Fiches méthodologiques d'analyses de composés suspectés et d'analyses non ciblées

Proposition d'une trame pour la diffusion de méthodes

Rapport final

Mai 2026

Avec la participation de

En partenariat avec

Auteurs

Cécile Miège
INRAE
cecile.miege@inrae.fr

Coralie Soulier
BRGM
c.soulier@brgm.fr

Nina Huynh
INERIS
Nina.HUYNH@ineris.fr

Christelle Margoum
INRAE
christelle.margoum@inrae.fr

Azziz Assoumani
INERIS
Azziz.ASSOUMANI@ineris.fr

Lise Boulard
Ifremer
Lise.Boulard@ifremer.fr

Vérification du document

OFB : Pierre-François Staub, pierre-francois.staub@ofb.gouv.fr

Les correspondants

OFB : Pierre-François Staub, pierre-francois.staub@ofb.gouv.fr

Aquaref : Christelle Margoum INRAE, christelle.margoum@inrae.fr

Référence et droits d'usage

Référence du document : *Cécile Miège, Nina Huynh, Azziz Assoumani, Lise Boulard, Coralie Soulier, Christelle Margoum* – Fiches méthodologiques d'analyses de composés suspectés et d'analyses non ciblées - Proposition d'une trame pour la diffusion de méthodes – Rapport AQUAREF 2026 – 17 p

Droits d'usage : Accès libre.

SOMMAIRE

1 Contexte et objectif de ce rapport 6

2 Trame de la fiche méthodologique 6

2.1 Contexte général de la méthode 6

2.1.1 Domaine d'application 6

2.1.2 Décrire les features visés 7

2.2 Du prélèvement à l'injection pour analyse 7

2.2.1 Prélèvement sur site 7

2.2.2 Prétraitement et conservation 7

2.2.3 Extraction, purification et concentration OU injections directes 8

2.3 Analyses suspectées et/ou non ciblées par chromatographie et spectrométrie de masse haute résolution 8

2.3.1 Chromatographie 8

2.3.2 Spectrométrie de masse haute résolution 9

2.3.2.1 Instrument 9

2.3.2.2 Source 9

2.3.2.3 Mobilité ionique 10

2.3.2.4 Acquisition 10

2.3.2.5 Base(s) de données 10

2.3.2.6 Niveaux de confiance 11

2.3.3 Traitement des données 13

2.3.3.1 Chimio-informatique 13

2.3.3.2 Stratégies et statistiques appliquées pour la priorisation et l'interprétation des features 13

2.3.4 Contrôles Qualités (CQ) 14

3 Perspectives 15

4 Références bibliographiques 15

Liste des annexes

Annexe 1 : Tableau pour la description des bases de données utilisées pour l'identification des molécules 16

Annexe 2 : Informations utiles pour la présélection et l'identification des substances (d'après Hollender et al. 2023) 17

Fiches méthodologiques d'analyse suspectée et/ou non ciblée - Proposition d'une trame pour la diffusion de méthodes

Cécile Miège, Nina Huynh, Azziz Assoumani, Lise Boulard, Coralie Soulier, Christelle Margoum

Résumé

Il s'agit ici de proposer une trame générale pour décrire une méthode d'analyses de composés suspectés et d'analyses non ciblées. Cela inclue le domaine d'application et les objectifs couverts par chaque méthode ; les informations, de l'acquisition des données par chromatographie et spectrométrie de masse haute résolution (HRMS), jusqu'à l'obtention d'une liste de molécules détectes et identifiées, avec un niveau de confiance associé ; le traitement chimio-informatique des données HRMS, ainsi que la constitution des bases de données utilisées ; les stratégies statistiques d'interprétation de ces listes de molécules en relation avec les objectifs visés.

Les futures fiches méthodologiques qui seront renseignées selon la trame proposée seront mises à disposition sur le site web AQUAREF. Elles permettront de faciliter la communication entre experts et acteurs de la surveillance, le partage de savoirs et d'expériences entre experts, et le transfert de ces méthodologies de pointe vers des laboratoires d'analyses.

Mots clés (thématique et géographique) :

spectrométrie de masse haute résolution (HRMS), chimio-informatique, base de données moléculaire, micropolluants émergents et inconnus, produits de transformation, surveillance des eaux, empreintes chimiques

Methodological guidelines for suspected and/or non-targeted analysis – Proposal for a framework for the dissemination of methods

Cécile Miège, Nina Huynh, Azziz Assoumani, Lise Boulard, Coralie Soulier, Christelle Margoum

Abstract

The aim here is to provide a general framework for describing a suspected and/or non-targeted analytical method. This includes the scope of application and the objectives covered by each method; information ranging from data acquisition via chromatography and high-resolution mass spectrometry (HRMS) to the generation of a list of detected and identified molecules, with an associated confidence level; the chemoinformatics processing of HRMS data, as well as the construction of the databases used; and the statistical strategies for interpreting these lists of molecules in relation to the intended objectives.

Future methodological fact sheets, which will be completed in accordance with the proposed template, will be made available on the AQUAREF website. They will facilitate communication between experts and those involved in monitoring, the sharing of knowledge and experience amongst experts, and the transfer of these cutting-edge methodologies to analytical laboratories.

Key words (thematic and geographical area):

high-resolution mass spectrometry (HRMS), chemoinformatics, molecular database, emerging and unknown micropollutants, transformation products, water monitoring, chemical fingerprints

1 Contexte et objectif de ce rapport

Il s'agit ici de définir une trame générale avec la nature et le niveau de toutes les informations à renseigner pour décrire une méthodologie d'analyses de composés suspectés (dites « analyses suspectées » par la suite) et d'analyses non ciblées. Cela inclue notamment :

(i) Le domaine d'application et les objectifs couverts par chaque méthode (mise en évidence de nouveaux micropolluants, recherche de produits de transformation, caractérisation de sources, études de tendances...) ;

(ii) Les informations, de l'acquisition des données par chromatographie et spectrométrie de masse haute résolution (HRMS), jusqu'à l'obtention d'une liste de molécules détectées et identifiées, avec un niveau de confiance associé ;

(iii) Le traitement chimio-informatique des données HRMS, ainsi que la constitution des bases de données utilisées pour les analyses suspectées ;

(iv) Les stratégies statistiques d'interprétation de ces listes de molécules en relation avec les objectifs visés.

A terme, les futures fiches méthodologiques qui seront renseignées selon la trame proposée aborderont toute la complexité des méthodes d'analyses suspectées et non ciblées. Elles devraient permettre de faciliter la communication entre experts et acteurs de la surveillance.

2 Trame de la fiche méthodologique

2.1 Contexte général de la méthode

2.1.1 Domaine d'application

Cocher et préciser le type des échantillons :

- ☐ Eaux (préciser la nature : marine, souterraine, rivière, usées…) :
- ☐ Echantillonneurs passifs (préciser la nature : POCIS[1], Chemcatcher, Silicone… ; et si usage de PRC[2]) :
- ☐ Sédiments (préciser la nature : de surface, carottes, en suspension…) :
- ☐ Sols (préciser les usages : agricoles, urbains…) :
- ☐ Boues de stations d'épuration des eaux usées (préciser le procédé de traitement dont elles sont issues) :
- ☐ Biote (préciser la nature) :
- ☐ Autres (préciser) :

Cocher et préciser les objectifs de la méthode (plusieurs choix possibles) :

- ☐ Etude des **tendances de contamination** (préciser si spatiales ou temporelles) :
- ☐ Etude qualitative de **sources de contamination** (si pertinent préciser ; par ex. eaux usées, rejets industriels, déversoirs d'orage, pollutions diffuses…) :
- ☐ Exploration de la **diversité des molécules dans une grande famille chimique** (préciser la famille chimique ; par ex. les PFAS, des halogénés…) :

[1] Polar Organic Chemical Integrative Sampler
[2] Permeability reference compounds

- ☐ Etude de **produits de transformation / dégradation** (préciser les molécules parents visés) :
- ☐ Etude de **substances toxiques** (préciser la démarche ; par ex. Effect Directed Analyses) :
- ☐ Mise en évidence de **nouvelles substances émergentes**.
- ☐ **Alerte si anomalie** dans les échantillons (préciser ; par ex. mesures fréquentes et système d'alerte précoce dans des rejets industriels) :
- ☐ **Bancarisation des données HRMS** des échantillons pour des études rétrospectives (empreintes globales).
- ☐ **Etude semi-quantitative des contaminations.**
- ☐ Autres (préciser) :

2.1.2 Décrire les features[3] visés

Les features visés sont (cocher les features visés, plusieurs choix possibles) :

- ☐ des substances suspectées, identifiées avec un nom de molécule (stratégie basée sur l'usage de bases de données suspectées).
- ☐ des catégories de molécules caractérisées par un groupement ou un élément chimique particulier (ex. des halogénées), sans qu'il soit possible de donner un nom de molécule (stratégie basée sur des outils tels que Haloseeker[4] ou la démarche du défaut de masse de Kendrick, par exemple).
- ☐ des features d'intérêt (priorisés dans certains échantillons en comparaison d'autres échantillons, parce qu'ils mettent en évidence une apparition de molécules), sans qu'il soit donné un nom de molécule.
- ☐ tous les features de chaque échantillon (empreintes moléculaires globales), sans qu'il soit donné un nom de molécule.
- ☐ autres (préciser) :

2.2 Du prélèvement à l'injection pour analyse

2.2.1 Prélèvement sur site

Décrire la technique et le protocole de prélèvement sur site (ponctuel, intégratif, composite, asservi au débit ou au temps,…), et les conditions de transport vers le laboratoire (contenants / flaconnage, températures, durées…).

Préciser si des contrôles qualité sont mis en place (blanc terrain…).
Si certaines étapes de prétraitement sont réalisées sur site, décrire le protocole sur site.

2.2.2 Prétraitement et conservation

Décrire les protocoles de prétraitement/préparation, incluant les informations sur

- Pour les eaux (filtration, changement de pH…)
- Pour les échantillonneurs passifs (démantèlement, rinçage…)
- Pour les matrices solides (décantation, lyophilisation, broyage, homogénéisation…)

Préciser les conditions de conservation (avant/après prétraitement, durées maximum préconisées, températures…).

[3] Un feature est le signal caractérisé par la valeur de m/z, le temps de rétention chromatographique et une intensité. Une substance est définie par plusieurs features (incluant les isotopes, adduits et fragments).
[4] laberca.org/accueil/toutes-les-actualites/vue-detaillee/haloseeker-20-est-disponible

Préciser les contenants / flaconnage (nature et lavage), qualité des réactifs et consommables, précautions particulières (sous atmosphère inerte…), type des matériels utilisés (constructeur, modèle).

Préciser si des contrôles qualité sont mis en place (les décrire).

Préciser si besoin de paramètres à déterminer en parallèle de l'analyse (granulométrie pour les matrices solides, contenu en carbone organique dissout ou particulaire, autres paramètres majeurs …).

2.2.3 Extraction, purification et concentration OU injections directes

Pour les eaux, préciser si des injections directes sont réalisées, et selon quel protocole.

Décrire les protocoles d'extraction, incluant les informations sur :

- Technique (sur phase solide, liquide par agitation, par QuEChERS, sous pression accélérée, par Soxhlet, par ultrasons, par micro-ondes, ou par fluide supercritique…)
- Nature des réactifs et consommables
- Solvants (nature et volume)
- Température
- Pression
- Nombre de cycle(s)

Décrire les protocoles de purification (technique, nature et volume de solvants), de concentration (technique, durée, réactifs, volume final…) et de filtration / centrifugation avant analyse. Préciser si les extraits sont injectés non dilués et avec plusieurs dilutions.

Préciser la prise d'essai (volume ou masse d'échantillon analysé), les types de flaconnage, la qualité des réactifs et consommables, le type des matériels utilisés (constructeur, modèle), les précautions particulières pour limiter les contaminations au laboratoire (lavage des contenants, équipements de protection individuelle…).

Préciser si des contrôles qualité sont mis en place (les décrire).

Si les extractions sont réalisées sur site, décrire le protocole sur site.

2.3 Analyses suspectées et/ou non ciblées par chromatographie et spectrométrie de masse haute résolution

2.3.1 Chromatographie

Cocher et/ou préciser les éléments suivants :

- ☐ Chromatographie en phase liquide (LC)
- ☐ Chromatographie en phase solide (GC)
- ☐ Chromatographie en phase supercritique (SFC)
- ☐ Autres (préciser, par ex. GC x GC, LC x LC…) :

  Constructeur / modèle :

  Si LC, séparation de type (cocher la bonne case) :
- ☐ Phase inverse (RPLC)
- ☐ Phase normale (NPLC)

- ☐ Interactions hydrophiles (HILIC)
- ☐ Chromatographie d'échange d'ions (IC)
- ☐ Mode mixte (MMLC[5])
- ☐ Autres (préciser) :

Décrire le protocole d'injection et de séparation chromatographique (volume injecté, colonne et phase stationnaire, phase mobile en LC ou gradient de température en GC, pH, gradient, débit, températures, pressions…).

Préciser les types de flaconnage, la qualité des réactifs et consommables, le type des matériels utilisés (constructeur, modèle), les précautions particulières pour limiter les contaminations.

Préciser si des contrôles qualité sont mis en place (les décrire).

2.3.2 Spectrométrie de masse haute résolution

2.3.2.1 Instrument

Type de spectromètre de masse haute résolution (cocher) :

- ☐ Time of Flight MS (ToF MS)
- ☐ Orbitrap MS
- ☐ Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance MS (FT-ICR MS)
- ☐ Autres (préciser) :

Constructeur / modèle :

2.3.2.2 Source

Type d'ionisation (cocher) :

- ☐ Atmospheric Pressure Chemical Ionisation (APCI)
- ☐ Atmospheric Pressure Laser Ionisation (APLI)
- ☐ Atmospheric Pressure PhotoionIsation (APPI)
- ☐ Dopant Assisted APPI (DA-APPI)
- ☐ Chemical Ionisation (CI)
- ☐ Electron Ionisation (EI)
- ☐ Low energy EI
- ☐ Cold EI
- ☐ Electron Capture Negative Ionisation (ECNI)
- ☐ ElectroSpray Ionisation (ESI)
- ☐ Field Ionisation (FI)
- ☐ Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization (MALDI)
- ☐ PhotoIonisation (PI)
- ☐ Autres (préciser) :

Mode(s) d'ionisation (cocher, deux choix possibles) :

- ☐ Positif
- ☐ Négatif

[5] MMLC : les phases stationnaires pour des séparations chromatographiques en mode mixte (i.e. modes phase inverse et HILIC) peuvent combiner des interactions hydrophobes, ioniques et/ou polaires.

Température(s) de source :

Energies de collision (cocher et préciser les valeurs, eV ou %) :
- ☐ Une valeur unique :
- ☐ Variable selon m/z (énergie croissante avec l'augmentation du rapport m/z) :
- ☐ Variable selon les multiples spectres MS2 :
- ☐ Variable selon la mobilité ionique :
- ☐ Autres (préciser) :

2.3.2.3 Mobilité ionique

Type de mobilité ionique (cocher) :
- ☐ Drift tube Ion Mobility Separation (DTIMS),
- ☐ Travelling wave IMS (TWIMS)
- ☐ Trapped IMS (TIMS)
- ☐ Field Asymmetric IMS (FAIMS)
- ☐ Differential IMS (DIMS)
- ☐ Autres (préciser) :

Décrire le protocole (gaz, température et pression, gamme de mobilité …).

Donnée utilisée pour l'identification des molécules en mobilité ionique :
- ☐ Temps de séparation
- ☐ Valeurs CCS (collision cross-sectional)

2.3.2.4 Acquisition

Type de fragmentation (cocher) :
- ☐ Collision induced dissociation (CID)
- ☐ Higher energy collisional dissociation (HCD)

Sélection des ions précurseurs (cocher, plusieurs choix possibles) :
- ☐ Dependent acquisition (DDA)
- ☐ Iterative exclusion dependent acquisition (iDDA)
- ☐ Data independent acquisition (DIA)
- ☐ Neutral loss scanning
- ☐ Autres (préciser) :

Gamme d'acquisition de m/z (Da) :

Résolution (ppm ou autre unité) :

Précision de masse (uma) :

Mode(s) d'acquisition (cocher) :
- ☐ Centroïde
- ☐ Profile

2.3.2.5 Base(s) de données

Pour cette partie, il est recommandé d'utiliser le modèle de tableau disponible en Annexe 1.

Décrire la ou les base(s) utilisée(s) pour l'identification des molécules, avec :
- Nom de la/les base(s), si pertinent
- Année de mise à jour de chaque base
- Nombre et nature des molécules dans chaque base

- Si disponible, donner un lien vers la/les base(s) de données ou une référence bibliographique

Préciser la/les méthode(s) de constitution de la/les base(s), avec les paramètres disponibles selon le type de base :

- Base interne :
    - utilisation d'étalons injectés avec cette méthode d'analyse
    - utilisation d'étalons injectés avec une autre méthode d'analyse
- Bases externes :
    - bases collaboratives (cf. ci-après)
    - bases constructeurs (lesquelles) :
    - bases construites in silico (fragments, temps de rétention, CCS … ; avec quels outils)

A titre d'information, quelques bases externes collaboratives disponibles :

- NORMAN Suspect List Exchange – NORMAN SLE : https://www.norman-network.com/nds/SLE/
- NORMAN Substance Database – NORMAN SusDat : https://www.norman-network.com/nds/susdat/
- Mass Bank : https://massbank.eu/MassBank/
- CompTox Chemicals Dashboard : comptox.epa.gov/dashboard/chemical_lists
- PubChem : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ et en particulier : pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/classification/# hid= 101

2.3.2.6 Niveaux de confiance

Décrire le référentiel suivi pour assigner un niveau de confiance aux molécules, avec :

- le nombre de niveaux de confiance,
- les critères à respecter pour chaque niveau de confiance,
- une référence bibliographique si elle existe.

Informations utiles pour cette partie :
Plusieurs référentiels sont utilisés aujourd'hui pour assigner un niveau de confiance aux molécules, par exemple :

- Le référentiel de Schymanski et al. (2014), qui est illustré dans la Figure 1.

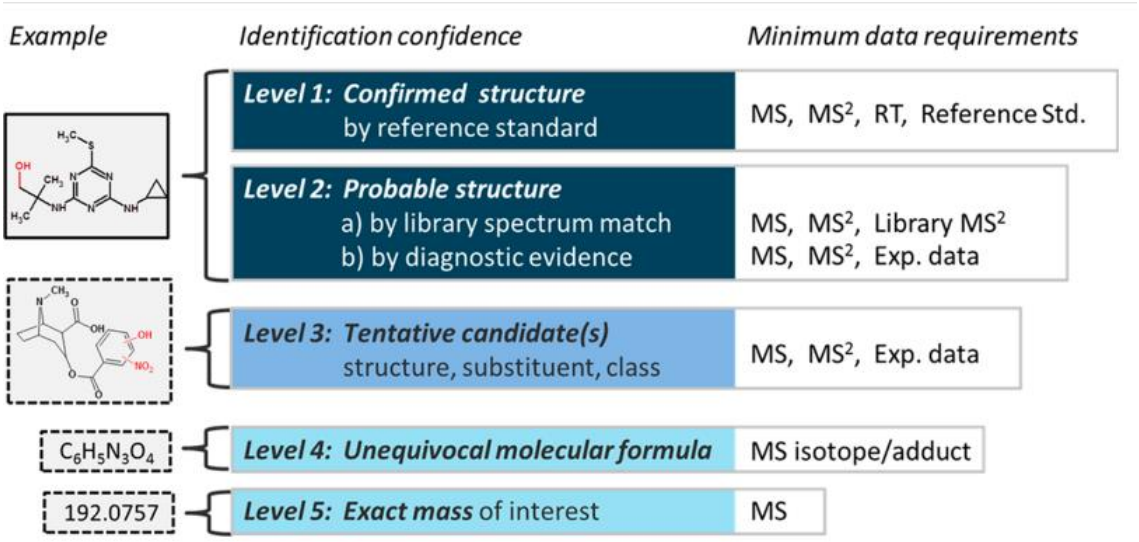


***Figure 1** : Référentiel de niveaux de confiance, extrait de Schymanski et al. (2014).*

- Le référentiel de Celma et al. 2020, qui est illustré dans la Figure 2. C'est le référentiel qui est préconisé par AQUAREF.

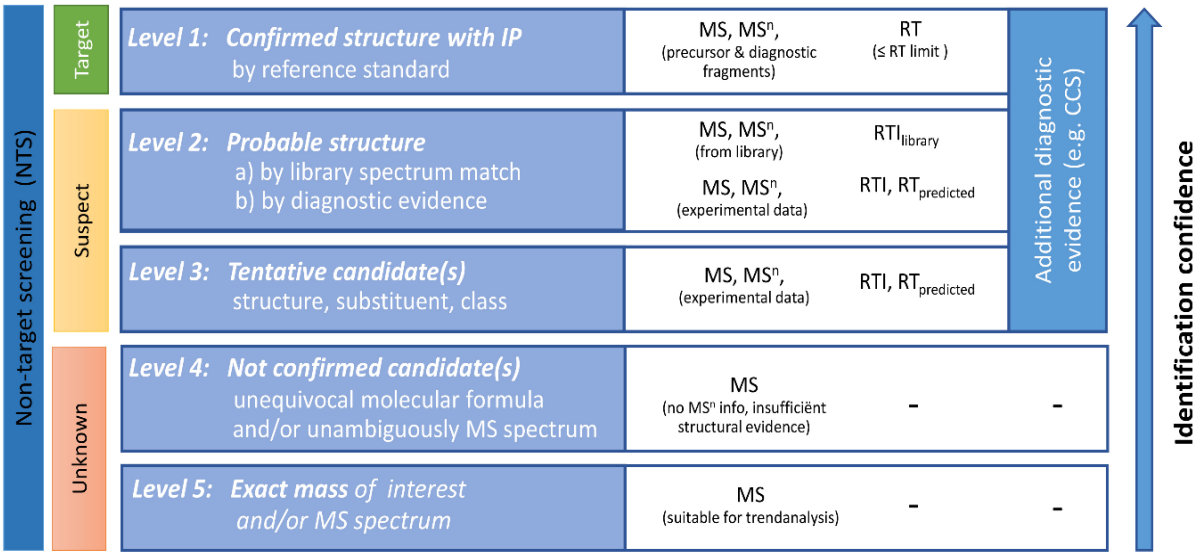


***Figure 2** : Référentiel de niveaux de confiance, extrait de Celma et al. 2020.*

- Le référentiel d'Alygizakis et al. (2023), qui est illustré dans la Figure 3.

Requirements	Identification Points (IP) earned
Precursor ion (Accuracy < 2 mDa / 5 ppm, R>15000)	mandatory
Retention time ± 0.2 min (only applicable in target)	0.40
Predicted Retention time index (only applicable in suspect where retention time match is not available, validated approach with provided uncertainty)	0.15
Isotopic fit (at least one isotope: abundance and accuracy of M+1, M+2,...)	0.20
Most intense **experimental** fragment ion	0.20
All other **experimental** fragment ions Number of experimental fragments normalized to the total number of fragments in the library	0.20
The "All other **experimental** fragment ions" score is penalized if the number of other **experimental** fragments present in the database is 2 or less	-0.10
In silico predicted fragment ions in case experimental fragments are not available Number of experimental fragments normalized to the total number of fragments in the library max number of fragments in library=10 most intense	0.20
Only DIA	-0.10

***Figure 3** : Référentiel de niveaux de confiance, extrait de Alygizakis et al. (2023).*

2.3.3 Traitement des données

2.3.3.1 Chimio-informatique

Décrire le workflow, en particulier pour les étapes suivantes :

- Conversion ou non (incluant l'action de « centroïder » les données, si acquises en mode profile),
- Détection des features,
- Regroupement des features (fragments, adduits et isotopes) d'une même substance pour tous les échantillons de la séquence (componentisation),
- Alignement des temps de rétention et de la masse des features sur plusieurs échantillons,
- Nettoyage de la donnée (prise en compte du blanc et des réplicats, évaluation du bruit de fond …).

Préciser notamment :

- Les différents logiciels / bases de données / outils utilisés, libres ou « constructeur », pour chaque étape et pour les traitements in silico.
- Les paramètres utilisés pour chaque étape lorsque c'est possible (paramètres de conversion, fenêtres d'alignement, adduits pris en compte, tolérances sur le blanc ou les réplicats…)
- La stratégie de traitement des données si mise en œuvre de la mobilité ionique.
- Le format des fichiers (aux différentes étapes du workflow).

Comme recommandé par Hollender et al. (2023), les listes de substances suspectées doivent contenir à minima :

- Le nom chimique
- Au moins un identifiant de bases de données (i.e. PubChem CID ou DTXSID ou CAS)
- Au moins deux informations structurelles (i.e. SMILES, InChI, InChIKey)

Les champs de formule moléculaire et de masse exacte sont utiles, mais peuvent également être calculés à partir de SMILES ou d'InChI.

Informations utiles pour cette partie :
Des présentations et comparaisons de différents logiciels et algorithmes libres pour traiter les données HRMS sont disponibles ici :

- Pour les outils SIRIUS, InSpectra, Mzmine, MSDial, xcms, xcms online, FluoroMatch, OpenMS, MetAlign, KPIC2, patRoon, NORMAN DSFP, GNPS, SLAW, enviMass (d'après Hollender et al., 2023) : link.springer.com/article/10.1186/s12302-023-00779-4
- Pour les outils xcms CAMERA, Non Target, TimeCourse, MZMine, Open Source Peak Picking, patRoon, MetaboAnalyst, Workflow4Metabolomics, OpenMS, Envimass, RAMClustR (d'après Soulier et al., 2024) : aquaref.fr/sites/default/files/publications/Aquaref_2023_FG1.2c_EmpreintesHRMS_VF.pdf, Tableau 1.

Des recommandations pour l'identification des substances sont récapitulées dans le Tableau 8 d'Hollender et al. (2023). Ce tableau est disponible en Annexe 2.

2.3.3.2 Stratégies et statistiques appliquées pour la priorisation et l'interprétation des features

Décrire le workflow avec les étapes et les démarches / tests statistiques mis en œuvre pour la priorisation et l'interprétation des features.

Par exemple, mise en œuvre de :

- Tests statistiques de régression linéaire ou non, tests paramétriques ou non, univariés et multivariés
- Tests statistiques non supervisés (par ex. analyse en composantes principales) ou supervisés (par ex. les moindres carrés partiels)

- Tests statistiques avec clustering (par ex. hiérarchique)
- Recherche de séries d'homologues, de défaut de masse de Kendrick
- Etude des profils isotopiques
- Prédictions in silico
- Semi-quantification
- Autres (préciser)

Informations utiles pour cette partie :
Des exemples de démarches / tests statistiques mis en œuvre en fonction de différents objectifs sont présentés :

- Dans la publication de Hollender et al. (2023), Tableau 6.
- Dans le rapport Aquaref de Soulier et al., 2024, partie 2.

2.3.4 Contrôles Qualités (CQ)

Décrire les contrôles de contaminations (faux positifs) avec des blancs (cocher, plusieurs choix possibles, et préciser la nature et le protocole associé) :

- ☐ Blanc terrain :
- ☐ Blanc laboratoire :
- ☐ Blanc méthode :
- ☐ Blanc instrument :
- ☐ Blanc autre :

En considérant les étapes de terrain, transport, conservation, prétraitement, extraction, chromatographie, spectrométrie de masse, traitement chimio-informatique et interprétation des données, décrire les CQ utilisés, en particulier :

- Les étalons internes
- Les étalons externes
- Les échantillons dopés
- Les échantillons poolés
- Les réplicats de répétabilité
- Les réplicats de reproductibilité

Pour chacun, préciser l'objectif, la nature et le protocole associé.

Décrire la séquence d'analyse chromatographique, en particulier :

- Randomisation ou pas des échantillons et/ou des CQ
- Fréquence des CQ et blancs
- Nombre maximum d'injections connu (par séquence), optimisé pour cette méthode ou pas

Calibration de la spectrométrie de masse (cocher, plusieurs choix possibles, et préciser la nature du calibrant et le protocole associé) :

- ☐ Calibration externe des masses :
- ☐ Calibration interne des masses :
  - En continu
  - En discontinu
- ☐ Autres (préciser)

Informations utiles pour cette partie :

- La publication Hollender et al, 2023
- Le rapport ci-après, partie 4 : C. Soulier, N. Huynh, B. Bonnaud et A. Assoumani– Utilisation des empreintes HRMS (spectrométrie de masse haute résolution) : exemples d'applications et besoins méthodologiques – Rapport Aquaref 2024 – 42 p.

3 Perspectives

Cette trame qui s'apparente à un recueil méthodologique pourrait donner suite à un guide. Cette possibilité sera discutée et éventuellement réalisée dans le consortium AQUAREF.

Les futures fiches méthodologiques qui seront renseignées selon la trame proposée seront mises à disposition sur le site web AQUAREF. Elles permettront de faciliter la communication entre experts et acteurs de la surveillance, le partage de savoirs et d'expériences entre experts, et le transfert de ces méthodologies de pointe vers des laboratoires d'analyses.

4 Références bibliographiques

N. Alygizakis, F. Lestremau, P. Gago-Ferrero, R. Gil-Solsona, K. Arturi, J. Hollender, E.L. Schymanski, V. Dulio, J. Slobodnik, N. S. Thomaidis. Towards a harmonized identification scoring system in LC-HRMS/MS based non-target screening (NTS) of emerging contaminants. Trends in Analytical Chemistry (2023) 159. doi.org/10.1016/j.trac.2023.116944

A. Celma, J.V. Sancho, E.L. Schymanski, D. Fabregat-Safont, M. Ibáñez, J. Goshawk, G. Barknowitz, F. Hernández, L. Bijlsma. Improving Target and Suspect Screening High-Resolution Mass Spectrometry Workflows in Environmental Analysis by Ion Mobility Separation. Environmental Science & Technology (2020) 54:23. doi.org/10.1021/acs.est.0c05713?ref=pdf

J. Hollender, E. L. Schymanski, L. Ahrens, N. Alygizakis, F. Been, L. Bijlsma, A. M. Brunner, A. Celma, A. Fildier, Q. Fu, P. Gago-Ferrero, R. Gil-Solsona, P. Haglund, M. Hansen, S. Kaserzon, A. Kruve, M. Lamoree, C. Margoum, J. Meijer, S. Merel, C. Rauert, P. Rostkowski, S. Samanipour, B. Schulze, T. Schulze, R. R. Singh, J. Slobodnik, T. Steininger-Mairinger, N. S. Thomaidis, A. Togola, K. Vorkamp, E. Vulliet, L. Zhu, M. Krauss. NORMAN guidance on suspect and non-target screening in environmental monitoring. Environmental Sciences Europe (2023) 35:75. doi.org/10.1186/s12302-023-00779-4

C. Soulier, N. Huynh, B. Bonnaud et A. Assoumani. Utilisation des empreintes HRMS (spectrométrie de masse haute résolution) : exemples d'applications et besoins méthodologiques – Rapport AQUAREF 2024, 42 p.

Annexe 1 : Tableau pour la description des bases de données utilisées pour l'identification des molécules

Méthodes / Bases	**Nom, année de mise à jour, référence ou lien Algorithme ou logiciel utilisé (in silico)**	**Nombre de molécules**	**Smiles (oui/non)**	**InChIKey (oui/non)**	**Temps de rétention (oui/non)**	**Spectre MS/MS (oui/non)**	**Mobilité ionique (oui/non)**
Injection d'étalons avec cette méthode de chromatographie et de spectrométrie de masse							
Injection d'étalons avec une autre méthode de chromatographie et de spectrométrie de masse							
Bases constructeurs							
Bases externes							
Bases in silico							

Annexe 2 : Informations utiles pour la présélection et l'identification des substances (d'après Hollender et al. 2023)

Filtering parameter	Recommendation	Importance	Remark
Accurate mass	Set window as small as possible (< 5 ppm or < 2 mDa) based on added standards; Check for adducts, ion-source fragments to avoid incorrect assignment of molecular ions	Very high	Higher resolution of Orbitrap helps differentiation of compounds with small mass differences
Isotope pattern	$^{12}C/^{13}C$, $^{35}Cl/^{37}Cl$, $^{79}Br/^{81}Br$ most relevant; isotopic fine structure ($^{14}N/^{15}N$, $^{32}S/^{34}S$ differentiation) only for very high-resolution measurements Less reliable at trace levels or if the intensities of isotopes fall below limit of detection (LOD)	High	QTOF is generally more accurate than Orbitrap for ion ratios but Orbitrap resolves fine structure. In DIA or DDA with isolation window > 1 Da, isotope patterns are in MS2
Characteristic fragments	e.g., $C_2F_5^-$, $C_3F_7^-$ for PFAS; SO_3^- for sulfonated surfactants Larger fragments provide more information	Very high	DDA is more specific, DIA offers more coverage. Intense peaks often exhibit more fragments with consistent ratios between them
Retention time	Accepted deviation depending on the prediction system, to be checked with standards	High	Not yet accurate enough to select candidates in isolation
Collision cross section (CCS)	< 2% deviation from predicted CCS values	High	Cleaner spectra with ion mobility but often intensity loss
Homologous series	Detection of specific mass increase (e.g., CH_2) and RT increase	Medium	Very useful for specific substance classes, such as PFAS and surfactants
Mass defect	O, F, P, S, Cl, Br have a negative mass defect and substances with these elements have a lower mass defect than CH substances	Medium	Very useful for specific substance classes, such as halogenated compounds (e.g., PFAS)
Library match	See Sect. "Spectral library search" for details. The use of merged spectra (different collision energies) can increase inter-instrument comparability	Very high	RT/RI/RTI needed to separate highly similar spectra of isomers