

## **Bioaccumulation des composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) chez une espèce sentinelle, la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) dans la Seine**

Pierre Labadie<sup>1\*</sup>, Antoine Fructuoso<sup>1</sup>, Marc Bonnard<sup>2</sup>, H. Budzinski<sup>1</sup>

<sup>1</sup> CNRS/Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC

<sup>2</sup> INERIS-URCA-ULHN, UMR-I 02 Sebio

\* 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 chloroalcane) ; elle s'appuie sur l'utilisation de deux organismes sentinelles : le chevain *Squalius cephalus* et la moule zébrée (ou dreissène) *Dreissena polymorpha*, deux modèles biologiques complémentaires fréquemment employés pour la surveillance chimique des hydrosystèmes continentaux. Ce rapport présente des résultats préliminaires obtenus sur les dreissènes (campagnes 2020 et 2021). Les résultats confirment le caractère ubiquiste des PFAS dans le système Seine et illustrent l'influence de la métropole du Grand Paris, avec des niveaux qui semblent plus élevés chez les dreissènes collectées sur les sites situés à l'aval de la zone d'étude. L'examen des profils moléculaires met en évidence la présence de composés d'intérêt très émergent (bétaines, composés polyfluoroalkylés). Ces composés sont également retrouvés en proportion relativement similaires dans les matières en suspension collectées à l'aval de la zone considérée. Les facteurs d'accumulation du sédiment au biote apparaissent par ailleurs relativement stables entre sites et périodes d'exposition. Ces premiers résultats, à confirmer avec une troisième campagne, suggèrent la pertinence de la dreissène comme organisme sentinelle pour l'estimation de la fraction bioaccumulable des PFAS.*

### **Points clefs**

- ✓ Caractère ubiquiste des PFAS chez les dreissènes ;
- ✓ Détection de composés d'intérêt émergent alternatifs aux composés historiques ;
- ✓ Facteurs d'accumulation dreissènes/MES (BSAF) relativement stables.

### **Abstract**

Aquatic organisms are chronically exposed to multiple organic micropollutants, particularly in waterways under urban influence. This action focuses on two families of partially regulated micropollutants: fluoroalkyl compounds (PFAS) and chlorinated alkanes. It is based on the use of two sentinel organisms: the chub *Squalius cephalus* and the zebra mussel *Dreissena polymorpha*, two complementary biological models frequently used for the chemical biomonitoring of continental hydrosystems. This report presents preliminary results obtained on zebra mussels (2020 and 2021 campaigns). The results confirm the ubiquitous nature of PFAS in the Seine system and illustrate the influence of

the Greater Paris metropolitan area, with levels appearing to be higher in zebra mussels collected at sites located downstream of the study area. The investigation of molecular profiles highlights the presence of compounds of very emerging interest (i.e. betaines, polyfluoroalkyl compounds). These compounds are also found in relatively similar proportions in the suspended particles collected downstream of the area under consideration. The sediment-to-biota accumulation factors also appear to be relatively stable between sites and exposure periods. These initial results, to be confirmed with a third campaign, suggest the relevance of zebra mussels as a sentinel organism for the estimation of the bioavailable fraction of PFAS.

### Key points

- ✓ Ubiquitous nature of PFAS in transplanted zebra mussels,
- ✓ Detection of alternative compounds of emerging interest along with legacy compounds,
- ✓ Relatively stable zebra mussel-to-suspended solids ratios.

## Introduction

Les enjeux associés à la diffusion de composés potentiellement toxiques dans les milieux aquatiques constituent d'importantes 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 ( $NQE_{\text{biote}}$ ), principalement définies pour les poissons (Biaudet, 2018).

Durant la phase VII du PIREN-Seine, les travaux dans ce domaine ont inclus l'étude de la bioaccumulation et de la bioamplification de plusieurs familles de micropolluants, incluant 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 chloroalcane 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. Plus récemment, Macorps et al. (2022) ont abordé la question de la contamination de la biocénose par les PFAS à plus large échelle spatiale dans le bassin de la Seine chez un organisme sentinelle : le chevaine *Squalius cephalus*, en explorant ses facteurs de contrôle.

Ces travaux s'inscrivent dans ce contexte et s'appuient sur l'utilisation d'un autre organisme sentinelle, la moule zébrée (ou dreissène) *Dreissena polymorpha*. Ces deux modèles biologiques complémentaires sont fréquemment employés pour la surveillance chimique des hydrosystèmes continentaux (Tilghman et al., 2009). Bivalve filtreur situé, à l'inverse du chevaine, 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 est ici de proposer une étude comparative des niveaux et profils de contamination entre dreissènes et matières en suspension (MES), afin d'explorer le potentiel de cet organisme comme bio-indicateur de la contamination de la Seine par les PFAS. Elle a été conduite sur des individus transplantés selon un transect longitudinal amont-aval sur l'axe fluvial de la Seine.

## 1. Matériels et méthodes

### 1.1.1. Transplantation des dreissènes

Les dreissènes utilisées dans le cadre de cette étude sont issues d'une même population provenant d'un site de référence (Lac du Der - 51). Cette population est suivie depuis plusieurs années par l'UMR-I 02 SEBIO (Bonnard et al., 2021). Après un tri en laboratoire (longueur comprise entre 20 et 25 mm) et réparties en différents lots ou cages de 150 individus, les dreissènes ont été transplantées pendant trois semaines sur cinq sites ateliers distribués sur l'axe fluvial, à l'occasion de deux campagnes (nov.-déc. 2020 et 2021). Les cinq sites ateliers retenus sont les suivants : Champigny-sur-Marne, Choisy-le-Roi, Bougival, Conflans-Sainte-Honorine et Triel-sur-Seine (Figure 1).

Sur ces mêmes sites, des pièges à particules intégratifs constitués de bouteilles d'aluminium, similaires à ceux validés précédemment dans le bassin de l'Orge (Froger et al., 2019) ont été déployés sur la même période afin d'échantillonner les matières en suspension (MES) transitant dans le fleuve. Les pièges n'ont malheureusement pas pu être récupérés sur les deux sites localisés à l'amont de Paris en raison de la perte des dispositifs durant les campagnes (vraisemblablement arrachés par le courant).

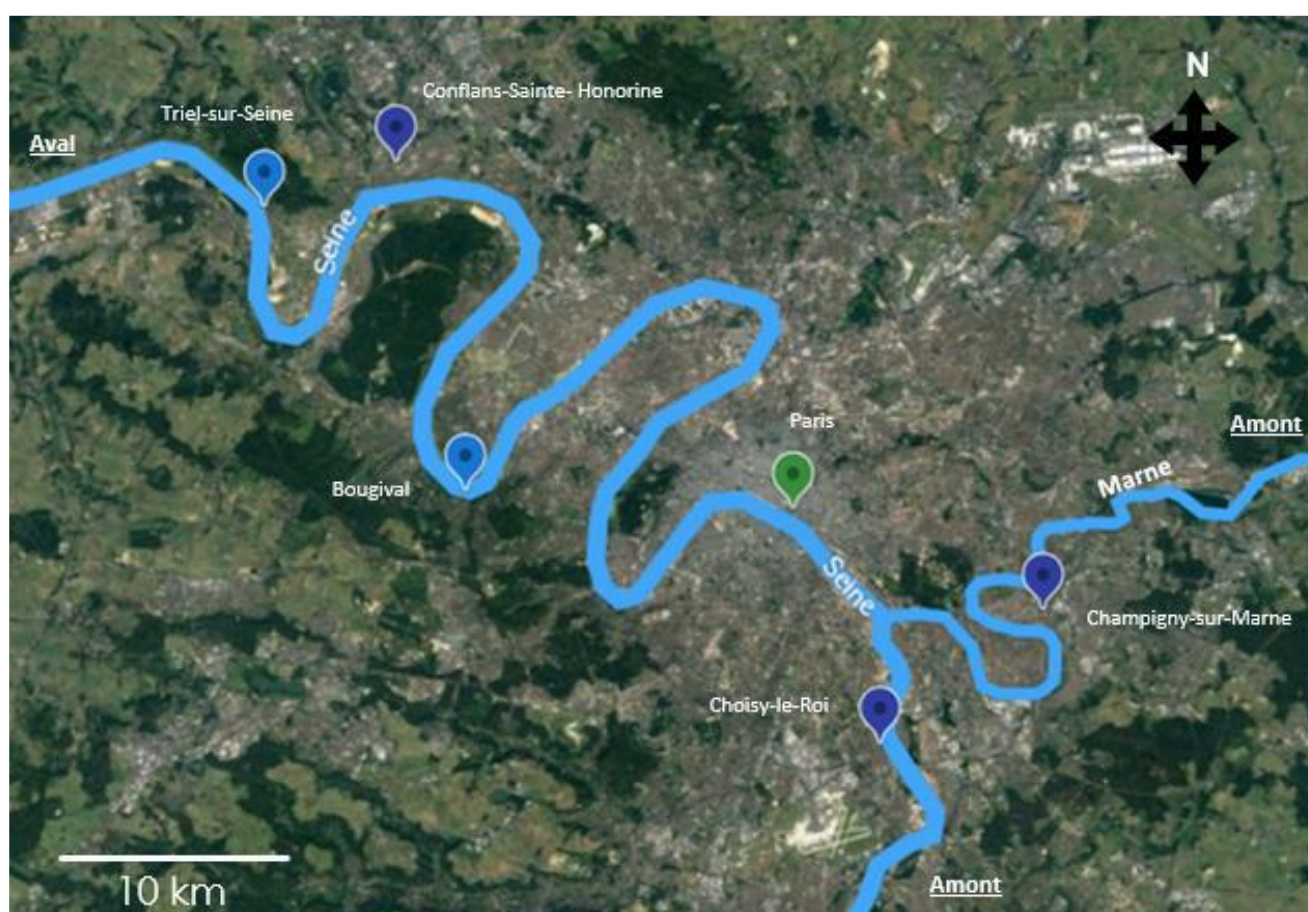


Figure 1. Localisation des sites d'étude (Bonnard et al., 2021)

### 1.2. Analyse des PFAS

Les PFAS ont été analysés sur les tissus mous de dreissènes (*pool* d'individus) préalablement lyophilisés et broyés, ainsi que sur les échantillons de MES préalablement lyophilisés et tamisés (2 mm puis 0,2 mm). 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 : le solvant d'extraction est ici du méthanol additionné d'acétate d'ammonium. Ainsi, outre les acides carboxyliques et sulfoniques

perfluoroalkylés, ce travail a inclus de nombreux PFAS d'intérêt émergent : fluorotélomères (FTSA) et bétaines polyfluoroalkylées (FTAB, composés zwitterioniques historiquement utilisés dans les formulations de mousse anti-incendies) ainsi que des composés considérés comme des alternatives aux composés historiques : NaDONA, FPePA, PFECHS<sup>1</sup>... Cette méthode repose sur l'extraction des analytes assistée par micro-ondes et la purification des extraits sur cartouches échangeuses d'anions et graphite (graphite seulement dans le cas des MES). 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).

## 2. Résultats et discussion

### 2.1. Teneurs des PFAS dans les MES et les dreissènes / profil moléculaire

Les PFAS ont été systématiquement détectés dans les échantillons de MES (Figure 2) et les tissus de dreissènes (Figure 3). Dans les MES, les premiers résultats suggèrent des niveaux de contamination plus élevés à Conflans, quelle que soit l'année, et des niveaux équivalents à Bougival et Triel. Les teneurs observées dans les MES (12–51 ng/g) sont supérieures à celles observées dans les sédiments sur le même secteur (Macorps et al., 2022), probablement en raison de la plus grande surface spécifique des particules analysées ici. Dans les tissus de dreissènes, les niveaux de PFAS après trois semaines d'encagement *in situ*, compris entre 5 et 71 ng/g poids frais, se sont avérés largement supérieurs à ceux observés chez les organismes témoins (*i.e.* non exposés *in situ*, notés « T0 » sur la figure 2). Le faible nombre de mesures réalisées n'a pas permis de tester la significativité de potentielles différences intersites. Néanmoins, au vu i) de la répétabilité des mesures (déterminée par ailleurs, < 15%) et ii) du fait que les mesures ont été réalisées sur des échantillons composites (*i.e.* constitués de plusieurs individus et intégrant ainsi la variabilité interindividuelle), les résultats suggèrent que les teneurs observées sur les trois sites aval (Bougival, Conflans et Triel) sont supérieures à celles observées à l'amont de l'agglomération parisienne. Cette conclusion est également supportée par la cohérence des observations entre les deux campagnes.

Comme dans les sédiments échantillonnés en 2019 (Macorps et al., 2022), le profil moléculaire des PFAS dans les MES est largement dominé sur tous les sites par le 6:2 FTAB qui représente  $62 \pm 17$  % de  $\sum$ PFAS, suivi par le L-PFOS et le 5:3 FTCA ( $12 \pm 7$  % et  $5 \pm 2$  %, respectivement) (exemple du site de Conflans illustré par la Figure 4). Les FTAB sont des PFAS utilisés dans les formulations de mousses aqueuses filmogènes anti-incendies (AFFF). En outre, un composé polyfluoroalkylé alternatif aux PFAS perfluoroalkylés, le 10:2 FTSA apparaît également omniprésent, mais à des niveaux plus faibles, en bon accord avec les résultats récents de Macorps et al. (2022). Ces résultats confirment les premiers résultats obtenus en 2019 et illustrent la contribution majeure des PFAS d'intérêt émergent sur la zone d'étude. Même si le FPePA n'a pas été observé dans les tissus de dreissènes (probable effet de seuil, *i.e.* niveaux faibles et proches de la limite de détection), le profil observé dans cette matrice est globalement très proche de celui observé dans les MES, avec également une contribution importante du 6:2 FTAB. Ce profil est toutefois différent de celui observé chez les chevaines sur le même secteur. En effet, le 6:2 FTAB n'a pas été détecté dans les tissus de chevaine, probablement en raison de sa biotransformation (Macorps et al., 2022). Les capacités métaboliques de la dreissène étant réduites comparativement au chevaine, le profil moléculaire observé chez cet organisme pour les PFAS reflète probablement mieux celui de son milieu d'exposition. Comme pour d'autres familles de micropolluants ionisables (Grabicová et al., 2022), ceci lui confère un intérêt certain en tant que bio-indicateur dans une démarche de biosurveillance active (transplantation d'organismes), y compris pour des composés ionisables tels les FTAB.

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

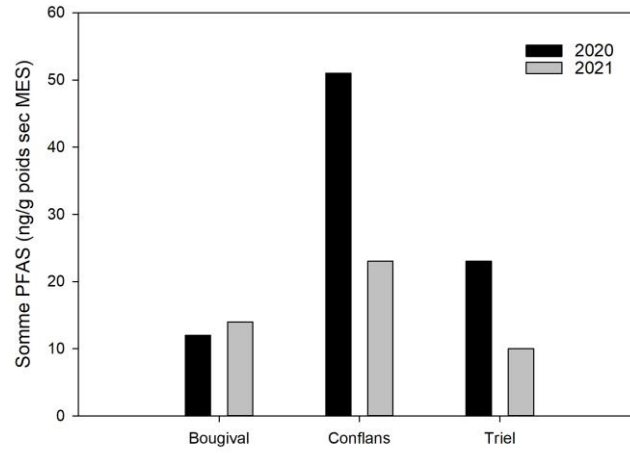


Figure 2. Teneurs totales en PFAS dans les matières en suspension (sites aval Paris).

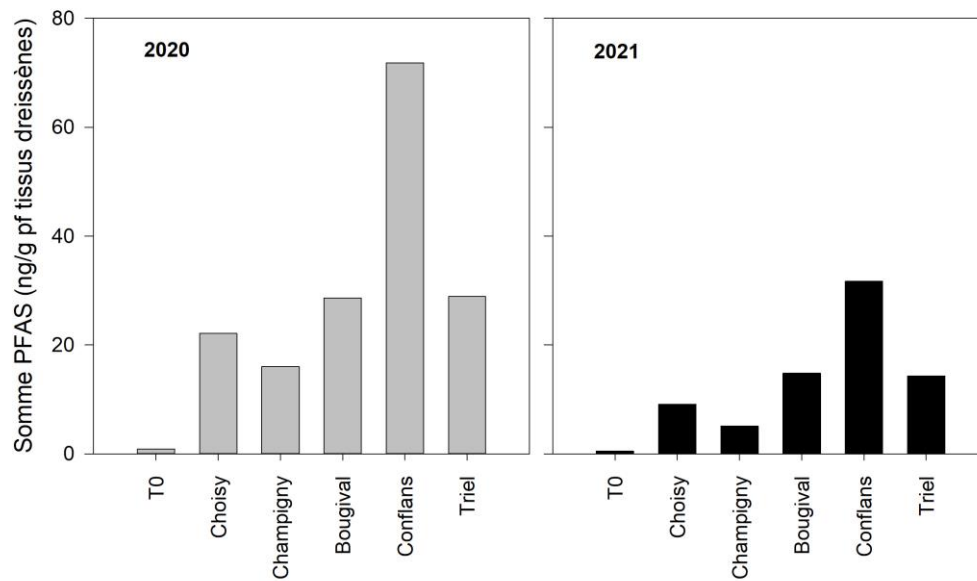


Figure 3. Teneurs totales en PFAS dans les tissus mous de dreissène (ng/g poids frais).

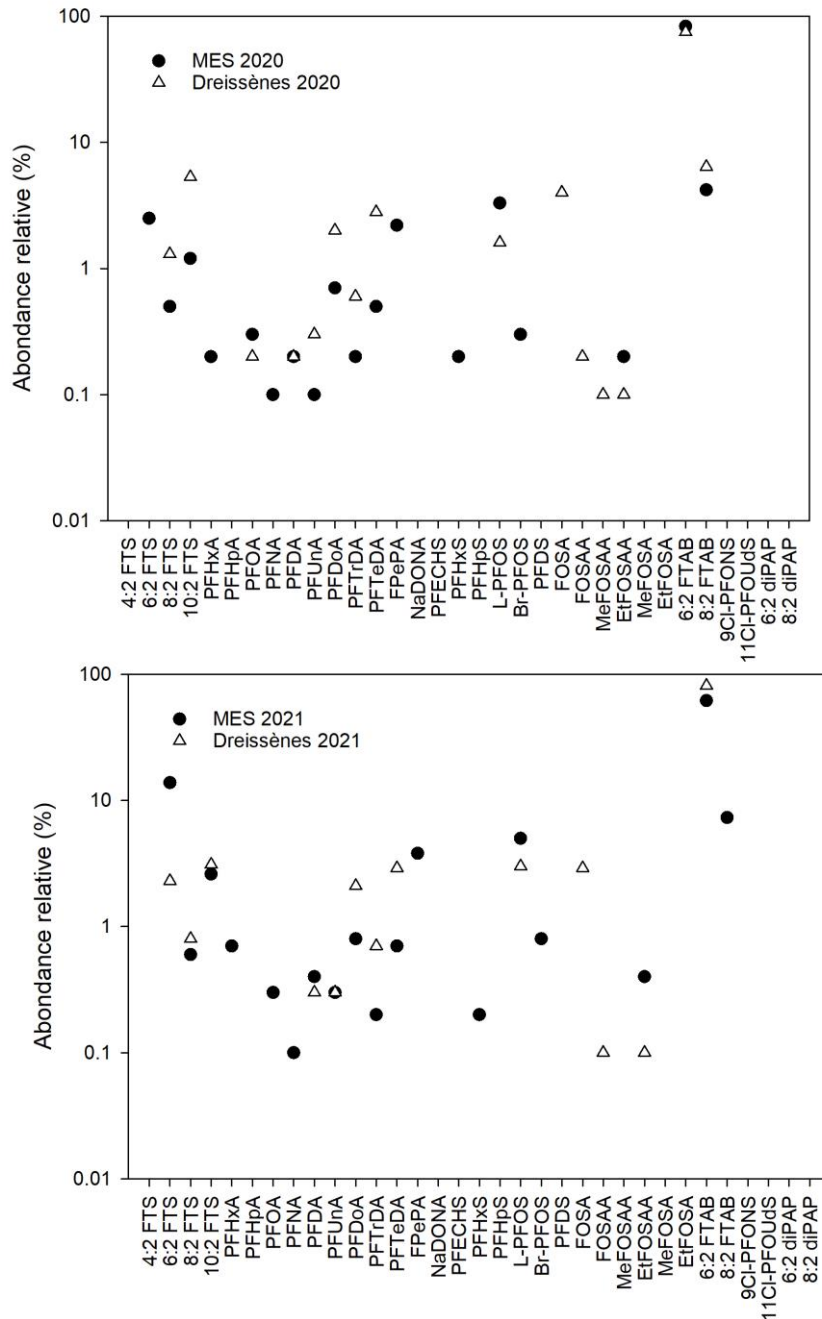


Figure 4. Profil moléculaire des PFAS dans les MES et dreissènes échantillonnés à Conflans (haut : 2020 ; bas 2021).

## 2.2 Facteurs d'accumulation MES/dreissènes

Comme indiqué plus haut, la dreissène est un organisme filtreur qui peut se contaminer tant par voie respiratoire (voie directe : micropolluants dissous) que par voie trophique (micropolluants associés aux MES). L'activité de filtration est donc un processus clé dans la bioaccumulation des micropolluants par la dreissène, qui pourrait être influencée par différents facteurs : température, taille, concentration et nature des particules, abondance de la nourriture (ex. : phytoplancton). Pour explorer les relations entre la contamination des MES et celle des dreissènes, nous avons déterminé le facteur d'accumulation du sédiment au biote ( $BSAF_{MES}$ ). Pour chaque PFAS présentant une fréquence de détection de 100 %, ce descripteur a été calculé selon la relation suivante :  $BSAF_{MES} = C_{dreissène}/C_{MES}$ , où  $C_{dreissène}$  est la teneur dans les tissus mous de dreissènes exprimée en



ng/g poids frais et  $C_{MES}$  la teneur dans les MES exprimée en ng/g poids sec.

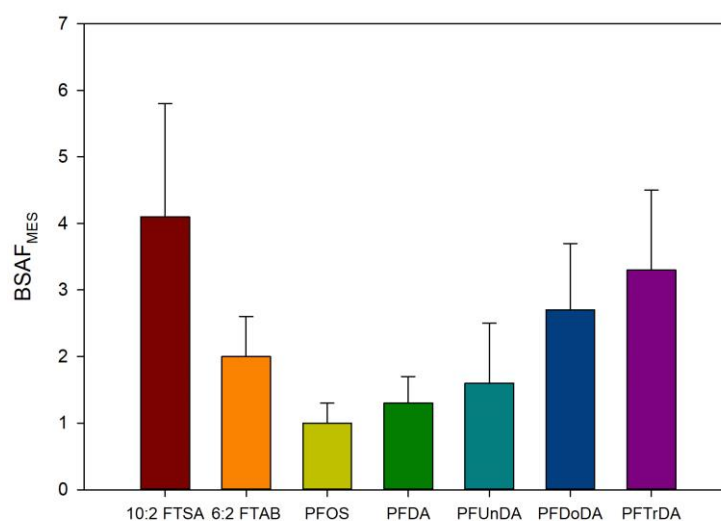


Figure 5. Facteurs d'accumulation du sédiment au biote (BSAF). Les teneurs dans les MES sont exprimées en ng/g poids sec, tandis que celles dans les dreissènes sont exprimées en ng/g poids frais.

Pour tous les PFAS, sites et années confondus, les résultats montrent une variabilité des BSAF comprise entre 29 et 50 % (écart-type relatif), ce qui reste relativement faible et suggère que les BSAF<sub>MES</sub> sont relativement constants d'un site à l'autre et d'une période à l'autre (Figure 5). Le BSAF le plus élevé est observé pour le 10:2 FTSA. Il est intéressant de noter que, contrairement à des observations faites pour d'autres invertébrés, le BSAF du 6:2 FTAB est supérieur à celui du PFOS, alors même que les interactions électrostatiques entre ce composé zwitterionique et les charges de surface négatives des MES pourraient réduire sa bioaccessibilité (Macorps et al., 2022). On notera également la relation significative entre BSAF<sub>MES</sub> et longueur de la chaîne alkyle des acides carboxyliques (i.e. augmentation du PFDA au PFTTrDA, Figure 5). Cette observation est cohérente avec les résultats obtenus pour un autre bivalve (scrobiculaire *S. plana*) en milieu estuarien (Munoz et al., 2017) et illustre la dépendance du BSAF aux caractéristiques structurales des PFAS.

## Conclusion

Ces travaux visaient à poursuivre l'étude de la présence et de la dynamique des PFAS dans le bassin de la Seine. Plus précisément, il s'agissait ici d'explorer le potentiel d'un organisme sentinelle, la dreissène *Dreissena polymorpha* comme bio-indicateur de la contamination par les PFAS. Deux campagnes de biosurveillance active (transplantation de dreissènes) ont été réalisées en 2020 et 2021 le long d'un transect longitudinal à l'aval de Paris et en considérant deux références relatives en amont. En parallèle, un échantillonnage intégratif des matières en suspension a été mis en place et une liste étendue de composés a été recherchée. Les résultats obtenus suggèrent un gradient de contamination amont aval ; de nombreux composés historiques se sont avérés ubiquistes, mais des composés d'intérêt plus émergent tels que les FTAB ou le 10:2 FTSA ont systématiquement été détectés (avec une importante contribution du 6:2 FTAB à la teneur totale en PFAS). La confrontation des résultats MES et dreissènes montre une cohérence des profils obtenus dans chacun des compartiments et une relative stabilité des facteurs d'accumulation biote-MES (BSAF<sub>MES</sub>), ce qui suggère que la dreissène est un biomonitor pertinent pour appréhender la qualité du milieu d'exposition par les PFAS. Ces résultats seront approfondis grâce aux résultats acquis lors d'une troisième campagne réalisée fin 2022.

## Bibliographie

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

Bonnard et al., Diagnostic du risque écotoxicologique au niveau du bassin de la Seine, 2021, PIREN-Seine phase 8

Froger, C., Quantin, C., Gasperi, J., Caupos, E., Monvoisin, G., Evrard, O., & Ayrault, S. Impact of urban pressure on the spatial and temporal dynamics of PAH fluxes in an urban tributary of the Seine River (France) 2019 *Chemosphere*, 219, 1002-1013

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>.

Grabicová, K.; Vojs Staňová, A.; Švecová, H.; Nováková, P.; Kodeš, V.; Leontovyčová, D.; Brooks, B. W.; Grabic, R. Invertebrates Differentially Bioaccumulate Pharmaceuticals: Implications for Routine Biomonitoring. *Environmental Pollution* 2022, 309, 119715. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119715>.

Macorps, N.; Le Menach, K.; Pardon, P.; Guérin-Rechdaoui, S.; Rocher, V.; Budzinski, H.; Labadie, P. Bioaccumulation of Per- and Polyfluoroalkyl Substance in Fish from an Urban River: Occurrence, Patterns and Investigation of Potential Ecological Drivers. *Environmental Pollution* 2022, 303. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119165>.

Munoz, G.; Budzinski, H.; Babut, M.; Drouineau, H.; Lauzent, M.; Menach, K. L.; Lobry, J.; Selleslagh, J.; Simonnet-Laprade, C.; Labadie, P. Evidence for the Trophic Transfer of Perfluoroalkylated Substances in a Temperate Macrotidal Estuary. *Environ. Sci. Technol.* 2017, 51 (15), 8450–8459. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b02399>.

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. La Mesure Des Contaminants Dans Le Biote : Avantages et Inconvénients Pour La Surveillance Chimique Du Milieu Continental.; Cemagref, 2009; p 49 p.