

Micropolluants d'intérêt émergent en Seine : niveaux, profils et déterminants de la contamination chez deux organismes sentinelles, le chevesne *Squalius cephalus* et la dreissène *Dreissena polymorpha*

Résultats préliminaires

Pierre Labadie^{1*}, M. Bonnard², H. Budzinski¹, S. Guérin³, N. Macorps¹, V. Rocher³

¹ CNRS/Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC

² INERIS-URCA-ULHN, UMR-I 02 Sebio

³ SIAAP

* pierre.labadie@u-bordeaux.fr

Résumé

*Les organismes aquatiques sont exposés de façon chronique à de multiples micropolluants organiques, notamment dans les cours d'eau sous influence urbaine. Cette action s'inscrit dans ce contexte et se focalise sur deux familles de micropolluants partiellement réglementés (composés fluoroalkylés (PFAS) et chloroalcanes) ; elle s'appuie sur l'utilisation de deux organismes sentinelles : le chevesne *Squalius cephalus* et la moule zébrée *Dreissena polymorpha*, deux modèles biologiques complémentaires fréquemment employés pour la surveillance chimique des hydrosystèmes continentaux. Le travail réalisé en début de phase et présenté ici concerne uniquement l'action « chevesnes ». Les résultats préliminaires confirment le caractère ubiquiste des PFAS dans le système Seine et illustrent l'influence de la métropole du Grand Paris, avec des niveaux significativement plus élevés chez les poissons collectés sur les sites les plus à l'aval de la zone d'étude. Les profils moléculaires observés dans les sédiments mettent par ailleurs en évidence la présence de composés d'intérêt très émergent jamais recherchés jusqu'à présent dans le cadre du PIREN-Seine. Ces résultats seront prochainement complétés pour les chloroalcanes et une analyse multivariée basée sur l'utilisation de métadonnées visera à hiérarchiser les déterminants potentiels de la bioaccumulation de ces xénobiotiques chez le chevesne.*

Points clefs

- ✓ *Analyse des composés fluoroalkylés (PFAS) dans les sédiments et chevesnes collectés sur un transfert longitudinal amont-aval*
- ✓ *Caractère ubiquiste des PFAS dans les sédiments et les chevesnes*
- ✓ *Détection ponctuelle de composés d'intérêt émergent alternatifs aux composés historiques*

Abstract

Aquatic organisms are chronically exposed to multiple organic micropollutants, especially in watercourses under urban influence. This research action focuses on two families of partially regulated micropollutants (fluoroalkyl compounds (PFAS) and chloroalkanes); it is based on the use of two sentinel species: European chub *Squalius cephalus* and zebra mussel *Dreissena polymorpha*, two complementary biological models frequently used for the chemical monitoring of continental hydrosystems. The work carried out so far and presented here concerns only the first results acquired on chub. Preliminary results confirm the ubiquitous nature of PFAS in the Seine River system and illustrate the influence of the Greater Paris conurbation, with significantly higher levels in chubs at the sites furthest downstream from the study area. The molecular profiles observed in the sediments also highlight the presence of compounds of very emergent interest that have never been investigated until now in the framework of the PIREN-Seine. These results will soon be completed for chloroalkanes and a multivariate analysis based on metadata will aim at prioritizing the potential determinants of the bioaccumulation of these xenobiotics in chubs.

Key points

- ✓ Analysis of fluoroalkylated compounds (PFAS) in sediments and chubs collected on a longitudinal upstream-downstream transfer
- ✓ Ubiquitous nature of PFAS in sediment and chubs
- ✓ Spot detection of compounds of emerging interest, considered as alternatives to legacy compounds

Introduction

Les enjeux résultant de la diffusion de substances toxiques dans les milieux aquatiques sont au cœur de nombreuses préoccupations scientifiques et sociétales. L'évaluation du risque écotoxicologique se heurte cependant à la complexité des processus qui gouvernent la toxicité mais aussi la biodisponibilité, la métabolisation, la bioaccumulation voire l'amplification trophique des micropolluants. La compréhension de l'écodynamique des micropolluants dans les écosystèmes dulçaquicoles s'avère d'autant plus importante que la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) et sa directive fille 2013/39/UE ont récemment introduit de nouvelles normes de qualité environnementale concernant le biote (NQE_{biote}), principalement définies pour les poissons (Biaudet, 2018).

Durant la phase VII du PIREN-Seine, les travaux dans ce domaine ont inclus l'étude comparative du transfert trophique de différentes familles de micropolluants, dont des composés organohalogénés d'intérêt émergent, listés pour certains dans la DCE ou la convention de Stockholm sur les Polluants Organiques Persistants (ex : PFOS ou chloroalcanes à chaîne courte) (Simmonet-Laprade et al., 2019 ; Goutte et al., 2020). Ces travaux ont été réalisés sur le bassin versant de l'Orge, soumis à de fortes pressions anthropiques altérant la qualité et la nature des habitats de la biocénose aquatique et dont la configuration permettait l'échantillonnage d'un nombre important de maillons trophiques. En parallèle, la question de la contamination de la biocénose à plus large échelle spatiale dans le bassin de la Seine n'a été traitée dans le PIREN-Seine que pour un nombre limité de familles de micropolluants, principalement des composés « historiques », sans que les déterminants potentiels de cette contamination n'aient systématiquement été étudiés. Or, l'acquisition de l'ensemble de ces informations contribue à une meilleure compréhension des modalités de contamination et à l'établissement d'un meilleur diagnostic de la qualité chimique des masses d'eau.

Cette action s'inscrit dans ce contexte et vise à poursuivre la collaboration avec le SIAAP (réseau MeSeine) initiée durant la phase VII du PIREN-Seine (Labadie et al., 2019). Elle s'appuiera sur l'utilisation de deux organismes sentinelles, le chevesne *Squalius cephalus* et la moule zébrée *Dreissena polymorpha*. Ces deux modèles biologiques complémentaires sont fréquemment employés pour la surveillance chimique des hydrosystèmes continentaux (Tilghman et al., 2009). Le chevesne est un cyprinidé omnivore et benthopélagique, de niveau trophique relativement élevé et dont la contamination permet d'intégrer celle d'une grande partie du réseau trophique. Bivalve filtreur situé, à l'inverse du chevesne, à la base du réseau trophique en tant que consommateur primaire, la moule zébrée permet d'intégrer à la fois la contamination de la phase dissoute et celle de la phase particulaire.

L'objectif de cette action sera de proposer une étude comparative des niveaux, profils et déterminants de la contamination chez ces deux modèles biologiques susceptibles d'être employés comme bioindicateurs dans les programmes de surveillance. Elle sera réalisée selon un transect longitudinal amont-aval sur l'axe fluvial de la Seine et sera principalement centrée sur des micropolluants organohalogénés encore peu documentés dans ce système (cf. ci-après). Le rapport rédigé cette année, en début de phase 8 du PIREN-Seine et compte-tenu du contexte sanitaire exceptionnel et de son impact sur les activités des laboratoires de recherche, présente uniquement les premiers résultats acquis sur les chevesnes.

1. Matériels et méthodes

1.1. Sites d'étude et collecte des échantillons

Les prélèvements de chevesnes ont été réalisés en août 2019 sur l'axe fluvial de la Seine, dans le cadre des campagnes de suivi annuelles conduites par le SIAAP (Réseau MeSeine). Des pêches électroniques ont été conduites par le bureau d'études AQUASCOP sur 4 sites retenus suite à une réflexion menée conjointement par les partenaires de cette action, de façon à couvrir un large transect longitudinal amont-aval à l'échelle régionale (Tableau 1 et Figure 1) : un site à l'amont de Paris et trois sites à l'aval. Le site amont est ici considéré comme une référence relative, déjà considérée comme telle dans des travaux antérieurs (Labadie et al., 2019).

Les poissons ont été anesthésiés au MS222 avant mesure des paramètres biométriques et dissection (prélèvement du foie et du muscle dorsal : filets). Le sexe des individus a été déterminé sur le terrain lors des dissections, sur la base de la morphologie des gonades. Les échantillons de tissus ont été stockés à 4°C dans des tubes en polypropylène avant congélation, lyophilisation et broyage.

Tableau 1. Bilan de l'échantillonnage

Date	Commune	Cours d'eau	Coordonnées GPS	n individus
28/08/2019	Gournay-sur-Marne	Marne	48°51'27.7"N 2°34'02.6"E	12 (5 ♀ ; 7 ♂)
28/08/2019	Levallois	Seine	48°54'20.9"N 2°17'23.3"E	12 (7 ♀ ; 5 ♂)
29/08/2019	Le Pecq	Seine	48°53'57.5"N 2°06'27.0"E	10 (4 ♀ ; 6 ♂)
29/08/2019	Triel-sur-Seine	Seine	48°58'29.9"N 2°00'13.5"E	12 (7 ♀ ; 5 ♂)

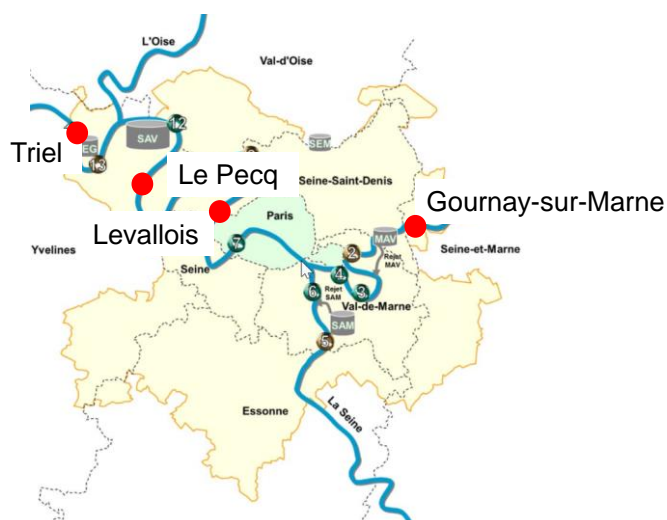


Figure 1. Cartographie des sites d'échantillonnage

Par ailleurs, des échantillons composites de sédiments de surface ($\approx 0-2$ cm) ont été collectés sur chaque site pour qualifier l'état de contamination de chaque zone par le biais de ce compartiment intégrateur. Les sédiments ont été échantillonnés à l'aide d'une cuillère en inox et conservés à 4°C dans des barquettes en aluminium avant congélation.

1.2. Analyse des PFAS

La méthode d'analyse mise en œuvre a été adaptée de travaux antérieurs (Simmonet-Laprade et al., 2019), modifiée pour permettre l'extraction d'une plus large gamme de composés historiques et d'intérêt émergent : le solvant d'extraction est ici du méthanol additionné d'hydroxyde de sodium. Ainsi, outre les acides carboxyliques et sulfoniques perfluoroalkylés, ce travail a inclus des fluorotélomères (FTSA) et des bétaines polyfluoroalkylées (FTAB, composés zwitterioniques) ainsi que des composés considérés comme des alternatives aux composés historiques : NaDONA, FPePA, PFECHS¹... Cette méthode repose sur l'extraction des analytes assistée par ultrasons, la purification des extraits sur cartouches échanges d'anions et graphite (graphite seulement dans le cas des sédiments). L'analyse est ensuite réalisée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), avec une quantification par étalonnage interne (dilution isotopique). On notera que les analyses ont été réalisées sur le muscle dorsal (filet) et le foie, après lyophilisation et broyage au broyeur à billes ; les analyses sur le sédiment ont été réalisées après lyophilisation, tamisage à 2 mm et broyage.

¹ NaDONA : dodécafluoro-3H-4,8-dioxanonanoate de sodium ; FPePA : 3-Perfluoropentyl propanoic acid (5:3) ; PFECHS : sulfonate de perfluoro-4-éthylcyclohexane

2. Résultats préliminaires

2.1. Biométrie

Les caractéristiques biométriques des individus échantillonnés sont résumées dans le Tableau 2. L'objectif était de travailler sur des individus présentant des caractéristiques contrastées, tant pour la taille (proxy de l'âge) que pour la masse, afin de pouvoir étudier l'impact de ces deux facteurs sur les niveaux d'imprégnation. Au vu de la forte dispersion des valeurs mesurées, cet objectif a été atteint ; à titre d'exemple, toutes stations confondues, on observe un écart-type relatif de 27 % pour la taille des individus femelles (rapport max/min : 2,8) et de 64 % (rapport max/min : 9) pour la masse.

Tableau 2. Caractéristiques biométriques des chevesnes échantillonnés sur l'axe fluvial

		n	Taille (mm)	Masse (g)
Gournay	♂	7	237 ± 52 (191–317)	152 ± 99 (73–296)
	♀	5	331 ± 110 (197–500)	495 ± 474 (73–1295)
Levallois	♂	5	284 ± 61 (204–354)	258 ± 143 (86–419)
	♀	7	324 ± 78 (260–487)	458 ± 497 (177–1572)
Le Pecq	♂	6	237 ± 63 (170–305)	172 ± 127 (47–327)
	♀	4	326 ± 115 (176–456)	463 ± 350 (56–912)
Triel	♂	5	239 ± 45 (182–295)	166 ± 90 (67–284)
	♀	7	284 ± 70 (206–431)	312 ± 296 (96–973)
Toutes stations confondues	♂	23	248 ± 56 (170–354)	183 ± 115 (47–419)
	♀	23	314 ± 86 (176–500)	422 ± 393 (56–1572)

2.2. Etat de contamination du sédiment : résultats préliminaires

Sur la base des teneurs exprimées en ng g⁻¹ de poids sec, les premiers résultats obtenus pour le sédiment ne mettent pas en évidence de tendance spatiale (i.e. gradient amont-aval) même si les échantillons prélevés à Triel et Levallois sont significativement plus contaminés que les deux autres sites (*Figure 2*). Même si les niveaux observés sont du même ordre de grandeur que ceux déterminés précédemment (Munoz et al., 2018), ces résultats ne sont pas exactement en accord avec des résultats antérieurs qui montraient l'absence de différences spatiales. Cette comparaison mériterait cependant d'être faite sur la base de teneurs normalisées par rapport au taux de carbone organique total du sédiment, ce dernier étant un facteur de contrôle reconnu de l'adsorption des PFAS (Munoz et al., 2015) (*nota bene* : les teneurs en COT seront déterminés ultérieurement). Par ailleurs, comme indiqué précédemment et afin de tenter de refléter au mieux l'évolution des usages de PFAS, la liste des composés recherchés ici diffère sensiblement de celle retenue dans les travaux antérieurs réalisés sur l'axe fluvial (Munoz et al., 2018). De nombreux composés alternatifs aux composés historiques ont été recherchés et la différence observée entre le suivi réalisé en 2016 et celui présenté ici peut en partie s'expliquer par l'abondance relative de composés tels que le FPePA (alternative à l'acide perfluorooctanoïque PFOA) et surtout les bétaines (6:2 et 8:2 FTAB) qui représentent par exemple plus de 36 à 51 % de la teneur totale en PFAS sur les trois sites aval (*Figure 3*). Ces composés n'avaient pas été recherchés précédemment dans les travaux réalisés dans le cadre du PIREN-Seine mais leur contribution significative à la teneur totale en PFAS en divers sites du réseau hydrographique national avait été mise en évidence (Munoz et al., 2016). On notera enfin la très faible fréquence de détection voire l'absence de détection de la majorité des composés « alternatifs » recherchés, ce qui illustre la faiblesse actuelle (mais probablement amenée à augmenter) de l'émission de ces composés dans le bassin de la Seine.

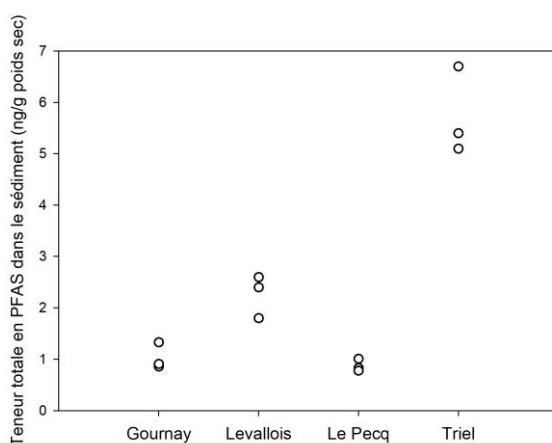


Figure 2. Contamination des sédiments collectés sur l'axe fluvial (n=3 par station)

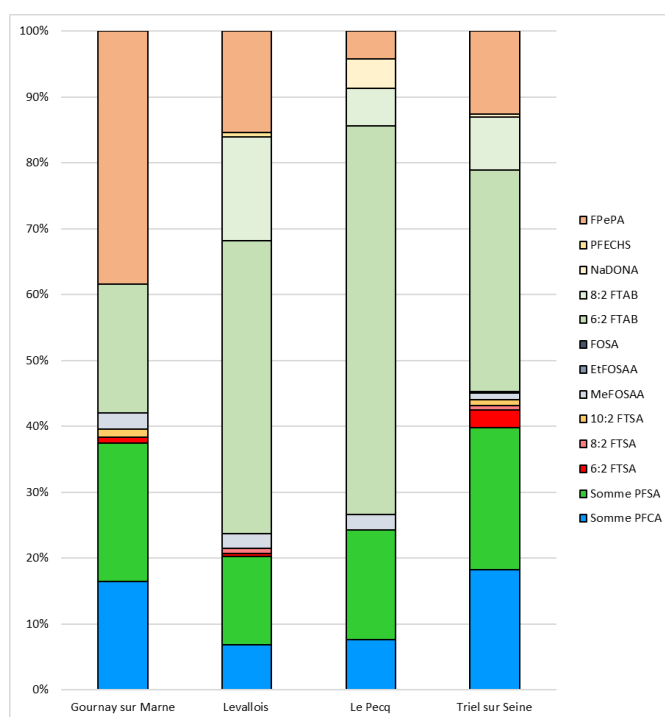


Figure 3. Profil moléculaire des PFAS dans les sédiments (PFSA : sulfonates ; PFCA : carboxylates ; FTSA : fluorotélomères sulfonates ; FTAB : bétaines ; pour la définition de l'ensemble des acronymes, cf. Buck et al., 2011)

2.3. Etat de contamination des chevesnes : résultats préliminaires

Les premiers résultats acquis sur les chevesnes concernent uniquement les teneurs musculaires et hépatiques des PFAS (Figure 4). Les individus collectés à Gournay apparaissent significativement moins contaminés que ceux collectés sur les trois sites aval, qui ne diffèrent pas entre eux. Ces observations confortent les résultats acquis durant la phase VI du PIREN-Seine qui montraient une augmentation significative des concentrations de PFAS dans la phase dissoute de la colonne d'eau et le biofilm (Munoz et al., 2018), suggérant des apports conséquents au sein la métropole du Grand Paris. Ces niveaux sont globalement plus faibles que ceux récemment déterminés sur le secteur aval de l'Orge, considéré comme un point chaud de contamination pour les PFAS à l'échelle régionale (Simonnet-Laprade et al., 2019). Comme observé précédemment chez le chevesne et d'autres espèces de poissons, les teneurs déterminées dans les foies sont, pour un même individu, supérieures aux teneurs musculaires (rapport variant de 1,1 à 20) en raison de l'affinité des PFAS pour certains types de protéines hépatiques (Houde et al., 2011 ; Labadie et Chevreuil, 2011).

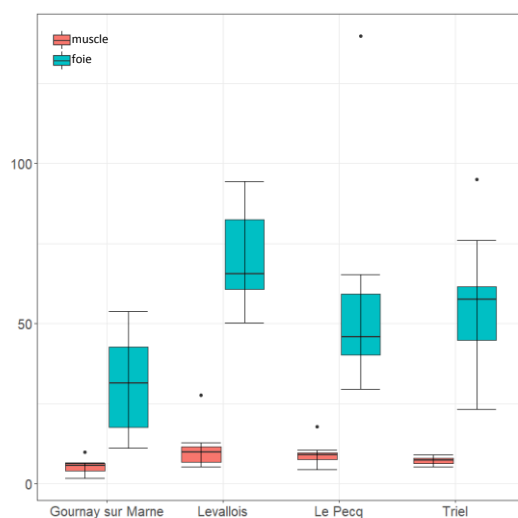


Figure 4. Teneurs totales en PFAS dans les tissus de chevesne (muscles et foies), exprimées en ng/g de tissus frais

Chez les chevesnes, le profil moléculaire est légèrement dominé par les carboxylates (rapport médian carboxylates/sulfonates : 1,2), tandis qu'une tendance inverse est observée dans les foies (rapport médian carboxylates/sulfonates : 0,5), en bon accord avec les travaux antérieurs sur la distribution tissulaire de ces composés (Houde et al., 2011) (synthèse tous sites confondus : Figure 5). Le composé majoritaire reste l'isomère linéaire de l'acide perfluooctane sulfonique (L-PFOS), à ce jour le seul composé de la famille pour lequel une NQE_{biote} a été définie (9,1 ng g⁻¹ poids frais). Pour le chevesne, les teneurs en PFOS dans l'organisme entier peuvent être estimées à l'aide d'un facteur correctif (x 1,908 ; cf. Babut et al., 2016). Sur cette base, il ressort que la médiane du rapport teneur organisme entier / NQE est de 0,6 et que seuls trois individus prélevés à Levallois dépassent la NQE_{biote}, (7 %).

Les composés alternatifs ont été très peu détectés dans les tissus. Ainsi, le 11Cl-PF3OUdS (11-chloroeicosafluoro-3-oxaundécane-1-sulfonate de potassium), issu de la formulation alternative F53-B (ECHA, 2020) n'a été détecté que dans un seul échantillon de foie (Le Pecq) à un niveau très faible (0,2 ng g⁻¹ poids frais), tandis que le PFECHS (substitut au PFOS) n'a été détecté que dans 8 échantillons de foie (0,5–0,7 ng g⁻¹ poids frais). Autre composé d'intérêt émergent, le 8:2 FTAB (bétaine polyfluorée employée notamment dans les formulations de mousse anti-incendie) a été détecté uniquement dans trois échantillons collectés à Triel à des niveaux très faibles (0,13-0,42 ng g⁻¹ poids frais). Ce composé était également présent dans les sédiments de ce même site d'étude mais dans des proportions plus importantes (10-15 % de la teneur totale en PFAS), ce qui peut s'expliquer i) par la moindre bioaccessibilité de ce composé ou ii) sa biotransformation au sein du réseau trophique et chez le chevesne.

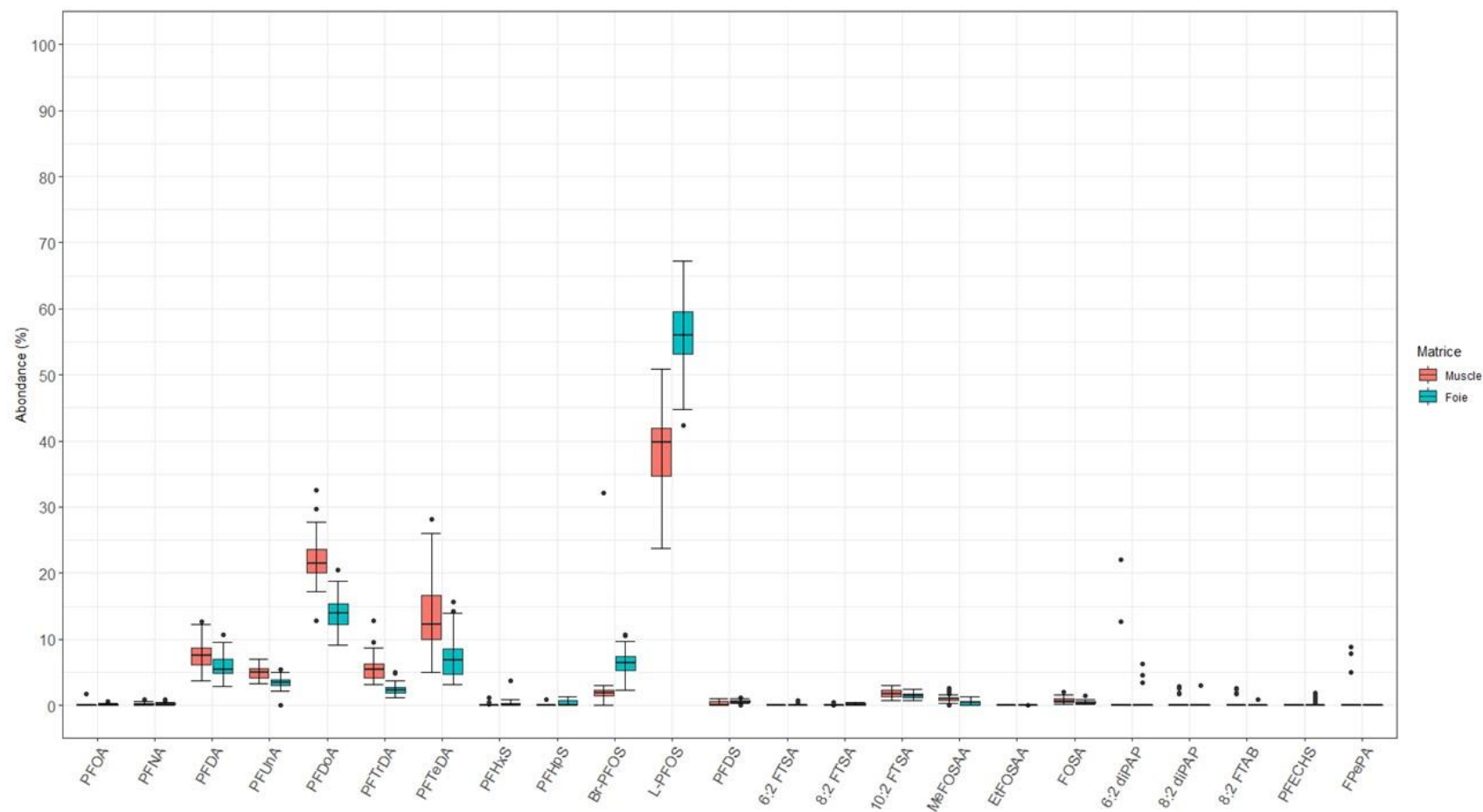


Figure 5. Profil moléculaire (abondance relative, %) des PFAS dans les tissus de chevesnes tous site confondus (n=46).

Conclusion

Les résultats préliminaires présentés dans ce rapport confirment le caractère ubiquiste des PFAS dans le système Seine. Les premiers résultats obtenus chez les chevesnes illustrent l'influence de la métropole du Grand Paris, avec des niveaux significativement plus élevés sur les sites les plus à l'aval de la zone d'étude. Les profils moléculaires observés dans les sédiments mettent par ailleurs en évidence la présence de composés d'intérêt très émergent jamais recherchés jusqu'à présent dans le cadre du PIREN-Seine.

Concernant ce volet « chevesne », les travaux envisagés à court terme incluent i) l'acquisition de données supplémentaires (teneurs en chloroalcanes et lipides, signatures isotopiques du carbone et de l'azote) et ii) l'intégration des données dans une analyse multivariée pour hiérarchiser les facteurs de contrôle potentiels du niveau d'imprégnation des individus (ex : site vs. écologie trophique vs. biométrie).

Dans le même temps, des campagnes de déploiement de pièges à particules et d'encagement de dreissènes (en collaboration avec l'UMR SEBIO) viseront à explorer le potentiel de bioindication de cet autre organisme sentinelle.

Bibliographie

Biaudet – Mise en place de la surveillance biote dans les milieux aquatiques : Propositions de limites de quantification – Rapport AQUAREF 2018 - 47 p.

Buck, R. C.; Franklin, J.; Berger, U.; Conder, J. M.; Cousins, I. T.; de Voogt, P.; Jensen, A. A.; Kannan, K.; Mabury, S. A.; van Leeuwen, S. P. J. Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances in the Environment: Terminology, Classification, and Origins. *Integrated Environmental Assessment and Management* 2011, 7 (4), 513–541. <https://doi.org/10.1002/ieam.258>.

ECHA, The Use of PFAS and Fluorine-Free Alternatives in Fire-Fighting Foams, 2020. <https://echa.europa.eu/fr/fluorine-free-foams>

Goutte, A.; Alliot, F.; Budzinski, H.; Simonnet-Laprade, C.; Santos, R.; Lachaux, V.; Maciejewski, K.; Le Menach, K.; Labadie, P. Trophic Transfer of Micropollutants and Their Metabolites in an Urban Riverine Food Web. *Environ. Sci. Technol.* 2020, 54 (13), 8043–8050. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c01411>.

Houde, M.; De Silva, A. O.; Muir, D. C. G.; Letcher, R. J. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environmental Science & Technology* 2011, 45 (19), 7962–7973. <https://doi.org/10.1021/es104326w>.

Labadie, P.; Chevreuil, M. Partitioning Behaviour of Perfluorinated Alkyl Contaminants between Water, Sediment and Fish in the Orge River (Nearby Paris, France). *Environmental Pollution* 2011, 159 (2), 391–397. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.039>.

Labadie P., Simonnet-Laprade C., Maciejewski K., Lachaux V., Molbert N., Le Menach K., Budzinski H., Alliot F., Chevreuil M., Azimi S., Guérin S., Rocher V., Santos R., Goutte A., Transfert trophique de micropolluants organiques dans des cours d'eau urbains dans Devenir des contaminants : piégeage, transformation, bioaccumulation et effets écotoxicologiques, Gelabert & Goutte (eds.), Rapports de synthèse de la phase VII du PIREN-Seine, Volume 6, 2019.

Munoz, G.; Giraudel, J.-L.; Botta, F.; Lestremau, F.; Dévier, M.-H.; Budzinski, H.; Labadie, P. Spatial Distribution and Partitioning Behavior of Selected Poly- and Perfluoroalkyl Substances in Freshwater Ecosystems: A French Nationwide Survey. *Science of the Total Environment* 2015, 517, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.043>.

Munoz, G.; Duy, S. V.; Labadie, P.; Botta, F.; Budzinski, H.; Lestremau, F.; Liu, J.; Sauvé, S. Analysis of Zwitterionic, Cationic, and Anionic Poly- And Perfluoroalkyl Surfactants in Sediments by Liquid Chromatography Polarity-Switching Electrospray Ionization Coupled to High Resolution Mass Spectrometry. *Talanta* 2016, 152, 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.02.021>.

Munoz, G.; Fechner, L. C.; Geneste, E.; Pardon, P.; Budzinski, H.; Labadie, P. Spatio-Temporal Dynamics of per and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) and Transfer to Periphytic Biofilm in an Urban River: Case-Study

on the River Seine. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2018**, 25 (24), 23574–23582. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8051-9>.

Simonnet-Laprade, C.; Budzinski, H.; Maciejewski, K.; Le Menach, K.; Santos, R.; Alliot, F.; Goutte, A.; Labadie, P. Biomagnification of Perfluoroalkyl Acids (PFAAs) in the Food Web of an Urban River: Assessment of the Trophic Transfer of Targeted and Unknown Precursors and Implications. *Environ Sci Process Impacts* 2019, 21 (11), 1864–1874. <https://doi.org/10.1039/c9em00322c>.

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.