

Transferts de micropolluants dans les réseaux trophiques lotiques : exemple de l'Orge

Labadie Pierre^{1*}, Simonnet-Laprade Caroline¹, Maciejewski Kevin¹, Lachaux Victor², Le Menach Karyn¹, Budzinski H  l  ne¹, Alliot Fabrice², Chevreuil Marc², Santos Raphael³, Goutte Aur  lie^{2*}

¹ UMR 5805 EPOC,   quipe LPTC, CNRS/Université de Bordeaux

² UMR 7619 Metis, CNRS/ EPHE/UPMC

³ HEPIA, Université des sciences appliquées de Suisse Occidentale

* pierre.labadie@u-bordeaux.fr ; aurelie.goutte@upmc.fr

Résumé

Cette action visait à approfondir les connaissances actuelles sur la dynamique trophique de quelques familles clés de micropolluants organiques dans un écosystème lotique soumis à une forte pression chimique : l'Orge. Plus précisément, il s'agissait de réaliser une étude comparative entre i) des contaminants historiques (dont certains classés comme POPs et substances dangereuses prioritaires de la DCE : les PCB (Polychlorobiphényles), les chloroalcanes et le PFOS (acide perfluorooctane sulfonique), ii) des contaminants halogénés d'intérêt émergent : les composés perfluoroalkylés (PFAS), incluant des substances alternatives aux composés réglementés, et iii) des micropolluants plus facilement métabolisables : les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et des plastifiants (les phtalates), ainsi que leurs produits de métabolisation. En effet, les métabolites des HAP et des phtalates sont rarement pris en compte dans l'évaluation de la contamination du biote, bien qu'ils puissent s'avérer plus toxiques que les composés parents.

Les résultats obtenus sur le bassin de l'Orge ont permis d'estimer l'influence de la position trophique des organismes sur leur niveau de contamination. Le calcul des facteurs d'amplification trophique (TMF) pour différentes familles de micropolluants a mis en évidence la bioamplification des PCB, de nombreux PFAS et de certains chloroalcanes    chaine courte (en lien avec leurs caractéristiques structurales), ainsi que la dilution trophique des chloroalcanes    chaine moyenne, des phtalates et des HAP parents. Concernant le devenir des métabolites dans le réseau trophique de l'Orge, le calcul des TMF a mis en évidence une bioamplification des métabolites de phtalates et une dilution trophique des métabolites de HAP, suggérant différentes voies d'exposition et de cinétiques de métabolisation et d'excrétion de ces composés chez les organismes aquatiques. Ces données pourront alimenter la réflexion sur l'utilisation de l'approche TMF dans une optique de gestion, par exemple pour l'estimation des niveaux de contamination des poissons à partir de données acquises sur d'autres modèles biologiques (approche graduée).

Introduction

Les enjeux environnementaux résultant de la diffusion de substances toxiques dans les milieux aquatiques sont au cœur de nombreuses préoccupations scientifiques et débats de société. L'évaluation du risque écotoxicologique se heurte cependant à la complexité des processus qui gouvernent la biodisponibilité, la métabolisation, la bioaccumulation et le potentiel d'amplification trophique des micropolluants. La dynamique trophique des micropolluants organiques a été relativement bien documentée en milieu marin, notamment dans le cas de certains Polluants Organiques Persistants, (Fisk et al. 2001 ; Hop et al. 2002 ; Kelly et al. 2009). Cette dynamique est en revanche peu ou pas étudiée dans les systèmes lotiques, en dépit de leurs connexions directes avec les rejets polluants (ex. effluents de station d'épuration, rejets urbains de temps de pluie...) et de leurs capacités limitées de dispersion et de dilution des polluants par rapport aux océans (Holt 2000). En outre, ces systèmes présentent souvent des chaînes trophiques plus courtes et plus instables que dans les milieux lacustres (Hette-Tronquart, 2012), ce qui complexifie l'estimation de la bioamplification dans les rivières. Par ailleurs, la compréhension de l'écodynamique des micropolluants dans les écosystèmes dulçaquicoles s'avère d'autant plus importante et prioritaire que la Directive Cadre sur l'Eau et sa directive fille 2013/39/UE ont récemment introduit de nouvelles normes de qualité environnementale concernant le biote (NQE_{biote}).

Jusqu'à présent, les études de transfert trophique se sont essentiellement focalisées sur les substances persistantes dans l'environnement, bioaccumulables dans les organismes et pouvant être bioamplifiées d'un maillon trophique à l'autre (Kelly et al., 2009 ; Borgå et al., 2012). Or, la plupart des micropolluants organiques sont généralement soumis à des mécanismes de métabolisation, principalement dans le foie des vertébrés (Barron et al., 1995), puis d'élimination par voies urinaire et biliaire. Un phénomène de dilution trophique a ainsi été décrit pour les HAP (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques, Wan et al. 2007) et les phtalates (Mackintosh et al. 2004), avec une moindre contamination des prédateurs par rapport à leurs proies. A notre connaissance, le devenir des métabolites secondaires dans les réseaux trophiques a été largement ignoré, bien que ces derniers s'avèrent, dans certains cas, plus toxiques que les composés d'origine (Van der Oost et al. 2003). Dans ce contexte, une analyse simultanée des composés parents et de leurs métabolites pour différents maillons trophiques s'impose, afin de garantir une vision d'ensemble de l'écodynamique des substances métabolisables dans les écosystèmes.

Dans ce contexte, cette action proposait d'approfondir les connaissances actuelles sur la dynamique trophique de quelques familles clé de micropolluants organiques dans un écosystème lotique soumis à une forte pression chimique. La bioamplification pouvant varier en fonction des caractéristiques de l'écosystème et du réseau trophique considéré (Borga et al., 2012 ; Mackay et al., 2016), il s'agissait ici de réaliser, sur un même site, une étude comparative de la bioamplification de contaminants historiques (dont certains classés comme Polluants Organiques Persistants ou substances dangereuses prioritaires de la DCE : PCB (Polychlorobiphényles), acide perfluorooctane sulfonique (PFOS), chloroalcanes à chaîne courte (SCCP), et de contaminants halogénés d'intérêt plus émergent : composés per- et polyfluoroalkylés (PFAS) non réglementés et chloroalcanes à chaîne moyenne. Par ailleurs, des micropolluants plus facilement métabolisables et *a priori* peu bioamplifiables (HAP et phtalates) ont également été pris en compte, ainsi que leurs produits de métabolisation.

1. Matériels et méthodes

1.1 Site d'étude

Les prélèvements ont été réalisés sur l'Orge, un affluent de la Seine, à Viry-Châtillon [48°40'23"N; 2°21'30"E]. Le bassin de l'Orge est dominé par une agriculture intensive en amont (Beauce) et par une urbanisation dense en aval. Le secteur aval de ce bassin a été jugé hautement pertinent en raison des niveaux de contamination élevés observés dans le milieu et le biote pour différentes familles de micropolluants organiques lors de travaux antérieurs réalisés dans le cadre du PIREN-Seine (Labadie and Chevreuril, 2011a, Teil et al. 2012). De plus, l'accessibilité du site, ainsi que la faible profondeur et largeur du cours d'eau ont permis de réaliser efficacement les prélèvements biologiques en couvrant un nombre important de maillons trophiques.

1.2 Echantillons biologiques

Les 20 et 21 septembre 2016, ont été prélevés des échantillons d'eau (N = 1), de sédiment (N = 3), de producteurs primaires (biofilm N = 2, litière N = 2, fausse renoncule N = 2), de macro-invertébrés (gammars, N = 3, limnées, N = 3, notonectes N = 1, corbicules, N = 1) à l'aide d'un filet de type Surber et de poissons (gardons N = 4, goujons N = 4, tanches N = 4, chabots N = 4, perches communes N = 4, perches soleil N = 4, poissons chats N = 4) par pêche électrique à pied, à l'aide d'un Martin Pêcheur® (Dream électronique, puissance 240 W). Des pools d'individus appartenant au même genre ont été constitués, en raison des faibles biomasses des organismes entiers et afin de réduire l'hétérogénéité individuelle.

1.3 Analyses chimiques

Les échantillons biologiques ont été congelés, lyophilisés et broyés dans les semaines suivant le prélèvement. Ils ont ensuite été analysés pour déterminer le niveau trophique ou les sources de carbone (rapports des isotopes stables de l'azote et du carbone, respectivement) et les niveaux de différentes familles de micropolluants organiques : PCB, chloroalcanes, PFAS, HAP et phtalates, ainsi que les métabolites de HAP et de phtalates. Les analyses des isotopes stables de l'azote ont été réalisées par spectrométrie de masse de rapports isotopiques (IRMS) (Munoz et al., 2017).

Après la purification préalable des extraits biologiques par chromatographie d'adsorption, les PCB (7 congénères indicateurs) ont été analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un détecteur à capture d'électrons (GC-ECD) (Tapie et al., 2011), tandis que les chloroalcanes ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (GC-Q/TOF). Les PFAS (acides carboxyliques et sulfoniques, sulfonamides, fluorotélomères et dérivés phosphorés) ont été analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) (Munoz et al., 2017). La quantification a été réalisée par étalonnage interne (dilution isotopique dans la majorité des cas), sauf dans le cas des chloroalcanes quantifiés par étalonnage externe avec ajustement du facteur de réponse en fonction du degré de chloration et correction par rapport au taux de récupération.

Après une double extraction en cellule d'extraction solide-liquide (sur un ASE 350, Thermo, Courtaboeuf) et purification sur cartouches Florisil (Supelco 1g/6mL, Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France), les 16 HAP (naphtalène, acénaphthylène, acénaphtène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène, benzo(a)anthracène, chrysène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, indeno(1,2,3-cd)pyrène, dibenzo(a,h)anthracène, benzo(g,h,i)perylène et le pyrène) et les 7 phtalates (di-isobutyle phtalate (DiBP), diméthyle phtalate (DMP), diéthyle phtalate (DEP), n-butyl benzyl phtalate (BBP), di-2-ethylhexyl phtalate (DEHP), di-n-butyle phtalate (DnBP) et di-n-octyle phtalate (DnOP)) ont été analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en tandem (GC-MS/MS). La quantification a été réalisée par étalonnage interne (Phénanthrène d10 ; Pyrène d10 ; Benzo(a)anthracène d12 ; DEP d4 ; DEHP d4). Des blancs ont été réalisés pour chaque série de 12 analyses.

Après déconjugaison par glucuronidase, extraction et purification sur cartouches SPE OASIS HLB, les métabolites de HAP (1-OH-Nap-Hydroxynaphthalene (1-OH-Nap), 2-Hydroxynaphthalene (2-OH-Nap), Hydroxyfluorene (OH-Flu, 2, 3, 9), Hydroxyphenanthrene (OH-Phe, 1, 2, 3, 4), 1-Hydroxypyrene (1-OH-Pyr), 6-Hydroxychrysene (6-OH-Chr), 3-Hydroxybenzo(a)pyrene (3-OH-BaP)) et phtalates (monométhyl phtalate (MMP), monoethyl phtalate (MEP), mono-n-butyl phtalate (MnBP), monoisobutyl phtalate (MiBP), monobenzyl phtalate (MzBP), mono-2-ethylhexyl phtalate (MEHP), mono-2-ethyl-5-oxohexyl phtalate (MEOHP), mono-2-ethyl-5-hydroxyhexyl phtalate (MEHHP), mono-n-octyl phtalate (MnOP)) ont été analysés par HPLC-MS/MS. Des blancs ont été réalisés pour chaque série de 12 analyses.

1.4 Niveaux trophiques et facteurs d'amplification trophique (TMF)

Les niveaux trophiques des différents taxons ont été déterminés à l'aide de l'équation suivante :

$$TL_{conso} = 2 + (\delta^{15}N_{conso} - \delta^{15}N_{base}) / 3,4$$

avec TL_{conso} le niveau trophique d'un organisme consommateur, $\delta^{15}N_{conso}$ (‰) et $\delta^{15}N_{base}$ (‰) le rapport des isotopes stables de l'azote respectivement pour ce consommateur et celui de l'organisme assigné à la ligne de base du réseau trophique. Ce dernier étant un consommateur primaire (corbicule dans notre cas), il a donc un

TL égal à 2. Le dénominateur (3.4 ‰) correspond à la valeur d'enrichissement trophique moyen en ^{15}N ; en l'absence de connaissance spécifique du réseau trophique considéré, Borgå et al. (2012) recommandent d'utiliser cette valeur moyenne.

Les facteurs d'amplification trophique (TMF) ont été déterminés par régression linéaire :

$$\log C = a \cdot \log TL + b$$

où C est la teneur en contaminant exprimée en ng/g poids frais dans le cas des PFAS, en ng/g de poids sec pour les HAP, phtalates et métabolites et en ng/g lipides pour les autres composés.

Si la pente de la droite est significativement supérieure à 0, alors le TMF – égal à 10^{pente} – est significativement supérieur à 1 et la bioamplification est avérée. Le modèle *lmeC*, modèle linéaire généralisé à effets fixes et aléatoires (GLMM) sans substitution (fonction *lmeC* du package homonyme sous R) a été utilisé pour ces calculs (Munoz et al., 2017). Outre la prise en compte des valeurs censurées à gauche – inférieures à la limite de détection, ce type de modèle permet également d'estimer l'erreur sur le TMF. Par ailleurs, l'utilisation de ce type d'approche permet également de considérer les différences d'effectifs entre taxons, biais majeur souligné dans des travaux antérieurs (Borgå et al., 2012).

2. Résultats et discussion

2.1 Réseau trophique

Les relations trophiques ont été définies sur la base des comportements alimentaires (Tachet et al., 2010) et affinées à l'aide des données isotopiques. Le réseau trophique de l'Orge a été reconstitué en projetant l'ensemble des signaux isotopiques dans le plan $^{13}\text{C} - ^{15}\text{N}$ (Hette-Tronquart, 2012) (Figure 1).

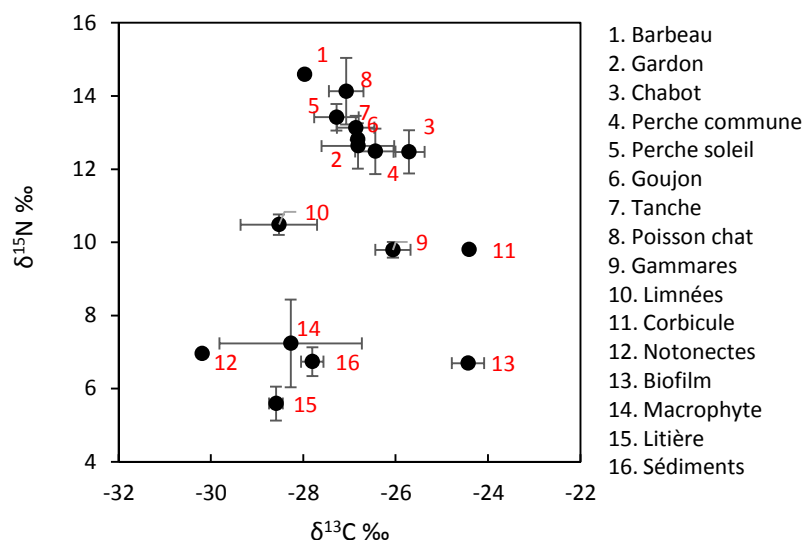


Figure 1. Représentation des signaux isotopiques dans le plan $^{13}\text{C} - ^{15}\text{N}$

Les résultats illustrés par la Figure 1 mettent en évidence le fractionnement isotopique de l'azote entre la base du réseau trophique (litière, biofilm...) et les prédateurs supérieurs considérés (ici, différentes espèces de poissons). Trois principaux groupes sont ainsi observés : « base du réseau », invertébrés et poissons. La corbicule, mollusque bivalve longévive, est apparue comme un taxon pertinent pour définir la ligne de base du réseau trophique. En outre, même si l'échantillonnage n'a certainement pas été exhaustif, en particulier à la base du réseau, les sources de carbone des prédateurs supérieurs semblent relativement bien couvertes.

2.2 PCB

Les PCB constituent des contaminants historiques, largement étudiés dans le passé par le PIREN-Seine ; ils sont inclus dans la liste initiale des Polluants Organiques Persistants définie par la Convention de Stockholm¹. Les niveaux de contamination des organismes échantillonnés par les PCB sont illustrés par la Figure 2. Trois groupes ont été distingués : « base du réseau », invertébrés et poissons. Des niveaux significativement supérieurs ont été observés chez les poissons, quel que soit le mode d'expression des teneurs (ex. sur la base du poids frais ou poids lipidique). Ces niveaux (35–250 ng/g poids frais) sont du même ordre de grandeur que ceux observés précédemment sur ce même site d'étude (Teil et al., 2012) dans le cadre du PIREN-Seine. La valeur maximale a été atteinte pour un individu de barbeau, organisme sentinelle considéré comme fortement bioaccumulateur (Tilghman et al. 2009). Chez les poissons, on note une forte variabilité interspécifique (ex. tanche << barbeau) et intraspécifique (ex : coefficient de variation supérieur à 44% chez la tanche, n=4). Le profil moléculaire est dominé par les congénères 153, 138 et 180 qui représentent respectivement 32, 26 et 15 % de la somme des PCB. Ce profil relativement classique est en bon accord avec les résultats antérieurs sur ce site d'étude (Teil et al., 2012)

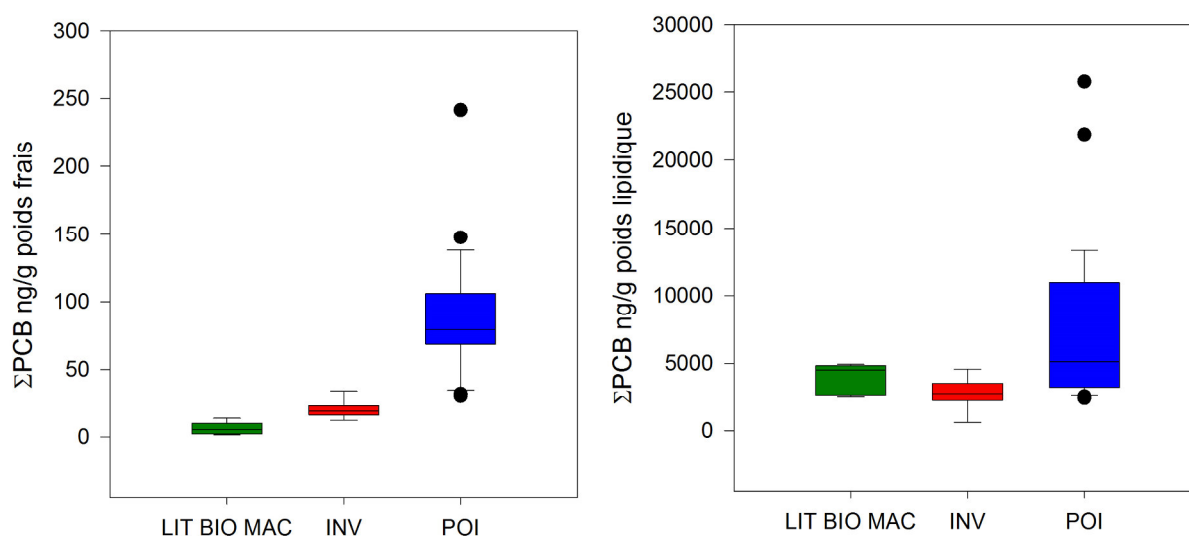


Figure 2. Niveaux totaux de PCB dans le réseau trophique de l'Orge exprimés en ng/g poids frais (gauche) et ng/g poids lipidique (droite). LIT BIO MAC : litière, biofilm, macrophytes ; INV : invertébrés ; POI : poissons

La figure 3 illustre la relation linéaire entre la teneur en PCB-153 (transformation log, base poids lipidique) et le niveau trophique observé dans le réseau trophique de l'Orge. La pente de la droite, calculée à l'aide de la fonction lme4 (modèle de type GLMM), étant significativement supérieure à zéro, la bioamplification du PCB-153 est avérée. Or, ce congénère est considéré comme un composé bioamplifiable dans la plupart des écosystèmes aquatiques, qui peut ainsi être considéré comme un témoin positif de bioamplification (Borga et al., 2012). Ce résultat permet donc de valider à la fois la stratégie d'échantillonnage, permettant une bonne couverture du réseau trophique, et la stratégie de traitement des données. Cette approche a ensuite été appliquée à l'ensemble des congénères étudiés et a permis de mettre en évidence la bioamplification de tous les PCB considérés, à l'exception du PCB-50, en bon accord avec la littérature (Borga et al., 2012).

¹ <http://chm.pops.int/>

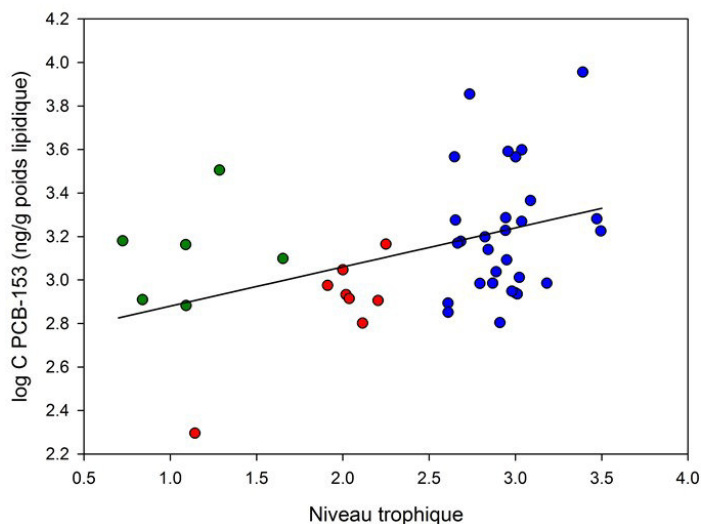


Figure 3. Relation entre la teneur en PCB-153 (transformation log, base poids lipidique) et le niveau trophique ; les symboles verts, rouges et bleus correspondent respectivement aux compartiments « litière, biofilm, macrophytes », invertébrés et poissons

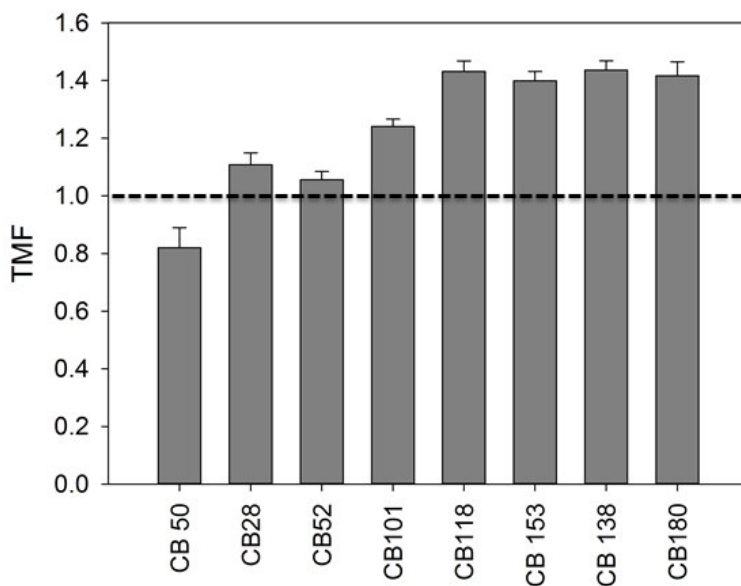


Figure 4. Facteurs d'amplification trophique déterminés pour les PCB dans l'Orge

2.3 Chloroalcanes

Une seconde famille de composés organochlorés a été considérée dans le cadre de cette étude : les chloroalcanes. Ces hydrocarbures aliphatiques, de degré de chloration variable, ont été massivement employés comme alternative aux PCB dans de nombreuses applications industrielles (de Boer, 2010). Les chloroalcanes à chaîne courte (C_{10} - C_{13} , SCCP) sont identifiés comme substance dangereuse prioritaire dans la directive 2013/39/UE et listés comme polluants organiques persistants depuis 2017. Deux sous-familles de chloroalcanes ont été ici considérées : les SCCP et les MCCP (chloroalcanes à chaîne moyenne, C_{14} - C_{17}).

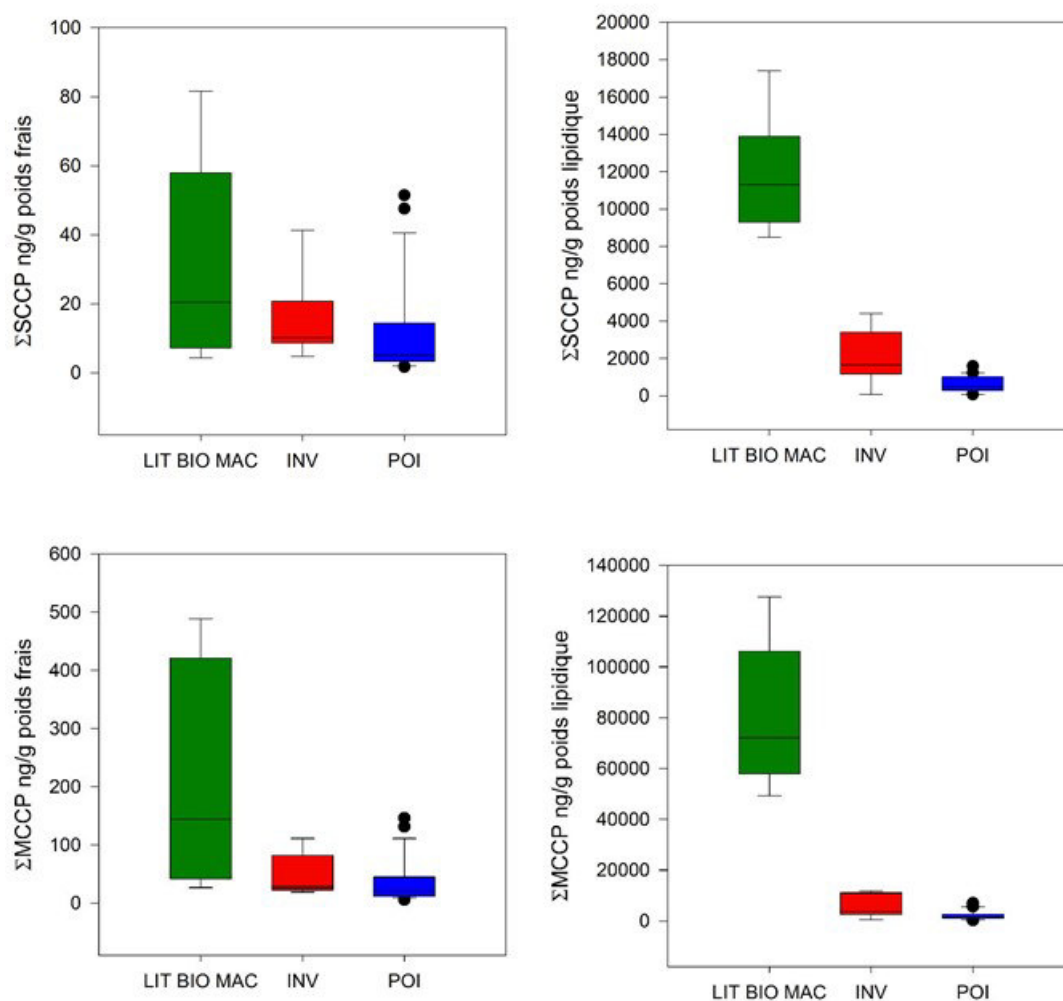


Figure 5. Niveaux totaux de chloroalcanes dans le réseau trophique de l'Orge exprimés en ng/g poids frais (gauche) et ng/g poids lipidique (droite). LIT BIO MAC : litière, biofilm, macrophyte ; INV : invertébrés ; POI : poissons. En haut : chloroalcanes à chaîne courte (SCCP) ; en bas, chloroalcanes à chaîne moyenne (MCCP)

La quantification des chloroalcanes est particulièrement ardue (de Boer, 2010) et, à notre connaissance, ces données figurent parmi les premières acquises au niveau national. Les résultats obtenus ont mis en évidence le caractère ubiquiste des SCCP et MCCP, systématiquement détectés dans les échantillons de biote. Les niveaux observés dans l'Orge sont du même ordre de grandeur que ceux des PCB et ceux des MCCP sont généralement 5 à 10 fois supérieurs à ceux des SCCP. Les teneurs observées dans les poissons de l'Orge sont largement supérieures à celles observées récemment dans les grands lacs américains, de l'ordre de quelques ng/g poids frais (Saborido Basconillo et al., 2015).

Le profil moléculaire des chloroalcanes à chaîne courte est variable suivant les taxons considérés, en bon accord avec des résultats obtenus en milieu marin côtier (Huang et al., 2017) ; ce profil est globalement dominé par les composés en C₁₂ et C₁₃ possédant entre 7 et 9 atomes de carbone (Figure 6). Les déterminants de l'abondance relative des SCCP dans les différents taxons (hors niveau trophique, cf. ci-après) sont encore en cours d'exploration. Le profil moléculaire des MCCP est plus constant et dominé par les composés en C₁₄ comportant de 6 à 8 atomes de chlore (Figure 7), en bon accord avec de récents travaux (Huang et al., 2017).

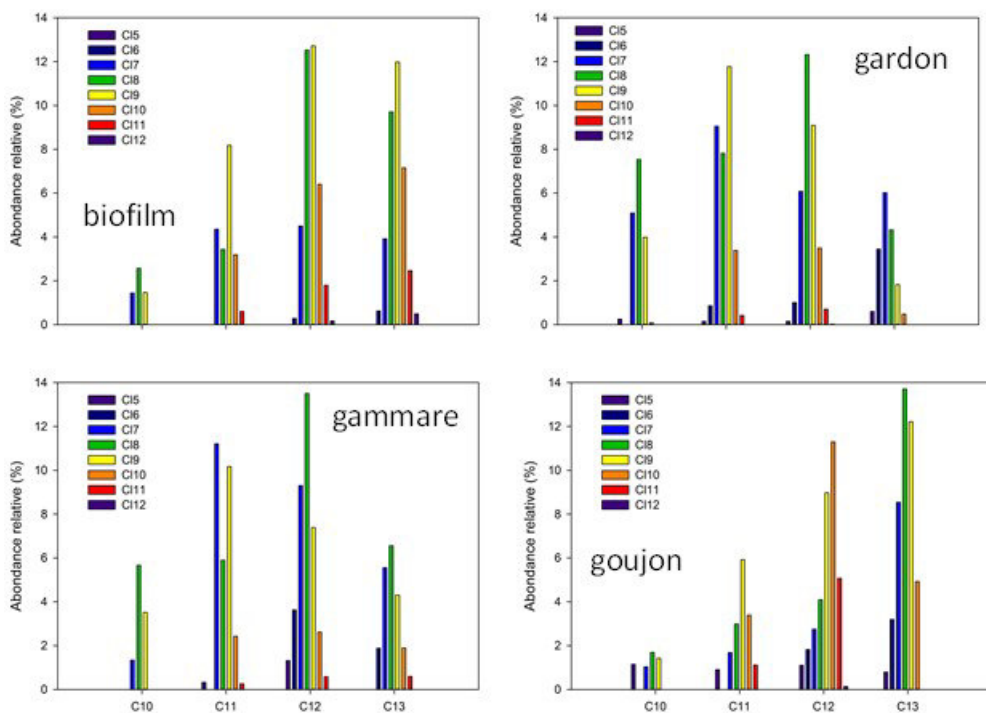


Figure 6. Profil moléculaire des chloroalcane à chaine courte chez différents taxons échantillonnés dans l'Orge

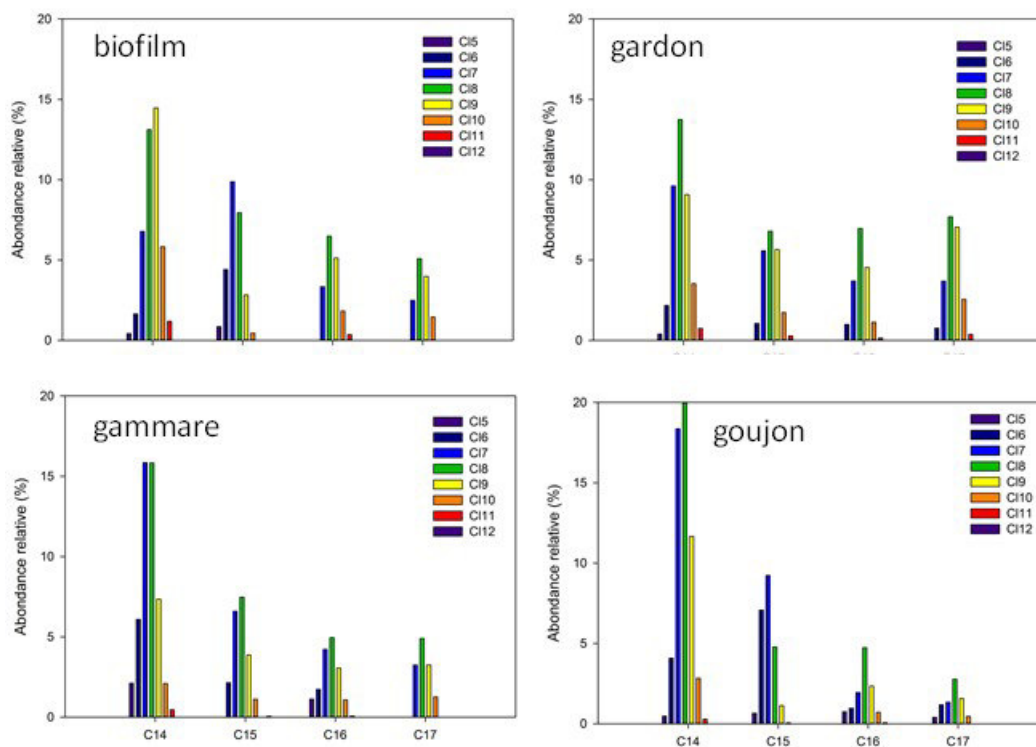


Figure 7. Profil moléculaire des chloroalcane à chaine moyenne chez différents taxons échantillonnés dans l'Orge

Les TMF des SCCP et MCCP ont été calculés pour chaque groupe ($C_nH_{2n+2-x}Cl_x$), selon la méthodologie détaillée précédemment pour les PCB. Il apparaît que, comme dans d'autres systèmes lacustres, lotiques ou marins côtiers (Houde et al., 2008 ; Saborido-Basconillo et al., 2015 ; Huang et al., 2017), le TMF des SCCP dépend des caractéristiques structurales. Pour ces composés, le nombre d'atomes de chlore semble être le déterminant majeur du caractère bioamplifiable ; les TMF des composés heptachlorés à décachlorés sont ainsi généralement supérieurs à 1 et similaires voire supérieurs à ceux déterminés pour les PCB. Nos résultats confirment le caractère non bioamplifiable des MCCP, à l'exception d'un seul groupe ($C_{14}H_{25}Cl_5$), de plus faible masse molaire. Ces résultats sont concordants avec ceux d'études antérieures (Houde et al., 2008 ; Saborido-Basconillo et al., 2015 ; Huang et al., 2017) et illustrent la dilution trophique des MCCP et de certains SCCP, principalement en raison de leur biotransformation (Houde et al., 2008).

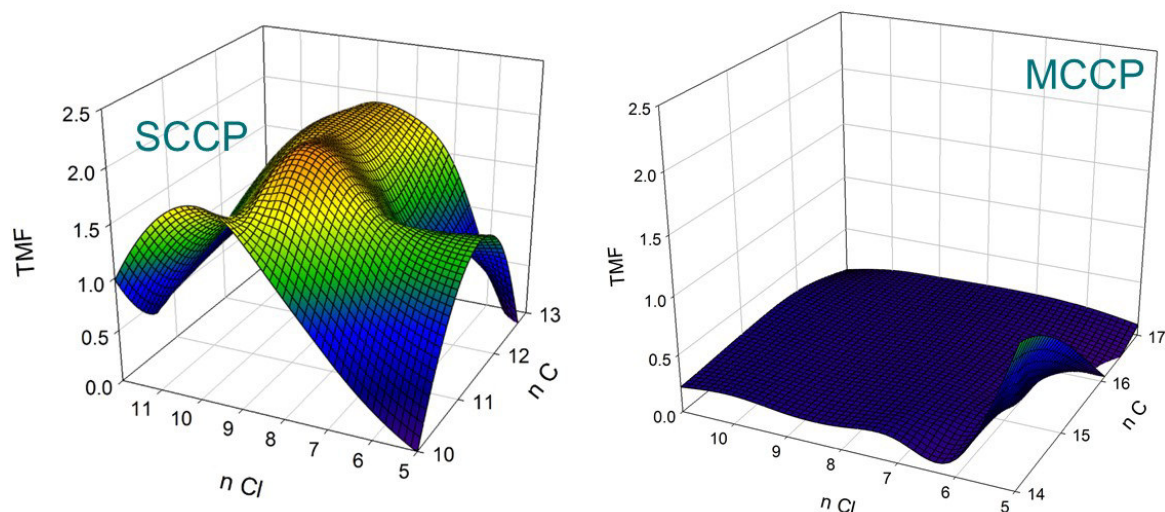


Figure 8. Influence des caractéristiques structurales (longueur de chaîne alkyle, $n C$ et nombre d'atome de chlore, $n Cl$) sur les facteurs d'amplification trophique (TMF) des chloroalcanes à chaîne courte (SCCP) et à chaîne moyenne (MCCP)

2.4 PFAS

Les PFAS constituent une vaste famille de composés fluoroalkylés dont la présence dans le bassin de la Seine a été renseignée par le biais d'études réalisées dans le PIREN-Seine depuis 2010 (Labadie et Chevreuil, 2011a et 2011b ; Munoz et al., 2016). Les travaux réalisés initialement sur l'Orge avaient permis de mettre en évidence des niveaux relativement élevés de PFAS dans ce cours d'eau et d'étudier la distribution de ces composés entre différents compartiments biotiques et abiotiques de ce système.

Dans le cadre de cette étude, la gamme de composés étudiés a été élargie pour inclure, outre le sulfonate de perfluorooctane (PFOS), seul PFAS inclus dans la Convention de Stockholm et la DCE, une large gamme d'acides carboxyliques (C_4 – C_{14}) et sulfoniques (C_4 – C_{10}), ainsi que de nombreux précurseurs potentiels de ces composés (sulfonamides, fluorotélomères et dérivés phosphorés).

De même que les PCB ou les chloroalcanes, les PFAS se sont avérés ubiquistes dans le réseau trophique de l'Orge, la fréquence de certains composés tels le PFOS ou les acides carboxyliques à longue chaîne ($> C_8$) atteignant 100%. Les niveaux totaux de PFAS sont illustrés par la Figure 9 et mettent en évidence l'augmentation des teneurs au sein du réseau trophique, malgré une forte variabilité interspécifique chez les poissons. Ces teneurs sont du même ordre de grandeur que celles déterminées en 2010 sur des chevaines, poisson fréquemment utilisé en surveillance mais non échantillonné cette année (Labadie et Chevreuil, 2011a).

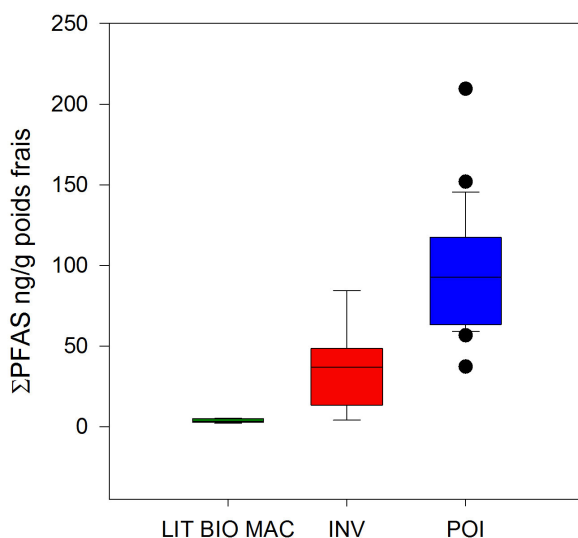


Figure 9. Niveaux totaux de PFAS dans le réseau trophique de l’Orge exprimés en ng/g poids frais ; INV : invertébrés ; POI : poissons.

Le profil moléculaire des PFAS est relativement variable en fonction des taxons, notamment au niveau de la proportion de PFOS, de carboxylates à chaîne longue (PFTTrDA et PFTeDA) ou des précurseurs potentiels d’acides fluoroalkylés (Figure 10).

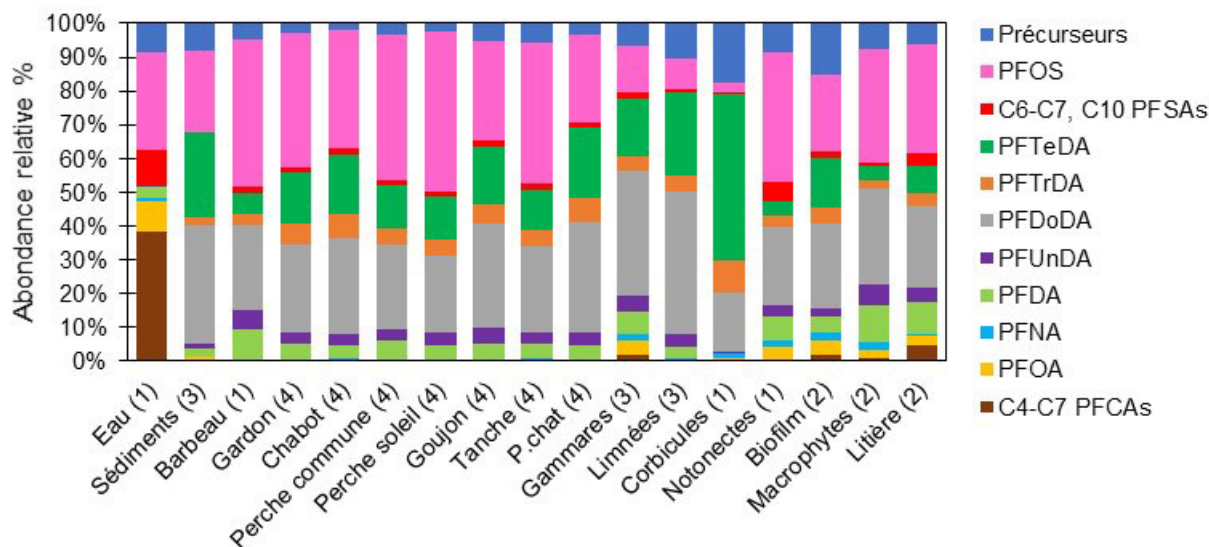


Figure 10. Profil moléculaire des PFAS dans le réseau trophique de l’Orge (le nombre entre parenthèses indique le nombre de répliqués)

Le rôle de la biotransformation de précurseurs dans la bioamplification des acides fluoroalkylés ne fait pas encore consensus et varie probablement en fonction des caractéristiques des écosystèmes et de l’abondance relative des précurseurs et de celle des acides carboxyliques. Des travaux antérieurs ont renseigné la présence de fluor organique dans les sédiments des Grands Lacs d’Amérique du Nord (Yeung et al., 2013) et la présence de précurseurs d’acides fluoroalkylés dans les eaux de ruissellement urbain (Houtz et Sedlak, 2012). Seul un nombre restreint de précurseurs ayant pu être analysé dans cette étude, principalement en raison de l’absence de disponibilité pour de nombreux étalons analytiques, nous avons mis en œuvre une méthode indirecte permettant, via un processus d’oxydation, de convertir d’éventuels précurseurs non identifiés en carboxylates pouvant être dosés directement et quantitativement (adapté de Houtz et Sedlak, 2012). Cette méthode a été adaptée afin d’être appliquée, pour la première fois, à des échantillons biologiques. Les résultats obtenus démontrent la présence d’une quantité importante de précurseurs non

identifiés dans le sédiment et, pour la première fois, dans les premiers maillons du réseau trophique (biofilm, litière et macrophyte) (Figure 11). L'abondance relative des précurseurs non identifiés est moindre chez les deux taxons d'invertébrés testés et encore plus faible chez les poissons, en lien avec les capacités métaboliques accrues de ces derniers. L'implication de ces résultats dans la bioamplification apparente des carboxylates et sulfonates perfluoroalkylés est en cours d'estimation.

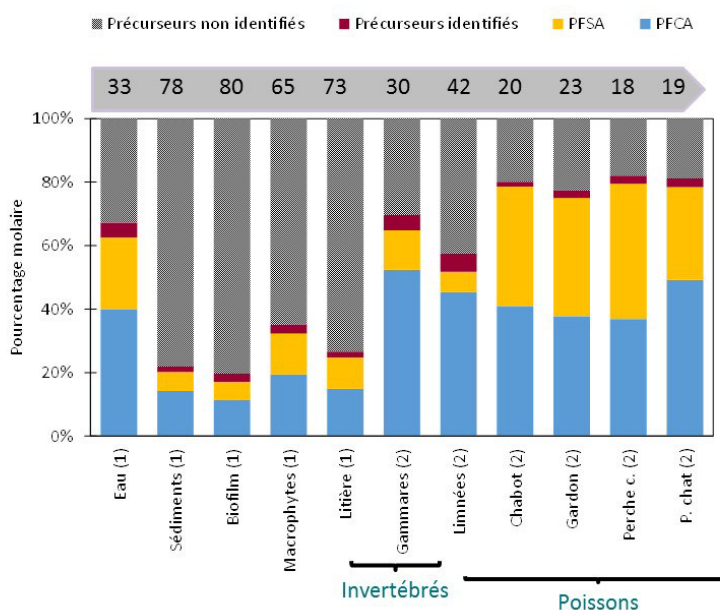


Figure 11. Contribution des précurseurs non identifiés et identifiés, des acides sulfoniques (PFSA) et carboxyliques (PFCA) à la teneur totale en PFAS dans l'eau, le sédiment et les différents maillons du réseau trophique de l'Orge

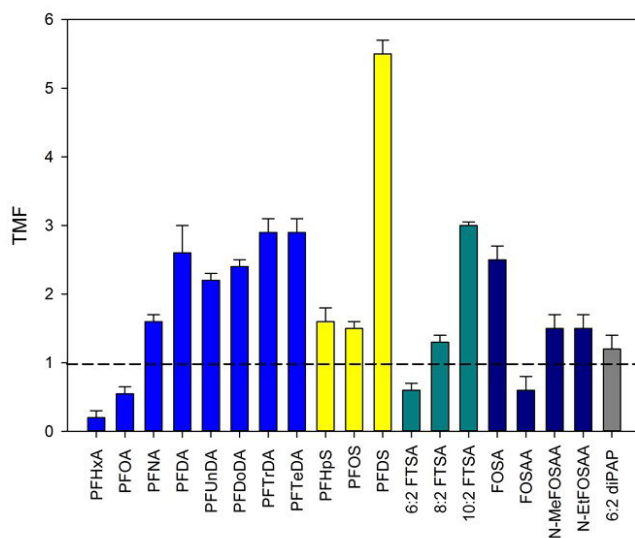


Figure 12. Facteurs d'amplification trophique (TMF) des PFAS dans le réseau trophique de l'Orge ; le codage couleur fait référence aux différents sous-groupes ciblés (de gauche à droite : carboxylates, sulfonates, sulfonates de fluorotélomères, sulfonamides et dérivés, dérivés phosphorés)

Les TMF ont été déterminés pour tous les composés dont la fréquence de détection dépassait 40%. Les valeurs obtenues confirment le caractère bioamplifiable des carboxylates à chaîne longue (> C₈) et des sulfonates ; elles mettent également en évidence, pour la première fois, la bioamplification de trois PFAS d'intérêt très émergent : deux sulfonates de fluorotélomères (8 :2 FTSA et 10 :2 FTSA), ainsi que celle d'un dérivé phosphoré (6 :2 diPAP).

Ces résultats tendent à confirmer le rôle déterminant des caractéristiques structurales – longueur de chaîne alkyle et nature du groupement fonctionnel – dans la bioamplification apparente des PFAS ; comme évoqué précédemment, le rôle de précurseurs dans cette amplification trophique reste néanmoins à clarifier et cet objectif pourrait bénéficier d’approches de modélisation.

On notera que la valeur du TMF déterminée pour le PFOS (1,5) est inférieure à celles déterminées dans le cadre d’une étude financée par l’Onema sur la période 2013–2015 sur le bassin du Rhône, comprise entre 2,6 et 4,0 sur cinq sites (Babut et al., 2015). Cette dernière visait à explorer la variabilité spatiale du TMF pour différentes substances prioritaires, dont le PFOS. En effet, une option envisageable pour évaluer la conformité aux NQE_{biote} définies par la directive 2013/39/UE consiste à mettre en œuvre une approche graduée, permettant dans un premier temps de dépister les masses d’eau problématiques avec une approche à large échelle et relativement faible coût, pour dans un second temps concentrer les efforts d’échantillonnage et d’analyse sur les masses d’eau plus problématiques (Babut et al., 2015). Cette stratégie nécessite de disposer de modèles prédictifs permettant d’estimer le dépassement des NQE biote à l’étape de dépistage et l’approche TMF peut être employée à cette fin. Les résultats obtenus sur l’Orge démontrent que l’étude de la variabilité des TMF et de ses déterminants doit être poursuivie pour permettre une utilisation plus robuste de cette métrique dans le cadre d’une approche graduée de surveillance basée sur les NQE_{biote}.

2.5 HAP

Les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) font partie des substances les plus fréquemment détectés dans les cours d’eau, en raison du ruissellement des eaux depuis les zones urbaines et industrielles et de dépôts atmosphériques suite à la combustion de bois et d’énergie fossiles. Le devenir des HAP dans les réseaux trophiques aquatiques se complexifie avec les processus de métabolisation, principalement assurés par les Vertébrés, dans une moindre mesure, par les crustacés et les mollusques (Livingstone, 1998 ; Stegeman et Lech 1991). La métabolisation augmente la solubilité des HAP, ce qui facilite leur excrétion par voies biliaire et urinaire. Elle se déroule en deux phases : la fonctionnalisation, qui consiste en une réaction d’oxydation réalisée par des enzymes appartenant aux cytochromes P-450 et la conjugaison, qui permet la liaison de ces métabolites électrophiles à des groupements hydrophiles. La métabolisation limite les processus de bioaccumulation et d’amplification trophique, comme précédemment décrit dans les écosystèmes marins (Wan et al. 2007). Cependant, les métabolites formés lors de la phase de fonctionnalisation sont plus toxiques que les composés parents, et peuvent se lier de manière covalente à l’ADN et autres constituants cellulaires, provoquant des mutations génétiques et du stress oxydatif.

L’enjeu est de tracer le devenir des HAP au sein des réseaux trophiques, en prenant en compte les HAP et leurs métabolites. En raison de la faible fréquence de quantification au sein des organismes (< 20%, Figure 13) des métabolites du naphthalène (OH-NAP), du fluorène (OH-Flu), et du benzo(a)pyrene (3-OH-Bap), ces derniers n’ont pas été intégrés dans les études de TMF.

La somme des teneurs en HAP baisse drastiquement entre producteurs primaires, macro-invertébrés et poissons (Figure 14, Kruskal Wallis $\chi^2 = 27.82$, $df = 2$, $p < 0.001$, complété d’un test post-hoc), tandis que la somme des teneurs en métabolites de HAP n’est pas significativement différente entre ces trois groupes (Figure 14, Kruskal Wallis $\chi^2 = 2.31$, $df = 2$, $p = 0.31$). Il semblerait donc que les teneurs en HAP diminuent d’un maillon trophique à l’autre tandis que les teneurs en métabolites de HAP ne soient pas dépendants du maillon trophique. Par la suite, nous avons considéré le devenir de chaque HAP et de son produit de métabolisation en fonction du niveau trophique de chaque organisme, déterminé à partir de sa signature isotopique en azote.

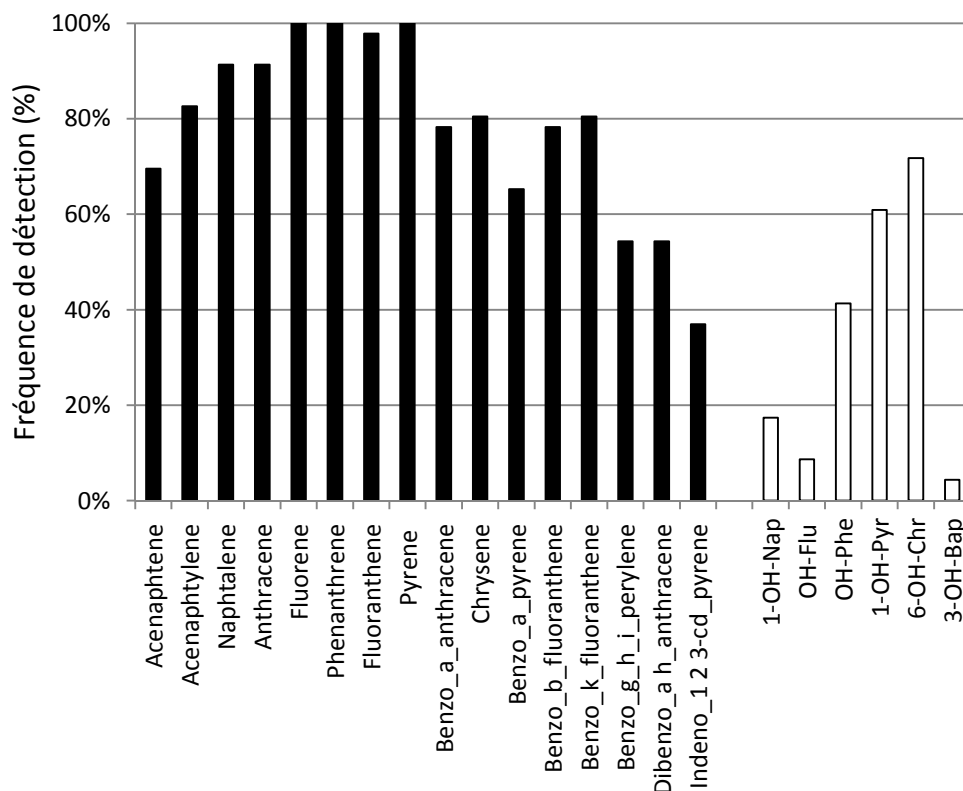


Figure 13. Fréquence de détection/quantification (%) des HAP (barres noires) et des métabolites de HAP (barres blanches) dans le réseau trophique de l'Orge

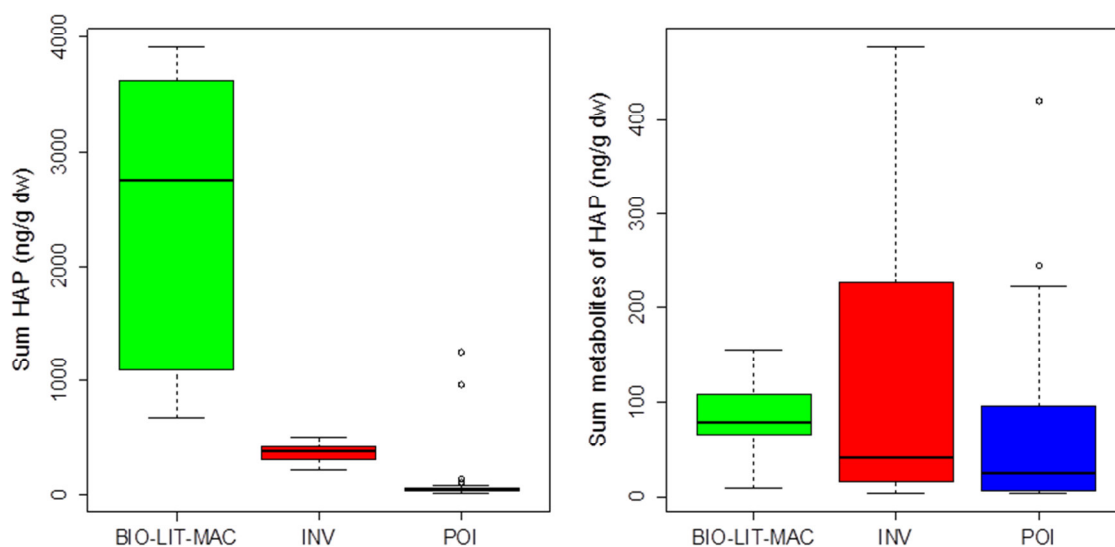


Figure 14. Niveaux totaux de HAP et métabolites de HAP exprimés en ng/g poids sec (échelle logarithmique en abscisse), BIO-LIT-MAC : Biofilm, litière, macrophytes ; INV : invertébrés ; POI : poissons).

En prenant l'exemple du pyrène, la figure 15 illustre une diminution des niveaux de contamination avec le niveau trophique des organismes, ce qui équivaut à un TMF inférieur à 1. Cependant, cette dilution trophique est moins importante en considérant la somme des teneurs en pyrène et son métabolite, le 1-hydroxypyrene, comme l'indique les pentes de droites de régression linéaire de la figure 15. Les TMF ont ainsi été déterminés pour chaque HAP, chaque métabolite de HAP et pour chaque couple de HAP et son métabolite associé (Figure 16). Tous les HAP et métabolites de HAP, excepté le 1-hydroxychrysène et le couple (chrysène + 1-hydroxychrysène), subissent une dilution trophique due à la métabolisation des HAP par les

poissons et, dans une moindre mesure, par les invertébrés. Ces résultats sont cohérents avec la dilution trophique décrite pour les composés parents des HAP dans les écosystèmes marins (Wan et al. 2007) et s'explique par une cinétique de métabolisation et d'élimination rapide des HAP, notamment chez les poissons. A notre connaissance, cette étude est la première à décrire le devenir des métabolites de HAP le long d'un réseau trophique lotique, confirmant ainsi la dilution trophique des HAP, ainsi que certains de leurs métabolites. Le gain apporté par les mesures des métabolites de HAP dans les études de transfert trophique est cependant limité par leur rapide excrétion et leur faible détectabilité dans les organismes.

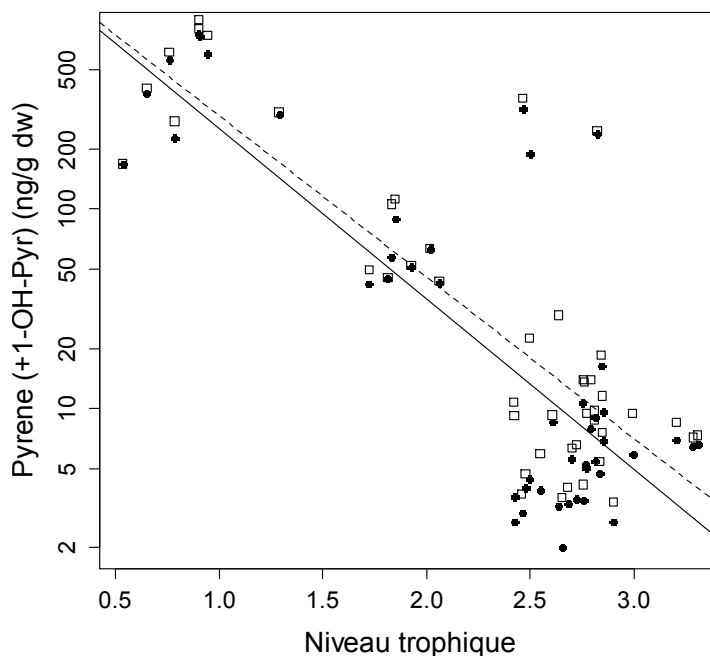


Figure 15. Relation entre la teneur en pyrène ($\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ poids sec, échelle logarithmique) et le niveau trophique ; les points et la droite continue correspondent au pyrène, les carrés vides et la ligne pointillée correspondent à la somme du pyrène et de son produit de métabolisation, le 1-hydroxypyrene.

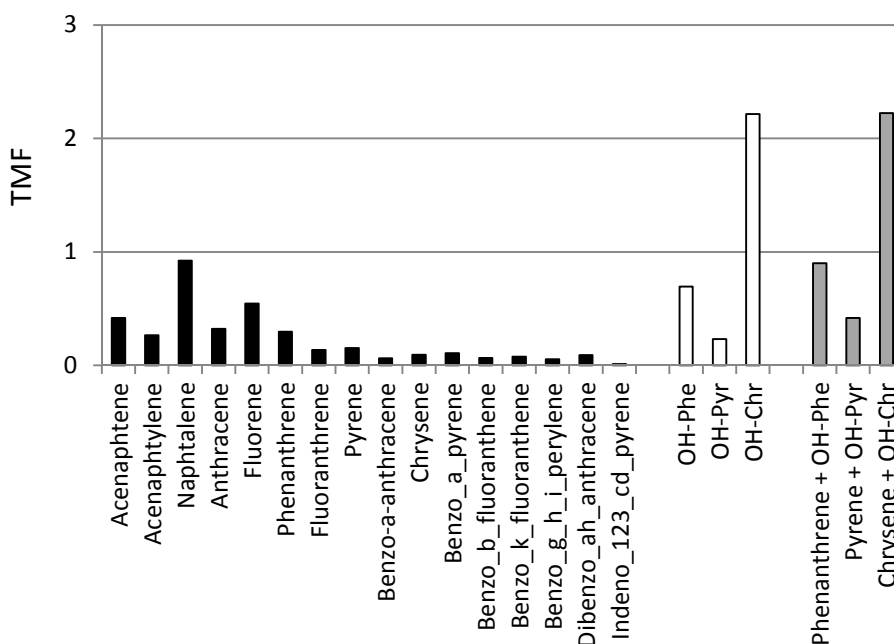


Figure 16. Facteurs d'amplification trophique (TMF) des HAP (barres noires), métabolites de HAP (barres blanches) et HAP + métabolite associé (barres grises) dans le réseau trophique de l'Orge

2.6 Phtalates

Les diesters de phtalates sont des plastifiants, utilisés notamment dans la fabrication du chlorure de polyvinyle (PVC) pour améliorer sa souplesse et sa flexibilité. Ils entrent aussi dans la composition des cosmétiques, emballages alimentaires, matériel médical (poches à perfusion), peintures, etc. Du fait de leur production massive, les phtalates sont rapidement devenus ubiquistes dans l'environnement et 4 d'entre eux (DEHP, DBP, BBP, DIBP) ont été classés en 2017 comme substances extrêmement préoccupantes au titre du règlement Reach, en raison de leurs propriétés de perturbateurs endocriniens. Les diesters de phtalates subissent une métabolisation, notamment par les Vertébrés (Barron et al. 1995) : après hydrolyse, les monoesters ainsi produits sont excrétés sous forme libre ou conjuguée. Chez l'Homme, l'évaluation de la contamination s'appuie sur les teneurs en métabolites de phtalates et non en diesters de phtalates (e.g. Frederiksen et al., 2007). De telles connaissances restent encore rares pour les organismes en milieux naturels, avec quelques études dans les réseaux trophiques marins (Blair et al., 2009; Fossi et al., 2012; Hu et al. 2016) et chez des espèces en milieux aquatiques continentaux (Valton et al., 2014 ; Fourgous et al. 2016).

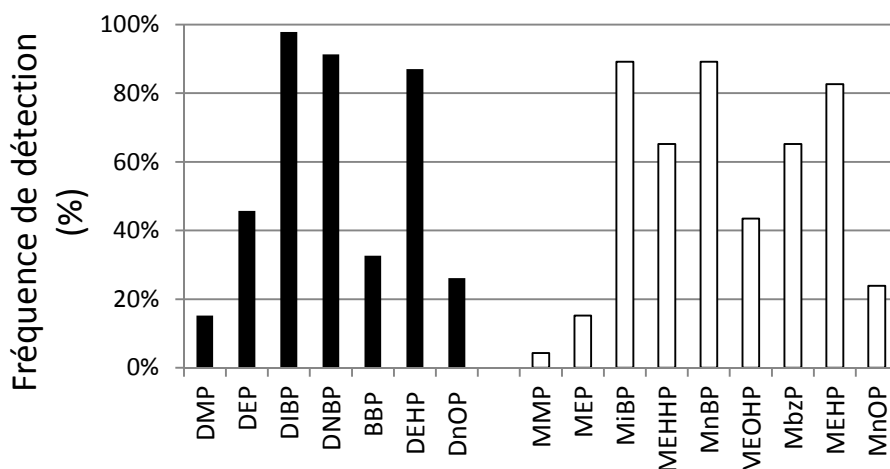


Figure 17. Fréquence de détection/quantification (%) des phtalates (barres noires) et des métabolites de phtalates (barres blanches) dans le réseau trophique de l'Orge

Parmi les 7 diesters de phtalates et les 9 métabolites de phtalates recherchés, 3 ont été quantifiés dans moins de 15% des échantillons (DMP, MMP et MEP) (Figure 17) et n'ont donc pas été intégrés dans les études de TMF. Les teneurs mesurées dans les organismes entiers sont proches de précédents résultats obtenus sur des tissus (muscle), organes (foie, gonades) et liquides biologiques (plasma, bile) de trois espèces de poissons pêchés dans l'Orge à Viry-Chatillon en 2009 et 2010 (Teil et al., 2012 ; Valton et al., 2014).

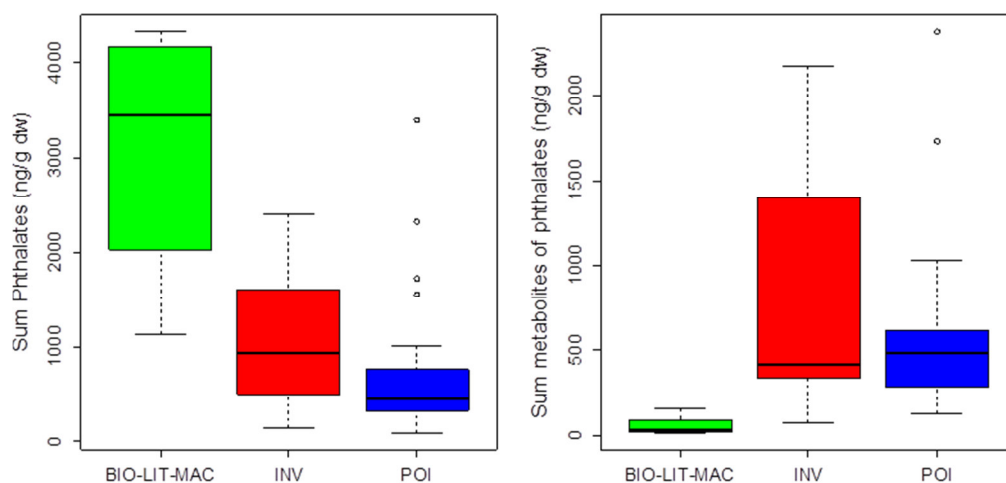


Figure 18. Niveaux totaux de diesters de phtalates et de leurs métabolites (échelle logarithmique, ng/g poids sec) (BIO-LIT-MAC : Biofilm, litière, macrophytes; INV : invertébrés; POI : poissons).

La somme des teneurs en diesters de phtalates est significativement plus faible entre les producteurs primaires et les poissons (Figure 18, Kruskal Wallis $\chi^2 = 16.60$, $df = 2$, $p < 0.001$, complété d'un test post-hoc). La somme des teneurs en métabolites de phtalates est significativement plus faible chez les producteurs primaires que les invertébrés, ainsi que chez les producteurs primaires que les poissons (Figure 18, Kruskal Wallis $\chi^2 = 17.92$, $df = 2$, $p < 0.001$, complété d'un test post-hoc).

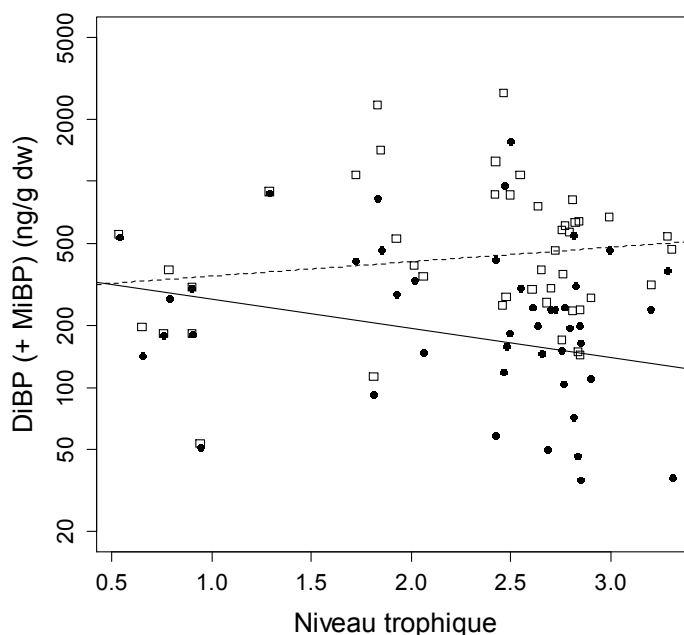


Figure 19. Relation entre la teneur en DiBP ($ng.g^{-1}$ poids sec, échelle logarithmique) et le niveau trophique ; les points et la droite continue correspondent au DiBP, les carrés vides et la ligne pointillée correspondent à la somme du DiBP et de son produit de métabolisation, le MiBP.

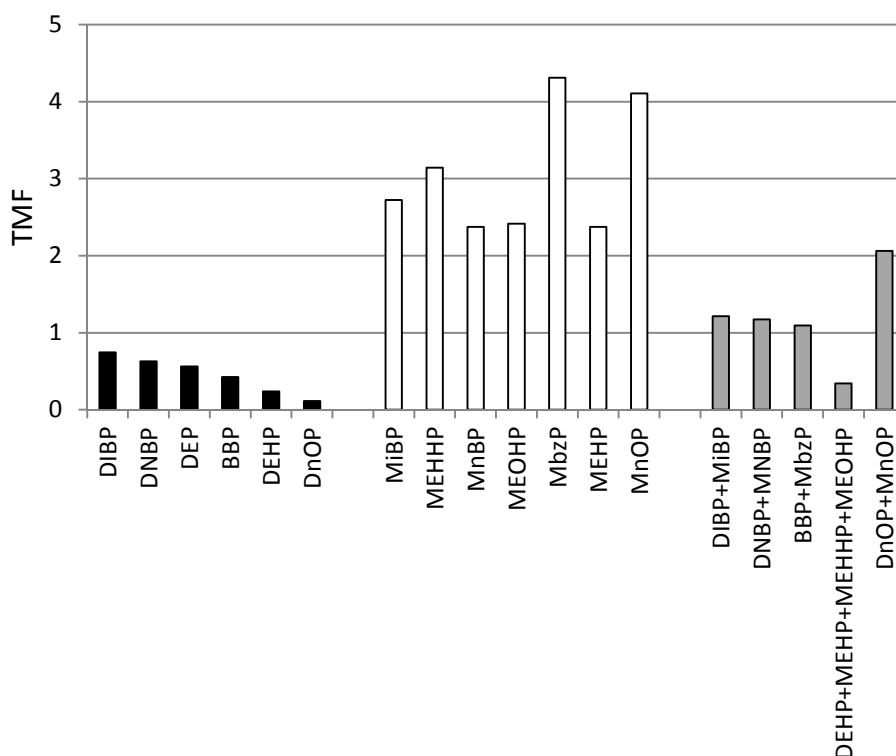


Figure 20. Facteurs d'amplification trophique (TMF) des diesters de phtalates (barres noires), métabolites de phtalates (barres blanches) et diester de phtalate + métabolite(s) associé(s) (barres grises) dans le réseau trophique de l'Orge.

En prenant l'exemple du DIBP (Figure 19), on observe (1) une diminution des teneurs en composé parent avec le niveau trophique (pente négative, $TMF < 1$) et (2) une augmentation de la somme des teneurs en DIBP et MIBP avec le niveau trophique (pente positive, $TMF > 1$). La figure 20 synthétise les valeurs des TMF calculées pour chaque diester de phtalate, monoester de phtalate et chaque couple de diester de phtalate associé à son (ses) métabolite(s) associé(s). Tous les diesters de phtalates subissent une dilution trophique, en raison de leur métabolisation progressive par les hétérotrophes. Ces résultats concordent avec des études précédentes sur la dilution trophique des diesters de phtalates dans les réseaux trophiques marins (Mackintosh et al. 2004, Hu et al., 2016). Concernant les métabolites, nos données mettent en évidence une bioamplification le long du réseau trophique de l'Orge. Ces résultats diffèrent d'une récente étude soulignant la dilution trophique des monoesters de phtalates en milieu marin (Hu et al., 2016), probablement en raison d'une exposition continue en rivière, et de réseaux trophiques plus courts. Il est cependant important de noter que Hu et co-auteurs (2016) n'ont pas intégré de producteurs primaires dans leur étude et n'ont pas calculé pas de TMF.

En sommant chaque diester de phtalate avec son (ses) métabolite(s) associés, on observe une faible bioamplification pour les couples DIBP+MIBP, DNBP+MNBP, BBP+MbzP, une plus forte amplification trophique pour le couple DnOP+MnOP, et une forte dilution trophique pour le DEHP et ses trois métabolites (MEHP, MEHHP, MEOHP) (Figure 20). Au vu des niveaux de métabolites de phtalates et des TMF obtenus, il semble pertinent de considérer les couples diester de phtalate et leur(s) métabolite(s) associé(s) dans la caractérisation des niveaux de contamination des écosystèmes lotiques.

3. Conclusions

Ces travaux ont permis de réaliser une étude comparative de la bioamplification de micropolluants réglementés ou d'intérêt émergent. Afin de minimiser l'influence d'éventuels facteurs confondants et les biais méthodologiques, les analyses ont été réalisées sur des échantillons communs, issu d'un même site, soumis à une forte contrainte anthropique : le cours aval de l'Orge, en amont immédiat de la confluence avec la Seine. Les résultats obtenus démontrent le caractère bioamplifiable des PCB et des chloroalcanes à chaîne courte. Inversement, les chloroalcanes à chaîne moyenne ne sont pas bioamplifiés. Dans le cas des composés fluoroalkylés, la bioamplification apparaît contrôlée par les caractéristiques structurales des composés considérés et, potentiellement, par la biotransformation de précurseurs non identifiés. Concernant les micropolluants facilement métabolisables, les résultats confirment la dilution trophique des HAP et des phtalates. Les métabolites de HAP suivent ce processus de dilution trophique, tandis que les métabolites de phtalates tendent à se bioamplifier et apparaissent particulièrement pertinents à prendre en compte dans les calculs de TMF. Ces travaux contribuent à l'acquisition de données ainsi qu'à une réflexion plus globale sur l'utilisation des TMF dans un cadre réglementaire et sur leur pertinence dans une approche de gestion de la qualité des milieux aquatiques basée sur les NQE_{biote} .

Bibliographie

- Babut M., Ferrari B., Lauzent M., Simonnet-Laprade C., Labadie P., Budzinski H., Accumulation de contaminants prioritaires par des invertébrés et poissons d'eau douce ; Facteurs d'amplification trophique pour l'hexabromocyclododécane, le perfluorooctane sulfonate et les polybromodiphényléthers. Action 38 ONEMA, Rapport final.
- Barron MG, Albro PW, Haytons WL (1995) Biotransformation of di(2-ethylhexyl)phthalate by rainbow trout. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14(5), 873–876.
- Blair, J.D., Ikonomou, M.G., Kelly, B.C., SurrIDGE, B., Gobas, F.A., 2009. Ultra-trace determination of phthalate ester metabolites in seawater, sediments, and biota from an urbanized marine inlet by LC/ESI-MS/MS. *Environ. Sci. Technol.* 43, 6262e6268
- Borgå, K., Kidd, K. A., Muir, D. C., Berglund, O., Conder, J. M., Gobas, F. A., & Powell, D. E. (2012). Trophic magnification factors: considerations of ecology, ecosystems, and study design. *Integrated environmental assessment and management*, 8(1), 64-84.
- De Boer (Ed.), Chlorinated Paraffins, *The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer-Verlag, Berlin.
- Fisk, A. T., Hobson, K. A., & Norstrom, R. J. (2001). Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the Northwater Polynya marine food web. *Environmental Science & Technology*, 35(4), 732-738.
- Fossi, M.C., Panti, C., Guerranti, C., Coppola, D., Giannetti, M., Marsili, L., Minutoli, R. (2012). Are baleen whales exposed to the threat of microplastics? a case of study of the Mediterranean fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Mar. Pollut. Bull.* 64, 2374e2379.
- Fourgous C, Chevreuil M, Alliot F, Amilhat E, Faliex E, Paris-Palacios S, Teil MJ, Goutte A (2016) Phthalate metabolites in the European eel (*Anguilla anguilla*) from Mediterranean coastal lagoons. *The Science of the Total Environment* 569-570, 1053–1059
- Frederiksen, H., Skakkebaek, N.E., Andersson, A.M. (2007). Metabolism of phthalates in humans. *Mol. Nutr. Food. Res.* 51, 899e911
- Hette Tronquart, N., 2012. Organisation trophique des peuplements piscicoles des cours d'eau : approche par l'analyse des isotopes stables, Thèse de doctorat du Museum d'Histoire Naturelle, 242 p.
- Holt, M. S. (2000). Sources of chemical contaminants and routes into the freshwater environment. *Food and chemical toxicology*, 38, S21-S27.
- Hop, H., Borgå, K., Gabrielsen, G. W., Kleivane, L., & Skaare, J. U. (2002). Food web magnification of persistent organic pollutants in poikilotherms and homeotherms from the Barents Sea. *Environmental Science & Technology*, 36(12), 2589-2597.
- Houtz, E.F., Sedlak, D.L., 2012. Oxidative Conversion as a Means of Detecting Precursors to Perfluoroalkyl Acids in Urban Runoff. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9342-9349.
- Hu, X., Gu, Y., Huang, W., Yin, D. (2016). Phthalate monoesters as markers of phthalate contamination in wild marine organisms. *Environmental Pollution*, 218, 410-418.
- Huang, H., Gao, L., Xia, D., Qiao, L., 2017. Bioaccumulation and biomagnification of short and medium chain polychlorinated paraffins in different species of fish from Liaodong Bay, North China. *Scientific Reports* 7, 10749.
- Kelly, B. C., Ikonomou, M. G., Blair, J. D., SurrIDGE, B., Hoover, D., Grace, R., & Gobas, F. A. (2009). Perfluoroalkyl contaminants in an Arctic marine food web: trophic magnification and wildlife exposure. *Environmental Science & Technology*, 43(11), 4037-4043.
- Labadie, P., Chevreuil, M., 2011a. Partitioning behaviour of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391-397.
- Labadie, P., Chevreuil, M., 2011b. Biogeochemical dynamics of perfluorinated alkyl acids and sulfonates in the River Seine (Paris, France) under contrasting hydrological conditions. *Environ. Pollut.* 159, 3634-3639.

- Le Du, B., Haddad, S. P., Luek, A., Scott, W. C., Saari, G. N., Kristofco, L. A., ... & Brooks, B. W. (2014). Bioaccumulation and trophic dilution of human pharmaceuticals across trophic positions of an effluent-dependent wadeable stream. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 369(1656), 20140058.
- Livingstone, D.R., 1998. The fate of organic xenobiotics in aquatic ecosystems: quantitative and qualitative differences in biotransformation by invertebrates and fish. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, 120, 43 -49
- Mackay, D., Celsie, A.K.D., Arnot, J.A., Powell, D.E., 2016. Processes influencing chemical biomagnification and trophic magnification factors in aquatic ecosystems: Implications for chemical hazard and risk assessment. *Chemosphere* 154, 99-108.
- Mackintosh C.E., Maldonado J., Hongwu J. et al. 2004. Distribution of phthalate esters in a marine aquatic food web: comparison to polychlorinated biphenyls. *Environmental Science & Technology*, 38, 2011-2020.
- Munoz, G., Fechner, L.C., Geneste, E., Pardon, P., Budzinski, H., Labadie, P., 2016. Spatio-temporal dynamics of per and polyfluoroalkyl substances (PFASs) and transfer to periphytic biofilm in an urban river: case-study on the River Seine. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-9.
- Munoz, G., Budzinski, H., Babut, M., Drouineau, H., Lauzent, M., Menach, K.L., Lobry, J., Selleslagh, J., Simonnet-Laprade, C., Labadie, P., 2017. Evidence for the Trophic Transfer of Perfluoroalkylated Substances in a Temperate Macrotidal Estuary. *Environmental Science & Technology*. 51, 8450-8459.
- Saborido Basconcillo, L., Backus, S.M., McGoldrick, D.J., Zaruk, D., Sverko, E., Muir, D.C., 2015. Current status of short- and medium chain polychlorinated n-alkanes in top predatory fish across Canada. *Chemosphere* 127, 93-100.
- Stegeman, J.J., Lech, J.J., 1991. Cytochrome P450 monooxygenase systems in aquatic species: carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure. *Environmental Health Perspectives*, 90 (1991), pp. 101-109
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., Usseglio-Polatera, P., 2010. *Invertébrés d'eau douce - Systématique, biologie, écologie*. CNRS Editions. Paris.
- Tapie, N., Le Menach, K., Pasquaud, S., Elie, P., Devier, M.H., Budzinski, H., 2011. PBDE and PCB contamination of eels from the Gironde estuary: From glass eels to silver eels. *Chemosphere* 83, 175-185.
- Teil, M.-J., Tlili, K., Blanchard, M., Chevreuil, M., Alliot, F., Labadie, P. (2012). Occurrence of Polybrominated Diphenyl Ethers, Polychlorinated Biphenyls, and Phthalates in Freshwater Fish From the Orge River (Ile-de France). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(1), 101-113.
- Tilghman, A., Garric, J., Coquery, M. (2009). La mesure des contaminants dans le biote : avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental. *Cemagref*, 49 p.
- Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N. P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2), 57-149.
- Valton, A.S., Serre-Dargnat, C., Blanchard, M., Alliot, F., Chevreuil, M., Teil, M.J., 2014. Determination of phthalates and their by-products in tissues of roach (*Rutilus rutilus*) from the Orge river (France). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21, 12723e12730.
- Wan, Y., Jin, X., Hu, J., & Jin, F. (2007). Trophic dilution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a marine food web from Bohai Bay, North China. *Environmental science & technology*, 41(9), 3109-3114.
- Yeung, L.W.Y., De Silva, A.O., Loi, E.I.H., Marvin, C.H., Taniyasu, S., Yamashita, N., Mabury, S.A., Muir, D.C.G., Lam, P.K.S., 2013. Perfluoroalkyl substances and extractable organic fluorine in surface sediments and cores from Lake Ontario. *Environ. Int.* 59, 389-397.