



OPUR : Observatoire des Polluants URbains

ACTION N° R2.6
CARACTERISATION DES EAUX RESIDUAIRES
URBAINES PAR
SPECTROMETRIE DE MASSE HAUTE
RESOLUTION :
INFLUENCE DE LA STRATEGIE ANALYTIQUE,
LIMITATIONS ET PERSPECTIVES

*Synthèse de la thèse de doctorat de Nina Huynh**

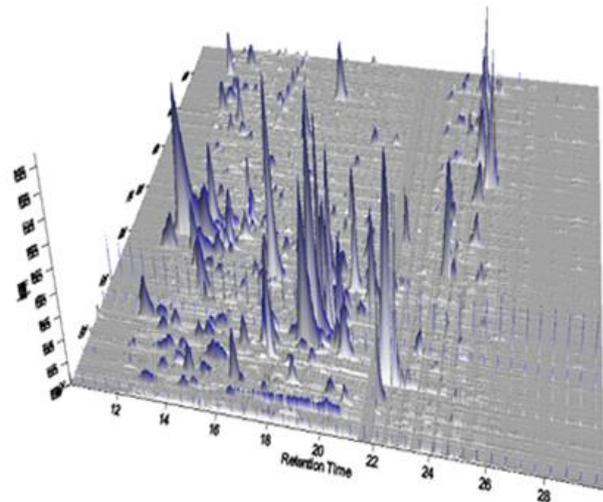
**Etude réalisée au LEESU avec le concours financier des partenaires opérationnels d'OPUR (AESN, SIAAP, Mairie de Paris, CG93, CG94)*



Thèse de Nina Huynh

Caractérisation des eaux résiduaires urbaines par spectrométrie
de masse haute résolution :

Influence de la stratégie analytique, limitations et perspectives



Durée de la thèse : Octobre 2018 à mars 2022

Soutenance de thèse : 8 avril 2022

Encadrement LEESU : Régis Moilleron (directeur de thèse) et Julien Le Roux (co-encadrant)

Collaborateurs SIAAP : Vincent Rocher et Romain Mailler (Direction Innovation)

I - Introduction

De nombreux micropolluants sont présents dans les eaux urbaines mais leur comportement et leurs produits de transformations dans les stations de traitement des eaux usées et dans l'environnement sont encore peu connus. Les méthodes d'analyse ciblées conventionnelles utilisées pour l'analyse de ces substances permettent de les détecter et de les quantifier à l'état de traces dans différentes matrices environnementales. Cependant, ces techniques s'appuient sur l'utilisation d'étalons de référence qui ne sont pas disponibles pour tous les composés, encore moins pour les produits de transformation qui sont souvent mal caractérisés ou tout simplement inconnus. Avec l'émergence de la spectrométrie de masse haute résolution (HRMS), de nouvelles stratégies d'analyses dites en mode suspect ou non-ciblées (NTS) se sont développées (Krauss et al., 2010; Schymanski et al., 2014). Elles permettent la détection d'un grand nombre de signaux et contribuent ainsi à l'analyse de composés aussi bien connus, qu'inconnus. Cependant, ces nouvelles méthodes d'analyse sont longues et complexes et beaucoup d'études se concentrent sur un nombre limité des signaux priorisés (Krauss et al., 2019; Plassmann et al., 2016; Schollée et al., 2016) laissant le reste des signaux inexploités. De la même manière, les méthodes analytiques employées sont diverses, mais encore trop peu caractérisées en termes de spectre de molécules analysables, rendant ainsi difficile la comparaison de différentes études.

Cette thèse (octobre 2018 – mars 2022), réalisée au LEESU a donc eu pour objectif de répondre aux questions suivantes :

- Comment tirer le maximum d'informations des données acquises en HRMS ?
- Comment mieux caractériser la diversité des molécules détectées par HRMS ?
- Quelle est la valeur ajoutée des méthodes de NTS pour la caractérisation des micropolluants organiques dans l'environnement ?

Ce travail a été mené avec les instruments analytiques mis à disposition par la Plateforme Régionale d'Analyse Multi-Milieux des Micro-ContaminantS (PRAMMICS) et en collaboration avec la Direction Innovation du Syndicat Interdépartemental pour l'Assainissement de l'Agglomération Parisienne (SIAAP) qui a permis l'accès aux échantillons issus de ses différentes stations de traitement des eaux usées.

Partie A – Evaluation de méthodes de traitement de données

Introduction et objectifs

Les méthodes de traitement de données pour le NTS s'appuient sur divers logiciels propriétaires ou libres permettant d'exploiter la grande quantité d'information tirée de la HRMS. Cependant, l'approche classique du traitement de données NTS passe par une étape de priorisation de signaux dont le but est de sélectionner un nombre restreint de marqueurs d'intérêts, déterminés en fonction de l'objectif de l'étude. Dans les études environnementales, ces priorisations peuvent être effectuées en fonction de la variation spatiale des signaux acquis (Krauss et al., 2019), de leur variation temporelle (Plassmann et al., 2016), de tests permettant de différencier statistiquement plusieurs échantillons ou groupes d'échantillons (Schollée et al., 2018), de réponses toxiques (Brack et al., 2016) ou encore de particularités caractéristiques de détection (Ruff et al., 2015). Cette étape permet ainsi de réduire le nombre de signaux qui seront soumis à des tentatives d'identifications, puisque ces dernières restent à ce jour très longues et complexes.

Bien que l'identification de molécules inconnues soit très intéressante en termes d'information apportée vis-à-vis des échantillons analysés, les efforts mis en œuvre pour obtenir une identification complète peuvent parfois ne pas pouvoir aboutir lorsque des étalons de références ne sont pas disponibles (Schymanski et al., 2015, 2014). Par ailleurs, la capacité de la HRMS à pouvoir analyser un très grand nombre de substances n'est pas utilisée dans son intégrité puisque la majorité des signaux obtenus ne sont pas exploités. Ainsi, la diversité de micropolluants organiques présente dans les échantillons restent mal caractérisée.

Quelques études émergentes proposent de se soustraire à cette étape intermédiaire de priorisation afin de pouvoir caractériser les échantillons dans leur ensemble, sans avoir pour objectif d'identifier de manière précise toutes les substances présentes, mais seulement d'apporter des indices sur leur nature ou caractéristiques (Lavonen et al., 2013; Nürenberg et al., 2019; Sanchís et al., 2020).

Les premières investigations de ce travail ont été consacrées au développement de méthodes de traitement de données permettant de faciliter la comparaison d'empreintes obtenues par HRMS. Pour cela, le logiciel attaché à l'instrument analytique a dans un premier temps été exploité, puis, complété par différents outils et logiciels libres permettant de fiabiliser et d'élargir les possibilités en termes d'exploitation des données.

Matériel et méthodes

Cette partie s'est appuyée sur l'exploitation des échantillons issus de l'essai-interlaboratoire « *NORMAN Collaborative Trial : Algorithms for deconvolution and library-searching in non-target Analysis* », organisé par le réseau NORMAN en 2019. L'objectif de cet essai-interlaboratoire était de comparer les méthodes de traitement de données utilisées par les différents participants afin d'identifier 50 marqueurs caractéristiques pour les 6 échantillons fournis (Schulze et al., 2021). Parmi ces derniers, l'un d'entre eux correspondait à un mélange d'étalons analytiques comprenant 18 substances différentes (Tableau 1).

Tableau 1 : Liste des 18 substances présentes dans le mélange d'étalons fourni lors de l'essai inter-laboratoire

Nom de la substance	Numéro CAS	Formule moléculaire	[M+H] ⁺
Guanylurea	141-83-3	C ₂ H ₆ N ₄ O	103,0614
Amitrol	61-82-5	C ₂ H ₄ N ₄	85,0509
Histamine	51-45-6	C ₅ H ₉ N ₃	112,0869
Chlormequat*	999-81-5	C ₅ H ₁₃ CIN	122,0731
Methamidophos	10265-92-6	C ₂ H ₈ NO ₂ PS	142,0086
Vancomycin*	1404-90-6	C ₆₆ H ₇₅ Cl ₂ N ₉ O ₂₄	724,7224
Cefoperazone	62893-19-0	C ₂₅ H ₂₇ N ₉ O ₈ S ₂	646,1497
Trichlorfon (Dylox)	52-68-6	C ₄ H ₈ Cl ₃ O ₄ P	256,9299
Butocarboxim	34681-10-2	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	191,0849
Dichlorvos	62-73-7	C ₄ H ₇ Cl ₂ O ₄ P	220,9532
Tylosin	1401-69-0	C ₄₆ H ₇₇ N ₁₇ O ₁₇	916,5264
TCMTB	21564-17-0	C ₉ H ₆ N ₂ S ₃	238,9766
Rifaximin	80621-81-4	C ₄₃ H ₅₁ N ₃ O ₁₁	786,3596
Spinosad A (Spinosyn A)	131929-60-7	C ₄₁ H ₆₅ N ₁₀ O ₁₀	732,4681
Emamectin B1a	121124-29-6	C ₄₉ H ₇₅ N ₁₃ O ₁₃	886,5311
Avermectin B1a****	71751-41-2	C ₄₈ H ₇₂ O ₁₄	890,5260
Nigericin	28380-24-7	C ₄₀ H ₆₈ O ₁₁	725,4834
Ivermectin B1a	70288-86-7	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	892,5417

Les résultats rendus dans le cadre de notre participation à cet essai-interlaboratoire n'ayant pas été satisfaisants (i.e., étalons non-identifiés dans la liste de 50 marqueurs caractéristiques), les données acquises ont apporté une occasion de pouvoir comparer différents outils de traitement de données. En particulier, le mélange d'étalons analytique a permis de tester la fiabilité des identifications réalisées par les logiciels fournis avec l'appareil d'analyse, en comparaison avec des logiciels libres. Par ailleurs, l'apport de la mobilité ionique dans ce processus a aussi été évaluée afin de confirmer l'utilité de ce paramètre de séparation complémentaire disponible sur notre appareil.

Résultats

Cette partie a permis le développement de différentes voies de traitement de données qui s'appuient sur plusieurs types de logiciels et approches. En particulier, l'étude a mis en évidence des avantages et inconvénients liés à chaque méthode étudiée. Les résultats ont montré qu'il n'est, à ce stade, pas possible de conclure à une méthode préférentielle de traitement de données. Le choix de la méthode de traitement dépend grandement de l'objectif fixé par l'étude. En effet, pour réaliser des comparaisons rapides, la méthode hybride, qui s'appuie à la fois sur un prétraitement simplifié par le logiciel fournisseur et sur la liberté de traitement fournie par les logiciels libres, est plus adaptée. En revanche, cette dernière ne permet pas l'identification de marqueurs de manière directe dans son état actuel. Si le travail requiert des identifications, il

est préférable d'utiliser la méthode fournisseur pour un nombre limité de marqueurs à identifier de manière poussée puisque cette méthode permet de tirer parti d'un maximum d'informations produit par l'analyse. En revanche, le logiciel ne permet pas d'effectuer un grand nombre d'attributions simultanées et les méthodes de traitement proposées ne sont parfois pas adaptées aux études réalisées. Dans ce cas, la méthode passant entièrement par logiciels libres est plus avantageuse puisqu'elle permet de contourner ces problèmes. En revanche, cette manière de procéder est plus longue puisqu'elle nécessite une conversion préalable des données et un prétraitement qui, dans les deux autres cas, est effectué en parallèle de l'acquisition. De plus, les logiciels libres ne supportent pas encore les données de mobilité ionique et cette particularité, qui fournit une plus grande fiabilité pour l'identification, n'est donc pas mise à profit.

Perspectives de recherche

Afin d'aboutir à une unique méthode de traitement de données, un travail supplémentaire est en cours pour récupérer directement les données spectrales du logiciel fournisseur, en gardant donc la meilleure précision apportée par la mobilité ionique. L'objectif est de lier ces données spectrales aux données exportées du logiciel « fournisseur » afin d'utiliser les méthodes d'identification disponibles dans les logiciels libres. Ce *workflow* complet alliera rapidité et fiabilité en combinant les avantages des différentes méthodes :

- Par logiciel “fournisseur” : prétraitement des données (détection des pics fiable grâce à la mobilité ionique), en simultané avec les acquisitions et fournissant des spectres précis avec la mobilité ionique
- Hybride : grande liberté en termes de traitement de données et temps de calculs fortement réduits
- Par logiciels libres : possibilité de réaliser des attributions de formules moléculaires et des identifications sur un large nombre de marqueurs

Partie B – Comparaison de méthodes analytiques

Introduction et objectifs

La particularité du NTS est de pouvoir fournir un très grand nombre d'information vis-à-vis des échantillons analysés. Pour cela, les méthodes analytiques ont pour objectif d'être le plus exhaustives possible afin de pouvoir fournir des données représentatives des échantillons.

De la même manière que pour le traitement de données, les méthodes d'analyses employées pour le NTS environnemental sont également très nombreuses. Cependant, il est intéressant de remarquer que des tendances se distinguent. En effet, la préparation d'échantillon est très majoritairement réalisée par extraction sur phase solide en utilisant des phases dites « universelle » (de type HLB) qui sont adaptées à de très nombreuses molécules (Bade et al., 2015) ou alors avec une combinaison de plusieurs phases différentes afin de permettre la rétention d'un spectre encore plus larges de substances présentes dans les échantillons (Kern et al., 2009). En ce qui concerne l'analyse, celle-ci est très souvent réalisée par chromatographie en phase liquide, couplée à la spectrométrie de masse haute résolution, en utilisant presque exclusivement une colonne chromatographique de type C18 (Schymanski et al., 2015).

Néanmoins, il n'existe que très peu d'études décrivant la comparaison de différentes méthodes d'analyse NTS et celles-ci sont majoritairement effectuées en s'appuyant sur une liste prédéfinie de molécules (Bade et al., 2015; Montes et al., 2017; Neuwald et al., 2021). Ainsi, ces méthodes d'analyses restent encore mal caractérisées et peu d'informations sont donc disponibles quant à la diversité de molécules analysables par chacune d'elles.

L'objectif de cette partie était donc de diviser un même échantillon en diverses fractions ayant des propriétés physico-chimiques différentes, puis de les analyser avec des techniques différentes afin de regrouper un maximum d'informations permettant de caractériser les supports disponibles sur le marché. Une caractérisation basée sur l'ensemble des signaux détectés en NTS et en SS a été effectuée en mettant en place différents critères de comparaison afin d'apporter plus de connaissances quant aux particularités de chaque méthode.

Matériel et méthodes

Les résultats présentés dans cette partie s'appuient sur l'exploitation de différents effluents de stations de traitement des eaux usées fournis par le SIAAP. Chacun d'entre eux a été soumis à 8 extractions sur phases solides différentes en utilisant diverses phases commerciales, un fractionnement successif sur 3 résines macroporeuses et un fractionnement par chromatographie d'exclusion stérique. L'objectif était de voir de quelle manière le choix de la méthode de préparation ou le choix des matériaux employé avait une influence sur les informations récupérées quant à l'échantillon initial, c'est pourquoi, ce dernier a également été analysé tel quel (i.e., sans étape de préparation). Toutes les fractions obtenues précédemment ont été analysées par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse haute résolution en utilisant 3 colonnes de chromatographie différentes afin de voir l'influence que cette étape pouvait également avoir.

Résultats

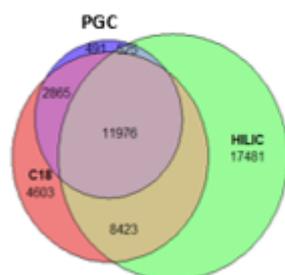
La comparaison de méthodes de préparation a permis de montrer que l'extraction sur phase solide était majoritairement utilisée car elle permet d'obtenir un grand nombre d'information tout en limitant le volume d'échantillon et de solvants nécessaire, ainsi que le temps de traitement de l'échantillon en comparaison aux deux autres méthodes utilisées dans ce travail. La comparaison de différentes phases pour cette méthode met en évidence l'influence du matériau sur le nombre et la spécificité des données recueillies (Figure 1).



Figure 1 : Comparaison de méthodes de préparation (analyse colonne C18 avec ionisation en mode positif)

De façon également très intéressante, la comparaison de cette méthode avec une injection directe (i.e., sans étape de préparation) montre que cette dernière permettait détecter un certain nombre de signaux uniques. Ainsi, bien que ce travail ait fait appel à l'utilisation de trois méthodes de préparation, incluant onze phases d'extraction différentes, cette combinaison n'a pas suffi pour récupérer toutes les informations présentes dans l'échantillon initial. Ces signaux perdus correspondent pourtant à des molécules présentes en concentration relativement importantes initialement, puisque visibles sans étape de préconcentration.

Concernant la comparaison de méthodes d'analyse, celle-ci a tout d'abord permis de mettre en place une méthode permettant de comparer différentes colonnes de chromatographie pour l'analyse d'un même échantillon. Cette dernière met notamment en évidence l'avantage de la mobilité ionique qui permet ici de fiabiliser cette comparaison. D'autre part, cette comparaison montre que le choix de la colonne chromatographique est crucial quant aux informations obtenues en fin de processus, puisque les 3 colonnes étudiées ne montrent que très peu de signaux communs (Figure 2).

1) Approche par rapport au m/z 

2) Apport de la mobilité ionique

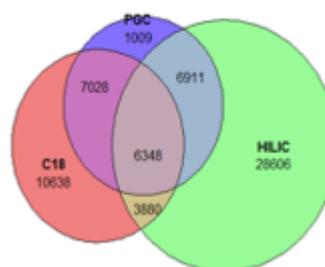


Figure 2 : Comparaison de colonnes chromatographiques pour l'analyse d'un même échantillon

Ces observations réalisées en NTS ont été complétées par une analyse en SS à partir d'une liste de 375 molécules, sélectionnées sur la base d'études précédentes réalisées avec des échantillons similaires. Le but de cette comparaison complémentaire était de pouvoir apporter des informations supplémentaires pour caractériser les différences en termes de propriétés physico-chimiques des molécules susceptibles d'être analysées par chacune de ces méthodes. Cependant, les résultats obtenus ne permettent pas, à ce stade de tirer des conclusions car les propriétés étudiées ne distinguent pas assez les méthodes les unes des autres. Néanmoins, l'utilisation en parallèle de ces deux stratégies a permis de montrer leur complémentarité. En effet, le NTS permet de différencier clairement les méthodes entre elles, mais par nature, ne permet pas d'interpréter ces différences en termes de spectre de molécules analysables. Au contraire, le SS est plus riche en termes d'informations physico-chimiques, mais son efficacité à distinguer clairement les méthodes dépend grandement de la liste initiale de molécules établie et des propriétés considérées lors de la comparaison.

Perspectives de recherche

Les comparaisons de méthodes de préparation ayant montré que l'injection directe présente des signaux qui ne sont pas retrouvés en combinant les résultats de onze phases de préparation différentes alors que ceux-ci correspondent potentiellement à des composés polaires présents en concentrations relativement importante, des investigations plus approfondies semblent nécessaires. Il s'agirait ainsi de d'évaluer des méthodes permettant de concentrer l'échantillon initial en minimisant l'altération de ce dernier. Parmi ces méthodes, la concentration par évaporation ou par lyophilisation semblent être des alternatives prometteuses (Mechelke et al., 2019).

Partie C – Application des méthodes pour la comparaison d'échantillons oxydés

Introduction et objectifs

Les micropolluants organiques sont de présents dans de nombreux produits que nous utilisons au quotidien (e.g., médicaments, cosmétiques, désinfectants...) et transitent ainsi par les stations de traitement des eaux usées. Cependant, ces dernières ne sont initialement pas conçues pour traiter ce type de pollution. Afin de limiter notre impact sur les milieux récepteurs, différents traitements complémentaires sont étudiés pour application en fin de filière de traitement afin de réduire la présence de ces composés dans les eaux rejetées vers l'environnement (Boehler et al., 2012; Deng and Zhao, 2015; Poyatos et al., 2009; Siegrist and Joss, 2012). Parmi eux, les traitements d'oxydations semblent efficaces pour l'abattement d'un grand nombre de substances. Cependant, ils sont également à l'origine de la formation de nouveaux produits, issus de la transformation des molécules initiales, qui peuvent, dans certains cas s'avérer plus toxiques (Berkner and Thierbach, 2014; Escher et al., 2013).

L'objectif de cette étude est de mettre en œuvre les méthodes présentées dans les deux parties précédentes afin d'étudier l'impact de différents traitements d'oxydation sur les micropolluants organiques présents dans les effluents d'eaux usées traitées, et leur potentiel à former des produits de transformation.

Matériel et méthodes

Dans un premier temps, deux cas d'application ont été étudiés. Le premier s'appuie sur l'étude de la désinfection d'un rejet de station par l'acide performique. Ces essais ont été menés par le SIAAP entre octobre et décembre 2018 à l'échelle laboratoire et industrielle avec des doses d'acide performique comprises entre 0,8 et 100 mg/L. La seconde étude concerne l'évaluation d'un procédé d'ozonation suivi d'une adsorption sur charbon actif en poudre (CAP) pour le traitement de micropolluants dans un rejet de station. Les analyses de ces échantillons ont été réalisées suivant des méthodes classiques (i.e., préparation par extraction sur phase solide en utilisant une combinaison de plusieurs phases commerciales et analyse par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse haute résolution avec utilisation d'une colonne C18). Par la suite, 3 méthodes d'oxydation (chloration, UV/H₂O₂ et ozonation) ont été appliqué à un rejet de station et analysés en utilisant la diversité de méthodes présentés dans la partie B afin de voir l'influence de ces méthodes dans le cas particulier des l'étude de procédés d'oxydation appliqués aux eaux usées.

Résultats

L'étude de la désinfection d'un rejet de station par l'acide performique a permis d'apporter de nouvelles informations vis-à-vis de son mécanisme d'action sur les micropolluants organiques. Les résultats montrent qu'à faible dose, cet oxydant permet de réduire l'aire totale des signaux obtenus par HRMS, en formant un nombre limité de produits de transformation qui sont majoritairement plus petits et plus polaires que les molécules qui ont été éliminées par le traitement. Parmi les produits formés, la lidocaïne N-oxyde a pu être identifiée de façon inédite comme marqueur discriminant du traitement. Des études mécanistiques complémentaires en

conditions contrôlées sur des molécules complémentaires ont permis de confirmer le potentiel de l'acide performique à réagir avec des amines tertiaires pour former des N-oxydes (Figure 3), produit de transformation déjà connus pour l'ozonation.

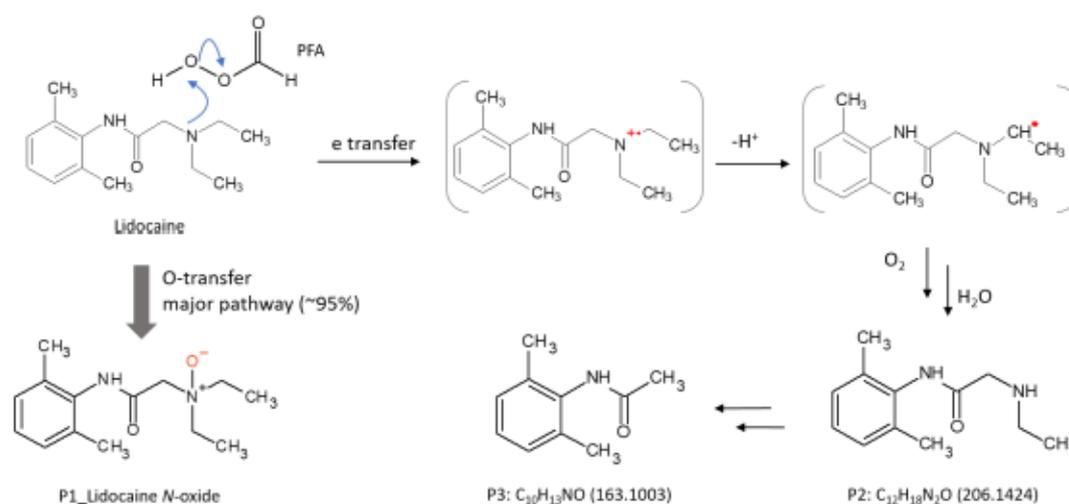


Figure 3 : Mécanisme de dégradation de la lidocaïne par action de l'acide performique

Ces produits de transformation ont été étudiés de façon plus approfondie dans la seconde application faisant appel à un procédé d'ozonation. Cette étude a notamment permis de mettre en place une méthode de traitement de donnée plus globale permettant de repérer ce type de transformation en s'appuyant sur l'ensemble des masses détectées (Figure 4).

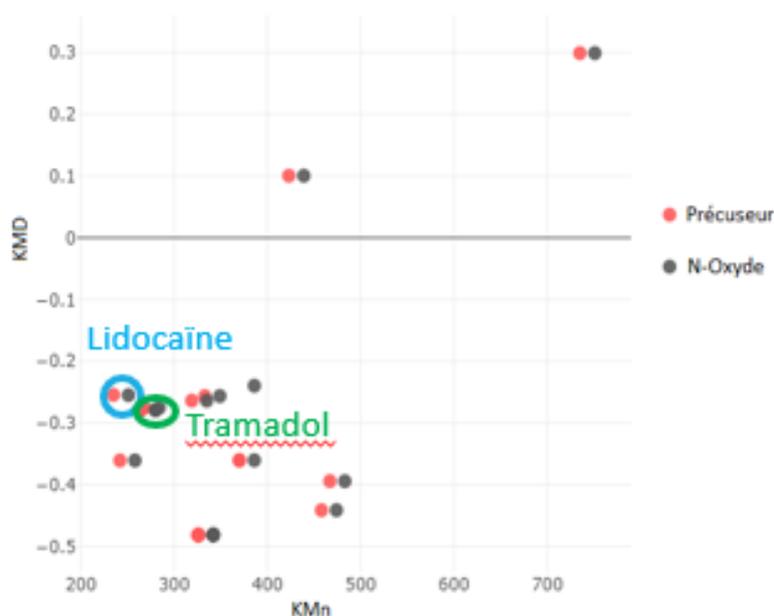


Figure 4 : Application de la méthode de Kendrick (Kendrick, 1963) pour l'étude de produits de transformation (KMD = défaut de masse de Kendrick, KMn = masse nominale de Kendrick)

Enfin, la comparaison des différentes méthodes présentées en partie B appliquées à l'étude d'échantillons oxydés a permis de mettre en évidence l'utilité de certaines phases de préparation pour cette problématique en particulier. En effet, les phases Coconut Charcoal et DPA-6S ont

montré une capacité particulière à retenir les produits formés après application des différents traitements d'oxydation.

Perspectives de recherche

Cette partie a permis de mettre en évidence la particularité de certaines phases non conventionnelle d'extraction sur phase solide qui permettent de récupérer plus d'informations vis-à-vis de molécules nouvellement formées par application d'un traitement d'oxydation. Il serait alors intéressant d'étudier le potentiel d'une nouvelle cartouche multiphasique permettant de tirer parti de cette observation. Une proposition consisterait à remplacer la phase ENV+ qui n'apporte que peu d'informations complémentaires sur les produits de transformations par la phase DPA-6S qui possède l'avantage, par rapport à la phase Coconut Charcoal, d'être plus proche de la ENV+ en termes de conditions d'utilisation.

Conclusion générale

Ce travail de recherche s'est intéressé aux méthodes d'analyse et de traitement de données actuellement utilisées en NTS appliquées au domaine de l'analyse environnementale. En particulier, l'objectif était de mieux comprendre l'influence du choix des méthodes employées sur les résultats obtenus.

Pour cela, une première partie a été consacrée à la comparaison de différents outils de traitement de données. Cette comparaison s'appuyait sur la capacité des logiciels à prioriser et identifier correctement les composés présents dans un mélange de standards analytiques. Le choix d'un outil dépend grandement des objectifs fixés par l'étude, mais également du type de données fourni par l'instrument. Notamment, l'utilisation du logiciel fournisseur a permis de tirer parti d'un maximum d'informations (en particulier la mobilité ionique) à partir des données acquises afin de réaliser des identifications fiables. Cependant, peu d'options de comparaison d'échantillons et de visualisation de marqueurs sont disponibles dans ce logiciel, limitant les caractérisations plus globales qui permettent de prendre en compte l'ensemble des signaux détectés. En revanche, les logiciels libres sont plus modulables en fonction des besoins des utilisateurs pour ces dernières fonctions. Cependant, les étapes d'identifications sont encore limitées. En particulier, les outils disponibles actuellement ne permettent pas encore la prise en charge des données de mobilité ionique dont l'utilité a été démontrée lors de ce travail.

Dans un second temps, les méthodes de préparation et d'analyse de l'échantillon ont été comparées pour un même échantillon. Ce travail a d'abord mis en évidence le manque de critères pour comparer des méthodes analytiques en NTS, puis, a confirmé que le choix d'une unique stratégie analytique entraîne la perte d'un grand nombre d'informations relatives à l'échantillon. Il est ainsi apparu essentiel de pouvoir caractériser au mieux différentes méthodes afin d'apporter un maximum d'informations concernant leurs spécificités et, par conséquent, évaluer le type d'informations perdues lors de la sélection d'une stratégie unique. Ce travail a néanmoins mis en évidence le fait que le choix de la colonne analytique semble avoir plus d'influence sur le type de composés observables que la méthode de préparation employée. Cependant, quelque soit le choix effectué, il est impossible d'avoir une vision complète de la diversité de composés contenus dans un échantillon en utilisant une unique méthode. Il s'agira alors de s'imposer une méthode donnée qui sera appliquée à tous les échantillons afin de pouvoir comparer les résultats obtenus les uns avec les autres pour des analyses en routine. Dans notre cas, une cartouche constituée d'un assemblage de quatre phases adsorbantes (HLB, ENV, XAW et XCW) a été sélectionnée puisqu'elle permet de couvrir une gamme plus large de composés analysables.

En appliquant les méthodes sélectionnées comme étant les plus avantageuses dans la partie précédente (extraction sur cartouche multiphasique et séparation sur colonne C18), deux traitements d'oxydation des micropolluants organiques dans les effluents traités de station d'épuration ont été étudiés en SS et en NTS, permettant d'apporter de nouvelles informations quant à leur efficacité et aux mécanismes mis en jeu lors de l'oxydation. Par ailleurs, différentes stratégies analytiques ont également été appliquées à plusieurs types de procédés d'oxydation afin de mieux caractériser les méthodes d'analyses mais également les produits de transformation. Cette partie complémentaire a ainsi mis en avant le manque de connaissances vis-à-vis de certaines phases d'extraction qui s'avèrent efficaces pour la rétention de produits de transformation. Elle a aussi permis de mettre au point des méthodes permettant de mieux

comprendre les mécanismes de réaction mis en jeu lors des procédés d'oxydation, notamment en établissant des liens de transformations entre des signaux correspondant à des composés bien éliminés par le traitement et de nouveaux signaux formés lors du processus. Globalement cette partie a pu mettre en évidence l'importance des stratégies d'analyses basées sur le SS et le NTS pour l'évaluation des procédés d'oxydation qui viennent compléter les observations réalisées en analyse ciblée, et parfois, les contredire. Ces éléments viennent ainsi confirmer l'intérêt des méthodes de SS et NTS qui permettent de mieux comprendre le devenir des micropolluants organiques.

Liste des publications et communications

Publications

Internationales

Articles publiés

Fidji Sandré, Nina Huynh, Marie-Christine Gromaire, Gilles Varrault, Christophe Morin, Régis Moilleron, Julien Le Roux, Laure Garrigue-Antar. Road Runoff characterization: ecotoxicological assessment combined with (non-)target screenings of micropollutants for the identification of relevant toxicants in the dissolved phase. *Water*, MDPI, 14 (4), pp.511. <10.3390/w14040511>

Johnny Gasperi, Julien Le Roux, Steven Deshayes, Sophie Ayrault, Louise Bordier, Lila Boudahmane, Hélène Budzinski, Emilie Caupos, Nadège Caubrière, Kelsey Flanagan, Martin Guillon, Nina Huynh, Pierre Labadie, Laurent Meffray, Pascale Neveu, Chandirane Partibane, Julien Paupardin, Mohamed Saad, Lucie Varnede, Marie-Christine Gromaire. Micropollutants in Urban Runoff from Traffic Areas: Target and Non-Target Screening on Four Contrasted Sites. *Water*, MDPI, 14 (3), pp.394. <10.3390/w14030394>

Nina Huynh, Emilie Caupos, Caroline Soares Peirera, Julien Le Roux, Adèle Bressy, Régis Moilleron. Evaluation of Sample Preparation Methods for Non-Target Screening of Organic Micropollutants in Urban Waters Using High-Resolution Mass Spectrometry. *Molecules*, MDPI, 2021, 26 (23), pp.7064. <10.3390/molecules26237064>

Bastian Schulze, Denice van Herwerden, Ian Allan, Lubertus Bijlsma, Nestor Etxebarria, Martin Hansen, Sylvain Merel, Branislav Vrana, Reza Aalizadeh, Bernard Bajema, Florian Dubocq, Gianluca Coppola, Aurélie Fildier, Pavla Fialová, Emil Frøkjær, Roman Grabic, Pablo Gago-Ferrero, Thorsten Gravert, Juliane Hollender, Nina Huynh, Griet Jacobs, Tim Jonkers, Sarit Kaserzon, Marja Lamoree, Julien Le Roux, Teresa Mairinger, Christelle Margoum, Giuseppe Mascolo, Emmanuelle Mebold, Frank Menger, Cécile Miège, Jeroen Meijer, Régis Moilleron, Sapia Murgolo, Massimo Peruzzo, Martijn Pijnappels, Malcolm Reid, Claudio Roscioli, Coralie Soulier, Sara Valsecchi, Nikolaos Thomaidis, Emmanuelle Vulliet, Robert Young, Saer Samanipour. Inter-laboratory mass spectrometry dataset based on passive sampling of drinking water for non-target analysis. *Scientific Data*, Nature Publishing Group, 2021, 8 (1), pp.223. <10.1038/s41597-021-01002-w>

Vincent Rocher, Sam Azimi, Romain Mailler, Sabrina Rechdaoui-Guérin, Perrine Mèche, Sébastien Pichon, Angélique Goffin, Jean Bernier, Jérôme Roy, Gilles Varrault, Julien Le Roux, Nina Huynh, Maolida Nihemaiti, Thierry Pigot, Thomas Paulin, Jean-Marie Mouchel, David Du Pasquier, Laurent Paulic, Dan Angelescu, Vaizanne Huynh, Andreas Hausot, Patrizia Ragazzo, Nicoletta Chiacchini. Effectiveness of Disinfecting Wastewater Treatment Plant Discharges: Case of chemical disinfection using performic acid. *IWA Publishing*, 2021, 9781789062090. <10.2166/9781789062106_0039>

Article soumis

Maolida Nihemaiti, Nina Huynh, Romain Mailler, Perrine Mèche-Ananit, Vincent Rocher, Rachid Barhdadi, Régis Moilleron, Julien Le Roux. High-resolution mass spectrometry screening of wastewater effluent for micropollutants and their transformation products during disinfection with performic acid. – Soumis à ACS ES&T Water.

Articles en préparation

Nina Huynh, Julien Le Roux, Emmanuelle Mebold, Régis Moilleron. Comparison of analytical strategies using the advantage of ion mobility for non-target screening. Fidji Sandre, Nina Huynh, Emilie Caupos, Lamyae El-Mrabet, Michael Rivard, Isabelle Lachaise, Christophe Pommier, Christophe Morin, Régis Moilleron, Julien Le Roux, Laure Garrigue-Antar. Comparative study of oxidative treatment of a pollutant of emerging interest: the furosemide

Communications

Internationales

Présentations orales

Nina Huynh, Julien Le Roux, Jérémy Guyot, Régis Moilleron. Development of a non-target screening workflow for the evaluation of micropollutants fate during oxidation processes. 17th International Conference on Environmental Science & Technology (CEST2021), Sep 2021, Athens, Greece.

Nina Huynh, Emmanuelle Mebold, Régis Moilleron, Julien Le Roux. Comparison of three chromatographic columns using the advantage of ion mobility for non-target analysis of organic micropollutants in wastewater samples. SETAC North America 41st Annual Meeting, Nov 2020, Online Meeting, United States.

Nina Huynh, Sandre Fidji, Laure Garrigue-Antar, Christophe Morin, Emilie Caupos, Marie-Christine Gromaire, Régis Moilleron, Julien Le Roux. Evaluation of road runoff treatment systems performance by non-target screening combined with ecotoxicological studies. 16th Annual Workshop On Emerging High-Resolution Mass Spectrometry And LC-MS/MS Applications In Environmental Analyses And Food Safety, Oct 2020, Online meeting, Spain.

Maolida Nihemaiti, Nina Huynh, Romain Mailler, Perrine Mèche, Vincent Rocher, Julien Le Roux. Screening of micropollutants and their transformation products in performic acid treated wastewater. 11th Micropol & Ecohazard Conference 2019, Oct 2019, Seoul, South Korea.

Maolida Nihemaiti, Nina Huynh, Romain Mailler, Perrine Mèche, Vincent Rocher, Julien Le Roux. Screening of micropollutants and their transformation products in performic acid treated wastewater. Wasserchemischen Gesellschaft 8th Late Summer Workshop "Chemical and biological transformation processes and tools for their investigation", Sep 2019, Haltern am See, Germany.

Présentations par affiche

Nina Huynh, Emilie Caupos, Caroline Soares Pereira, Julien Le Roux, Adèle Bressy, Régis Moilleron. How important is the sample preparation step for non-target screening of micropollutants in urban waters?. International Conference on Non-Target Screening (ICNTS21), Oct 2021, Erding, Germany.

Nina Huynh, Julien Le Roux, Régis Moilleron. Fractionation of wastewater effluent for the characterization of organic micropollutants by high-resolution mass spectrometry. SETAC Europe 30th Annual Meeting, May 2020, Online Meeting, Ireland.

Nationales

Nina Huynh, Julien Le Roux, Régis Moilleron. Fractionnement d'une eau résiduaire urbaine pour la caractérisation de micropolluants organiques par spectrométrie de masse haute résolution. GRUTTEE2020 : 13ème congrès international du GRUTTEE, Feb 2020, Rennes, France

Bibliographie

- Bade, R., Rousis, N.I., Bijlsma, L., Gracia-Lor, E., Castiglioni, S., Sancho, J.V., Hernandez, F., 2015. Screening of pharmaceuticals and illicit drugs in wastewater and surface waters of Spain and Italy by high resolution mass spectrometry using UHPLC-QTOF MS and LC-LTQ-Orbitrap MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 8979–8988. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9063-x>
- Berkner, S., Thierbach, C., 2014. Biodegradability and transformation of human pharmaceutical active ingredients in environmentally relevant test systems. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 9461–9467. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1868-6>
- Boehler, M., Zwicknnpflug, B., Hollender, J., Ternes, T., Joss, A., Siegrist, H., 2012. Removal of micropollutants in municipal wastewater treatment plants by powder-activated carbon. *Water Sci. Technol.* 66, 2115–2121. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.353>
- Brack, W., Ait-Aissa, S., Burgess, R.M., Busch, W., Creusot, N., Di Paolo, C., Escher, B.I., Mark Hewitt, L., Hilscherova, K., Hollender, J., Hollert, H., Jonker, W., Kool, J., Lamoree, M., Muschket, M., Neumann, S., Rostkowski, P., Ruttkies, C., Schollee, J., Schymanski, E.L., Schulze, T., Seiler, T.-B., Tindall, A.J., De Aragão Umbuzeiro, G., Vrana, B., Krauss, M., 2016. Effect-directed analysis supporting monitoring of aquatic environments — An in-depth overview. *Sci. Total Environ.* 544, 1073–1118. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.102>
- Deng, Y., Zhao, R., 2015. Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment. *Curr. Pollut. Rep.* 1, 167–176. <https://doi.org/10.1007/s40726-015-0015-z>
- Escher, B.I., van Daele, C., Dutt, M., Tang, J.Y.M., Altenburger, R., 2013. Most Oxidative Stress Response In Water Samples Comes From Unknown Chemicals: The Need For Effect-Based Water Quality Trigger Values. *Environ. Sci. Technol.* 47, 7002–7011. <https://doi.org/10.1021/es304793h>
- Kendrick, 1963. A Mass Scale Based on CH₂ = 14.0000 for High Resolution Mass Spectrometry of Organic Compounds. | *Analytical Chemistry*. *Anal. Chemistry* 35, 2146–2154. <https://doi.org/doi.org/10.1021/ac60206a048>
- Kern, S., Fenner, K., Singer, H.P., Schwarzenbach, R.P., Hollender, J., 2009. Identification of Transformation Products of Organic Contaminants in Natural Waters by Computer-Aided Prediction and High-Resolution Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 43, 7039–7046. <https://doi.org/10.1021/es901979h>
- Krauss, M., Hug, C., Bloch, R., Schulze, T., Brack, W., 2019. Prioritising site-specific micropollutants in surface water from LC-HRMS non-target screening data using a rarity score. *Environ. Sci. Eur.* 31, 45. <https://doi.org/10.1186/s12302-019-0231-z>
- Krauss, M., Singer, H., Hollender, J., 2010. LC–high resolution MS in environmental analysis: from target screening to the identification of unknowns. *Anal. Bioanal. Chem.* 397, 943–951. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3608-9>
- Lavonen, E.E., Gonsior, M., Tranvik, L.J., Schmitt-Kopplin, P., Köhler, S.J., 2013. Selective chlorination of natural organic matter: Identification of previously unknown disinfection byproducts. *Environ. Sci. Technol.* 47, 2264–2271. <https://doi.org/10.1021/es304669p>
- Mechelke, J., Longrée, P., Singer, H., Hollender, J., 2019. Vacuum-assisted evaporative concentration combined with LC-HRMS/MS for ultra-trace-level screening of organic micropollutants in environmental water samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 411, 2555–2567. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01696-3>
- Montes, R., Aguirre, J., Vidal, X., Rodil, R., Cela, R., Quintana, J.B., 2017. Screening for Polar Chemicals in Water by Trifunctional Mixed-Mode Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 51, 6250–6259. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05135>
- Neuwald, I., Muschket, M., Zahn, D., Berger, U., Seiwert, B., Meier, T., Kuckelkorn, J., Strobel, C., Knepper, T.P., Reemtsma, T., 2021. Filling the knowledge gap: A suspect screening study for 1310 potentially persistent and mobile chemicals with SFC- and HILIC-HRMS in two German river systems. *Water Res.* 204, 117645. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2021.117645>

- Nürenberg, G., Kunkel, U., Wick, A., Falås, P., Joss, A., Ternes, T.A., 2019. Nontarget analysis: A new tool for the evaluation of wastewater processes. *Water Res.* 163, 114842. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.07.009>
- Plassmann, M.M., Tengstrand, E., Åberg, K.M., Benskin, J.P., 2016. Non-target time trend screening: a data reduction strategy for detecting emerging contaminants in biological samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 408, 4203–4208. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9563-3>
- Poyatos, J.M., Muñio, M.M., Almecija, M.C., Torres, J.C., Hontoria, E., Osorio, F., 2009. Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art. *Water. Air. Soil Pollut.* 205, 187. <https://doi.org/10.1007/s11270-009-0065-1>
- Ruff, M., Mueller, M.S., Loos, M., Singer, H.P., 2015. Quantitative target and systematic non-target analysis of polar organic micro-pollutants along the river Rhine using high-resolution mass-spectrometry – Identification of unknown sources and compounds. *Water Res.* 87, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.017>
- Sanchís, J., Jaén-Gil, A., Gago-Ferrero, P., Munthali, E., Farré, M.J., 2020. Characterization of organic matter by HRMS in surface waters: Effects of chlorination on molecular fingerprints and correlation with DBP formation potential. *Water Res.* 115743. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115743>
- Schollée, J.E., Bourgin, M., von Gunten, U., Mc Ardell, C.S., Hollender, J., 2018. Non-target screening to trace ozonation transformation products in a wastewater treatment train including different post-treatments. *Water Res.* <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.045>
- Schollée, J.E., Schymanski, E.L., Hollender, J., 2016. Statistical Approaches for LC-HRMS Data To Characterize, Prioritize, and Identify Transformation Products from Water Treatment Processes, in: Drewes, J.E., Letzel, T. (Eds.), *ACS Symposium Series*. American Chemical Society, Washington, DC, pp. 45–65.
- Schulze, B., van Herwerden, D., Allan, I., Bijlsma, L., Etxebarria, N., Hansen, M., Merel, S., Vrana, B., Aalizadeh, R., Bajema, B., Dubocq, F., Coppola, G., Fildier, A., Fialová, P., Frøkjær, E., Grabic, R., Gago-Ferrero, P., Gravert, T., Hollender, J., Huynh, N., Jacobs, G., Jonkers, T., Kaserzon, S., Lamoree, M., Le Roux, J., Mairinger, T., Margoum, C., Mascolo, G., Mebold, E., Menger, F., Miège, C., Meijer, J., Moilleron, R., Murgolo, S., Peruzzo, M., Pijnappels, M., Reid, M., Roscioli, C., Soulier, C., Valsecchi, S., Thomaidis, N., Vulliet, E., Young, R., Samanipour, S., 2021. Inter-laboratory mass spectrometry dataset based on passive sampling of drinking water for non-target analysis. *Sci. Data* 8, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41597-021-01002-w>
- 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. <https://doi.org/10.1021/es5002105>
- Schymanski, E.L., Singer, H.P., Slobodnik, J., Ipolyi, I.M., Oswald, P., Krauss, M., Schulze, T., Haglund, P., Letzel, T., Grosse, S., Thomaidis, N.S., Bletsou, A., Zwiener, C., Ibáñez, M., Portolés, T., de Boer, R., Reid, M.J., Onghena, M., Kunkel, U., Schulz, W., Guillon, A., Noyon, N., Leroy, G., Bados, P., Bogialli, S., Stipaničev, D., Rostkowski, P., Hollender, J., 2015. Non-target screening with high-resolution mass spectrometry: critical review using a collaborative trial on water analysis. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 6237–6255. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8681-7>
- Siegrist, H., Joss, A., 2012. Review on the fate of organic micropollutants in wastewater treatment and water reuse with membranes. *Water Sci. Technol.* 66, 1369–1376. <https://doi.org/10.2166/wst.2012.285>