	0,204	2,984	0,912	0,968	0,396	0,168	0,076	
Célliprolol	0,04	0,8	0,46	0,944	0,848	0,604	0,516	1,416	0,84	0,8	1,408	1,148	2,152	1,032	0,984	1,576	0,816	0,768	0,644	1,844	0,644	0,988	1,156	1,016	1,12	
Irbesartan	0,2	0,404	0,544	1,72	0,52	0,392	0,368	2,836	2,36	2,072	6,668	1,344	2,572	0,932	2,012	3,584	1,9	1,852	1,96	1,372	1,02	0,984	0,736	0,624	0,644	
Osartéme	0,2	0,2	<LOQ	0,292	0,496	0,308	0,144	0,404	0,324	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,412	0,448	0,572	1,02	0,424	0,392	0,328	3,316	0,336	0,564	0,544	0,368	0,396	
Acide fenofibrate	0,04	<LOQ	<LOQ	<LOQ	ND	<LOQ	ND	<LOQ	0,18	0,212	1,184	ND	0,736	0,072	0,172	<LOQ	0,228	0,08	0,112	0,144	ND	ND	ND	ND	ND	
Fenofibrate	0,04	ND	ND	ND	ND	0,124	ND	0,272	2,88	18,18	3,952	ND	10,012	5,24	2,004	0,544	6,548	0,652	1,576	ND	12,404	0,024	ND	ND	ND	
Amisulpride	0,04	0,324	0,164	0,256	0,64	0,192	0,172	0,42	0,48	0,356	0,428	0,248	0,2	0,424	0,216	0,532	0,492	0,432	0,256	1,3	0,204	0,356	0,304	0,18	0,256	
Flecainide	0,04	2,16	1,524	1,7	1,648	2,332	2,096	4,532	2,252	2,544	3,524	5,644	6,856	3,112	2,492	3,136	2,076	2,236	1,616	4,612	2,284	3,844	3,312	2,864	3,548	
Triméthoprim	0,04	ND	0,072	0,116	0,216	0,1	0,052	<LOQ	0,088	0,084	0,092	<LOQ	<LOQ	0,064	0,14	0,112	0,12	0,212	0,12	0,16	0,112	0,144	0,08	0,06	<LOQ	
Sulfaméthazine	0,2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,048	<LOQ	0,048	<LOQ	0,048	<LOQ	0,984	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
Clindamicine	0,04	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,044	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,048	0,04	0,052	<LOQ	0,068	0,068	<LOQ	0,044	0,076	0,068	<LOQ	0,04	0,04	<LOQ	
Sulfaméthoxazole	0,04	0,136	0,036	0,18	0,048	0,056	0,056	0,06	0,056	0,048	0,08	0,076	0,072	0,076	0,064	0,124	0,096	0,076	0,076	0,048	0,024	0,056	0,064	0,048	0,036	
Erythromicine	0,04	1,104	0,516	1,624	1,976	0,824	0,84	0,408	0,52	0,504	0,928	0,796	0,52	0,58	0,644	0,996	0,748	0,848	0,808	1,4	0,624	0,64	0,648	0,5	0,372	
Clarithromicine	0,04	0,108	0,144	0,124	0,068	0,1	0,128	0,244	0,168	0,28	0,212	0,188	0,212	0,184	0,48	0,208	0,148	0,152	0,124	0,14	0,356	0,2	0,608	0,216	0,184	
Carbendazine	0,02	0,088	0,056	0,104	0,06	0,092	0,108	0,764	0,144	0,164	0,144	0,224	0,268	0,116	0,284	0,176	0,112	0,152	0,096	0,092	0,084	0,144	0,176	0,1	0,096	
Azoxystrobine	0,02	0,18	0,036	0,076	ND	0,072	0,02	0,684	0,536	0,236	0,156	0,432	1,652	0,296	0,152	0,2	0,18	0,272	0,068	0,084	0,228	0,196	0,112	0,076	0,076	
Difénonazole	0,04	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,304	0,44	0,264	0,056	0,112	0,132	0,068	0,096	0,08	0,08	0,06	0,068	<LOQ	0,044	0,06	0,04	<LOQ	<LOQ	
Chloroturon	0,02	0,1	0,296	0,244	0,192	0,104	0,096	0,252	2,612	1,144	0,448	0,296	0,212	0,468	0,192	0,94	1,156	0,504	0,388	0,428	0,228	0,192	0,18	0,192	0,132	
Propylzamide	0,1	ND	<LOQ	<LOQ	ND	ND	<LOQ	ND	1,496	0,704	0,124	<LOQ	<LOQ	ND	ND	0,536	0,236	0,124	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,064	ND	ND	ND	
Napropamide	0,04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0,124	0,076	0,18	0,124	<LOQ	<LOQ	ND	0,204	0,044	0,052	<LOQ	<LOQ	0,064	0,316	0,448	0,524	0,372	0,256	
Métolachlor	0,02	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,32	0,736	1,016	0,612	2,608	1,456	0,268	0,58	0,464	0,348	0,384	0,316	0,316	0,376	0,448	0,524	0,372	0,256	
Norfurazon	0,02	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,116	0,104	0,264	0,076	0,068	0,076	0,02	0,024	0,036	0,084	0,04	0,024	0,028	0,02	0,02	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
Isoxabène	0,02	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,1	0,1	0,06	0,124	0,072	0,068	0,02	0,028	0,044	0,052	0,028	<LOQ	0,048	0,02	0,024	0,04	0,04	<LOQ	
Boscalide	0,1	1,28	<LOQ	0,112	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,86	0,736	0,936	0,4	0,532	0,52	0,308	0,516	0,392	0,36	0,408	0,248	0,112	0,156	0,224	0,332	0,224	0,152	
Diflufenican	1	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,324	2,676	<LOQ	1,092	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
Isoproturon	0,04	ND	ND	ND	<LOQ	<LOQ	0,064	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,048	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
Diuron	0,2	0,556	0,548	0,544	<LOQ	<LOQ	0,428	0,92	0,544	0,284	0,208	0,936	1,2	0,612	0,912	0,624	0,708	0,54	0,48	1,088	0,536	0,428	0,52	0,436	0,348	
Atrazine	0,04	0,06	0,052	0,092	ND	0,08	0,068	0,096	0,068	0,084	0,1	1,04	0,088	0,068	0,092	0,12	0,064	0,08	0,056	0,08	0,06	0,076	0,084	0,08	0,064	
Atrazine desethyl	0,04	<LOQ	ND	<LOQ	ND	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,052	<LOQ	ND	ND	0,224	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	
Imidacloprid	0,04	ND	ND	ND	ND	<LOQ	ND	0,084	0,052	<LOQ	ND	0,12	ND	<LOQ	<LOQ	0,06	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	

Les résultats des analyses ciblées dans les 24 échantillons de MES sélectionnés ont permis de quantifier 42 composés parmi les 78 ciblés

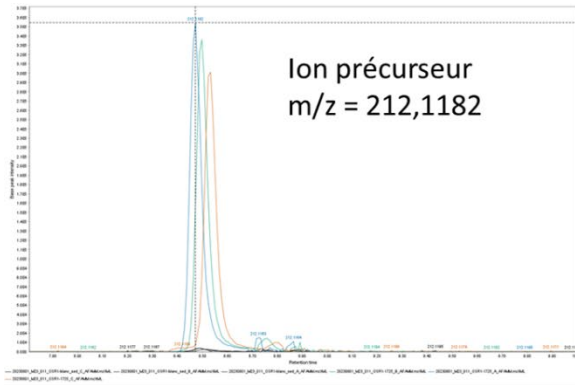
ND : non détecté

Code couleur :

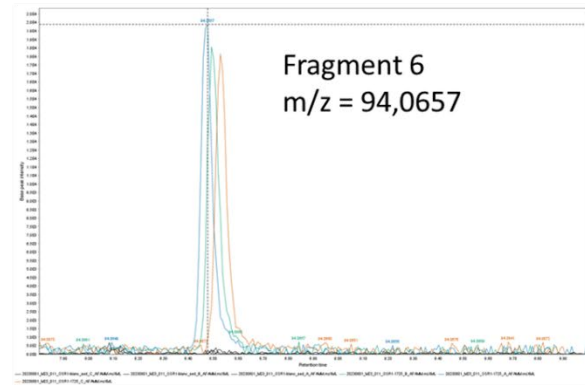
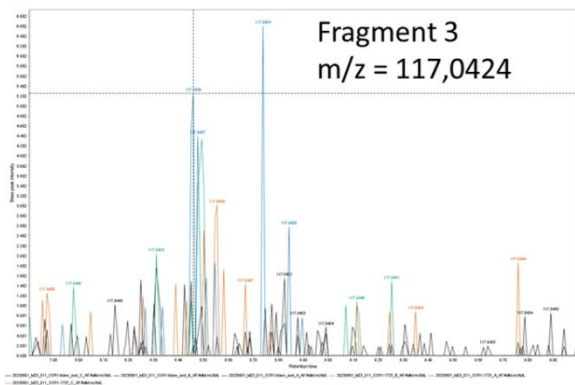
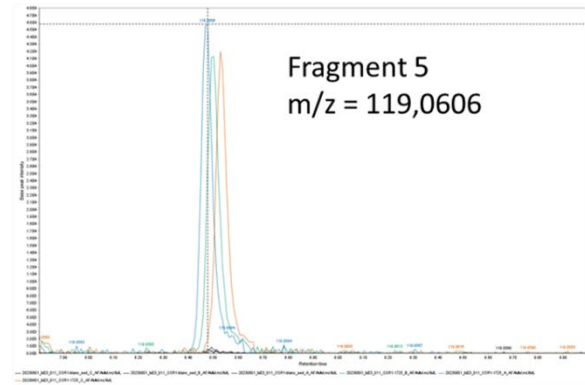
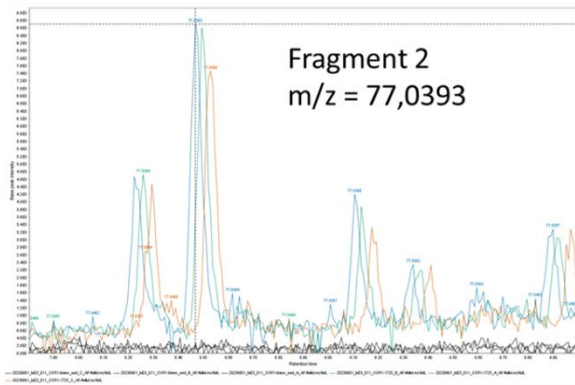
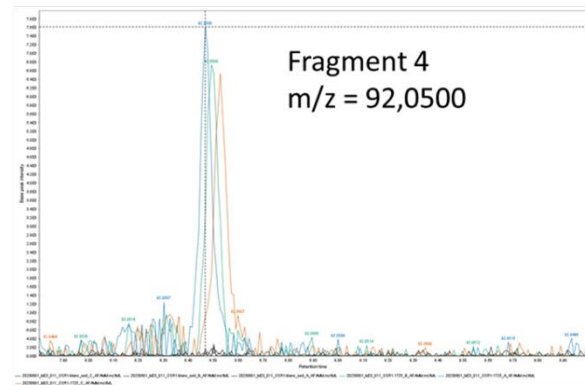
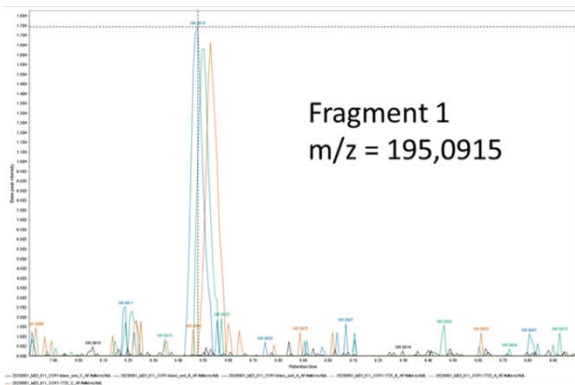
En fonction de la concentration mesurée, échelle continue entre jaune (concentration minimum du contaminant) et rouge (concentration maximum du contaminant)
Blanc = sous la limite de quantification
Gris = sous la limite de détection (obtenu avec le logiciel Excel, outil de mise en forme conditionnelle).

Famille	Composé	LOQ (µg/kg)	Fréquence de quantification			
			Jons (n = 6)	Saône (n = 6)	Andancette (n = 12)	Total (n = 24)
Bronchodilatateur	Théophiline	0,2	100	100	100	100
Métabolite	Dichlorophénylméthylurée	0,04	100	100	100	100
Anti-épileptique	Lamotrigine	0,2	83	100	92	92
Anti-épileptique	Carbamazépine	0,04	100	100	100	100
métabolite	Carbamazépine epoxide	0,04	17	33	17	21
NSAID	Acide niflumique	0,04	17	100	100	79
Bétabloquant	Propranolol	0,04	100	100	100	100
Bétabloquant	Métoprolol	0,04	100	100	100	100
Bétabloquant	Sotalol	0,04	50	100	92	83
Bétabloquant	Acébutolol	0,04	100	100	100	100
Antidépresseur	Amitriptyline	0,04	83	100	100	96
Antidépresseur	Venlafaxine	0,04	33	100	92	79
antihypertenseur	Céliprolol	0,04	100	100	100	100
antihypertenseur	Irbésartan	0,2	100	100	100	100
Benzodiazépine	Oxazépam	0,2	83	67	100	88
Hypolémiant	Acide fénofibrique	0,04	0	67	50	42
Hypolipemiants	Fénofibrate	0,04	17	83	67	58
neuroleptique	Amisulpride	0,04	100	100	100	100
anti-arythmique	Flécainide	0,04	100	100	100	100
Antibiotiques	Triméthoprim	0,04	83	50	92	79
Antibiotiques	Sulfaméthazine	0,2	17	0	17	13
Antibiotiques	Clindamicine	0,04	17	50	58	46
Antibiotiques	Sulfaméthoxazole	0,04	17	83	58	54
Antibiotiques	Erythromicine	0,04	100	100	100	100
Antibiotiques	Clarithromycine	0,04	100	100	100	100
Fongicide	Carbendazime	0,04	100	100	100	100
Fongicide	Azoxystrobine	0,02	100	100	100	100
Fongicide	Diméthomorphe	0,02	83	100	100	96
Fongicide	Difénoconazole	0,04	0	100	75	63
Herbicide	Chlortoluron	0,02	100	100	100	100
Herbicide	Propyzamide	0,1	0	50	25	25
Herbicide	Napropamide	0,04	0	67	33	33
Herbicide	Métolachlore	0,02	100	100	100	100
Herbicide	Norflurazon	0,02	0	100	83	67
Herbicide	Isoxabène	0,02	17	100	75	67
Herbicide	Boscalid	0,1	33	100	100	83
Herbicide	Diflufénican	1	0	50	0	13
Herbicide	Isoproturon	0,04	33	0	8	13
Herbicide	Diuron	0,2	83	100	100	96
Herbicide	Atrazine	0,04	83	100	100	96
Herbicide	Atrazine desethyl	0,04	0	0	8	4
Néonicotenoïde	Imidaclopride	0,04	0	50	8	17

7.6 Annexe 6 – Identification par analyse suspectée – exemple de la diphenylguanidine



Composé	Diphénylguanidine
Masse sur charge	212.1182 Da
Temps de rétention	8,5 min
Intensité	3.5E5
Erreur en masse	1,14 ppm
Nombre de fragments trouvés	6 / 7
Base de données	Waters et MassBank
Niveau de confiance	2a +





Observatoire des Sédiments du Rhône

Dispositifs scientifiques cadres



Partenaires scientifiques



Partenaires techniques et financiers

