

Utilisation de l'approche métabolomique pour l'évaluation de la composition en micropolluants des eaux souterraines destinées à la production d'eau potable

■ J. COTTON^{1,2}, V. SABARLY¹, C. DUCRUIX¹, F. NAULEAU³, S. MASCLLET³, S. PIEL³, C. JUNOT²

Mots-clés : métabolomique, eau souterraine, puits de captage, méthode globale, micropolluants, pesticides, médicaments, empreinte chimique

Keywords: metabolomic, groundwater, production wells, comprehensive method, micro pollutants, pesticides, drugs, chemical fingerprint

Introduction et éléments de contexte

La problématique des substances émergentes et plus généralement des micropolluants organiques préoccupe et prend une place de plus en plus importante dans le domaine du contrôle chimique de l'eau en France. Leur recherche et leur détection a d'abord concerné les eaux de surface, considérées comme les plus vulnérables à ce genre de pollution (rejets des ruissellements, rejets de stations d'épuration, etc.). Cependant, les interrogations se sont multipliées au sujet de la présence de ces substances dans les eaux souterraines [1].

Au niveau national, les tables rondes du Grenelle de l'environnement de 2007 ont identifié comme objectif prioritaire la préservation à long terme des ressources en eau utilisées pour l'alimentation en eau potable des 500 captages les plus menacés [2]. Ces derniers sont répartis sur l'ensemble du territoire français, dont 238 situés sur le bassin Seine-Normandie [3]. Parmi les polluants recherchés, les pesticides figurent en bonne place. Les niveaux de contamination sont souvent inférieurs à la limite de 0,1 µg/L fixée par le Code de la santé publique dans l'eau potable, même si ponctuellement des dépass-

sements sont mesurés. Les produits pharmaceutiques commencent également à être recherchés, notamment au travers de grandes campagnes nationales (à titre d'exemple celles de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Anses]). Les niveaux de concentration rencontrés sont généralement très faibles, de l'ordre de la dizaine de ng/L [4].

Les approches conventionnelles consistent à rechercher des listes de molécules *a priori* en multipliant les analyses dédiées. Une alternative à ces nombreuses analyses serait l'analyse en une seule fois du plus grand nombre de molécules recherchées. Dans ce contexte, une méthode d'analyse innovante développée par la société Profilomic se basant sur l'acquisition d'empreintes chimiques globales par approche métabolomique sera évaluée sur un panel de 15 puits de captages exploités par Saur pour la production d'eau potable. Cette nouvelle approche permettra d'estimer l'état des nappes en fonction des caractéristiques des aquifères, tout en étant le plus exhaustif possible vis-à-vis du nombre de molécules présentes. Ainsi, trois campagnes de prélèvements ont été menées par l'équipe R&D Saur sur les 15 puits de captage sélectionnés et les analyses ont été réalisées par le laboratoire Profilomic et deux laboratoires de références.

Dans un premier temps, le panel de captages retenus ainsi que la méthode d'empreintes chimiques globale

¹ Profilomic – Laboratoire du CEA – Centre d'étude de Saclay, bâtiment 136 – 91191 Gif-Sur-Yvette. Courriel : jerome.cotton@profilomic.com

² CEA de Saclay – DSV/IBiTeC-S/SPI/LEMM – 91191 Gif-Sur-Yvette.

³ SAUR R&D – 1, rue Antoine-Lavoisier – Guyancourt – 78064 Saint-Quentin-en-Yvelines cedex.

proposée par Profilomic seront détaillés. Puis les résultats obtenus à partir des campagnes d'analyses seront présentés et discutés sur le plan du niveau de contamination par les micropolluants organiques des puits de captage étudiés.

1. Aspect méthodologique

1.1. Sélection du panel de captages

Au début 2011, la société Saur exploitait en France 871 champs captants, constitués de forages actifs en permanence ou bien de manière discontinue (captages d'appoint, etc.). La Figure 1 illustre leur répartition géographique.

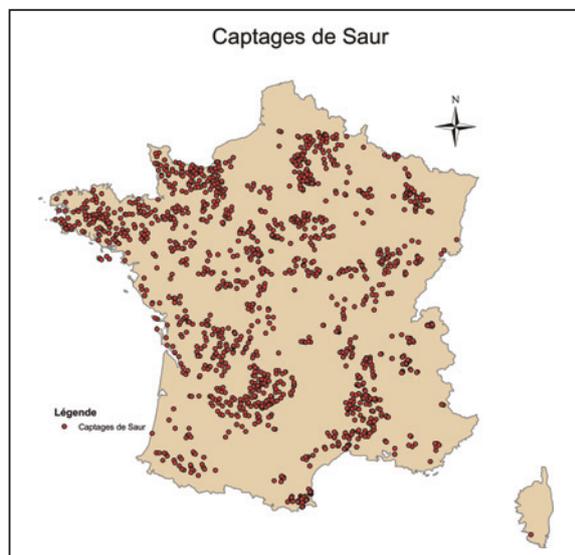


Figure 1. Répartition géographique des captages d'eaux souterraines gérés par la société exploitante

Pour limiter les coûts d'analyses et simplifier les campagnes de prélèvements, 15 captages ont été sélectionnés de la façon suivante (figure 2) :

- en respectant les diverses typologies de masses d'eau (caractéristiques hydrogéologiques, caractère karstique ou non de l'écoulement...) présentes dans le parc des 871 captages ;
- en privilégiant les captages avec les débits les plus élevés ou bien historiquement mieux renseignés, suivis ;
- en réalisant des entretiens téléphoniques avec les exploitants concernés ;
- en respectant certaines contraintes géographiques pour une meilleure logistique (sélection de captages regroupés...).

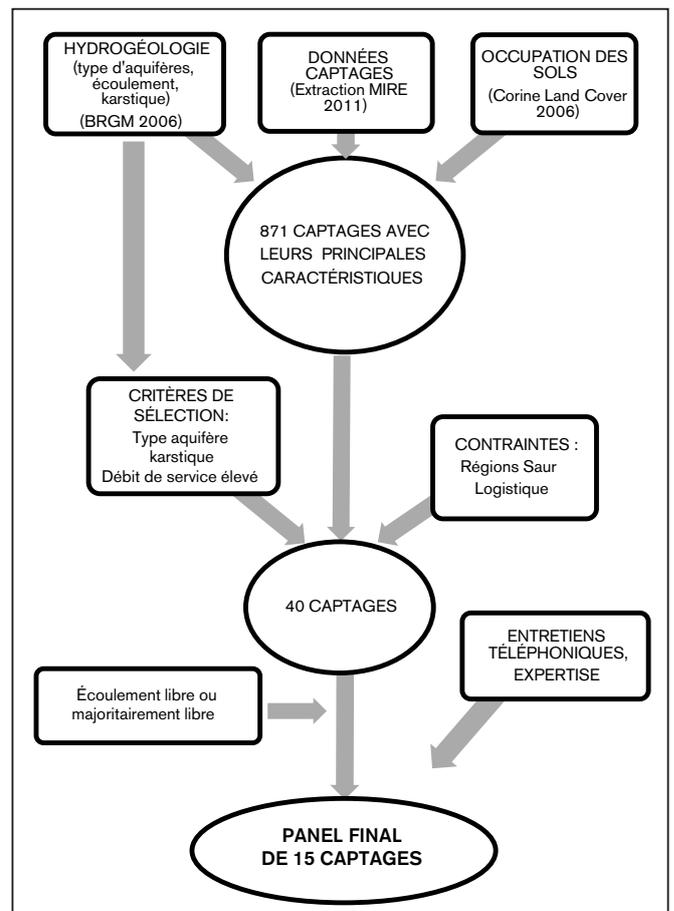


Figure 2. Schéma récapitulatif de la méthodologie mise en œuvre pour sélectionner le panel de captages

Afin de caractériser au mieux ces captages, différentes sources d'informations ont été consultées :

- la base de données patrimoniale de Saur recensant les installations, leur position, etc. ;
- la typologie des aquifères réalisée par le Bureau de recherches géologiques et minières (BRGM) en 2006, à la suite de la demande des agences de l'eau. Cette base de données a pour but d'installer un réseau de surveillance des masses d'eau dans le cadre de la directive cadre sur l'eau [5] et décrit les aquifères sur deux niveaux :
 - 1^{er} niveau, principal, avec les caractéristiques hydrogéologiques (type de réservoir, nature des écoulements) ;
 - 2^e niveau, avec le type d'écoulement rencontré (karstique, présence en frange littorale, regroupement d'aquifère) ;
- la base de données Corine Land Cover 2006, issue d'un projet réalisé par l'Agence européenne de l'environnement. Elle décrit l'occupation des sols

dans 38 États européens. La base de données est obtenue par photo-interprétation humaine d'images satellites de précision 20 m.

Connaissant la position GPS des captages, un traitement sous le logiciel ARCMAP (suite ARCGIS 9.3.1.) a permis de regrouper l'ensemble de ces informations.

Les caractéristiques des 15 captages retenus sont présentées dans le *Tableau I*. Deux catégories de captages apparaissent :

- ceux à faible densité de population, en zone naturelle, isolés, au sud-est ou à l'est, avec une faible présence de cours d'eau, composés de nappes sédimentaires et karstiques ;
- et ceux à forte densité de population, en zone

urbaine ou agricole, à l'ouest, avec une forte présence de cours d'eau, composés de nappes alluviales et non karstiques.

1.2. Analyse métabolomique

L'acquisition d'une empreinte chimique globale s'effectue en deux temps :

- les échantillons sont tout d'abord extraits et concentrés à l'aide d'un protocole sur cartouche d'extraction sur phase solide (SPE, de l'anglais *solid phase extraction*) ;
- ces échantillons sont analysés sur un appareil couplant la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse à haute résolution.

Dénomination des captages	Position géographique	Densité de population	Type géologique	Karst ou problème de turbidité	Type d'activités	Présence cours ou plan d'eau	Date des campagnes de prélèvement
A	Ouest	Forte	Alluviale ou proche d'un grand cours d'eau	Non	Zone urbaine ou assimilée	Faible ou nulle	06/2011 05/2012 10/2012
B	Ouest	Faible	Sédimentaire	Oui	Zone agricole	Faible ou nulle	06/2011 05/2012 10/2012
C	Ouest	Forte	Alluviale ou proche d'un grand cours d'eau	Non	Zone urbaine ou assimilée	Forte	07/2011 04/2012 10/2012
D	Centre-ouest	Moyenne	Sédimentaire	Oui	Zone agricole	Faible ou nulle	07/2011 04/2012 10/2012
E	Centre-ouest	Forte	Alluviale ou proche d'un grand cours d'eau	Non	Zone agricole	Forte	06/2011 03/2012 11/2012
F	Centre-est	Forte	Alluviale ou proche d'un grand cours d'eau	Non	Mixte	Moyenne	06/2011 03/2012 10/2012
G	Centre-est	Moyenne	Sédimentaire	Non	Zone agricole	Moyenne	06/2011 03/2012 10/2012
H	Nord	Faible	Sédimentaire	Oui	Zone agricole	Faible ou nulle	06/2011 03/2012 05/2012
I	Sud-ouest	Faible	Autre	Oui	Zone agricole	Faible ou nulle	07/2011 03/2012 12/2012
J	Centre-est	Forte	Autre	Non	Zone naturelle ou assimilée	Faible ou nulle	07/2011 02/2012 06/2012
K	Centre-est	Moyenne	Alluviale ou proche d'un grand cours d'eau	Non	Zone agricole	Forte	07/2011 02/2012 11/2012
L	Centre-est	Moyenne	Alluviale ou proche d'un grand cours d'eau	Non	Zone agricole	Forte	07/2011 02/2012 11/2012
M	Sud-est	Moyenne	Autre	Non	Zone agricole	Forte	07/2011 04/2012 10/2012
N	Sud-est	Faible	Alluviale ou proche d'un grand cours d'eau	Oui	Zone agricole	Faible ou nulle	07/2011 04/2012 10/2012
O	Sud-est	Faible	Sédimentaire	Oui	Zone naturelle ou assimilée	Faible ou nulle	07/2011 04/2012 10/2012

Tableau I. Les captages retenus pour les campagnes, leurs principales caractéristiques et les dates des campagnes de prélèvement (pour les paramètres densité de population, activité et cours d'eau, la valeur présentée est celle majoritaire dans un cercle de 5 km autour du captage)

Les fichiers générés contiennent des informations de type chromatographique (temps de rétention sur la colonne chromatographique) et spectrométrique (rapport masse sur charge) permettant de connaître la masse précise des molécules analysées et ainsi de générer une liste restreinte de formules brutes associées.

Tous les composés chimiques de référence (337 polluants > 95 % de pureté) ont été achetés chez Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). L'acétonitrile (ACN), le méthanol (MeOH) de qualité analytique ainsi que l'acide formique (HCOOH, > 99 %) ont été achetés via VWR International (Fontenay-sous-Bois, France). L'eau ultra pure (de qualité analytique) a été obtenue à partir d'un système Milli-Q (Millipore, Molsheim, France). Les cartouches d'extraction SPE Oasis HLB (1 g/20 mL) ont été achetées chez Waters (Guyancourt, France).

Trois campagnes de prélèvements ont été réalisées entre mi-2011 et fin 2012. Les échantillons d'eau brute souterraine ont été prélevés dans des bidons de 3 L en Nalgène. Si possible, les échantillons étaient prélevés au niveau du refoulement de la pompe du captage considéré, sinon, au niveau de la bêche de mélange des eaux brutes, lorsque l'alimentation était assurée par plusieurs puits de captage. Les échantillons étaient ensuite envoyés par transporteurs réfrigérés à 4 °C pour une analyse débutant dans les 24 à 48 heures après le prélèvement.

Dès leur arrivée, les échantillons ont été extraits extemporanément sur des cartouches SPE. La nature chimique du copolymère de cette phase extractive combinant un site hydrophile et hydrophobe lui confère des propriétés particulièrement intéressantes. En effet, le piégeage des molécules d'intérêt comme les pesticides (plutôt hydrophobes) et des médicaments (plutôt hydrophiles) a été réalisé avec une efficacité variant de 60 à 100 % selon les molécules et un rendement moyen de 92 %. Ce protocole de préconcentration des échantillons permet d'extraire et de concentrer jusqu'à 1 000 fois les échantillons initiaux.

Les échantillons concentrés ont ensuite été injectés sur un appareil couplant la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse à haute résolution utilisant la technologie Orbitrap. Le système chromato-

graphique Nexera LC-30AD (Shimadzu, Marne-la-Vallée, France) composé d'un passeur d'échantillon thermostaté à 4 °C, d'une pompe binaire et d'un four à colonne confiné à 30 °C a été utilisé. Les échantillons ont été injectés en utilisant un gradient dans la colonne chromatographique Xterra C18 (150 x 2,1 mm et 5 µm de particules, Waters, Guyancourt, France) permettant une analyse résolutive des polluants. Le spectromètre de masse Exactive (ThermoFischer Scientific, Les Ulis, France) en mode d'ionisation positif et négatif à une résolution de 50 000 à la masse 200 uma a été utilisé. L'acquisition a été effectuée sur la gamme de masse 85 et 1 000 uma avec une précision inférieure à 5 ppm sur la base de la masse exacte. Les données générées sont donc des empreintes globales de chaque eau contenant plusieurs milliers de pics.

1.3. Traitement des données

Les spectres de masse ont ensuite été traités à l'aide de la librairie XCMS [6] du logiciel R [7] afin d'obtenir une matrice de données regroupant l'ensemble des signaux détectés, caractérisées par leur temps de rétention en chromatographie liquide et leur rapport masse sur charge, ainsi que par leurs intensités dans les échantillons analysés. Une liste de polluants à rechercher de manière ciblée a été constituée avec une priorité donnée sur les médicaments en se basant notamment sur le rapport « Médicaments et environnement » de l'Académie nationale de pharmacie [8] sur les molécules jugées préoccupantes. Elle a ensuite été complétée par des médicaments rares, notamment des anticancéreux, ou fréquemment prescrits : anti-hypertenseurs, antidépresseurs, analgésiques et hormones. Des pesticides ont également été ajoutés en prenant soin de sélectionner des substances déjà utilisées en France, mais pouvant être interdites à ce jour, et toxiques pour l'homme et/ou l'environnement. Finalement, un total de 337 polluants a été recherché, dont la répartition en neuf catégories de molécules est indiquée *tableau II*. La recherche de ces polluants est fondée sur la comparaison avec une base de données interne à Profilomic en s'appuyant non seulement sur les temps de rétention et les rapports masse sur charge, mais aussi sur les similitudes des massifs isotopiques observés ainsi que sur

la présence éventuelle d'adduits et/ou de fragments. Seuls les signaux dont l'intensité était supérieure au bruit de fond et aux observations faites dans les échantillons témoins (eau déminéralisée) ont été considérés comme des détections positives. L'ensemble des résultats positifs a enfin été soumis à une validation experte basée sur l'inspection manuelle des spectres de masse.

Catégories	Nombre de molécules
Acaricides	8
Antibiotiques	57
Autres médicaments	148
Fongicides	31
Herbicides	41
Insecticides	26
Toxines	1
Plastifiants/produits industriels	17
Substances vétérinaires	8

Tableau II. Répartition des 337 polluants en neuf catégories

Certaines molécules étant attendues d'après l'expertise Saur, il a été décidé de quantifier leur présence afin d'offrir un point de comparaison avec la méthode développée par la société Profilomic et ainsi mieux appréhender sa sensibilité. Pour cela, des analyses conventionnelles ont été réalisées par deux laboratoires de référence (accrédités Cofrac pour leurs analyses).

2. Résultats et discussion

2.1. Comparaison des résultats des deux méthodes analytiques

Les échantillons fournis par Saur ont été analysés par deux méthodes :

- une méthode globale et sans a priori de type métabolomique. Contrairement à la technique dite conventionnelle réalisée sur des spectromètres de masse de type quadripolaire utilisant le mode *multiple reaction monitoring* (MRM), l'approche de la société Profilomic ne cible pas de composés en

particulier. Cette méthode permet la détection d'un maximum de molécules possibles afin de constituer des empreintes riches en informations qui pourront se prêter à de multiples fouilles de données avec différents objectifs. Les outils de retraitement de données employés lors des approches métabolomiques sont ici utilisés et plusieurs centaines de molécules sont suivies, cette approche est appelée ci-dessous « criblage large spectre » ;

- un ensemble d'analyses ciblées et réglementaires appelées ci-dessous analyses conventionnelles (réalisées par des laboratoires de référence).

Parmi les 337 polluants recherchés par criblage large spectre, 51 ont été détectés au moins une fois. Les zones de recouvrement des deux approches ont été évaluées afin de permettre de mieux appréhender leurs intérêts respectifs. Pour cela, seules les molécules recherchées de façon commune par les deux méthodes ont été étudiées, soit 37 polluants. Parmi eux, six n'ont été détectés que par les analyses conventionnelles (figure 3). Cette différence provient de la démarche même des techniques utilisées. En effet, dans la méthodologie conventionnelle, les analyses sont spécifiques à chaque classe de molécule. Ainsi les étapes d'extraction et de détection des molécules sont optimisées et adaptées à chacune des classes de molécules que l'on cherche à quantifier. À l'inverse, les analyses de criblage se veulent globales et les plus universelles possible. Ainsi une méthode d'extraction unique est employée et les composés extraits sont tous analysés avec les mêmes paramètres. Par conséquent, certaines molécules ne sont pas détectées ou avec des sensibilités très faibles. La méthode utilisée résulte d'un compromis : si elle était optimisée en vue de détecter les six composés qui n'ont pas été décelés, cela réduirait le nombre total d'espèces chimiques détectées et limiterait donc la polyvalence de l'approche. En revanche, 17 molécules n'ont été détectées que par le criblage large spectre. En effet, les analyses conventionnelles sont réalisées dans un cadre réglementaire avec des exigences en matière de sensibilité souvent supérieures aux limites de détection des appareillages récents employés pour les analyses de criblage.

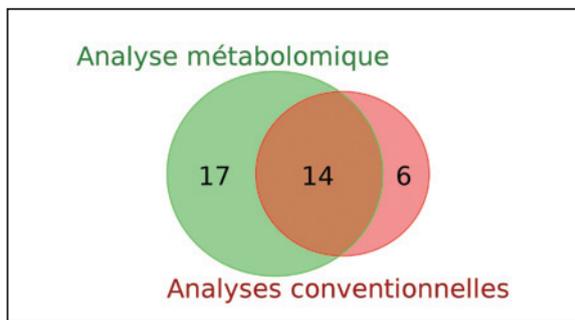


Figure 3. Nombre de polluants détectés au moins une fois selon chaque méthode d'analyse parmi les 37 polluants recherchés en commun

Enfin, 14 polluants parmi les 37 molécules recherchées de façon commune ont été trouvés au moins une fois par chacune des deux méthodes. Pour chacune de ces molécules et chacune des campagnes, des tests statuant sur sa présence dans un puits de captage ont alors été réalisés : 14 molécules \times 15 captages \times 3 campagnes de prélèvements, soit un total de 630 tests. Dans 47 % des cas (296 tests), les deux méthodes sont négatives (la molécule n'est détectée ni par criblage, ni par l'analyse conventionnelle) et, dans 66 tests, les deux méthodes sont positives. Dans 10 % des cas (66 tests), l'analyse conventionnelle est positive tandis que l'analyse métabolomique est négative. Enfin, dans 41 % des cas (262 tests), l'analyse conventionnelle est négative tandis que les approches de criblage sont positives. Ces résultats montrent tout d'abord que les deux méthodes aboutissent à des résultats cohérents et, par ailleurs, que le criblage large spectre semble beaucoup plus sensible. Cette différence de sensibilité pourrait en partie être liée à la technologie de l'appareil utilisé.

2.2. Polluants quantifiés par les analyses conventionnelles

L'approche de criblage large spectre employé n'étant pas une méthode quantitative, des analyses conventionnelles ont été menées afin de déterminer les concentrations de polluants détectés pour certaines des molécules des catégories médicaments et pesticides. Des méthodes reposant sur l'utilisation de chromatographie liquide ou gazeuse couplées à de la spectrométrie de masse ont été utilisées, quatre pour l'analyse des pesticides et deux pour l'analyse des produits pharmaceutiques. Ainsi, sur les 66 tests

positifs (§ 2.1) les concentrations de polluants quantifiées par analyse conventionnelle varient de 0,005 $\mu\text{g/L}$ (sulfaméthoxazole) à 0,55 $\mu\text{g/L}$ (2-hydroxyatrazine). On peut donc penser que pour les 262 tests positifs uniquement par criblage, les quantités détectées sont inférieures aux concentrations des molécules détectées par les deux méthodes et quantifiées par les analyses conventionnelles. Ces observations montrent la pertinence et la sensibilité de l'approche globale par spectrométrie de masse haute résolution, et surtout que les quantités de polluants trouvées dans les puits de captage sont globalement inférieures aux limites réglementaires. Les niveaux de concentration en pesticides et en produits pharmaceutiques sont présentés figures 4 et 5.

Les captages sélectionnés présentent différents types de réponses en matière de pollution en pesticides. Le nombre de molécules quantifiées par captage varie de 0 (captages J et O) à 9 (captage H) et reste de manière générale inférieur ou égal à 4. La valeur extrême trouvée pour le captage H peut s'expliquer par un taux de précipitation important la veille de la campagne de prélèvement, aux alentours de 25 mm, pouvant entraîner une pénétration directe de la pollution dans la nappe de cet aquifère karstique. De plus, parmi les 15 captages suivis, trois (A, B et H) présentent une concentration totale en pesticides supérieure ou égale à 0,5 $\mu\text{g/L}$. Pour les autres, la concentration totale est inférieure ou égale à 0,2 $\mu\text{g/L}$. La famille des triazines est majoritairement repré-

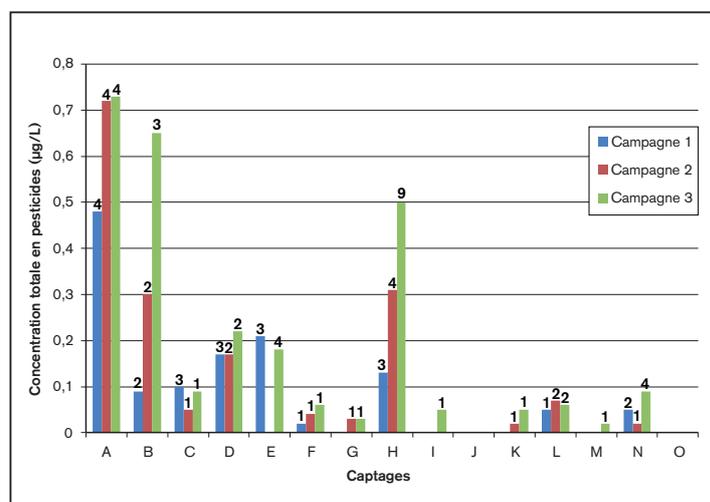


Figure 4. Concentration totale en pesticides par captage et par campagne (le nombre de substances trouvées est mentionné au-dessus des séries de données)

sentée, et plus particulièrement la 2-hydroxyatrazine (métabolite de l'atrazine) dépassant 0,1 µg/L dans sept cas, seuls les captages J et O n'en ont pas présenté. Même si l'atrazine a été interdite en 2003, sa persistance dans l'environnement entraîne une présence importante de ses métabolites dans les eaux souterraines.

En ce qui concerne les produits pharmaceutiques, quatre captages (D, F, G et H) n'ont pas montré de contamination. Près de la moitié des échantillons contaminés ne le sont qu'avec une substance. En matière de concentration, près d'un tiers des échantillons positifs ont une concentration totale inférieure ou égale à 20 ng/L. La concentration totale maximale est de 157 ng/L dont 151 ng/L de caféine (captage K).

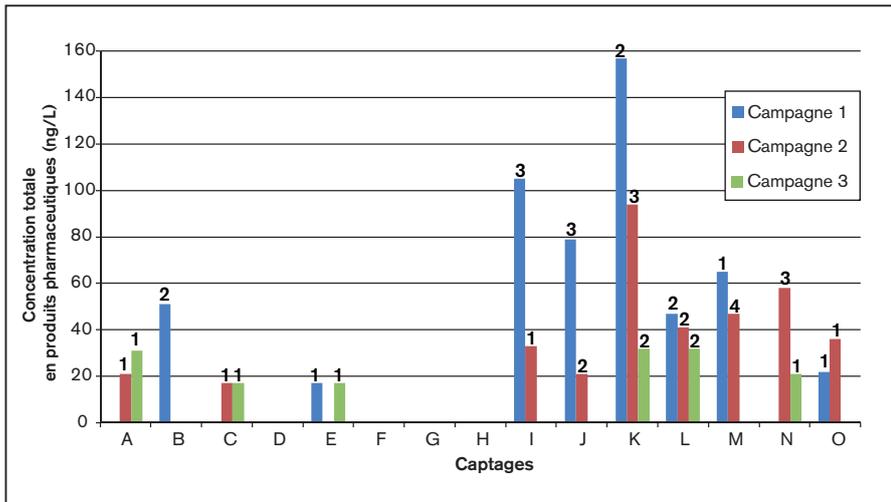


Figure 5. Concentration totale en produits pharmaceutiques par captage et par campagne (le nombre de substances trouvées est mentionné au-dessus des séries de données)

Notons que seuls les captages K et L présentent une contamination à un ou plusieurs produits pharmaceutiques lors des trois campagnes. Les molécules les plus fréquemment trouvées sont la carbamazépine (antiépileptique), la caféine (stimulant psychotrope) et le sulfaméthoxazole (antibiotique humain et vétérinaire).

2.3. Polluants détectés par criblage large spectre

La figure 6 présente les fréquences auxquelles a été détecté chacun des

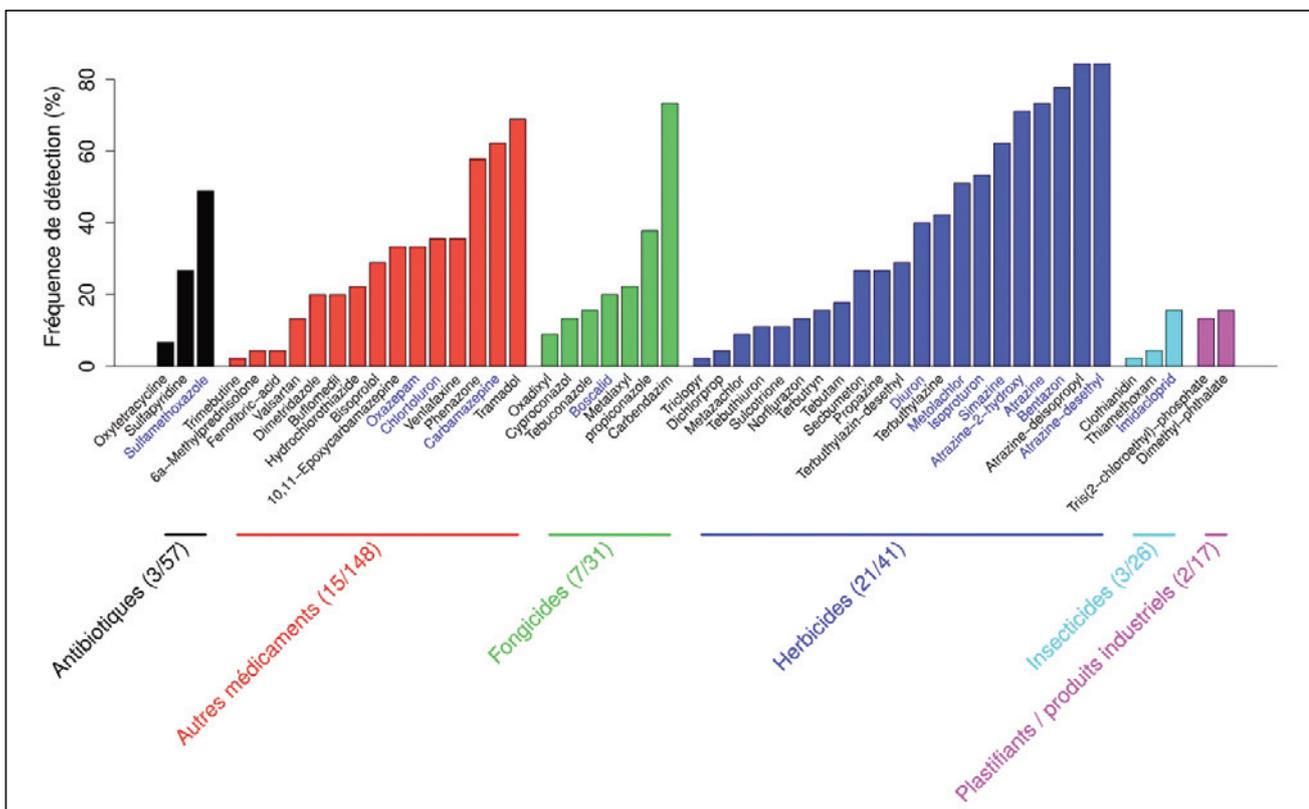


Figure 6. Fréquences de détection des 51 polluants parmi les 45 tests effectués. Les noms des composés détectés par les deux approches sont indiqués en bleu

51 polluants repérés au moins une fois parmi les 45 tests effectués par molécule (15 captages × 3 campagnes de prélèvement). Ces fréquences de détection vont de 2 % à 84 % pour les polluants les plus courants. Un quart de ces 51 molécules est détecté dans plus de 46 % des cas. Six catégories de polluants ont été trouvées : 3 antibiotiques, 15 autres médicaments, 7 fongicides, 21 herbicides, 3 insecticides et 2 plastifiants.

Les polluants trouvés correspondent à l'occupation du territoire et aux pratiques locales. Ainsi, les acaricides n'étant pas détectés, il semblerait qu'ils soient peu ou pas utilisés dans les régions concernées. Des insecticides à spectre large sont plus souvent utilisés tels que l'imidaclopride. En ce qui concerne les produits pharmaceutiques vétérinaires, ils sont excrétés, de la même façon que les produits pharmaceutiques humains, dans les urines et fécès des animaux sous forme inchangée ou métabolisée. Cependant, l'approche de la contamination est différente, car leur utilisation est moins systématique (seulement en cas de maladie par ordonnance vétérinaire) et la pollution est diffuse. En effet, ces substances sont introduites indirectement par lessivage des biosolides issus de déjections animales épandues sur les sols agricoles, puis par infiltration [9]. Ce qui peut expliquer leur faible occurrence dans les eaux souterraines. La même constatation a été faite en eau de surface [10] : soit ils ne sont pas quantifiés, soit ils le sont à des concentrations très faibles, de l'ordre du ng/L. À noter que certains antibiotiques vétérinaires et humains sont analogues tels que le sulfaméthoxazole et l'oxytétracycline.

La figure 7 représente le nombre de polluants détectés au moins une fois par puits de captage. Seulement deux polluants ont été trouvés dans le captage le moins pollué contre 37 dans le plus pollué. En moyenne, pour chaque captage, les deux tiers des molécules ont été détectés à plusieurs reprises. Deux exceptions sont à noter : le captage I pour lequel 23 des 25 polluants détectés ont uniquement été repérés lors de la troisième campagne de prélèvement et le captage L pour lequel seulement un seul des 24 polluants détectés a été repéré lors de la troisième campagne de prélèvement. Par ailleurs, la répartition des molécules détectées diffère selon les puits de

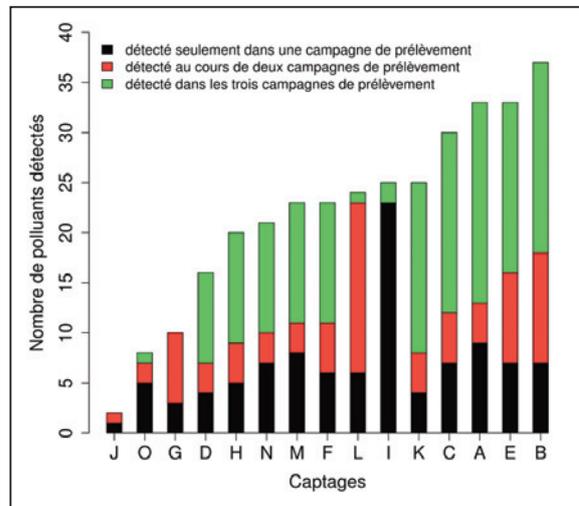


Figure 7. Nombre de polluants détectés au moins une fois par puits de captage

captage, conséquence probable d'une pollution de nature différente selon le territoire concerné.

2.4. Liens entre les caractéristiques du territoire et des aquifères et le risque de pollution par les micropolluants

L'existence ou l'absence de relation entre les caractéristiques du territoire ou le type d'aquifère de chacun des captages présentés *tableau I* et le risque global de pollution a été estimé par des tests du khi2. Les résultats sont présentés dans le *tableau III*.

Sur l'ensemble des captages, le risque global de présence des polluants est indépendant (valeur p du test du khi2 = 0,12) de la campagne, bien que les conditions climatiques aient différencié entre les trois prélèvements, notamment la pluviométrie.

De plus, ces tests statistiques permettent de dégager les tendances suivantes :

	Valeur p des tests du khi2 sur le nombre de polluants détectés
Campagne	N.S. 0,12
Densité de population	S. $2,01 \cdot 10^{-4}$
Type de nappe	S. $< 2,2 \cdot 10^{-16}$
Karst	S. 0,012
Type d'activité	S. $< 2,2 \cdot 10^{-16}$
Présence cours d'eau	S. $3,47 \cdot 10^{-10}$
Position géographique	S. $< 2,2 \cdot 10^{-16}$
Captage	S. $< 2,2 \cdot 10^{-16}$

Tableau III. Valeur p des tests du khi2 (N.S. : non significatif ; S. : significatif)

- une forte densité de population est associée à un plus grand risque de pollution qu'une densité faible ou moyenne ;
- les nappes alluviales paraissent plus polluées que les nappes sédimentaires ;
- les nappes non karstiques sont ici plus polluées que les nappes karstiques, ce qui n'est pas forcément vérifié sur le terrain puisqu'une étude à long terme est menée sur le captage H et montre une pollution importante en période de fortes pluies ;
- un captage en zone urbaine est plus sensible qu'en zone agricole ou naturelle, un captage en zone agricole est plus sensible qu'en zone naturelle ;
- les captages en zone agricole présentent une pollution en pesticides plus importante qu'en produits pharmaceutiques ;
- une présence importante de cours d'eau est plus associée à un risque accru de pollution qu'une présence nulle, faible ou moyenne ;
- les captages situés à l'ouest sont associés à un risque plus fort de pollution que les captages isolés, à l'est ou au sud-est. Les captages isolés sont plus pollués en pesticides qu'en produits pharmaceutiques.

Ces tendances ne traduisent pas nécessairement des liens de cause à effet et certaines peuvent être la conséquence de facteurs partiellement confondants du fait du plan d'expérience assujéti à des contraintes, notamment logistiques et de représentativité du parc exploité par Saur. Finalement, ces résultats vont permettre de renforcer la surveillance des captages présentant le plus grand risque de pollution.

Conclusion

Cette étude avait pour objectif la caractérisation physico-chimique de 15 puits de captage en France. Une approche innovante et sensible a donc été développée lors de ce travail collaboratif entre Saur et Profilomic avec, pour objectifs, l'estimation du niveau de contamination de ces 15 puits de captage par les micropolluants organiques à l'aide d'un criblage ciblé d'une large liste de polluants connus.

Les résultats de cette étude montrent que l'acquisition d'une empreinte chimique permet de détecter

des molécules polluantes en plus grand nombre et vraisemblablement à de plus faibles concentrations que les analyses conventionnelles. Cependant, les analyses conventionnelles ont permis la quantification des principaux polluants trouvés et ont ainsi montré des niveaux de concentrations généralement faibles pour l'ensemble des molécules, excepté pour certains pesticides, lesquels peuvent dépasser ponctuellement les 0,1 µg/L. Le criblage large spectre conforte cette idée de pollution relativement faible si l'on considère que les polluants supplémentaires détectés le sont à des concentrations plus faibles. De plus, différents polluants peuvent être trouvés selon l'occupation majeure du territoire (zone à dominante urbaine, agricole ou naturelle). Cette approche nouvelle est une technique d'avenir complémentaire aux analyses conventionnelles permettant la détection de nombreuses molécules analysables par spectrométrie de masse. Ainsi, des analyses ciblées sur des listes prédéfinies de polluants de plus en plus vastes seront alors possibles, notamment grâce à l'incrémentation en continu par la société Profilomic de ses bases de données.

De plus, il existe une micropollution environnementale peu ou pas prise en compte à l'heure actuelle constituée principalement de composés inconnus ou non suivis. Les listes de polluants recherchés ne contiennent donc qu'une infime partie de la multitude des molécules potentiellement présentes dans l'environnement, pouvant notamment être générées par des transformations abiotiques ou biologiques formant ainsi des sous-produits de dégradation et de métabolisation. Une autre approche, plus globale et permettant la mise en évidence de certaines de ces molécules, consisterait à comparer, par une étude statistique, les empreintes chimiques de plusieurs échantillons pour en faire ressortir sans *a priori* les molécules qui les discriminent.

Enfin, les analyses statistiques réalisées sur les données obtenues par le criblage et les données recensées par Saur pour la caractérisation de ses captages a permis de mettre en évidence certains paramètres liés à un risque de pollution accru. Parmi ceux-ci peuvent être citées une forte densité de population, une géologie de type alluviale et une présence forte de cours d'eau.

Bibliographie

- [1] « Des traces de pesticides et de médicaments retrouvées dans des bouteilles d'eau ». *LeMonde.fr* : http://www.lemonde.fr/planete/article/2013/03/25/des-traces-de-pesticides-et-de-medicaments-retrouvees-dans-des-eaux-en-bouteille_1853519_3244.html (consulté en décembre 2014).
- [2] Liste des captages retenus dans le cadre du « Grenelle ». Téléchargeable sur : http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/liste_capt_grenelle_260509.pdf (consulté en décembre 2014).
- [3] HUMBERT D. (2009) : « La protection des aires d'alimentation de captages contre les pollutions diffuses ». *Géologues* ; 163 : 41-46.
- [4] ANSES (2011) : « Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine ». ANSES, 2011, 31 p.
- [5] GOURCY L., VERNOUX J.F. (2006) : *Élaboration des réseaux de surveillance des masses d'eau souterraine du Bassin Seine-Normandie – Rapport final de phase 1*. BRGM/RP-54557-FR, 49 p.
- [6] SMITH C.A., WANT E.J., O'MAILLE G., ABAGYAN R., SIUZDAK G. (2006) : « XCMS: Processing mass spectrometry data for metabolite profiling using nonlinear peak alignment, matching and identification ». *Analytical Chemistry* ; 78 : 779-787.
- [7] R CORE TEAM (2013) : *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- [8] ACADEMIE NATIONALE DE MÉDECINE (2008) : *Médicaments et environnement*. Rapport. Consultable sur : www.acadpharm.org/dos_public/1_Rapport_Med_Env_version_JMH_def_JPC.pdf (consulté en décembre 2014).
- [9] MOMPÉLAT S., LE BOT B., THOMAS O. (2009) : « Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water ». *Environment international* ; 35 : 803-14.
- [10] KEMPER N., 2008, *Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment*. *Ecol Indic* ; 8:1-13.

Résumé

J. COTTON, V. SABARLY, C. DUCRUIX, F. NAULEAU, S. MASCLÉ, S. PIEL, C. JUNOT

Utilisation de l'approche métabolomique pour l'évaluation de la composition en micropolluants des eaux souterraines destinées à la production d'eau potable

La pollution environnementale est un problème majeur qui n'épargne pas les ressources en eau. À ce jour, les eaux de surface et les eaux souterraines sont très surveillées, car particulièrement exposées aux pesticides, mais des interrogations demeurent quant à la présence d'autres substances organiques (produits pharmaceutiques, plastifiants et autres produits industriels...).

La société Saur souhaitant élargir ses connaissances sur les ressources en eau souterraine afin de proposer des solutions de traitement adaptées, une nouvelle méthode fondée sur une approche métabolomique a été développée en collaboration avec la société Profilomic. Elle s'appuie sur l'acquisition d'une empreinte chimique globale de l'échantillon et permet la recherche de listes exhaustives de polluants connus lors d'une seule analyse. Cette méthode de criblage a été testée sur une sélection de 15 puits de captage exploités par Saur ; l'objectif

étant d'estimer l'état des nappes en fonction des caractéristiques des aquifères tout en étant le plus exhaustif possible vis-à-vis du nombre de molécules présentes. Ainsi, trois campagnes de prélèvements ont été menées par l'équipe R&D Saur sur les 15 puits de captage sélectionnés et les analyses ont été réalisées par le laboratoire Profilomic et deux laboratoires de références. Les résultats montrent que l'approche métabolomique permet de détecter un plus grand nombre de polluants que les analyses conventionnelles. Le couplage des résultats met en évidence une pollution relativement faible excepté ponctuellement pour certains pesticides. Enfin, les analyses statistiques ont permis d'identifier les différents profils de pollution des captages et ainsi de mettre en évidence les points sensibles qui pourront faire l'objet d'une fouille de données approfondie pour la recherche de molécules inconnues ou non recherchées.

Abstract

J. COTTON, V. SABARLY, C. DUCRUIX, F. NAULEAU, S. MASCLÉ, S. PIEL, C. JUNOT
Application of metabolomics to assess the micro-pollutant content of groundwater used for the production of drinking water

Environmental pollution is a major problem that does not spare water resources. Whereas surface waters and groundwaters are closely monitored given that they are particularly prone to pesticides, questions remain about the presence of others organic substances (pharmaceuticals, plasticizers and other industrial products...). Saur company is wishing to broaden their knowledge on groundwater resources in order to offer solutions suitable for treatment, a new method based on a metabolomic approach was developed in collaboration with Profilomic company. It relies on the acquisition of a comprehensive chemical fingerprint of the sample and allows searching for exhaustive lists of known pollutants in a single analysis. This screening method was tested on a selection of 15 collection wells operated by Saur, the objective being

to estimate the state of the water depending to the characteristics of aquifers while being as comprehensive as possible regarding the number of molecules present. Thus, three sampling campaigns were conducted by the Saur R&D team on the 15 selected wells and the analyses were performed by the laboratory Profilomic and 2 reference laboratories. The results show that the metabolomic approach can detect more pollutants than the conventional analysis. The coupling of the results showed a relatively low pollution except occasionally for some pesticides. Finally, statistical analyzes were used to identify different profiles of pollution in collection wells and highlight the sensitive points whose data could be searched more thoroughly for unknown or unintended molecules.



27 | 28
mai 2015

HydroGaïa

Salon International de l'Eau

Montpellier - France | Parc des Expositions

LE RENDEZ-VOUS BUSINESS
DES PROFESSIONNELS DE LA FILIÈRE EAU

www.hydrogaia-expo.com

CREATED BY
 MONTPELLIER
EVENTS

Montpellier Events RCS B 382 591 881 - 01/2015