



Programme d'analyse chimique ,Rhin` Analyse spéciale CLHP-SM/SM 2013

Internationale
Kommission zum
Schutz des Rheins

Commission
Internationale
pour la Protection
du Rhin

Internationale
Commissie ter
Bescherming
van de Rijn

Rapport n° 221



Editeur:

Comission Internationale pour la Protection du Rhin (CIPR)
Kaiserin-Augusta-Anlagen 15, 56068 Coblenze, Allemagne
Postfach 20 02 53, 56002 Coblenze, Allemagne
Téléphone +49-(0)261-94252-0, téléfax +49-(0)261-94252-52
Courrier électronique: sekretariat@iksr.de
www.iksr.org

ISBN 978-3-941994-66-9
© IKSr-CIPR-ICBR 2015

1. Introduction

Un programme d'analyse spécial a été mis en œuvre dans le cadre du programme d'analyse chimique 'Rhin' 2013 pour identifier, à l'aide de la méthode d'analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem mise au point en Suisse, de nouvelles substances dans l'eau du Rhin. Lors de la campagne d'analyse de 2013, les prélèvements ont eu lieu 4 fois dans les stations d'analyse suivantes :

- Weil am Rhein(voir photo 1)
- Karlsruhe/ Lauterbourg
- Coblenz-Rhin(voir photo 2)
- Coblenz-Moselle
- Bad Honnef
- Bimmen-Lobith(voir photo 3)
- Bischofsheim-débouché du Main
- Mannheim-Neckar
- Maassluis

Photo 1 : station d'analyse de Weil am Rhein (droits : AUE-Bâle-Ville)



Photo 2 : station d'analyse de Coblenze/Rhein (photographe : Schwandt, droits : BfG)



Photo 3 : station d'analyse de Bimmen (droits : LANUV-NRW)



2. Etat actuel de l'analyse CLHP-SM/SM

L'analyse environnementale constitue un outil important de détection d'éléments traces indésirables tels que les produits chimiques ménagers, agricoles et industriels, les pesticides ou les médicaments dans les eaux usées, les eaux de surface et les eaux souterraines. Le plus grand défi que doit relever ce type d'analyse vient du fait que les concentrations sont faibles et les substances très nombreuses et qu'il convient en outre de les déterminer de manière sensible. Il est donc essentiel de promouvoir la création et le perfectionnement de méthodes d'identification spécifiques et sensibles.

Pour répondre au souhait de recenser le plus de substances possible au travers de méthodes multiformes et d'identifier simultanément des composés inconnus, de nouveaux spectromètres de masse à haute résolution ont été mis en place dans le cadre

des analyses environnementales, comme par exemple le système Orbitrap. Un tel système a été appliqué dans le présent programme spécial d'analyse.

Cette nouvelle méthode d'analyse est utilisée journalièrement depuis trois ans dans la station d'analyse de Weil am Rhein. Des échantillons d'eau sont analysés tous les jours pour la détection de tendances d'évolution de la qualité des eaux dans le long terme et pour l'identification rapide de rejets accidentels et d'avaries. L'Eawag (Institut de Recherche de l'Eau du Domaine des EPF) a mis au point à cette fin une stratégie d'analyse à plusieurs niveaux en coopération avec l'Office de l'Environnement et de l'Energie de Bâle-Ville :

Volet 'Target'

Les échantillons sont analysés en l'espace d'une journée pour l'identification de substances connues. La liste des substances connues regroupe actuellement 300 produits chimiques (mise à jour de septembre 2014) et leurs produits de transformation entrant dans les catégories des pesticides, biocides, médicaments, narcotiques, produits chimiques industriels (rapport CIPR n° 202), produits anticorrosifs (rapport CIPR n° 183) et édulcorants. La liste est régulièrement remise à jour (résultats des analyses des programmes nationaux et internationaux de surveillance).

Cette méthode multi-composants a également été appliquée dans le cadre de l'analyse spéciale.

Volet 'Non Target'

Malgré le large éventail de substances que couvre le 'Target Screening', le pourcentage de substances réellement détectées par rapport à celles présentes dans le Rhin reste inconnu. Pour déterminer également ces substances inconnues, l'Eawag a mis au point un programme permettant d'extraire tous les signaux de substances enregistrés à partir des données de la spectrométrie de masse. Après retrait du bruit de fond et des signaux des valeurs à blanc, il reste environ jusqu'à 8 000 substances inconnues. La formule brute vraisemblable d'une substance peut lui être attribuée dans une première étape à l'aide de la masse exacte et du profil isotopique. La deuxième étape consiste à rechercher des structures moléculaires adaptées dans des banques de données spécialisées. Ces différentes étapes ne sont pas encore automatisables et nécessitent donc beaucoup de temps. On arrive toutefois à reconnaître et identifier régulièrement de nouvelles substances. On citera par exemple la détection de la méthadone. La présence d'une masse déterminée durant trois jours consécutifs a enclenché une série de clarifications. Après détermination de la formule brute et comparaison du résultat avec les informations de banques de données dans les bibliothèques publiques de spectres, on a pu affecter une structure à la substance inconnue. La comparaison avec un matériau de référence a permis d'identifier définitivement la substance. La substance s'est avérée être de la méthadone ; une fois la substance identifiée, il a également été possible de déterminer le rejeteur.

Un nouveau logiciel est en cours de développement pour les substances non ciblées. Cet outil devrait aider à mieux prioriser les données et, par là même, à mieux identifier les masses jugées « intéressantes ».

Les nouvelles substances pour le programme d'analyse chimique élargi 'Rhin' 2015-2020 proviennent exclusivement de la « liste des substances ciblées ». L'analyse des substances non ciblées gagnera en importance lorsque la méthode aura été établie dans plusieurs laboratoires le long du Rhin.

3. Analyse spéciale des échantillons sur le linéaire du Rhin et des affluents à l'aide de la méthode CLHP-SM/SM

Les résultats des quatre prélèvements effectués sont présentés sous forme succincte dans le chapitre 3.

3.1 Evaluation selon la fréquence d'apparition

Les données détaillées et validées des analyses effectuées dans le cadre de l'analyse spéciale, ainsi qu'une évaluation statistique, sont rassemblées dans un tableau Excel disponible sur demande auprès du secrétariat.

Le tableau 1 présente l'évaluation de l'analyse spéciale des substances détectées dans toutes les stations dans des concentrations inférieures à la limite de quantification. On note que le groupe des médicaments est celui qui rassemble le plus de substances individuelles détectées.

Tableau 1 : substances présentes dans toutes les stations d'analyse (> LQ)

Médicaments	Substances individuelles
Candésartan	5-méthylbenzotriazole
Métoprolol	Benzotriazole
Sitagliptine	2-acide naphthalène-sulfonique
Carbamazépine	tétraglymes
Lamotrigine	
Sulfaméthoxazole	Métabolites
Lévétiracétam	Acide de valarstan
Telmisartan	4-formylaminoantipyrine
Oxazépam	N-acétyl-4-aminoantipyrine
Amisulpride	Acide d'aténolol
Venlafaxine	Carbamazépine-10,11-dihydro-10,11-dihydroxy
Phénazone	ESA-métolachlore
Clarithromycine	Acide de clopidogrel
Lidocaïne	2-hydroxyatrazine
Metformine	
Gabapentine	Edulcorants
Valsartan	Acésulfame
O-desvenlafaxine ¹	Acide de cyclohexylsulfamate
Tramadol ¹	Sucralose
	Saccharine
Produits phytosanitaires	
DEET	Agents de contraste radiographiques
Carbendazime	Ioméprol ²
Métolachlore	Iopamidol ²

3.2. Evaluation en fonction de la concentration

On a choisi pour l'évaluation en fonction de la concentration la valeur de 0,3 µg/l, ce qui correspond à la valeur d'orientation du Plan International d'Avertissement et d'Alerte 'Rhin' pour les biocides (substances individuelles), les produits phytosanitaires (substances individuelles) et les produits pharmaceutiques (substances individuelles).

L'évaluation de l'analyse spéciale réalisée sur la base de la concentration figure dans le tableau 2.

1 a été recensé comme somme de O-desvenlafaxine et de tramadol
2 a été recensé comme somme de l'ioméprol et de l'iopamidol

Tableau 2 : substances, dont la concentration est > 0,3µg/l

Médicaments	Substances individuelles
Furosémide (4,37 µg/l)	Acide paratoluènesulfonique (1,88 µg/l)
Metformine (1,87 µg/l)	5-méthylbenzotriazole (1,61 µg/l)
Hydrochlorothiazide (0,35 µg/l)	Benzotriazole (1,44 µg/l)
Gabapentine (0,87 µg/l)	Acide 2,7-naphtalènedisulfonique (0,68 µg/l)
Valsartan (0,31 µg/l)	Acide 2-naphtalènesulfonique (0,44 µg/l)
Métabolites	Agents de contraste radiographiques
Acide de valarstan (0,55 µg/l)	Iopromide (0,54 µg/l)
Métazachlore-OXA (0,41 µg/l)	
Métazachlore-ESA (0,54 µg/l)	Edulcorants
4-formylaminoantipyrine (0,40 µg/l)	Acésulfame (3,17 µg/l)
N-acétyl-4-aminoantipyrine (0,38 µg/l)	Acide de cyclohexylsulfamate (1,29 µg/l)
Acide d'aténolol (0,32 µg/l)	Sucralose (0,83 µg/l)
	Saccharine (0,41 µg/l)

3.3. Evaluation selon la concentration et la fréquence

Il est prévu d'intégrer également dans le programme d'analyse élargi du programme d'analyse chimique 'Rhin' 2015-2020 les substances ayant présenté des anomalies importantes dans le cadre du programme d'analyse spécifique réalisé en 2013. Les résultats du programme d'analyse spécifique sont évalués de deux manières (tableau 3) :

1. selon la concentration maximale de la substance ;
2. selon la fréquence de la substance dans les stations analysées.

Tableau 3 : système de points pour l'évaluation de la présence d'une substance

Nombre de points pour			
les concentrations [µg/l]		la fréquence par rapport au nombre d'analyses	
Valeur	Points	Valeur	Points
> 1	100	100 %	100
> 0,75	75	> 75 %	75
> 0,5	50	> 50 %	50
> 0,3	30	> 25 %	25
> 0,1	10	> 0%	20
> 0,03	4		
> 0,01	1		

Des points ont été attribués aux substances en fonction du résultat de cette évaluation. Une substance peut obtenir au plus 200 points. Les substances auxquelles ont été attribués plus de 100 points ont été intégrées dans la liste de substances du programme d'analyse élargi. La liste de nouvelles substances a été complétée par les substances complémentaires déclarées par les Etats ou les Länder fédéraux allemands et qui n'ont pas pu être recensées dans le cadre du programme d'analyse spécifique, par ex. les produits phytosanitaires saisonniers.

Tableau 4 : substances de l'analyse spéciale dont le nombre de points est > 100

200 points	> 100 points
Metformine	métazachlore-ESA
5-méthylbenzotriazole	O-Desvenlafaxin ¹
Benzotriazole	Candésartan
Iomeprol ²	Métoprolol
Iopamidol ²	Sitagliptine
Acésulfame	Carbamazépine
Acide de cyclohexylsulfamate	Lamotrigine
	Sulfaméthoxazole
> 175 points	Lévétiracétam
Gabapentine	Carbamazépine-10,11-dihydro-10,11-dihydroxy
Acide paratoluènesulfonique	ESA-métolachlore
Caféine	Hydrochlorothiazide
Sucralose	Telmisartan
	Oxazépam
> 130 points	Amisulpride
Acide de valarstan	Venlafaxine
Valsartan	Phénazone
2-acide naphthalène-sulfonique	Clarithromycine
4-formylaminoantipyrine	Acide de clopidogrel
N-acétyl-4-aminoantipyrine	DEET
Acide d'aténolol	Carbendazime
Saccharine	Lidocaïne
	Tramadol ¹
	2-hydroxyatrazine

4. Principaux enseignements tirés de l'analyse spéciale

Si le champ d'analyse se limitait encore il y a quelques années principalement au groupe des substances volatiles et non polaires dans la station de surveillance du Rhin de Weil am Rhein (analyse par technologie CG-SM), l'introduction de la méthode CLHP-SM/SM à haute résolution a permis d'élargir ce champ d'analyse aux éléments traces polaires et de combler ainsi cette « lacune » analytique. La méthode CLHP-SM/SM appliquée a cependant des limites analytiques inhérentes à sa préparation et au principe de séparation et de mesure. La méthode ne recense que les composés organiques qui ne sont ni très volatils ni très non polaires ou au contraire extrêmement polaires. En outre, seules sont identifiées les substances d'une masse moléculaire supérieure à 114 et qui se laissent ioniser. La méthode multi-composants utilisée ne peut donc pas recenser un grand nombre de solvants ni la plupart des substances du groupe des hydrocarbures polycycliques aromatiques. Elle constitue néanmoins un outil complémentaire précieux sans pour autant pouvoir remplacer totalement la technologie CG-SM pour l'instant.

A l'aide de la technique d'analyse CLHP-SM/SM reconnue, de nombreuses substances ont pu être détectées dans des concentrations supérieures à 1,0 µg/l dans tous les stations analysées dans le cadre de l'analyse spéciale réalisée sur le linéaire du Rhin et dans des affluents sélectionnés. La plupart de ces substances ne figuraient pas dans le programme d'analyse jusqu'à présent. Il ressort des résultats que les pressions permanentes les plus importantes sont celles dues aux flux issus des stations d'épuration. Entrent ici en ligne de compte les matières actives pharmaceutiques et leurs métabolites (comme déjà constaté dans le rapport CIPR n° 182). Les pesticides ne comptent pas parmi les composés produisant les plus gros flux permanents (à l'exception des métabolites métazachlore ESA et OXA). On continue cependant à relever fréquemment des pics de concentration saisonniers/locaux.

Les résultats de l'analyse spéciale sont disponibles à présent pour env. 300 substances sous forme de résultats comparables sur le linéaire du Rhin. Selon l'évaluation décrite dans le présent document, les substances jugées pertinentes peuvent être intégrées dans le programme d'analyse 'Eau' élargi.

Recommandations

Les résultats de ce programme d'analyse spécifique devraient également permettre d'élargir le cadre de décision des autres Etats membres de la CIPR devant compléter leur méthode par la méthode d'analyse par chromatographie liquide (à haute résolution) couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CLHP-SM/SM).

La méthode/technique d'analyse à intégrer doit satisfaire aux critères suivants :

- l'évaluation des substances ciblées doit être possible dans les 6 heures suivant la réception de l'échantillon ;
- le recensement et l'identification de substances non ciblées implique l'utilisation d'une CPL/SM à haute résolution en mesure de générer une résolution de 60 000 (en routine) dans la gamme de masses pertinente de 150-400 m/z (Singer, H.W. et al., 2009, Multikomponenten-Screening für den Rhein bei Basel – rapport final).