HAL
open science

Transfert de composés per- et poly-fluorés du sédiment au poisson

Marc Babut, D. Bertin, M. Desmet, B.J.D. Ferrari, Paul Labadie, Brice Mourier, C. Simonnet Laprade, H. Budzinski

To cite this version:

Marc Babut, D. Bertin, M. Desmet, B.J.D. Ferrari, Paul Labadie, et al.. Transfert de composés per- et poly-fluorés du sédiment au poisson. [Rapport de recherche] irstea. 2016, pp.75. hal-02603445

HAL Id: hal-02603445

https://hal.inrae.fr/hal-02603445v1

Submitted on 16 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Transfert de composés per- et poly-fluorés du sédiment au poisson

Rapport scientifique final

Avril 2016

ZABR

ZONE ATELIER BASSIN DU RHONE
RHONE BASIN LONG TERM ENVIRONMENTAL RESEARCH

Titre

Transfert de composés per- et polyfluorés du sédiment au poisson

Auteurs

Marc BABUT, Delphine BERTIN, Marc DESMET, Benoit FERRARI, Pierre LABADIE, Brice MOURIER, Caroline SIMONNET-LAPRADE, Hélène BUDZINSKI

Equipe de projet

Marc BABUT (coordinateur), Delphine BERTIN, Adeline FRANCOIS, Patrice NOURY, Raphael MONS (Irstea, UR MALY)

Benoit FERRARI (Centre Ecotox Eawag/EPFL)

Marc DESMET, Cécile GROSBOIS, Julie RAUX (GéHCO, Université de Tours),

Brice MOURIER (Chaire GRQE, Université de Limoges, EA 4330 GRESE),

Gwenaelle ROUX (ENTPE, UMR 5023 – LEHNA / éGéos)

Pierre LABADIE, Caroline SIMONNET-LAPRADE, Hélène BUDZINSKI (UMR 5805 EPOC - Equipe LPTC, Université de Bordeaux)

Financement

Plan Rhône (volet recherche) : Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée et Corse, Région Rhône-Alpes

Remerciements

Cédric Giroux, le personnel du Centre d'Observation de la Nature de l'Ile du Beurre, pour les informations fournies et l'aide aux prélèvements.

Résumé :

Dans le contexte du Plan d'actions sur les polychlorobiphényles, des composés per- et polyfluorés ont fait l'objet d'analyses dans la chair des poissons, montrant un accroissement notable des concentrations de plusieurs PFAS à l'aval de Lyon. Les PFAS, composés très persistants, ont un comportement différent des micropolluants hydrophobes « classiques », justifiant de chercher à mieux comprendre leur devenir et leurs voies de transfert dans les réseaux trophiques, le rôle du sédiment dans ce devenir, et les facteurs contrôlant l'accumulation par les organismes. La présente étude visait à mieux comprendre le devenir des PFAS dans le Rhône, et plus précisément de documenter les cinétiques d'accumulation de quelques composés perfluorés pour deux espèces d'invertébrés benthiques (larves de chironome, *Chironomus riparius*, et gammares, *Gammarus* spp.), d'évaluer le rôle du sédiment dans le processus d'accumulation, et de reconstituer l'historique de la contamination sur un site à l'aval de Lyon (lône de l'Ile du Beurre) à l'aide d'une carotte de sédiment. Un profil temporel et spatial de la contamination des sédiments a été établi, la contamination de trois espèces de poissons (barbeau fluviatile, *Barbus barbus*, gardon, *Rutilus rutilus*, et goujon, *Gobio gobio*) et de leurs proies par une gamme d'une vingtaine de PFAS a été déterminée, et des essais d'accumulation de ces PFAS au laboratoire à partir du sédiment de l'Ile du Beurre ont été réalisés avec des larves de chironomes et des gammares.

Le gardon est généralement moins contaminé que les deux autres espèces, sauf pour l'acide perfluorooctane sulfonique (PFOS). Le barbeau est en général plus contaminé que le goujon, sauf pour le PFOS, le perfluorooctanoate (PFOA), le perfluorodécane sulfonate (PFDS) et l'acide 6:2 fluorotélomère sulfonique (6:2FTSA). L'influence de la taille (proxy de l'âge) sur l'accumulation des composés dominants dans les sédiments de l'Ile du Beurre (acides perfluoroundécanoïque - PFUnDA et perfluorotridécanoïque PFTrDA) n'a pas été mise en évidence. En revanche, pour le PFOS et le PFNA (acide perfluorononanoïque), les barbeaux juvéniles sont plus contaminés que les individus plus gros et plus âgés, ce qui suggère une moindre capacité à les éliminer chez les juvéniles. Le contenu stomacal des barbeaux comprend une forte proportion de gammares, celui des goujons est dominé par les chironomes, ce qui contribue à expliquer les différences de contamination entre espèces. Deux types d'indicateur de bioamplification ont été testés, facteur de bioamplification (BMF) ajusté au niveau trophique pour des couples prédateur-proie constitués de barbeau-gammares et goujon-chironomes, et des facteurs d'amplification trophique (TMF), déterminés pour le réseau trophique du barbeau. PFUnDA, PFDoDA (acide perfluorododécanoïque), le PFTrDA, PFOS et FOSA (perfluorooctane sulfonamide) sont clairement bioamplifiés chez le barbeau. Chez le goujon, les mêmes composés, plus PFOA, PFNA, PFHxS (acide perfluorohexane sulfonique) et PFDS sont également bioamplifiés. Les BMF tendent à augmenter quand le nombre de carbones perfluorés des composés augmente. Lors de tests en laboratoire, l'accumulation et l'élimination des PFAS du sédiment de l'Ile du Beurre sont rapides chez le chironome, et plus lentes chez le gammare où l'état stable n'était pas atteint en 21 jours. L'hypothèse d'une dépendance à la concentration, ou transport actif de ces composés lors de l'accumulation, a également été examinée chez le chironome à l'aide d'un test sur sédiment enrichi. Si ce mécanisme ne peut être exclu pour le PFTrDA, il n'explique pas mieux l'accumulation que la diffusion simple. L'accumulation, chez le chironome et le gammare, est plus importante pour les composés à longue chaîne perfluorée ($C \geq 8$), notamment en raison de cinétiques d'élimination plus lentes, notamment chez le gammare.

Mots-clés :

composé perfluoré ; composé polyfluoré ; PFAS ; sédiment ; datation ; invertébré benthique ; gammare ; chironome ; cinétique ; bioaccumulation ; bioamplification ; facteur de bioamplification ; facteur d'amplification trophique

Abstract:

A previous study carried out in the context of the "polychlorobiphenyl action plan" showed an increase of per- and polyfluoro-alkyl compounds (PFAS) concentrations in fish fillets from downstream of Lyon. PFAS are persistent chemicals, whose fate is quite distinct from "classical" hydrophobic pollutants fate, thus justifying to study their distribution in the environment, as well as their bioaccumulation pathways. The current study aimed to better understand PFAS's fate in the Rhone River, and in particular (i) to describe the uptake and elimination kinetics in two benthic invertebrates species, namely chironomid larvae (*Chironomus riparius*) and gammarids (*Gammarus* spp.), (ii) to assess the role of bottom sediment in accumulation processes, and (iii) to reconstruct the PFAS contamination history at a site downstream of Lyon (Ile du Beurre) by the mean of a sediment core. We established a spatial temporal profile of the PFAS sediment contamination, assessed PFAS concentrations in 3 cyprinid fish species, namely the barbel (*Barbus barbus*), the roach (*Rutilus rutilus*) and the gudgeon (*Gobio gobio*) as well as in their preys, and realized accumulation tests with chironomid larvae and gammarids exposed to Ile du Beurre sediments.

Roach is generally less contaminated than the two other species, except for the perfluorooctane sulfonate (PFOS). Barbel is most often more contaminated than gudgeon, except for perfluorooctanoate (PFOA), perfluorodecane sulfonate (PFDS) and the 6:2 fluorotelomer sulfonic acid (6:2FTSA). Fish size, a proxy for fish age, has no influence on fish bioaccumulation of perfluoroundecanoic (PFUnDA) and perfluorotridecanoic (PFTrDA) acids, which are the most prominent compounds in Ile du Beurre sediments. On the other hand, young barbels are more contaminated by PFOS and PFNA (perfluorononanoic acid) than adults; this suggests a lower elimination capacity in young barbels. Barbels stomach contents reveal an important proportion of gammarids, while in gudgeons these contents are dominated by chironomids; as gammarids are more contaminated than chironomids in the field, this contributes to explaining while barbels accumulate PFAS more than gudgeons. Two different biomagnification indicators, namely biomagnification factors (BMFs) and trophic magnification factors (TMFs) were developed: BMFs were adjusted to trophic levels for predator-preys pairs, i.e. barbel-gammarid and gudgeon-chironomid, while TMFs were implemented only for barbels. PFUnDA, PFDoDA (perfluorododecanoïc acid), PFTrDA, PFOS and FOSA (perfluorooctane sulfonamid) are clearly bioamagnified in barbels. These compounds are also biomagnified in gudgeons; PFOA, PFNA, PFHxS (perfluorohexane sulfonic acid) and PFDS are also biomagnified in gudgeons. BMFs tend to increase when the compounds number of perfluorinated carbons increase. In laboratory tests, accumulation and elimination of PFAS are rapid for chironomids exposed to Ile du Beurre sediments, and rather slow for gammarids, which did not reach the steady state in 21 days. The concentration dependency (active transport through membranes) was tested in chironomids with spiked sediments. Whereas this mechanism cannot be discarded for PFTrDA, it does not explain better the accumulated levels than simple diffusion. PFAS accumulation in both chironomids and gammarids is more important for compounds with 8 perfluorinated carbons or more, due to slower elimination kinetics, particularly for gammarids.

Keywords:

PFAS; sediment; dating; benthic invertebrate; gammarid; chironomid; kinetics; bioaccumulation; biomagnification; BMF; TMF

SOMMAIRE

1 Introduction ... 9
2 Démarche & méthodes ... 10
2.1 Secteur couvert par l'étude ... 10
2.2 Profil temporel et spatial de la contamination des sédiments ... 10
2.2.1 Mesures préliminaires sur la carotte sédimentaire : sédimentologie et datation ... 11
2.2.2 Cartographie des sédiments superficiels et laisses de crue autour de l'agglomération lyonnaise .. 11
2.3 Prélèvement et analyse d'invertébrés et de poissons in situ ... 12
2.4 Tests d'accumulation par deux espèces d'invertébrés benthiques ... 14
2.4.1 Choix des espèces cible ... 14
2.4.2 Programme expérimental ... 14
2.5 Méthodes d'analyse ... 15
2.5.1 Analyse des PFAS ... 15
2.5.2 Analyse des rapports isotopiques ... 15
3 Contamination des sédiments par les PFAS : tendances temporelles et spatiales ... 16
3.1 Contamination des sédiments de surface et laisses de crue ... 16
3.2 Carotte de la lône de l'île du Beurre ... 18
3.2.1 Le modèle d'âge ... 19
3.2.2 Evolution des concentrations de PFAS ... 19
3.3 Discussion et synthèse sur la qualité des sédiments ... 21
4 contamination des organismes (invertébrés, poissons) in situ en regard de la contamination des sédiments superficiels ... 23
4.1 Contamination des sédiments (lône de l'ile du Beurre) ... 23
4.2 Base de données invertébrés ... 23
4.3 Profils de contamination ... 24
4.3.1 Invertébrés ... 24
4.3.2 Poissons ... 24
4.3.3 Ensemble des compartiments ... 25
4.4 Contamination des poissons ... 25
4.4.1 Influence de l'espèce ... 25
4.4.2 Foie et muscle ... 27
4.4.3 Influence de la taille ... 28
4.4.4 Influence du régime alimentaire des poissons ... 30
4.5 Contamination des proies ... 33
4.6 Transfert du sédiment aux organismes – bioamplification ... 35
4.6.1 Facteurs d'accumulation sédiment-invertébrés (BSAF) ... 35
4.6.2 Bioamplification ... 35
5 Etude au laboratoire de la bioaccumulation des PFAS par deux espèces d'invertébrés benthiques ... 42
5.1 Cinétiques d'accumulation et voies de transfert des PFAS ... 42
5.1.1 Chironome ... 42
5.1.2 Gammare ... 45
5.1.3 Variabilité de l'accumulation entre invertébrés benthiques ... 46
5.2 Réalisme environnemental des tests de bioaccumulation en laboratoire ... 50
5.2.1 Comparaison des niveaux d'accumulation en laboratoire et in situ ... 50
5.2.2 Quelles méthodes pour l'étude de la bioaccumulation au laboratoire et in situ ? ... 53
6 Conclusions ... 54

Index des tableaux

Tableau 1 - Echantillons de poissons collectés dans le Rhône entre Vaugris et Condrieu 13
Tableau 2 - Echantillons d'invertébrés collectés dans la lône de l'ile du Beurre 14
Tableau 3 - Variabilité des concentrations de PFAS dans le muscle des poissons (toutes espèces confondues-taux de détection ≥ 90%) 25
Tableau 4 – Influence de l'espèce sur le niveau de contamination 26
Tableau 5 - Taux de quantification par espèce (GAR : gardon ; GOU : goujon ; BAF : barbeau) pour 4 composés d'incidence modérée à faible..... 26
Tableau 6 - Distribution des concentrations de PFOA, PFHxS et PFDS selon l'espèce 26
Tableau 7 - Pourcentages d'occurrence des catégories de proie par espèce (BAF : barbeau ; GAR : gardon ; GOU : goujon) 30
Tableau 8 - Distribution des proies par individu..... 31
Tableau 9 - Niveaux trophiques des poissons 33
Tableau 10 - Profils de contamination par les PFAS (ng.g^{-1} pf) de 3 végétaux aquatiques 33
Tableau 11 - BSAF chez l'ensemble des invertébrés benthiques 35
Tableau 12 – BMF ajustés au TL pour les couples barbeau/gammares (minimum, médiane, maximum ; gammares prélevés en 2012 et 2013 – mesures dans les filets de barbeau) 36
Tableau 13 - Régressions organisme entier - filet chez le barbeau (N=5) ou barbeau + chevaine (N=14) 37
Tableau 14 - BMF ajustés au TL pour les couples goujon/chironomes (minimum, médiane, maximum ; chironomes prélevés en 2013, ou 2012 et 2013)..... 38
Tableau 15 – TMF à l'Ile du Beurre (réseau trophique du barbeau)..... 40
Tableau 16 – Taux d'absorption, d'élimination et BSAF dérivés par modélisation pour 4 PFAS chez Chironomus riparius. 44
Tableau 17 - Taux d'absorption, d'élimination et BSAF dérivés par modélisation pour quelques PFAS chez Gammarus sp. 46
Tableau 18 - Principales différences dans la bioaccumulation des PFAS chez le chironome et le gammare d'après (Bertin, 2014a) , (Bertin et al., submitted) et (Bertin et al., in press) 47

Index des figures

Figure 1 – Points de prélèvements de sédiments superficiels et laisses de crue..... 12
Figure 2 - Procédures d'analyse selon les différents types de matrice (d'après (Bertin, 2014b)..... 15
Figure 3 – Cartographie de la contamination en PFAS des sédiments de surface..... 17
Figure 4 – Analyse sédimentologique de la carotte (lône de l'ile du Beurre, 2012) 18
Figure 5 - PFAS dans la carotte de l'île du Beurre..... 20
Figure 6 – Evolution des concentrations des PFAS (ng.g^{-1} ps) dans les sédiments superficiels de la lône de l'Ile du Beurre entre fin 2011 et fin 2013 23
Figure 7 - Variabilité des concentrations de PFAS (échelle logarithmique) par compartiment : sédiment (ng.g^{-1} ps, biote ng.g^{-1} pf)..... 25
Figure 8 - Comparaison des concentrations de PFAS dans le muscle et le foie (gardons et barbeaux) 28
Figure 9 - Box plot des concentrations de PFNA, PFOS, PFTrDA et ΣPFAS dans les filets des deux groupes de barbeaux..... 29
Figure 10 – Rapports isotopiques du carbone et de l'azote pour les végétaux, invertébrés et poissons à l'Ile du Beurre 32
Figure 11 - Contamination des proies invertébrées au cours du temps à l'Ile du Beurre (ΣPFAS)..... 34
Figure 12 - BMF_{TL} calculés sur les concentrations estimées dans les barbeaux entiers (min-médiane-max)..... 37
Figure 13 – Relation entre BMF et longueur de chaine perfluorée (muscle des goujons-chironomes) 38
Figure 14 – Cinétiques d'élimination de quelques PFAS chez le chironome, d'après (Bertin et al., submitted) . 43
Figure 15- Modèle conceptuel de la contamination du chironome par les PFAS du sédiment de l'Ile du Beurre d'après (Bertin et al., 2014b)..... 44
Figure 16 – Cinétiques d'accumulation et d'élimination de PFAS chez le gammare exposé au sédiment de l'Ile du Beurre, d'après (Bertin et al., in press)..... 45
Figure 17 - Modèle conceptuel de la contamination du gammare par les PFAS du sédiment de l'Ile du Beurre d'après (Bertin et al., in press) 46
Figure 18 – Revue des BSAF publiés pour différentes espèces d'invertébrés 49
Figure 19 – Comparaison des concentrations de PFAS dans les organismes autochtones et encagés (A - chironomes ; B - gammares)..... 51
Figure 20 – Comparaison de différentes modalités d'exposition des chironomes..... 52

Liste des annexes

Annexe 1 Secteur couvert par l'étude **55**

Annexe 2 Illustrations **56**

Annexe 3 Signification des acronymes (PFAS) et formules chimiques, d'après (Buck *et al.*, 2011) **59**

Annexe 4 Caractéristiques des poissons (taille, masse, genre, masse des foies) **60**

Annexe 5 – Concentrations de PFAS dans les barbeaux (organismes entiers) estimées à partir des concentrations dans le filet **62**

Annexe 6 Description du réseau trophique du barbeau **63**

Annexe 7 PFAS dans les mini-carottes extraites de la lône **64**

Annexe 8 Actions de valorisation **65**

Annexe 9 Références **67**

Executive summary

Since the 1950s, per- and polyfluoro-alkyl compounds (PFASs) have been used in a large variety of industrial or commercial products: firefighting foams, coating for leather, textiles or cookware, stain-repellent for carpets, paints and adhesives, wax, polymer manufacture, etc. 17 PFASs were measured in fish fillets from nearly hundred sites throughout the Rhône-Méditerranée area in 2010-2011, showing among others a significant increase of several PFAS concentrations downstream from Lyon. PFASs are highly persistent compounds, and their fate is quite different from that of other hydrophobic chemicals (e.g. PCB). There are still many unknowns with respect to their environmental fate and their transfer into trophic networks. The role of sediment as well as the different influencing factors are still controversial, or need more elaboration. In this context, the present study had 3 main objectives : (1) to describe accumulation kinetics in a few benthic invertebrate species for several PFASs, (2) to assess the role of bottom sediment in the accumulation process, and (3) to assess PFAS contamination history at a deposition site, assuming that these compounds are sorbed to sediment. The study started in 2011 and attempted to establish a spatial and temporal sediment PFAS contamination, to describe the contamination patterns and magnitude for several fish species and their preys, and to study in the laboratory the PFAS bioaccumulation for 2 benthic invertebrate species. The study area included the Rhone River from upstream of the Lyon conurbation (downstream the confluence with the Bourbre river) to Condrieu 40 km downstream of Lyon and the Saône river from the Couzon to the confluence with the Rhone River. The main study site was located at Tupins et Semons, including an oxbow connected to the Rhone River. Sediment has been settling down at this site at least for the last 30 years (around 2 cm per year on average). A sediment core was realised in the oxbow, characterised, dated, and PFASs were analysed in subsequent subsamples. Surface sediment samples and flood deposits were also collected along the Saône and the Rhône rivers all along the study area. Fish from 3 species (barbel – *Barbus barbus*, roach – *Rutilus rutilus*, and gudgeon – *Gobio gobio*) were caught by electrofishing or nets in October 2011. Fish stomach contents (when available) were described. PFASs were analysed in in dorsal muscles and livers, when possible. Carbon and nitrogen isotopic ratios ($\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$) were determined. Benthic invertebrates were collected in October 2012 with a surber net, as well as a few aquatic plants ; these samples were completed in June and October 2013. Bioaccumulation tests were performed in the lab with field sediments from the study site and two benthic invertebrate species: the insect *Chironomus riparius* (chironomid), a midge of which larval stages occur in sediment, and *Gammarus* spp., a detritivorous crustacean.

Perfluoro-sulfonates (PFSAs) are present in all surface sediment samples, at similar concentration levels throughout the study area, equivalent to an "anthropic background" for these compounds. The PFAS concentration sum (ΣPFAS) increased 50 - 100 times close to an industrial platform which manufactures fluorinated polymers. This increase was mainly due to perfluoro-carboxylates (PFCAs). The industrial waste influence propagates quite far downstream, via suspended sediment; the sediment core at Tupins-et-Semons provides accordingly an accurate description of the industrial release history. The core age model was established n the basis of the ^{137}Cs vertical profile and flood deposits (attested by a hydrological flow database). PFAS analyses showed a concentration maximum around the mid-1990s. Since then, the decrease was almost continuous, coincident with a probable process change, as indicated by the molecular PFCA profile. The current contamination level (ΣPFAS) is comparable to that of other European rivers in industrialized areas.

Considering the dorsal muscle, the roach was generally less contaminated than the 2 other species, except for the perfluoro-octane sulfonate (PFOS). The barbel was most often more contaminated than the gudgeon, except for PFOS, PFOA (perfluoro-octanoate), PFDS (perfluoro-decane sulfonate) and 6:2FTSA (acid 6:2 fluorotelomer sulfonic). PFASs were analysed in livers (and fillets) of 10 roaches and 8 barbels, i.e. the largest individuals in both cases. Liver concentrations were significantlly higher than in fillets, as already mentioned in the literature for other species. For barbels (except one outlier), ΣPFAS in fillets and livers were correlated. Gudgeons and roaches display a narrow range of sizes, while two groups of barbels displaying distinc size ranges had been captured, allowing to test the influence of fish size on the contamination for this species. Young barbels display higher concentration of PFOS and PFNA (perfluoro-nonanoate) than larger / older individuals, suggesting a lower metabolizing ability in young fish. An effect of fish size on the accumulation of PFUnDA (perfluoro-undecanoate) and PFTrDA (perfluoro-tridecanoate) could not be asserted, due to a limited sample size and to the concentration variability in each group. PFTeDA (perfluoro-tetradecanoate) concentrations were significantly higher in large barbels compared to small ones, probably because its elimination is very slow.

Barbels eat mainly crustaceans (gammarids) and insects (chironomids), in variable proportions among individuals. Large barbels (> 400 mm) do not eat chironomids, whereas 90% young ones (<200 mm) do feed on them. Both groups feed on gammarids. Gudgeons' preys were mainly insects, namely chironomids in most cases. Roaches eat plants. These observations justify studying PFAS accumulation in benthic invertebrates on gammarids and chironomids. Furthermore, the proportion of gammarids, insects (chironomids), and plants in barbels, gudgeons and roaches respective diets contribute to explain their relative contamination levels. Invertebrates and plants carbon isotopic ratios ($\delta^{13}C$) allow identifying 2 carbon sources, i.e. one autotrophic/pelagic (plants, gastropod molluscs) and one detrital/sedimentary, for benthic invertebrates. Fish display $\delta^{13}C$ values between these 2 sources. $\delta^{13}C$ variability was more pronounced for roaches and barbels than for gudgeons, suggesting accordingly that the barbel and roach regimes were more varied. Large (older) barbels' diet shifted significantly towards a more detrital carbon, and to lower trophic level (TL) preys (*p*-value slightly higher than the threshold in that case) than young fish. *Corbicula fluminea*, a filter-feeding bivalve mollusc living in sediment depth was used as baseline for TL determination. TLs ranged from 1.77 to 2.89 in invertebrates, and from 3.12 to 3.65 in fish; fish individuals from the 3 species display similar trophic levels.

Two indicators were used for assessing PFAS biomagnification, namely the biomagnification factor (BMF), which is the ratio of concentrations in a predator and its prey, and the trophic magnification factor (TMF), the mean per TL increase of log-transformed concentrations. TL adjusted BMFs were determined for barbel-gammarids and gudgeon-chironomid pairs, either on the basis of concentrations in fish fillet, or following an extrapolation to whole-body concentrations (for barbel only). For this species, PFCA whole-body BMFs tend to increase when the number of perfluorinated carbon atoms increase, but the correlation was not significant, contrasting with the fillet based BMFs. Similarly for the gudgeon fillet-based BMFs were correlated to the number of carbons in the perfluorinated backbone. PFUnDA, PFDoDA (perfluoro-dodecanoate), PFTrDA, PFOS and FOSA (perfluorooctane sulfonamide) are clearly biomagnified in barbels, while the conclusion is more uncertain for PFDA (perfluoro-decanoate). PFNA is not biomagnified on this basis. Using BMFs is however contentious, as only one prey is accounted for, whereas the real diet is composed of several preys in varying proportions. Using TMFs should therefore provide more confidence for assessing the biomagnification potential. TMFs were determined for berbels, based on whole-body concentration estimates, by applying several regression methods, namely linear regression when all results were above the detection limits, Kendall regression when detection rates ranged between 20% and 100%, and a general linear mixed model (GLMM) in order to account for censored data and various sample sizes among trophic levels. According to the resulting TMFs, PFOA, PFDS, and 6:2 FTSA were not biomagnified. For PFNA, GLMM-based TMF leads to the conclusion that this compound is biomagnified, but the AIC criterion (indicator of the model relevance) and the TMF confidence interval suggest that this statement remains uncertain. PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS (perfluoro-hexane sulfonate), PFHpS (perfluoro-heptane sulfonate), PFOS and FOSA were biomagnified.

PFAS accumulation and depuration kinetics were described for two benthic invertebrates, the midge *Chironomus riparius* and the gammarid (*Gammarus* sp.), exposed to field sediment from the study site in the laboratory. Experiments aimed also to get a better understanding of exposure routes. Accumulation and elimination constants were determined for both species, as well as sediment-to-biota accumulation factors (BSAFs). Data from these laboratory experiments were then compared to field data, in an attempt to better understand the environmental factors which influence PFAS accumulation, such as the sediment structural integrity, the role of suspended sediments or of the overlying water in the contamination process.

Chironomids accumulate quickly long-chain PFCAs (from 11 to 14 carbon atoms, i.e. PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA and PFTeDA), and to a lesser extent the PFOS and its precursor the FOSA. The steady state is reached rapidly, and the accumulation kinetics follow an exponential model. PFAS accumulation occurred mainly during the fourth instar stage, which corresponds to a quick linear growth period. PFAS elimination is equally rapid, with half-lives (namely the time for eliminating 50% of the accumulated loads) are brief, e.g. 7 h (PFOS), 12 h (PFUnDA), 17 h (PFTrDA) or 19 h (FOSA). As all compounds accumulated by the chironomids are associated to sediment particles, while 3 of them are also present in pore water, suggests 2 uptake routes: a trophic route (consumption of sediment particles) for all compounds, and a respiratory (through the tegument) for the 3 compounds dissolved in pore water, i.e. PFUnDA, PFOS and 6:2 FTSA. Two bioaccumulation models accounting for growth dilution were implemented: the first one was based on the hypothesis that the accumulation was concentration-dependant for PFTrDA, while the second was based on a simple partitioning mechanism. Both models yielded very close results, suggesting PFTrDA accumulation by chironomids can sufficiently be explained by a partitioning mechanism. The model also allowed optimising simultaneously uptake (k_u) and elimination (k_e) rates. These rates were further used for deriving kinetic BSAFs, which are more generic and more reliable than

empirical BSAFs. PFUnDA, PFTrDA PFOS and FOSA k_u for *Chironomus riparius* are 0.03, 0.045, 0.05 and 0.08 $g.g_{pf}.h^{-1}$ respectively, and respective k_e 0.05, 0.033, 0.09 and 0.03 h^{-1}.

When exposed to field sediments from the study site along with uncontaminated alder leaves, gammarids accumulated at various levels 4 long-chain PFCAs (PFNA, PFUnDA, PFDoDA and PFTrDA), PFOS, and 3 of its precursors including FOSA. The 6:2 FTSA and short chain compounds such as PFHxA (perfluorohexanoate) or PFHpA (perfluoroheptanoate) are not significantly accumulated. The steady state was not reached after 3 weeks. Compounds with shorter carbon chains (e.g. PFNA) are more rapidly depurated than longer chain compounds (FOSA, PFOS, PFUnDA, PFTrDA) : respective half-lives reach 7.5 days for 6:2 FTSA, 15.0 days for FOSA, 19.4 days for PFOS and 14.5 days for PFUnDA. PFDoDA and PFTrDA were not significantly eliminated after 21 days. Accumulated compounds are predominantly associated to sediment. They were also retrieved in alder leaves (uncontaminated at the beginning of the experiment), in (unfiltered) pore water and in overlying water, except PFOS precursors and 6:2 FTSA. This suggests a PFAS transfer from the sediment to the other compartments, via suspended particles, for long chain compounds, in particular PFTrDA. Gammarid exposure routes in this experimental system involve gammarids' food (leaves, or sediment particles and biofilm at their surface) for long chain compounds (PFUnDA, PFTrDA) and diffusion for more soluble compounds. PFNA, PFUnDA, PFTrDA, PFOS and FOSA k_u equal respectively 0.094, 0.141, 0.089, 0.202 and 0.218 $g.g_{pf}.h^{-1}$, and the respective k_e are 0.087, 0.048, 0.011, 0.042 and 0.066 d^{-1}.

Differences between chironomids and gammarids might be explained by their respective life traits (feeding behaviour) and physiology: *Chironomus riparius* is an exclusively benthic species, feeding on organic matter at the surface of the sediment, whereas the gammarids are epibenthic organisms leaving in the water close to the water/sediment interface, supposedly feeding mainly on leaf litter and detritus. By ingesting organic particles, chironomids are thus more directly exposed to sediment. Differences in elimination rates or half-lives would be more related to physiology.

Chironomids and gammarids from the field display higher PFAS levels than the same organisms exposed in the laboratory to the same sediment. This observation raises a question about the relevance of experiments in the laboratory, and their predictive ability. The temporal contamination variability cannot explain alone the divergence in PFAS concentrations in field and laboratory chironomids. Chironomids were further exposed to short sediment cores from the same area as the accumulation tests and in parallel caged *Chironomus riparius* were exposed in the field, avoiding direct contact with the sediment itself. This combination allows to distinguish the exposure to sediment alone and to the suspended sediment. However, the sum of both modalities is still less than the concentrations observed in the field. Chironomids from the field could also belong to anther species, with ecological traits differing from those of *Chironomus riparius*.

Transfert de composés per- et polyfluorés du sédiment au poisson

1 INTRODUCTION

Depuis les années 1950, les composés per- ou polyfluoro-alkylés (PFAS), ou les surfactants et polymères produits à partir des PFAS ont été utilisés dans de nombreuses applications industrielles ou commerciales. L'incorporation de chaines perfluorées dans ces surfactants et polymères a permis de les doter de propriétés exceptionnelles, en raison de la stabilité thermique et chimique, et du caractère hydrophobe et lipophobe de ces chaines perfluorées (Buck *et al.*, 2011). Ces applications et propriétés expliquent leur persistance et leur distribution généralisée dans l'environnement, dont le constat s'est imposé à partir des années 2000 (Giesy et Kannan, 2001 , Houde *et al.*, 2006b).

A la diversité des applications correspond une grande diversité de structures chimiques (Buck *et al.*, 2011). On retrouve généralement des chaines perfluorées (radicaux alkyl dont tous les atomes d'hydrogène ont été remplacés par des atomes de fluor) associées à des groupes fonctionnels variés (acides carboxyliques, sulfoniques, alcools, amines etc.). Les composés polyfluorés sont constitués de chaines perfluorés greffées à des chaines non substituées. Les principales familles de composés per- et polyfluorés sont passées en revue par (Buck *et al.*, 2011), qui évoquent également les principes de nomenclature, les voies de synthèse, etc.

Parmi les applications utilisant les propriétés des PFAS, et sans prétention à l'exhaustivité, on peut citer, d'après (Buck *et al.*, 2011, Pistocchi et Loos, 2009) :

- Les mousses extinctrices (AFF), utilisées notamment dans les installations aéroportuaires. Les surfactants fluorés représentent 1 à 5 % de la masse d'AFF ; dans les années 1960 ces surfactants étaient à base de perfluorooctane sulfonate (PFOS), remplacé depuis les années 2000 par des surfactants à base de fluorotélomères sulfonés (FTSA) (Yeung et Mabury, 2013), notamment le 6:2 FTSA (Weiner *et al.*, 2013).
- Revêtements anti-tâche et anti-graisse pour emballages alimentaires, textiles, cuirs, tapis (perfluorooctane sulfonamide – FOSA, acide perfluorododécanoïque - PFDoDA, acide perfluorodécane sulfonique PFDS) …
- La fabrication de polymères.
- Divers fluorotélomères sont employés dans des cires (fart), matériel médical (Buck *et al.*, 2011) encres, peintures, vernis (Taniyasu *et al.*, 2005).

La chimie française, et singulièrement lyonnaise, s'est intéressée à la synthèse de polymères fluorés dès le début des années 1950, à titre exploratoire (projets pilotes) au début, la production industrielle débutant en 1956. Plusieurs types de polymères seront produits au cours du temps, en particulier polytétrafluoroéthylène jusqu'en 1979, polyfluorure de vinylidène depuis les années 1980 (Michel).

Dans le contexte du Plan d'actions sur les polychlorobiphényles (PCB), adopté en 2008, plusieurs substances prioritaires au titre de la directive 2000/60 (mercure, hexachlorobenzène, hexachlorobutadiène, polybromodiphenlyéthers) ou d'intérêt émergent (sélection de 17 PFAS) ont fait l'objet d'analyses dans la chair des poissons (Babut *et al.*, 2010b , Miège *et al.*, 2012). Ces études préliminaires ont notamment montré un accroissement notable des concentrations de plusieurs PFAS à l'aval de Lyon (lône de l'île du Beurre). Le Rhône est par ailleurs une source connue de PFAS à la Méditerranée (McLachlan *et al.*, 2007 ;, Munoz *et al.*, 2015). L'ANSES a également réalisé des analyses sur les ressources en eau (AEP), sur tout le territoire national, notamment le long du Rhône (ANSES, 2011). Ces études ont permis de dresser un premier bilan de la contamination de plusieurs compartiments du système aquatique par les PFAS, de l'extension spatiale de cette contamination, mais ne donnent pas de clé de compréhension de leur devenir.

Les PFAS, composés très persistants, ont un comportement différent des micropolluants hydrophobes « classiques », et beaucoup d'inconnues demeurent quant à leur devenir et leurs voies de transfert dans les réseaux trophiques. Le rôle du sédiment, ainsi que les facteurs contrôlant l'accumulation par les organismes, sont controversés ou insuffisamment documentés. Les effets sur la faune aquatique sont aussi peu explorés jusqu'à présent.

Un projet de recherche visant à mieux comprendre le devenir des PFAS dans le Rhône a été préparé par Irstea (UR MALY), GéHCO et EPOC (équipe LPTC), et validé par le Groupe Scientifique et Technique piloté par la DREAL (Délégation de bassin) dans le cadre du plan d'actions. Il a reçu un avis favorable du Comité de Programmation Interrégional et a été labellisé au titre du plan Rhône (volet Qualité des Eaux, Ressource et Biodiversité) le 19 avril 2012 (N° 40586 – Etude sur les perfluorés 2011-2015).

Les objectifs principaux de l'étude peuvent être exposés ainsi :

1. Documenter les cinétiques d'accumulation de quelques composés perfluorés pour des espèces d'invertébrés benthiques (chironomes, corbicules, autres à discuter)
2. Evaluer le rôle du sédiment dans les processus d'accumulation
3. Reconstituer l'historique de la contamination sur un site (en posant l'hypothèse que ces composés sont associés aux particules du sédiment).
4. Développer une méthodologie d'évaluation de la bioaccumulation in situ.

Concernant l'objectif 4, la proposition initiale visait à déployer des chambres d'exposition « S-WISS1[1] » (Ferrari *et al.*, 2014) au contact des sédiments du site d'études principal, et de comparer les résultats de l'accumulation par les organismes exposés dans ce dispositif avec ceux des essais en laboratoire. Cet objectif a été abandonné en tant que tel pendant le projet, notamment pour des questions de calendrier. Ce recentrage a permis en revanche d'approfondir le travail sur les objectifs 1 et 2.

2 DEMARCHE & METHODES

La démarche élaborée dans cette étude s'articule autour des 3 axes ci-dessous :

- Profil temporel et spatial de la contamination des sédiments par les PFAS
- Contamination des poissons et de leurs proies
- Etude au laboratoire de la bioaccumulation des PFAS par deux espèces d'invertébrés benthiques.

2.1 Secteur couvert par l'étude

La zone d'étude (carte en Annexe 1) s'étend de l'amont de l'agglomération lyonnaise (à partir de la confluence avec la Bourbre sur le Rhône, et du barrage de Couzon sur la Saône), jusqu'aux environs de Condrieu à l'aval. Le site d'étude principal est la lône de l'ile du Beurre à Tupins et Semons (69). Il s'agit d'une zone de dépôt continu de sédiment (de l'ordre de 2 cm par an (Desmet *et al.*, 2012) non repris par les crues, au moins sur les 30 dernières années). Ce site a fourni la carotte de sédiment (chapitre 3.1), et les sédiments des tests d'accumulation (cf. chapitre **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

2.2 Profil temporel et spatial de la contamination des sédiments

Compte tenu d'une expérience antérieure (Desmet *et al.*, 2012), l'établissement de la chronologie du dépôt (datation) paraissait a priori délicate, en raison de couches de sable à différentes profondeurs (dépôts consécutifs à des crues). Une carotte de sédiment a été réalisée à l'intérieur de la lône (cf. § 3.1) ; le projet de départ prévoyait une deuxième carotte à prélever soit en amont, soit en aval du site de Condrieu. N'ayant pu trouver de site approprié, présentant de bonnes garanties de dépôt inaltéré sur plusieurs décennies, cette deuxième carotte a été remplacée par des prélèvements de sédiments de surface et de laisses de crue depuis l'amont de l'agglomération lyonnaise jusqu'au site de carottage (§ 3.1). Enfin, des prélèvements de sédiments superficiels ont été réalisés en plusieurs occasions à l'aide d'une benne van Veen (profondeur échantillonnée ≤ 5 cm) à l'entrée aval de la lône de l'Ile du Beurre pour les expériences d'accumulation (§ 4.1)

[1] S-WISS1 : Sediment-Water Interface Study System

2.2.1 Mesures préliminaires sur la carotte sédimentaire : sédimentologie et datation

L'analyse fine des processus de dépôt et de l'impact de la dynamique sédimentaire sur les profils de contamination nécessite d'une part des analyses granulométriques et d'autre part l'établissement d'une chronologie de chaque archive sédimentaire.

Cette chronologie est établie par l'étude des radionucléides ^{137}Cs, avant d'être raffinée par l'étude du paramètre Mass Accumulation Rate (MAR) et de la chronologie des crues majeures.

Le carottage à l'île du Beurre a été réalisé le 23 octobre 2012 avec un carottier UWITEC doté de tubes transparents en polyéthylène de ∅ 90 mm. Après ouverture, les carottes sont conservées en chambre froide à 6°C sous film plastique.

2.2.2 Cartographie des sédiments superficiels et laisses de crue autour de l'agglomération lyonnaise

Les échantillons ont été collectés début juillet 2013 selon (i) un transect de 40 km entre la confluence Saône-Rhône et Condrieu, (ii) sur la Saône entre Couzon et la confluence, et (iii) sur le Rhône amont de la confluence, depuis Loyettes. Plusieurs affluents ont été pris en compte : Ain, Bourbre et Gier. Les prélèvements ont été opérés depuis la berge, sur des laisses de crue sèches ou humides, et complétés lorsque c'était possible par des prélèvements de sédiments superficiels en berge à l'aide d'une benne Eckmann. Certaines laisses sont sèches, d'autres humides, ce qui implique des processus différents de vieillissement de la matière organique. Au total 25 échantillons ont été obtenus (Figure 1).

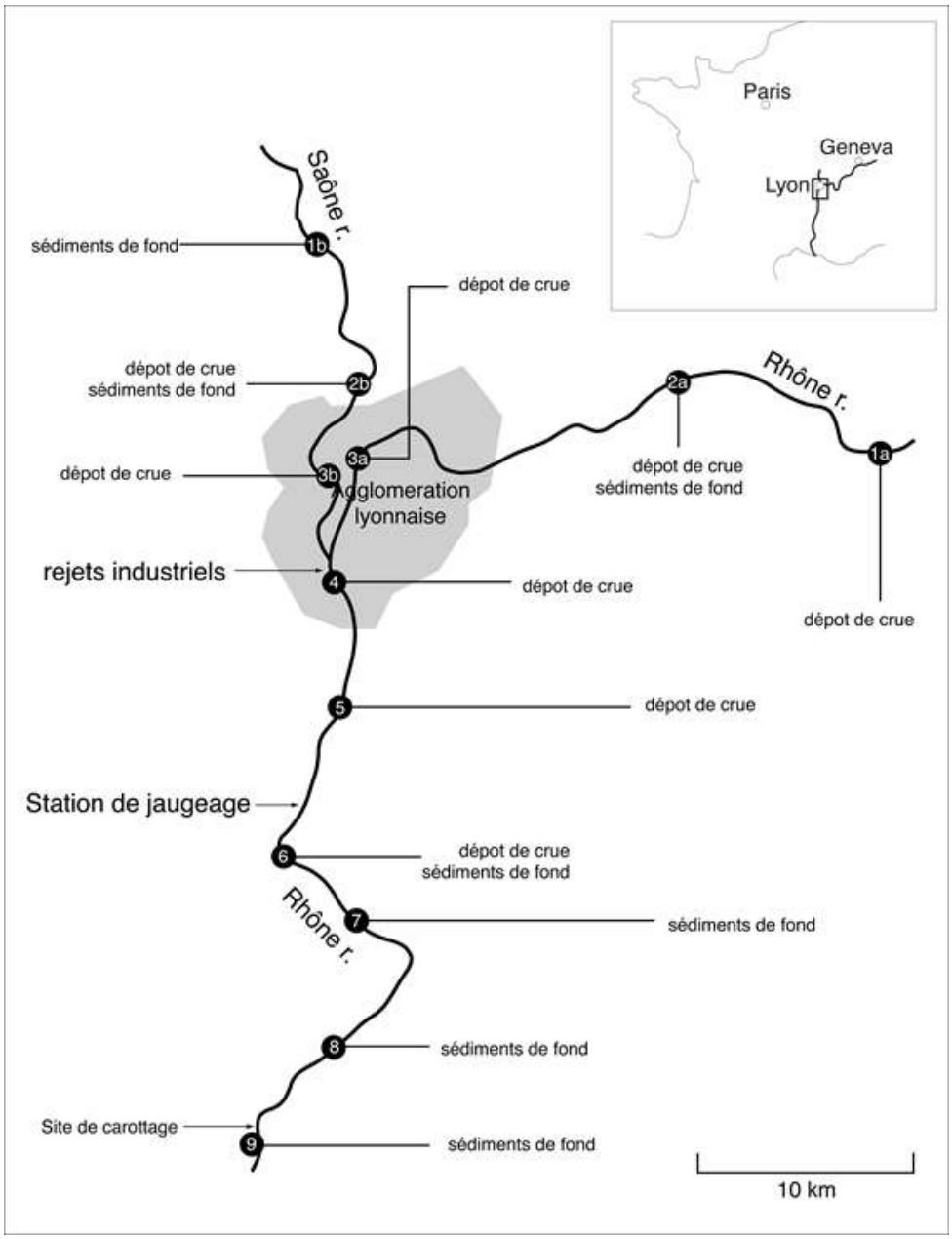


Figure 1 – Points de prélèvements de sédiments superficiels et laisses de crue

Bien que nous ayons organisé la campagne de terrain après la crue majeure du printemps 2013 (fusion nivale et fortes précipitations sur l'ensemble du bassin versant amont du Rhône et de la Saône), il n'a pas toujours été possible de récupérer des dépôts de crue ; c'est la raison pour laquelle nous avons dû utiliser la benne Eckman sur certains sites. Dans tous les cas, ce sont des sédiments fins qui ont été récupérés. Sur le Rhône et la Saône, trois échantillons ont été pris en amont de la confluence. En aval de la confluence, en rive droite et en amont du port Edouard Herriot, un échantillon a été prélevé sur les bords du Rhône à proximité du site industriel (Pierre-Bénite). En aval du barrage de Pierre-Bénite, les prélèvements ont été effectué sur le canal de navigation et sur le vieux Rhône a proximité du pont de Ternay. Au Sud de la confluence avec le Giers, c'est dans le port de Givors que nous avons pu échantillonner. Jusqu'à la lône de l'île du Beurre, les sédiments de fond ont exclusivement faits en benne Eckman.

2.3 Prélèvement et analyse d'invertébrés et de poissons in situ

La collecte d'échantillons sur le site d'étude a fait l'objet de plusieurs opérations :

- Pêche électrique par une équipe Irstea en octobre 2011 ; 3 espèces ont été collectées (barbeau fluviatile, gardon, goujon) mais seuls des individus de petite taille ont été obtenus.
- Pêche au filet par un pêcheur professionnel en novembre 2011, ciblant les gros barbeaux.
- Collecte d'invertébrés à l'aide d'un surber, et de végétaux aquatiques dans la lône en octobre 2011 ; suite à un incident au cours du traitement de ces échantillons, l'opération a été recommencée en octobre 2012.

Le Tableau 1 récapitule les caractéristiques des poissons collectés.

Espèce	Effectif	Taille (mm) min-max	Masse (g) min-max
barbeau fluviatile (*Barbus barbus*)	20	101-620	12-3033
Gardon (*Rutilus rutilus*)	12	104-148	17.5-54
Goujon (*Gobio gobio*)	15	100-113	12.2-16.5

Tableau 1 - Echantillons de poissons collectés dans le Rhône entre Vaugris et Condrieu

Les contenus stomacaux de la plupart des poissons ont été examinés et décrits. Les composés perfluorés ont été analysés dans les filets, et les foies dans la mesure du possible. Les rapports isotopiques du carbone ($\delta^{13}C$) et de l'azote ($\delta^{15}N$) ont été analysés dans les filets (cf. § 2.5.2).

Des échantillons de plantes aquatiques (*Myriophyllum spicatum*, *Ceratophyllum demersum* et *Valisneria spiralis*) ont été collectés à l'embouchure de la lône en octobre 2012, en même temps que des prélèvements d'invertébrés benthiques (

Taxon	Oct. 2012	Juin 2013	Oct. 2013
Odonates (Anisoptères)	X		
Odonates (Zygoptères)	X	X	X
Dikerogammarus villosus		X	
***Gammarus* spp.**	X		X
Crevette		X	X
Chironomidés	X	X	
Oligochètes	X	X	X
Corbicula fluminea	X		X
Radix	X		
Physe			
Potamopyrgus antipodarum	X		
Dyticidé			X
Sialidé			X
N	8	5	7

Tableau 2). Les prélèvements d'invertébrés ont été répétés en juin et octobre 2013 dans le cadre d'une autre étude (Babut *et al.*, 2015), qui incluait l'analyse de PFAS.

Taxon	Oct. 2012	Juin 2013	Oct. 2013
Odonates (Anisoptères)	X		
Odonates (Zygoptères)	X	X	X
Dikerogammarus villosus		X	
***Gammarus* spp.**	X		X
Crevette		X	X
Chironomidés	X	X	
Oligochètes	X	X	X
Corbicula fluminea	X		X
Radix	X		
Physe			
Potamopyrgus antipodarum	X		
Dyticidé			X
Sialidé			X
N	8	5	7

Tableau 2 - Echantillons d'invertébrés collectés dans la lône de l'ile du Beurre

2.4 Tests d'accumulation par deux espèces d'invertébrés benthiques

2.4.1 Choix des espèces cible

Deux espèces d'invertébrés étaient proposées pour ces essais dans le descriptif du projet : l'insecte *Chironomus riparius* (chironome), moucheron dont les stades larvaires sont benthiques, et une deuxième espèce à choisir, par exemple parmi les mollusques pour appréhender des voies d'exposition différentes de celles du chironome. Le choix d'un mollusque a finalement été écarté, pour deux raisons principales : (1) connaissance insuffisante des espèces, aucun mollusque n'étant à l'étude à l'époque au sein du laboratoire (Irstea UR MALY), et (2) prise en compte de données préliminaires suggérant que les mollusques (en tous cas bivalves) accumulaient peu les composés perfluorés par rapport à d'autres organismes (Babut *et al.*, 2011). Le choix s'est alors orienté vers le gammare (*Gammarus* sp.), crustacé faisant l'objet de travaux portés par plusieurs chercheurs du laboratoire et visant notamment à l'utiliser en monitoring actif.

Tandis que le chironome est élevé au laboratoire depuis longtemps, le gammare est prélevé dans une rivière de la région, laissé à stabuler au moins 2 semaines au laboratoire, avant d'être utilisé pour les expérimentations.

2.4.2 Programme expérimental

Les tests d'accumulation ont consisté à exposer les organismes choisis au laboratoire, en conditions contrôlées, en général à un sédiment « naturel » provenant de la lône de l'île du Beurre. Les sédiments sont tamisés à 2 mm, conservés à 4°C et homogénéisés avant chaque exposition.

- **janvier à juin 2012** : pré-expérimentations pour les chironomes : nécessité de l'ajout de nourriture au sédiment, densité maximale d'organismes …
- **août 2012** / cinétique d'accumulation à partir de sédiment naturel chez le chironome à son optimum de température (21°C) : E1, larves de stade 2 (2 jours post-éclosion) jusqu'à la fin du stade 4 (11 jours post-éclosion) ; (E2) larves de stade 4 (7 jours post-éclosion).
- **En parallèle**, cinétique d'accumulation à partir de sédiment naturel chez le gammare acclimaté aux conditions du laboratoire pendant deux semaines, à son optimum de température (12°C).
- **septembre 2012 /** influence de la température sur l'accumulation par le chironome : en complément de la température optimale déjà testée, exposition de larves de stade 4 au sédiment naturel à 12°C et 17°C
- **En parallèle**, influence de la température sur l'accumulation par le gammare, à 17°C et 20°C.
- **mars 2013 /** cinétique d'élimination par le chironome : les larves sont exposées au sédiment naturel ou dopé dès le début du stade 4 pendant 2 jours à 21°C, puis sont transférées dans

des aquariums silice afin de suivre l'élimination des PFAS.

- **juin 2013 /** réalisation de mini-carottes (cf. Annexe 2) et exposition des chironomes au laboratoire : suivi des cinétiques d'accumulation. Encagement de chironomes à l'ile du Beurre. La comparaison entre les concentrations mesurées selon les modalités d'exposition permettra de consolider l'identification des voies d'exposition.
- **Janvier-février 2014/** réalisation de 2 essais d'accumulation – dépuration sur chironome et gammare ; l'essai sur chironome mettait en jeu le sédiment de l'ile du Beurre natif ou enrichi par un mélange de PFAS.

2.5 Méthodes d'analyse

2.5.1 Analyse des PFAS

La procédure varie selon la matrice considérée ; pour les matrices solides (sédiments, tissus) une première phase d'extraction au méthanol (MeOH) sous ultrasons précède l'extraction sur phase stationnaire (SPE) ; pour l'eau l'extraction SPE a lieu directement après ajout des étalons internes (Figure 2).

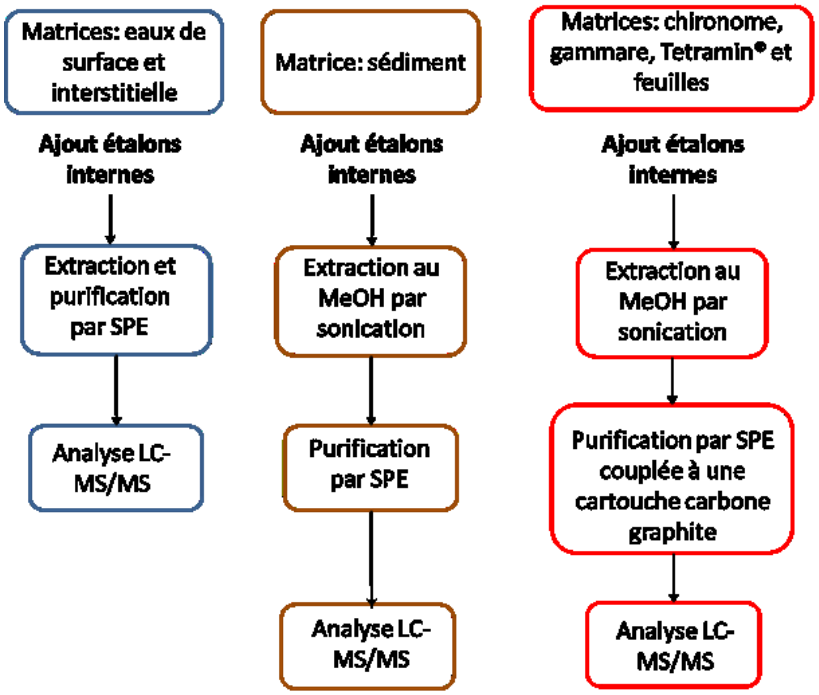


Figure 2 - Procédures d'analyse selon les différents types de matrice (d'après (Bertin, 2014b)

Les échantillons de phase dissoute ont été extraits par extraction solide/liquide (SPE) sur cartouche polymérique greffée avec des groupements échangeurs d'anions faibles (Phenomenex Strata X-AW). Les extraits obtenus sont reconcentrés puis analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS, Agilent 6490) (adapté de Labadie et Chevreuil, 2011). Les échantillons solides sont extraits par micro-ondes et les extraits obtenus sont purifiés sur cartouche Strata X-AW puis sur graphite (graphite seul dans le cas des sédiments) et analysés par LC-MS/MS (Bertin et al., 2014).

Vingt composés ont été dosés : PFBA, PFPA, PFHxA, PFBS, PFHpA, PFOA, PFHxS, PFNA, PFHpS, PFDA, R-PFOS, L-PFOS, PFUnDA, PFDoDA, PFDS, PFTrDA, PFTeDA, FOSA, MeFOSA et EtFOSA, MeFOSAA et EtFOSAA, et 6:2-FTSA (signification des acronymes et structures détaillées en Annexe 3). La quantification a été réalisée par dilution isotopique à l'aide de courbes d'étalonnage ; le contrôle qualité a inclus l'évaluation de la répétabilité, de la fidélité intermédiaire, de la justesse ainsi que l'analyse répétée de blancs de protocole.

2.5.2 Analyse des rapports isotopiques

La détermination des rapports des isotopes stables de l'azote et du carbone ($\delta^{13}C$ et $\delta^{15}N$) a été réalisée selon un protocole développé par (Bodin *et al.*, 2009), après délipidation des tissus au dichlorométhane et décarbonatation des sédiments à l'acide chlorhydrique. L'analyse des échantillons a été réalisée à l'aide d'un

spectromètre de masse de rapports isotopiques Thermo Finnigan Delta V EA-IRMS couplée à une interface Conflo IV. Deux matériaux de référence (IAEA-N2 et USG-24) ont été employés pour estimer la justesse des analyses.

3 CONTAMINATION DES SEDIMENTS PAR LES PFAS : TENDANCES TEMPORELLES ET SPATIALES

3.1 Contamination des sédiments de surface et laisses de crue

Les analyses de PFAS dans les sédiments de surface et laisses de crue avaient pour objectif

(i) de préciser l'état de contamination du Rhône et de la Saône en amont et en aval de l'agglomération,

(ii) d'identifier le cas échéant un gradient de contamination, et

(iii) d'identifier d'éventuelles sources de pollution qui pourraient expliquer l'histoire de la contamination sédimentaire historique déduite de la carotte prélevée dans la lône de l'ile du Beurre. Le protocole analytique est donc strictement identique à celui utilisé sur les sédiments de la carotte.

Sur la Figure 3, et pour chaque site de prélèvement, le résultat est présenté de la manière suivante :

- le chiffre indique la concentration totale ($ng.g^{-1}$ ps) des PFAS mesurés ; la dimension du graphique circulaire est donc fonction de cette concentration totale
- la partie gris clair correspond à la concentration totale des PFSA (PFBS, PFHxS, PFHpS, PFOS, FOSA, MeFOSAA, EtFOSAA et PFDS) plus le 6:2 FTSA,
- la partie gris foncé correspond à la concentration totale des PFCA (PFBA, PFPA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFDoDA, PFUnDA, PFTrDA, PFTeDA).

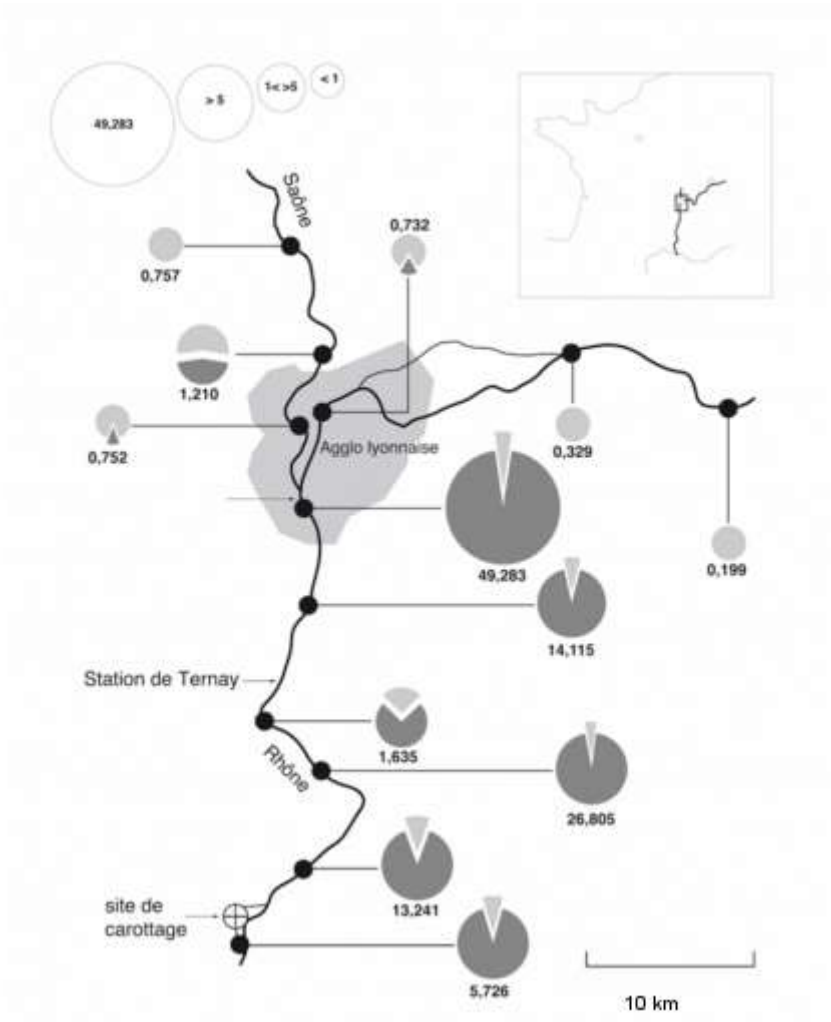


Figure 3 – Cartographie de la contamination en PFAS des sédiments de surface

Ainsi par exemple, les sédiments du site 1a (le Rhône à Loyettes) ont une concentration en PFAS de 0.2 $ng.g^{-1}$ (ps) correspondant à 100 % de PFSA. Les sédiments du site 4 (le Rhône à Pierre Bénite en rive droite, en aval de la confluence Rhône-Saône et en amont du port Edouard Herriot) ont une concentration en PFAS de 49.283 $ng.g^{-1}$ (ps) correspondant à un mélange de PFCA (46.977 $ng.g^{-1}$) et de PFSA (2.306 $ng.g^{-1}$). Il est à noter que cet échantillon fournit l'assemblage de PFAS le plus diversifié (PFBA, PFPA, PFHxA, PFHpA, PFOA, PFNA, PFDA, PFDoDA, PFUnDA, PFTrDA, PFTeDA et 6:2FTSA, PFOS, MeFoSAA, EtFOSAA).

Sur le Rhône, en amont de l'agglomération lyonnaise, les concentrations en PFAS sont inférieures à 0.5 $ng.g^{-1}$ ps (respectivement 0.2 et 0.33 $ng.g^{-1}$). Sur la Saône en amont de l'agglomération lyonnaise, les concentrations sont plus élevées mais très largement inférieures à celles du site de Pierre-Bénite. Dans l'agglomération lyonnaise, en rive gauche du Rhône au niveau du pont Raymond Poincaré, et à la passerelle de l'Homme de la Roche en rive droite de la Saône, les valeurs et les ratios PFSA/PFCA sont presque identiques. Sur le site 5, il s'agit d'une moyenne de deux échantillons de laisses de crue (sèches et humides) prélevées sur le canal de navigation sous le pont de la D36 qui enjambe le Rhône (commune de Solaize). Il n'est donc pas représentatif du flux liquide et solide du Rhône puisqu'il manque le Vieux Rhône. Au site 6, il s'agit d'une moyenne des trois prélèvements effectués dans le port de Givors. Compte tenu de sa localisation, ce site n'est probablement pas représentatif de cette section du Rhône. Les trois prélèvements les plus aval (7, 8 et 9) montrent une diminution graduelle de la concentration en PFAS et une large prédominance des PFCA.

En conclusion, les PFSA sont présents dans tous les échantillons, à des niveaux de concentration similaires, et peuvent donc être considérés comme témoignant d'un « bruit de fond anthropique » du Rhône et de la Saône. La concentration de PFAS la plus élevée (50 à 100 fois la valeur du « bruit de fond ») est constatée à Pierre Bénite à proximité d'une plateforme industrielle produisant des polymères fluorés ; elle est surtout liée à la présence de PFCA en concentrations très élevées. Le panache de contamination associé aux MES

(matières en suspension) déposées en aval (soit au fond, soit sous forme de laisses de crues) se propage sur plusieurs dizaines de kilomètre et c'est donc l'histoire de cette source qui est documentée dans la carotte de la lône de l'ile du Beurre.

3.2 Carotte de la lône de l'île du Beurre

La mise à l'air libre des sédiments modifie l'équilibre redox qui s'est mis en place pendant la diagenèse précoce et la matière organique, le fer et le manganèse sont largement oxydés : dès lors, les contrastes de couleurs dans la carotte sédimentaire disparaissent au bout de quelques heures. La susceptibilité magnétique (MS-SI) et la spectrocolorimétrie (L* et d675nm) ont été mesurées à pas centimétrique. C'est donc sur la base des observations visuelles et de ces paramètres préliminaires (Figure 4) qu'il a été possible de faire des mesures discrètes de la granulométrie et des prélèvements de sédiments prenant en compte la variabilité du signal sédimentaire.

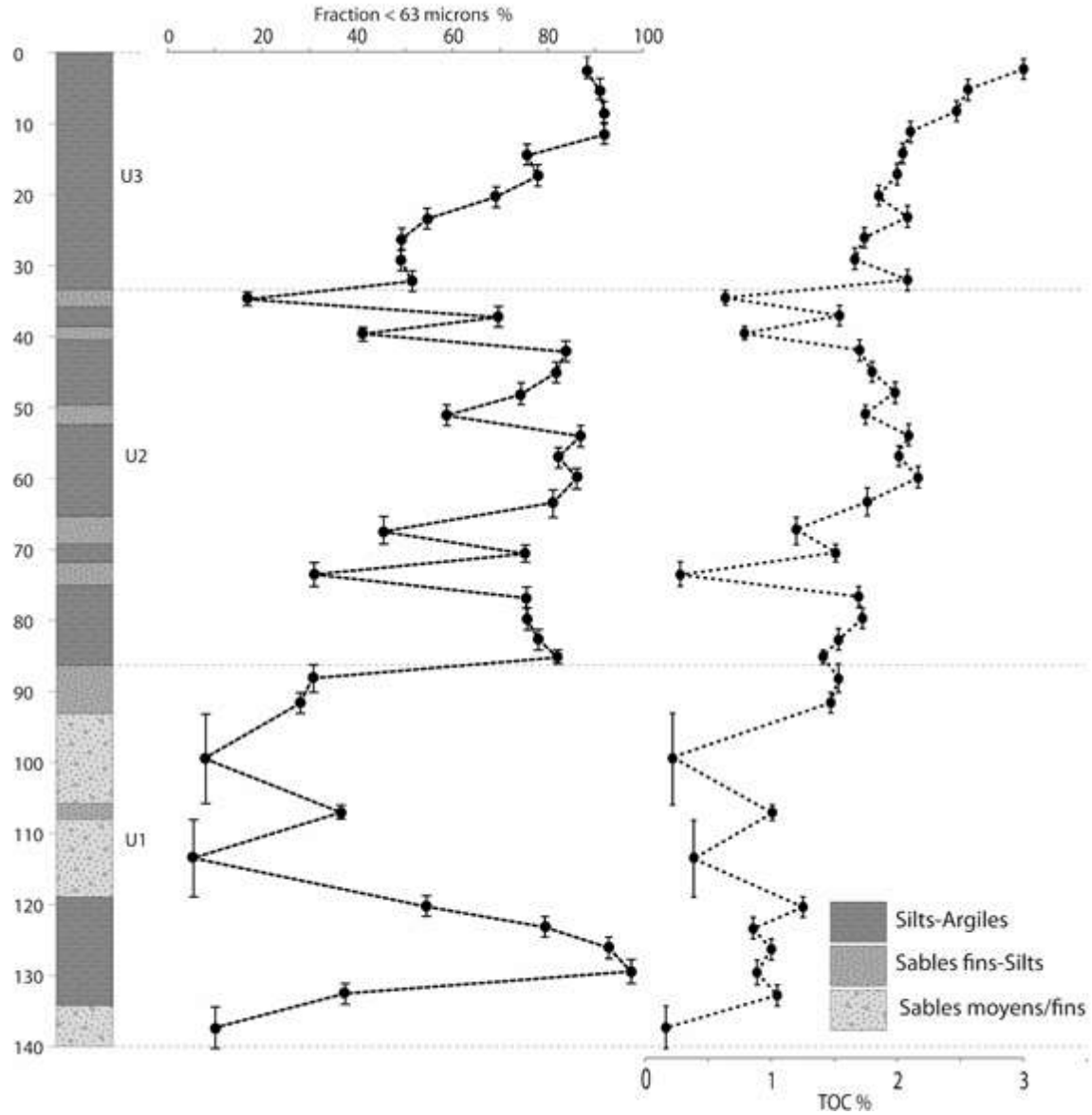


Figure 4 – Analyse sédimentologique de la carotte (lône de l'ile du Beurre, 2012)

De gauche à droite : représentation simplifiée des dépôts successifs, granulométrie (fraction < 63 µm), Carbone Organique Total (COT),

De la base de la carotte (141 cm) à 93 cm, il s'agit d'une unité (U1) lithologique composée de trois niveaux sableux et d'un dépôt d'argiles (138 à 120 cm). L'unité 2 (U2) s'étend de 93 à 33 cm ; elle est marquée par une forte variabilité de l'enregistrement sédimentaire. Cinq incursions de la fraction silteuse et de la matière

organique (COT) correspondent à des événements de crues enregistrées à la station de Ternay dont le débit est supérieur à 4000 $m^3.sec^{-1}$. Ces dépôts instantanés intercalés dans la sédimentation continue sont utilisés pour affiner le modèle d'âge. L'unité supérieure (U3) correspond à la partie supérieure de la carotte (33 cm au sommet) ; on note une augmentation graduelle et conjointe de la fraction silteuse et de la teneur en COT. Bien qu'aucune extraction du matériel terrigène n'ait été faite, il est probable que les mécanismes de diagenèse précoce à l'interface eau-sédiment puissent contribuer à faire covarier la taille des grains et le pourcentage de matière organique.

C'est en fonction de cette variabilité hydro-sédimentaire (3 unités distinctes et variations infra-décimétriques) que la carotte a été échantillonnée en vue des analyses de PFAS.

3.2.1 Le modèle d'âge

Le modèle d'âge a été établi en s'appuyant sur :

(i) le profil vertical de Césium 137,

(ii) la présence de dépôts de crues référencées dans la banque hydro (http://www.hydro.eaufrance.fr/) et

(iii) la comparaison des enregistrements sédimentaires entre la carotte de 2008 (Desmet *et al.*, 2012) et cette étude.

Dans l'Unité 1, les trois niveaux sableux n'ont pas pu faire l'objet de comptages gamma. Dans le niveau d'argiles (138 à 120 cm), l'activité est comprise entre 0.1 et 0.6 $pCi.g^{-1}$. Ces niveaux d'activité sont comparables à ceux mesurés dans l'unité 2 et l'unité 3 sur 30 échantillons. Seul le niveau compris entre 118 et 120 cm (entre deux niveaux sableux) donne une activité très significative de 2.7 $pCi.g^{-1}$. Compte tenu du modèle d'âge et de la lithologie de la carotte prélevée en 2008, ce niveau est attribué à l'accident de Tchernobyl en avril 1986.

Dès lors, le taux d'accumulation massique moyen (2.53 $g/cm^2/an$) est vraiment significatif dans les unités 2 et 3, c'est à dire postérieurement à 1986. Les 4 niveaux silteux de l'unité 2 sont respectivement attribués aux crues majeures ($\geq$ 4000 $m^3.sec^{-1}$ à Ternay) du Rhône : 75-72 cm (fév. 1990), 69-65 cm (Nov. 1992), 52-49 cm (Oct. 1993), 40-38 cm (Mars 2001), 35-33 cm (Nov. 2002).

Dans ces unités 2 et 3, on peut donc estimer des taux de sédimentation selon deux périodes distinctes :

- 1987 à 1993 (93 à 49 cm), le taux de sédimentation est supérieur à 6 $cm.an^{-1}$. Ce taux de sédimentation très élevé est consécutif à des opérations de gestion sur la partie amont de la lône et aux apports sédimentaires importants des trois crues du début des années 1990.
- 1994 à 2012 (49 cm au sommet de la carotte), le taux de sédimentation est divisé par deux, il est inférieur à 3 $cm.an^{-1}$. La diminution du taux de sédimentation s'explique par le comblement progressif de l'espace d'accumulation disponible et une baisse de l'occurrence de crues majeures (2 crues $\geq$ 4000 $m^3.sec^{-1}$ au cours des deux dernières décennies et aucun événement majeur pendant la décennie la plus récente).

3.2.2 Evolution des concentrations de PFAS

En préalable, il convient de préciser que l'échantillonnage de la carotte pour les analyses des PFAS prend en compte la variabilité du signal sédimentaire de sorte que les analyses granulométriques et de Carbone Organique Total correspondent aux mêmes tranches d'âge. Il a été décidé de procéder à un découpage de la carotte tous les trois centimètres dans les dépôts silto-argileux et un échantillonnage spécifique des niveaux de sables fins et de sables moyens. Ce protocole a été appliqué avant les analyses en spectrométrie gamma, c'est à dire antérieurement à l'élaboration d'un modèle d'âge fiable. Le résultat est donc une représentation temporelle hétérogène des assemblages de PFAS. Néanmoins, les tendances au cours du temps peuvent être dégagées et le cas particulier des concentrations dans les dépôts de crue, discuté : 75-72 cm (fév. 1990), 69-65 cm (Nov. 1992), 52-49 cm (Oct. 1993), 40-38 cm (Mars 2001), 35-33 cm (Nov. 2002).

Il est important de noter que la concentration en PFAS dans les 10 premiers centimètres de la carotte (prélevée en 2012) rejoint la concentration mesurée dans les sédiments de surface (environ 10 cm récupérés avec la benne Eckman) en 2013. Si l'on remonte les trois décennies d'enregistrement de la contamination sédimentaire par les PFAS, il faut « retourner » à la fin des années 1980 (au-delà de 86 cm, dans l'unité 1 de la carotte) pour retrouver des valeurs comparables (Figure 5). Entre la période actuelle (2012) et les années 1980, la concentration en PFAS culmine à 51.3 $ng.g^{-1}$ (ps) en 1993. C'est une concentration :

- 5 fois plus élevée que la concentration moyenne de la dernière décennie,
- 10 fois plus élevée que la concentration moyenne de l'ensemble de la carotte,
- 100 fois plus élevée que la concentration du niveau le plus récent.

En termes d'assemblage de PFAS, ce niveau maximal centré sur le milieu des années 1990 est principalement représenté par des PFCA, le niveau de PFSA restant stable et comparable aux valeurs obtenues sur l'ensemble des échantillons de surface prélevés sur le Rhône et la Saône en amont et en aval de l'agglomération lyonnaise.

Concentration et profil de PFAS dans ce niveau de 1993 sont similaires à ceux du dépôt de crue de Pierre-Bénite de sorte que la source actuelle de contamination des sédiments est également la source de contamination des sédiments déposés dans la lône de l'île du Beurre au cours des années 1990. En prenant un scénario raisonnable, on peut donc poser l'hypothèse que la concentration en PFAS, dans les effluents de la plate-forme industrielle produisant des polymères fluorés, étaient dix fois plus élevés il y a 20 ans et que la concentration dans les dépôts de crue au voisinage du rejet devait atteindre 500 ng.g^{-1} (ps).

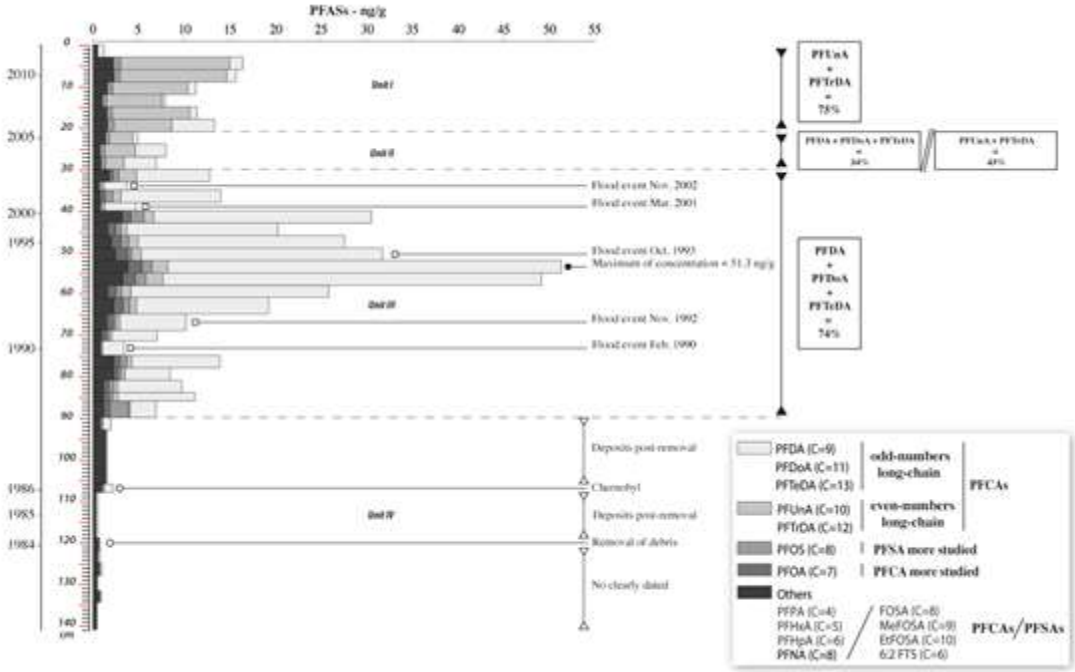


Figure 5 - PFAS dans la carotte de l'île du Beurre

Au début des années 2000, on note une diminution significative de la concentration des PFAS et surtout un changement des profils moléculaires :

- PFDA, PFDoDA et PFTeDA (acides carboxyliques à chaîne longue comportant un nombre pair de C) représentaient 74 % des PFAS dans les années 1990 ;
- PFUnDA et PFTrDA (acides carboxyliques à chaîne longue comportant un nombre impair de C) représentaient 75 % des PFAS dans les années 2000.

Les processus de diagenèse précoce (sorption/désorption des micropolluants organiques dans les complexes organométalliques) ne peuvent pas expliquer une telle différence de composition : dès lors, ceci traduit une modification du procédé industriel de fabrication des polymères fluorés.

Quant aux dépôts de crue (horizons silto-sableux), ils présentent des niveaux de concentration en PFAS sensiblement plus faibles que ceux des couches sédimentaires plus fines qui les encadrent. Ce n'est pas la « pollution » du Rhône qui s'infléchit pendant ces épisodes de crue mais plutôt l'expression d'un effet/biais granulométrique : en cas de fort débit, un cours d'eau augmente sa capacité de transport solide et seules les particules les plus grossières sont susceptibles de sédimenter dans les annexes fluviatiles. Les particules sédimentaires restent plus facilement en suspension (wash load) et le panache de contamination est exporté plus en aval, voire jusqu'à la mer.

En résumé, l'archive sédimentaire de la lône de l'ile du Beurre permet de reconstituer la contamination du Rhône en PFAS – contamination due aux rejets d'une plate-forme industrielle produisant des polymères fluorés. La tendance illustre une diminution rapide, postérieure à un pic de concentration dans les années 1990. Le fonctionnement hydro-sédimentaire du Rhône est néanmoins susceptible de modifier la concentration des contaminants (ici les PFAS) dans les stocks sédimentaires des annexes fluviatiles.

3.3 Discussion et synthèse sur la qualité des sédiments

Encore controversée au début du projet, la question de l'association des PFAS aux particules sédimentaires ne se pose plus tout à fait dans les mêmes termes : mêmes les composés à chaîne courte, comme par exemple le PFBA (acide perfluorobutanoïque (4 atomes de carbone, dont 3 perfluorés), peuvent s'adsorber partiellement à la matière organique du sédiment. Toutefois, ce composé sera facilement déplacé des sites d'adsorption par les composés à chaine plus longue (Gellrich *et al.*, 2012). Les proportions de PFAS respectivement en phases dissoute et adsorbées dépendent donc non seulement de la matière organique (nature et concentration) du sédiment, mais aussi de la composition du mélange de PFAS.

Le profil moléculaire relevé sur le site d'étude (ile du Beurre) et plus globalement à l'aval de l'agglomération lyonnaise est marqué par la prédominance des carboxylates à chaine longue (nombre de carbone fluorés pair ou impair en fonction des périodes). Ce profil est tout à fait atypique dans la mesure où le PFOS est habituellement largement majoritaire dans les sédiments des rivières françaises, représentant en moyenne 41 % de ∑PFAS (Munoz *et al.*, 2015). Ce profil atypique est également observé en plusieurs sites du Rhône à l'aval de Lyon jusqu'en Arles (Munoz *et al.*, 2015). De même le niveau de concentration (ΣPFAS), bien qu'en diminution depuis le maximum daté de 1993, reste nettement supérieur à la médiane des concentrations nationales : 0.48 $ng.g^{-1}$ ps, moyenne 1.8 $ng.g^{-1}$ (Munoz *et al.*, 2015).

La comparaison des résultats obtenus dans le Rhône avec d'autres études au plan international est assez difficile : beaucoup d'études portent sur un nombre plus restreint de composés ou ne ciblent que PFOS et PFOA pour les plus anciennes. D'autre part la proximité des sources est rarement évoquée, ou de manière assez vague. Enfin, une proportion relativement importante des publications portent sur des échantillons de 10 ans ou plus, ce qui contribue aussi à la difficulté de comparaison, compte tenu de l'évolution rapide des procédés utilisant les PFAS, depuis la décision d'abandonner le PFOS et le PFOA au début de la décennie 2000. Nous avons donc ciblé pour cette comparaison, délibérément non exhaustive, des travaux en rivière sur les sédiments de surface, et une gamme de composés proche de celle étudiée dans ce projet.

Plusieurs études concernent l'Espagne : bassin du fleuve Jucar (Campo *et al.*, 2016) et de la Llobregat (Campo *et al.*, 2015). Les auteurs ont analysé 21 PFAS différents, dont la plupart de ceux analysés ici, y compris le PFTrDA. Ils détectent 1at) composés, de 100% des cas (PFBA) à moins de 10% (PFNA, PFTrDA, FOSA). La ΣPFAS est de 14.3-21.8 $ng.g^{-1}$ (ps) dans les sédiments de la Jucar, de 8.35 à 37.5 $ng.g^{-1}$ (ps) dans ceux de la Llobregat. Les concentrations élevées sont observées en lien avec des sites industriels. Aux Pays-Bas, une étude assez récente incluait des sédiments de surface de 19 sites sur l'ensemble du territoire, et 16 PFAS (11 PFCA de C4 à C14, et 5 PFSA de C4 à C10) ; les valeurs de ΣPFAS ne sont pas indiquées, ni de détail des concentrations des composés individuels, mais pour certains d'entre eux les concentrations maximales atteignent plusieurs dizaines de $ng.g^{-1}$ (ps). Les PFAS prépondérants étaient PFOS, PFNA, PFOA et PFBS (Kwadijk *et al.*, 2010). En Serbie, une étude a ciblé les sédiments du canal de rejet (au Danube) d'une plateforme industrielle ; 15 PFAS ont été analysés, de PFBA à PFTeDA et de PFBS à PFDS. La ΣPFAS était comprise entre 0.562 et 6.29 $ng.g^{-1}$ (ps)(Beškoski *et al.*, 2013). De même en Tchéquie, 15 PFAS ont été analysés dans des sédiments de la rivière Morava, dans une zone fortement industrialisée. Les principaux composés identifiés étaient PFHxS, PFHpS et PFOS, avec ΣPFAS compris entre 0.3 et 6.8 $ng.g^{-1}$ (ps) (Bečanová *et al.*, 2016). Les concentrations (ΣPFAS) observées dans les sédiments du Rhône et de la Saône (sédiments de surface et sommet de la carotte), même à l'aval de Pierre-Bénite, se situent donc dans la moyenne des observations européennes disponibles. En revanche, le profil moléculaire à l'aval de Pierre Bénite est très spécifique.

Peu d'études récentes ont porté sur des carottes datées ; on peut cependant citer deux études sur les Grands Lacs (Codling *et al.*, 2014, Yeung *et al.*, 2013). Dans les deux cas les PFSA (PFOS, PFHxS …) et le FOSA dominent les profils moléculaires, les PFCA à chaine longue étant néanmoins détectés relativement fréquemment. Dans le lac Michigan notamment, le maximum des concentrations a été observé entre 1990 et 2000, soit à une période similaire au maximum observé dans le Rhône (Codling *et al.*, 2014). Cependant, depuis cette période les

concentrations de PFBS et de PFBA sont en augmentation, de même que la quantité de fluor organiquement lié non extractible[2].

Synthèse

- Les PFAS sont présents de manière ubiquitaire dans les sédiments du Rhône, comme d'autres fleuves européens. Cette présence témoigne d'une contamination diffuse, à des concentrations niveaux faibles, et de rejets industriels, ou de grosses stations d'épuration urbaines, qui génèrent des concentrations parfois élevées.
- C'est notamment le cas d'une plateforme industrielle spécialisée dans la chimie du fluor située à Pierre-Bénite, qui produit un profil moléculaire en PFAS spécifique du Rhône.
- Les concentrations dans les sédiments sont en diminution vers l'aval. Cependant cette conclusion pourrait être à moduler en fonction du transport sédimentaire (le rôle des crues ou des chasses n'est pas complètement élucidé en ce qui concerne les PFAS : les concentrations sont apparemment plus faibles dans les dépôts en crue, mais ceux-ci interviennent logiquement pendant la décrue ; nous n'avons pas d'éléments sur le début de la crue).
- Les analyses dans la carotte montrent un maximum de concentrations (ΣPFAS) vers le milieu de la décennie 1990 (50 $ng.g^{-1}$ à 40 km à l'aval du rejet, suggérant des concentrations de l'ordre de 500 $ng.g^{-1}$ au droit du rejet). Le niveau actuel à l'ile du Beurre (où la diminution est déjà importante) se situe dans la moyenne européenne. Nous n'avons pas d'élément expliquant cette diminution.
- Depuis ce maximum, la diminution est à peu près continue, et s'est accompagnée d'un probable changement de procédé dont témoigne le profil moléculaire.

[2] Elément non testé dans notre étude, qui pointe vers des organofluorés non identifiés

4 CONTAMINATION DES ORGANISMES (INVERTEBRES, POISSONS) IN SITU EN REGARD DE LA CONTAMINATION DES SEDIMENTS SUPERFICIELS

4.1 Contamination des sédiments (lône de l'ile du Beurre)

Des échantillons moyens de sédiments superficiels ont été collectés à plusieurs reprises entre 2012 et 2013 à l'entrée de la lône de l'Ile du Beurre, dans le cadre de la thèse de D. Bertin (cf. également le chapitre 5). Les PFAS ont été analysés dans ces échantillons, tous sauf 1 ayant été collectés en rive gauche de la lône, dans le secteur prospecté pour la collecte des invertébrés (cf. § 2.3 et 4.2). Les résultats sont reportés dans la Figure 6 ci-dessous.

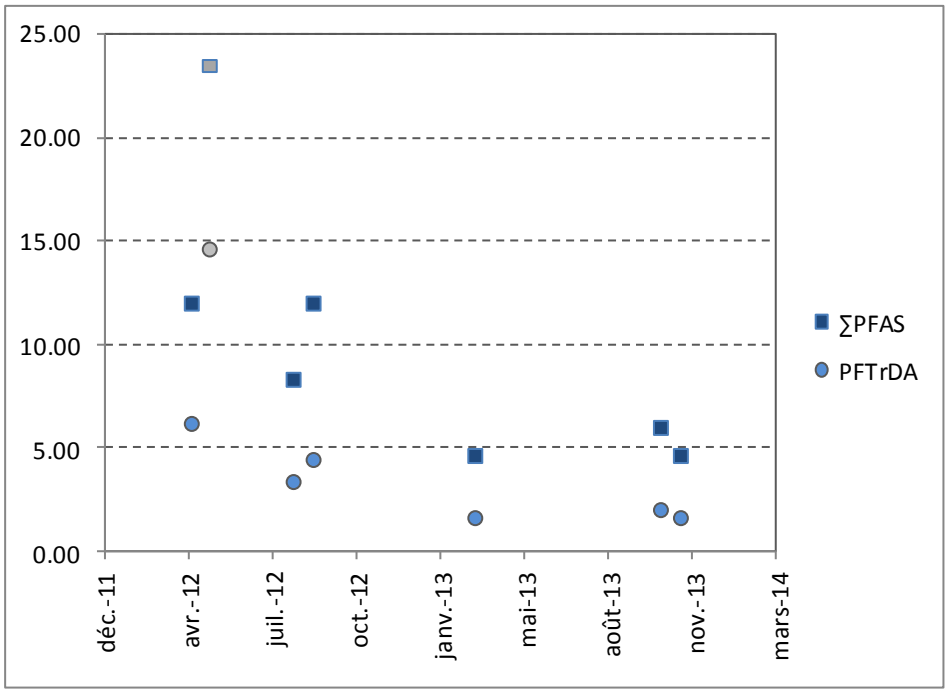


Figure 6 – Evolution des concentrations des PFAS (ng.g^{-1} ps) dans les sédiments superficiels de la lône de l'Ile du Beurre entre fin 2011 et fin 2013

Le point en rive droite (avril 2012) témoigne de l'hétérogénéité spatiale de la contamination dans la lône ; sur l'ensemble des prélèvements en rive gauche, on note une tendance à la baisse entre juillet 2012 et 2013, tant en ce qui concerne la somme des composés mesurés (ΣPFAS) que le PFTrDA, qui reste le composé dominant sur toute cette période.

Cette baisse peut avoir plusieurs origines, telles que la diminution des flux rejetés, ou l'effet de la chasse sédimentaire de juin 2012. En effet, les sédiments déposés dans la lône sont exportés du barrage de Vaugris, qui représente une zone de stockage intermédiaire entre le point de rejet industriel et le site d'étude. Les sédiments provenant de l'amont du site et convoyés pendant la chasse peuvent donc avoir dilué les sédiments contaminés par les PFAS émis au niveau de Pierre-Bénite.

4.2 Base de données invertébrés

Peut-on considérer l'ensemble des échantillons d'invertébrés recueillis sur le site (Tableau 2) comme représentatifs des proies des poissons sur la période d'étude ? En tout état de cause les échantillons d'octobre 2012 ne sont pas représentatifs des proies consommées par les poissons de l'année précédente ou plus âgés. Les rapports isotopiques donnent une idée moyenne de la nourriture sur plusieurs mois, pas plusieurs années. La composition de la diète varie nécessairement en fonction de la disponibilité des proies. En ce sens, les variations interannuelles que reflètent les listes de taxons collectées au cours des différentes

campagnes intègreraient mieux, quoique très partiellement pour les poissons âgés, la variabilité de composition de la diète.

Il parait par conséquent légitime de considérer l'ensemble des invertébrés, à condition (i) qu'il n'y ait pas une évolution importante de la composition des peuplements, ou (ii) que les taxons prélevés postérieurement à la capture des poissons occupent des positions trophiques voisines de celles des taxons initiaux.

Cinq à huit taxons ont été collectés selon les campagnes ; les Odonates (au moins un des sous-ordres) et les oligochètes étaient présents systématiquement, les chironomidés 2 fois sur 3, leur absence en octobre 2013 étant logique eu égard au cycle de vie de ces larves. L'absence de corbicule en juin 2013 est un artefact (présente sur site, non prélevée). Les gammares (*Dikerogammarus* inclus) sont présents en 2012, et encore en juin 2013, où il a cependant été difficile d'en collecter suffisamment. Les crevettes étaient présentes sur un point en marge de la lône en juin 2013, et avaient envahi l'ensemble du site en octobre ; peut-on faire l'hypothèse qu'elles se substituent aux gammares ? Tachet et al. (Tachet *et al.*, 2010) notent des différences en termes d'habitat, plus spécifique chez la crevette, et de nourriture : gammare plus omnivore, crevette plus restreinte aux végétaux.

Pour conforter cette analyse, nous avons comparé les rapports isotopiques $\delta^{13}C$ et $\delta^{15}N$ des invertébrés aux 3 dates disponibles (sept. 2012, juin et octobre 2013) à l'aide d'un test de Kruskal-Wallis. De fait, les valeurs de $\delta^{13}C$ des invertébrés diffèrent entre elles (p-value = 0.012). La comparaison 2 à 2 des lots (après correction de Bonferroni) montre que le lot de septembre 2012 présente des valeurs de $\delta^{13}C$ significativement moins négatives que le lot de juin 2013 ; le lot d'octobre 2013 présente des valeurs intermédiaires, et ne diffère significativement ni de celui de septembre 2012, ni de celui de juin 2013. Le lot de 2012 inclut deux échantillons de mollusques (*Potamopyrgus antipodarum* et un composite de différents Gastéropodes) présentant des $\delta^{13}C$ de -17.551 ‰ et -14.412 ‰ respectivement, alors que les lots de 2013 ne comprennent pas de mollusques. En revanche les valeurs de $\delta^{15}N$ ne diffèrent pas significativement entre les 3 campagnes (p-value = 0.264).

A la réserve près qu'il aurait été préférable d'échantillonner aussi les mollusques en 2013, il semble donc légitime de regrouper les échantillons des 3 campagnes dans l'analyse des données.

4.3 Profils de contamination

4.3.1 Invertébrés

PFUnDA, PFTrDA, PFOS (isomères linéaires, L-PFFOS), FOSA et 6:2 FTSA sont détectés dans tous les échantillons d'invertébrés. PFNA, PFDA, PFDoDA, PFTeDA et PFHxS sont détectés dans 80% à 90% des échantillons, PFOA, PFDS et MeFOSAA dans environ 60% à 70%. Les fréquences de détection les plus faibles sont observées pour PFHpS (39%) et MeFOSA (5.6 %). Les profils de contamination des invertébrés sont analogues à ceux des poissons et des sédiments, avec des concentrations plus élevées de PFTrDA, PFUnDA, et dans une moindre mesure PFNA et PFOS.

4.3.2 Poissons

Les taux de détection les plus faibles concernent le MeFOSA (0%), le 6:2FTSA (6.4%), le PFOA (29.8%), et le PFDS (42.6 %). Le PFHxS est quantifié dans 93.6% des échantillons, et tous les autres PFAS sont détectés et quantifiés dans 100% des cas. Les faibles taux de détection du MeFOSA et du 6:2FTSA sont cohérents avec la littérature et indiquent que ces composés sont peu bioaccumulables, ou peu abondants dans les compartiments abiotiques, ou biodégradés et/ou biotransformés.

Toutes espèces confondues, les profils de contamination sont dominés par le PFTrDA et le PFUnDA ; PFNA, PFDA, PFDoDA et PFOS présentent des gammes comparables de concentrations (Tableau 3). Il s'agit d'un profil assez inhabituel, influencé par les rejets de la plate-forme industrielle située à Pierre-Bénite en rive droite du Rhône (cf. (Dauchy *et al.*, 2012b, Munoz *et al.*, 2015).

(ng.g^{-1} pf)	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxS	PFHpS	PFOS	MeFOSAA	FOSA
min	0.70	0.45	34.98	0.86	55.01	0.32	-	0.003	2.61	0.007	0.21
25%	3.21	0.97	64.88	2.16	111.9	1.27	0.018	0.008	4.40	0.014	0.44
médiane	5.28	1.16	91.50	2.61	140.9	2.05	0.029	0.020	6.46	0.027	0.77
75%	9.83	1.61	133.6	4.23	176.5	3.86	0.045	0.028	9.02	0.049	1.23
90%	13.83	2.22	203.9	5.76	283.8	12.77	0.074	0.038	10.90	0.066	1.69
max	16.58	3.51	347.9	12.97	414.5	29.38	0.104	0.056	13.78	0.073	3.12

Tableau 3 - Variabilité des concentrations de PFAS dans le muscle des poissons (toutes espèces confondues- taux de détection ≥ 90%)

La distribution du PFHxS tient compte des résultats censurés (<LD)

4.3.3 Ensemble des compartiments

Les concentrations sont croissantes du sédiment et végétaux aux invertébrés et aux poissons (Figure 7).

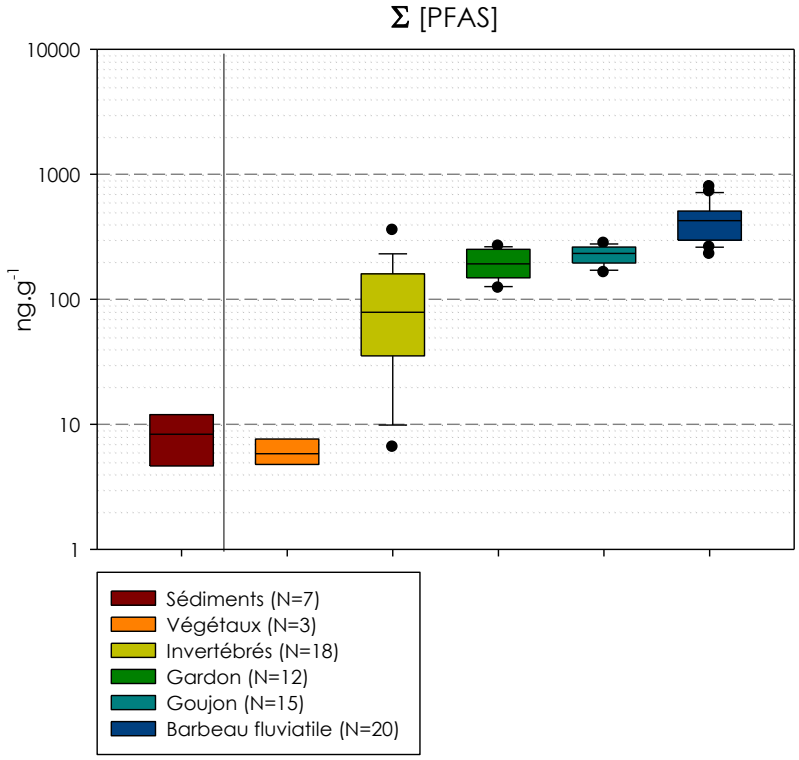


Figure 7 - Variabilité des concentrations de PFAS (échelle logarithmique) par compartiment : sédiment (ng.g^{-1} ps, biote ng.g^{-1} pf)

4.4 Contamination des poissons

4.4.1 Influence de l'espèce

Cette influence a été évaluée à l'aide du test de Kruskal-Wallis (équivalent non paramétrique d'une ANOVA ; seuil de significativité 0.05) appliqué aux concentrations dans le muscle, sur les 3 espèces ensemble, sur la somme des PFAS (ΣPFAS) et sur les composés présentant les fréquences de détection les plus élevées

individuellement. Ensuite, les 2 espèces dont les contaminations moyennes étaient les plus proches sont comparées avec le test de Dunn. Les résultats sont reportés au Tableau 4.

Variable	Différence enre les 3 espèces ?	Espèce + contaminée	Différence entre les 2 espèces + proches ?	Classement
ΣPFAS	**Oui** (*p*-value <0.0001)	BAF	Non (*p*-value =0.107)	BAF>GAR, GOU
PFNA	**Oui** (*p*-value = 0.032)	BAF, GOU	Non (*p*-value =0.894)	BAF, GOU>GAR
PFUnDA	**Oui** (*p*-value <0.0001)	BAF	Non (*p*-value = 0.591)	BAF>GAR, GOU
PFTrDA	**Oui** (*p*-value <0.0001)	BAF	Non (*p*-value = 0.079)	BAF>GOU, GAR
PFOS	**Oui** (*p*-value <0.0001)	GAR, BAF	Oui (*p*-value = 0.0003)	GAR>BAF>GOU
FOSA	**Oui** (*p*-value <0.0001)	GOU	Non (*p*-value <0.0001)	GOU>BAF≈GAR

Tableau 4 – Influence de l'espèce sur le niveau de contamination

Le barbeau est généralement plus contaminé que les deux autres espèces pour les acides carboxyliques (PFCA), notamment ceux à chaine plus longue, qui dominent dans les profils de contamination de tous les compartiments. Parmi les composés présentant une fréquence de détection de 100%, le PFOS apparait à part ; il présente des concentrations nettement plus faibles que les PFCA à chaine longue dominants (PFUnDA, PFTrDA), et c'est le gardon qui en accumule le plus. Dans le cas du FOSA, c'est le goujon qui est le plus contaminé, les deux autres espèces présentant des niveaux de contamination similaires.

Plusieurs composés (PFOA, PFHxS, PFDS et 6:2FTSA) présentent des taux de détection non négligeables, insuffisants toutefois pour qu'il soit possible de comparer les niveaux de contamination avec le test de Kruskal-Wallis. L'examen des taux de détection par espèce (Tableau 5) fait néanmoins apparaitre des différences sensibles entre les 3 espèces, en particulier pour le PFOA, le PFDS et le 6:2FTSA, qui pourraient être dues à des différences de métabolisme.

	PFOA	PFHxS	PFDS	6:2 FTSA
GAR	0.0%	83.3%	8.3%	0.0%
GOU	86.7%	100.0%	80.0%	20.0%
BAF	5.0%	95.0%	35.0%	0.0%
Global	29.8%	93.6%	42.6%	6.4%

Tableau 5 - Taux de quantification par espèce (GAR : gardon ; GOU : goujon ; BAF : barbeau) pour 4 composés d'incidence modérée à faible

La distribution des concentrations de ces composés, tenant compte des valeurs censurées, figure au Tableau 6 ; la proportion de valeurs censurées élevée dans certains cas (e.g. PFDS chez le barbeau) ne permet pas de déterminer les percentiles.

(ng.g^{-1} pf)	PFOA	PFHxS			PFDS
	GOU	BAF	GAR	GOU	GOU
25%	0.051	0.016	0.016	0.034	0.044
médiane	0.0723	0.022	0.019	0.052	0.052
75%	0.101	0.029	0.025	0.074	0.055
90%	0.111	0.037	0.029	0.089	0.055

Tableau 6 - Distribution des concentrations de PFOA, PFHxS et PFDS selon l'espèce

- Synthèse

Si l'on considère le muscle dorsal, le gardon est généralement moins contaminé que les deux autres espèces, sauf pour le PFOS. Le barbeau est le plus souvent plus contaminé que le goujon, sauf pour le PFOS, PFOA, PFDS et 6:2FTSA.

A l'échelle du bassin RMC, le goujon apparaissait comme plus chargé en PFAS (Babut *et al.*, 2011) ; c'est à partir de ce constat qu'il avait été décidé de cibler cette espèce dans la présente étude ; le barbeau et le gardon émergeaient aussi comme plus accumulateurs de PFAS, en-dessous du goujon. A l'échelle globale du bassin, le PFOS est généralement le composé dominant les profils moléculaires, ce qui est cohérent avec les résultats de la présente étude.

Les différences d'accumulation entre espèces peuvent provenir de différences physiologiques au niveau de l'absorption et de l'élimination, et de différences de traits de vie (mode d'alimentation), ce que nous discutons plus loin.

4.4.2 Foie et muscle

Les PFAS ont été analysés dans les foies et les muscles de 10 gardons et de 8 barbeaux, en ciblant les individus les plus gros dans les 2 cas. Les masses des foies des gardons se situaient entre 160 et 606 mg, celles des barbeaux entre 10.6 et 74.4 g. La variabilité des masses de foie des GAR ne peut être expliquée par celle des tailles, qui varient peu (120-148 mm). Chez les gros barbeaux en revanche, la masse des foies est corrélée à la taille (Pearson ; R^2=0.901, *p*-value <0.0001 ; N=9).

Les concentrations dans les foies des gardons et des barbeaux sont nettement plus élevées que dans les filets, ce qui est conforme à la littérature (Falk *et al.*, 2015, Goeritz *et al.*, 2013, Hoff *et al.*, 2005, Hoff *et al.*, 2003, Labadie et Chevreuil, 2011, Martin *et al.*, 2003, Tomy *et al.*, 2004). Pour tous les composés et la somme des PFAS (ΣPFAS), on observe le même schéma (Figure 8). Chez les gardons, les concentrations dans le foie présentent une variabilité plus importante que dans le filet ; chez les barbeaux, à l'exception d'un individu, les concentrations (ΣPFAS) dans le muscle (filet) et le foie sont corrélées (R^2=0.829, *p*-value =0.002, N=8), ce qui suggère donc un effet de la taille des barbeaux sur la contamination (cf. § 4.4.3 ci-dessous).

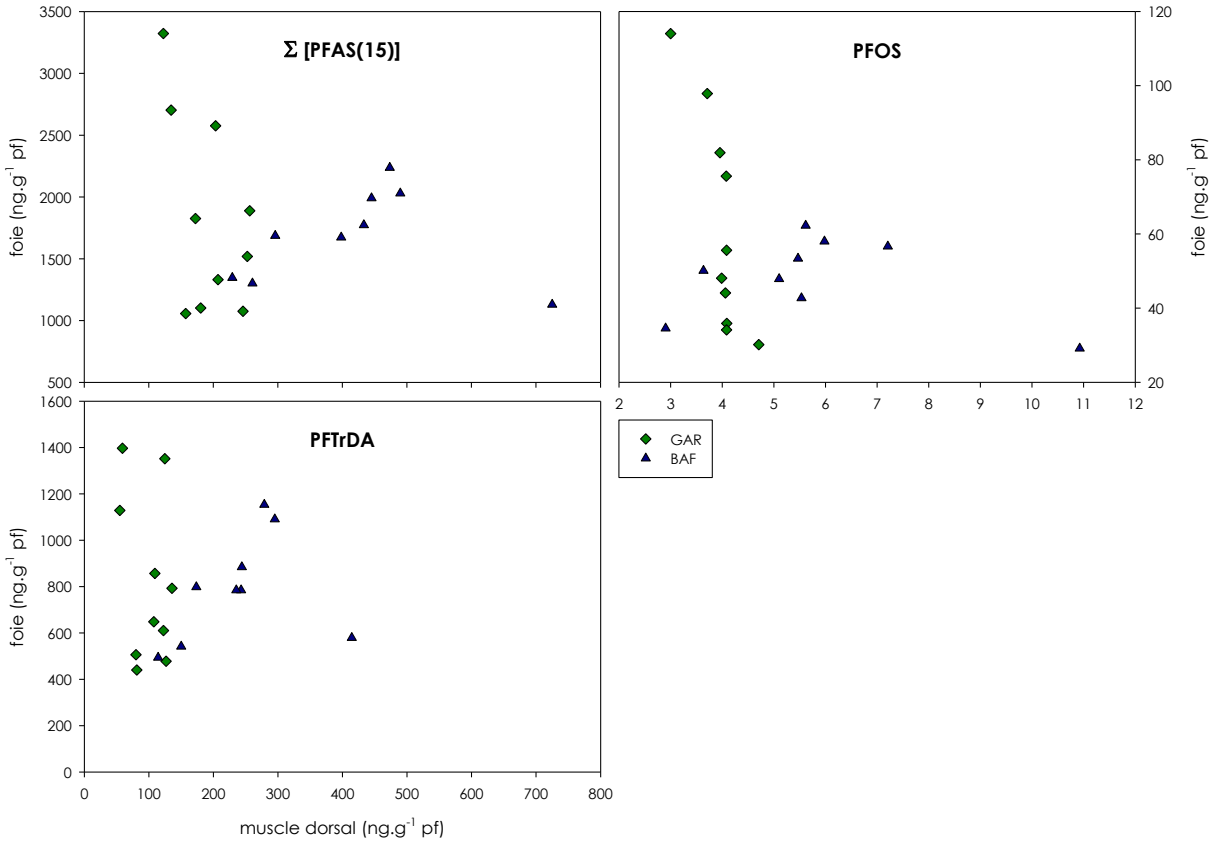


Figure 8 - Comparaison des concentrations de PFAS dans le muscle et le foie (gardons et barbeaux)

4.4.3 Influence de la taille

Les goujons et gardons présentent des tailles homogènes ; en revanche deux groupes de barbeaux ont été capturés, présentant des tailles bien distinctes (Annexe 4). Il n'est donc pas possible d'évaluer directement l'effet de la taille sur la contamination par les PFAS. Par contre, il est possible de comparer les niveaux de contamination dans les deux groupes de barbeaux.

Cette comparaison a été réalisée à l'aide de tests de Kruskal-Wallis. Les barbeaux juvéniles ont des concentrations significativement plus élevées de PFNA (*p*value = 0.0002), de PFOS (*p*value = 0.017) (Figure 9) et de PFDA (*p*-value = 0.006).

En revanche, bien que moyennes et médianes soient plus élevées chez les gros barbeaux, les différences ne sont pas significatives pour le PFUnDA et le PFTrDA (*p*-value = 0.239 et 0.909 respectivement). Il en va de même pour le PFDoDA (*p*-value = 0.91) et la somme des PFAS (*p*-value = 0.518) (Figure 9). On retrouve cependant des concentrations en PFTeDA significativement plus élevées (*p*-value = 0.0003) chez les gros barbeaux par rapport aux petits (jeunes).

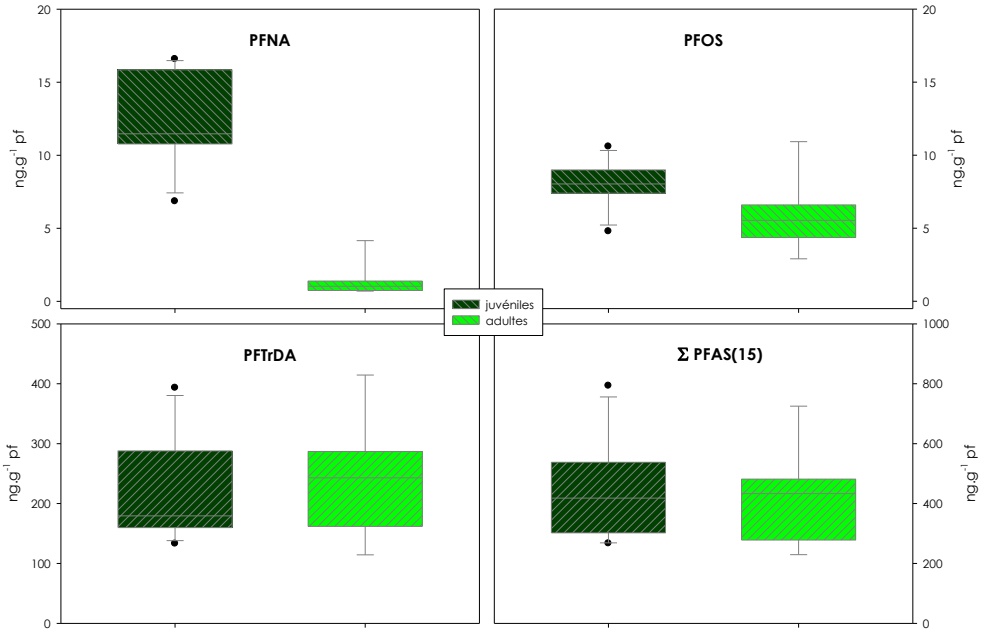


Figure 9 - Box plot des concentrations de PFNA, PFOS, PFTrDA et ΣPFAS dans les filets des deux groupes de barbeaux

D'après le profil enregistré dans la carotte (cf. Figure 5), le PFTeDA était présent en proportion plus importante entre 1990-2000 que dans les années récentes ; pour ce composé, la différence de contamination entre gros (plus âgés) et petits barbeaux pourrait donc être due à une différence d'exposition. En revanche dans le cas du PFNA ou du PFOS on ne note pas d'évolution des teneurs dans la carotte : la plus forte contamination des jeunes barbeaux pourrait donc être attribuée à une origine physiologique. En d'autres termes les barbeaux adultes auraient acquis la capacité d'éliminer ce composé. Pour le PFDA, dont les concentrations sont plus élevés chez les jeunes barbeaux, la contamination du sédiment a diminué entre les années 1990 et 2000 ; la plus forte contamination des jeunes barbeaux ne peut donc être due à une augmentation de l'exposition, mais, comme pour le PFNA et le PFOS, pourrait être due à une différence physiologique.

De telles différences d'accumulation entre juvéniles et adultes d'une même espèce ont déjà pu être observées, par exemple chez des populations de dauphin tursiops (*Tursiops truncatus*) vivant dans des estuaires de la côte atlantique aux Etats-Unis, les jeunes dauphins présentant des concentrations de ΣPFAS et notamment de PFOS plus élevées que les adultes (Fair *et al.*, 2012). Chez l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) d'une série de lacs du Nunavut (Canada), ΣPFAS des juvéniles était légèrement plus élevé ou similaire à celle des adultes (Lescord *et al.*, 2015). La ΣPFAS était corrélée négativement à la taille ou l'âge chez des poissons pastenagues (6 espèces différentes) d'un estuaire de l'état du Queensland (Australie) (Baduel *et al.*, 2014) ; ces auteurs font l'hypothèse que cette corrélation s'explique mieux par des changements de cinétique d'absorption et d'élimination, et écartent l'hypothèse du changement de régime alimentaire sur la base de mesures dans les proies. De même chez l'ours polaire (*Ursus maritimus*), les concentrations de PFOA, PFOS, FOSA et PCA (C9-C15) augmentent avec l'âge (Smithwick *et al.*, 2005). D'autres études, en général plus anciennes, concluaient au contraire à une absence d'effet de l'âge, pour le PFOS et d'autres PFAS chez des marsouins de la mer Noire (*Phocoena phocoena relicta*) (Van De Vijver *et al.*, 2007), ou de la masse du poisson avec PFOS et PFUnDA dans le foie de thon skipjack (*Katsuwonus pelamis*) du Pacifique et de l'Océan Indien (Hart *et al.*, 2008). Plus récemment, une dizaine de PFAS ont été analysés dans les foie de petits rorquals (*Balaenoptera acutorostrata*) et de dauphins communs (*Delphinus capensis*) des côtes coréennes, avec des différences significatives entre rorquals jeunes et adultes pour PFOS, , FOSA, PFUnDA, mais pas pour PFNA, ou PFDA (Moon *et al.*, 2010). Ces différences peuvent s'expliquer dans certains cas par de faibles effectifs échantillonnés, et surtout par des différences interspécifiques, en termes de voies d'exposition et de capacités métaboliques.

- Synthèse :

L'influence de la taille (proxy de l'âge) sur l'accumulation du PFUnDA et du PFTrDA n'est donc pas prouvée ; la relative faiblesse des effectifs et la variabilité des teneurs dans chaque classe expliquent probablement qu'il ne soit pas possible de montrer de différence.

Pour le PFOS et le PFNA, les barbeaux juvéniles sont plus contaminés que les individus plus gros et plus âgés, ce qui suggère une capacité à les éliminer moindre chez les juvéniles, ou peut-être une différence en termes de ressources trophiques exploitées. Ces observations sont cohérentes avec des études portant sur d'autres espèces de poissons et des mammifères aquatiques, pour des composés à chaine moyennement longue (C7-C9).

Les teneurs en PFTeDA sont significativement plus élevées chez les barbeaux adultes que chez les juvéniles ; ceci s'explique probablement plus par une élimination très lente, les barbeaux concernés étant probablement trop jeunes pour avoir connu le pic de PFTeDA (et dePFDA) entre 1990 et 2000.

4.4.4 Influence du régime alimentaire des poissons

4.4.4.1 Contenus stomacaux

Les contenus stomacaux, lorsque disponibles, ont été examinés à la loupe binoculaire ; les informations tirées de cet examen ont été traitées de la façon suivante :

- Regroupement, par ex. insectes aquatiques, insectes terrestres, crustacés, mollusques, vers (oligochètes), poissons, végétaux, détritus …
- Analyse qualitative (Tableau 7) : pourcentages d'occurrence de chaque catégorie de proie (% d'individus ayant consommé chaque catégorie de proie).
- Analyse semi-quantitative (Tableau 8) : les végétaux ne peuvent donc être pris en compte, de même que les mollusques. Pour les chironomes (capsule céphalique) ou les gammares, on peut par contre estimer le pourcentage moyen d'individus de chaque catégorie de proies dans le régime alimentaire. On calcule le % de chaque catégorie de proie dans le bol alimentaire des poissons individuels, puis on examine la variabilité inter-individus par espèce. Cette analyse a donc été donc restreinte à barbeau et goujon : de même, l'effectif analysable de cette façon est inférieur à l'effectif total, à savoir barbeau (N=17) et goujon (N=12), le reste (gardon, 3*barbeau et 3*gardons) correspondant à des contenus non quantifiables ou des estomacs vides.

	Insectes aquatiques	Insectes terrestres	Crustacés	Mollusques	Poissons	Végétaux	Détritus	Non identifié ou vide
	A	B	C	D	E	F	G	H
BAF	**58.8%**	0.0%	**88.2%**	47.1%	0.0%	11.8%	11.8%	0.0%
GAR	8.3%	0.0%	16.7%	**50.0%**	8.3%	**83.3%**	0.0%	8.3%
GOU	**73.3%**	13.3%	20.0%	20.0%	0.0%	0.0%	20.0%	13.3%

Tableau 7 - Pourcentages d'occurrence des catégories de proie par espèce (BAF : barbeau ; GAR : gardon ; GOU : goujon)

Les crustacés identifiés sont des gammaridae dans 90% des cas. Parmi les insectes aquatiques, les Chironomidae sont présents dans 100% des cas, les trichoptères 9%. Les mollusques ne sont pas toujours identifiables ; le *Potamopyrgus* représente 29% des occurrences, *Ancylus* 35%, *Radix* et *Corbicula* 18 et 24% respectivement.

Les préférences des barbeaux sont sensiblement modifiées pour les individus adultes : les barbeaux > 400 mm ne consomment pas de chironomes, contrairement aux juvéniles (<200 mm) chez qui ce type de proie est présent dans plus de 90% des cas. Les deux groupes consomment des gammaridés, plus fréquemment pour les adultes. Certains adultes (1/3) consomment également des mollusques et des végétaux.

	BAF			GOU		
	crustacés	insectes	mollusques	crustacés	insectes	mollusques
min	0%	0%	0%	0%	95%	0%
P25	17%	0%	0%	0%	99%	0%
médiane	50%	50%	0%	0%	100%	0%
P75	85%	83%	9%	1%	100%	0%
P90	95%	99%	16%	4%	100%	0%
max	100%	100%	29%	5%	100%	0%

Tableau 8 - Distribution des proies par individu

Les proies des barbeaux sont principalement des crustacés (gammaridés) et des insectes (chironomidés), mais ces deux types de proies sont consommés en proportions très variables selon les individus. La part des mollusques est sous-estimée chez cette espèce, puisque seuls des débris de coquilles ont pu être identifiés chez plusieurs individus, et n'ont donc pas été pris en compte dans cette analyse. A l'inverse les individus de goujon consomment très majoritairement des insectes, qui sont principalement des chironomidés.

- Synthèse

Ces observations justifient le choix du gammare et du chironome (voir chapitre 5 ci-dessous) pour les expérimentations sur l'accumulation des PFAS par les invertébrés benthiques. L'importance du gammare dans l'alimentation du barbeau, des insectes (chironomes) dans celle du goujon, et des végétaux chez le gardon, contribuent à expliquer leurs niveaux relatifs de contamination, selon les niveaux de contamination de ces proies (§ 0 ci-dessous).

4.4.4.2 Rapports isotopiques

Les résultats des mesures des rapports isotopiques du carbone ($\delta^{13}C$) et de l'azote ($\delta^{15}N$) sont présentés Figure 10 ; les points sur le panneau A représentent les invertébrés de la lône et les macrophytes, tandis que le panneau B rassemble les données des 3 espèces de poissons. L'échelle de l'axe des ordonnées ($\delta^{15}N$) des deux panneaux n'est pas la même, les valeurs des invertébrés et des macrophytes étant beaucoup plus basses.

A part les macrophytes, et l'échantillon composite de mollusques gastéropodes, les signatures $\delta^{13}C$ sur le panneau A correspondent à une source de carbone détritique, caractéristique des organismes benthiques. Les poissons (panneau B) affichent des valeurs de $\delta^{13}C$ intermédiaires entre ces deux sources. La variabilité des valeurs de $\delta^{13}C$ est plus importante pour les gardons et les barbeaux que pour les goujons, suggérant donc des régimes alimentaires plus variés pour les barbeaux et gardons. La variabilité totale des valeurs de $\delta^{15}N$ des poissons est de l'ordre de 2.5 ‰, et celle des invertébrés est de l'ordre de 4.0 ‰.

La signature $\delta^{13}C$ des barbeaux juvéniles diffère significativement de celle des adultes (test de Mann-Whitney, *p*-value 0.001) ; bien que les valeurs de $\delta^{15}N$ des barbeaux adultes tendent à être plus basses, la différence n'est pas significative au seuil de 5% (*p*-value 0.058). Le régime alimentaire des barbeaux plus âgés évolue donc vers une source de carbone plus détritique, et des proies de niveau trophique plus bas que les jeunes barbeaux.

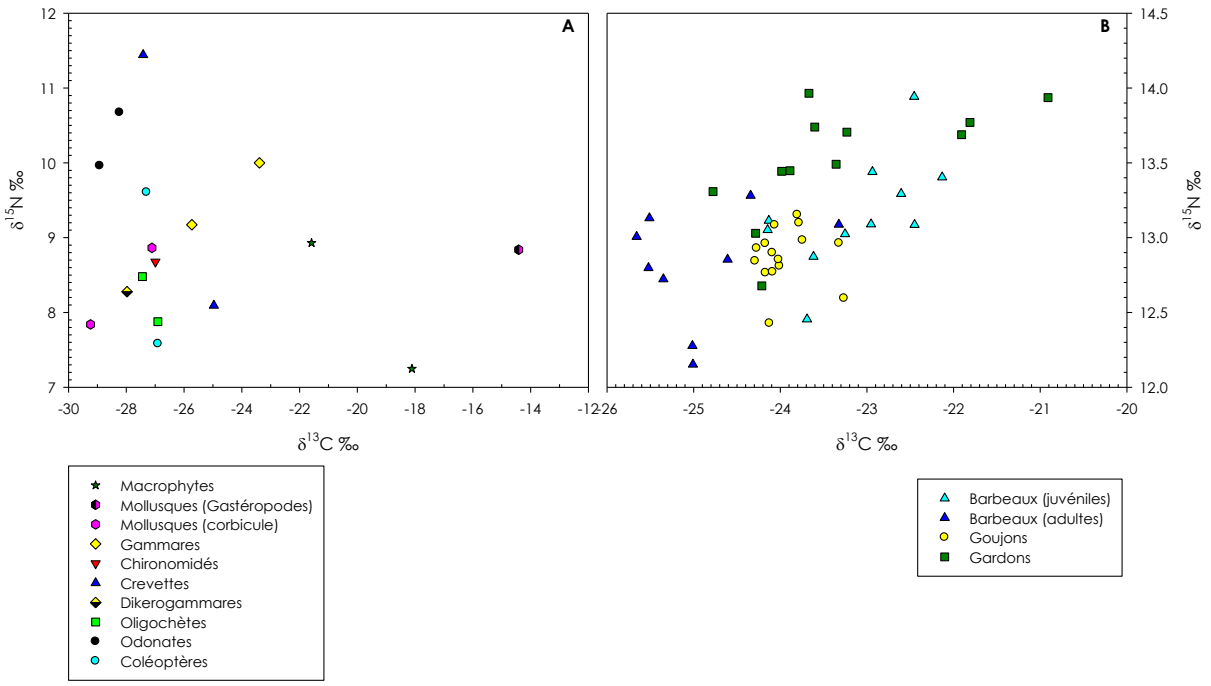


Figure 10 – Rapports isotopiques du carbone et de l'azote pour les végétaux, invertébrés et poissons à l'Ile du Beurre

Ces résultats confirment et complètent les conclusions tirées de l'analyse des contenus stomacaux, en faisant notamment ressortir une alimentation plus variée, selon l'espèce, ou entre individus d'une même espèce.

Les valeurs de $\delta^{15}N$ permettent de déterminer les niveaux trophiques (TL) par comparaison au $\delta^{15}N$ d'un organisme de TL connu, ou « ligne de base » (Équation 1) (Post, 2002).

$$TL - conso = 2 + (\delta^{15}Nconso - \delta^{15}Nbase)/\Delta N$$

Équation 1

avec *TL-conso* le niveau trophique d'un organisme consommateur, $\delta^{15}N$*-conso* et $\delta^{15}N$*base* les rapports isotopiques respectifs du consommateur et de l'organisme représentant la ligne de base, et ΔN le facteur d'enrichissement trophique moyen. Dans cette équation, l'organisme pris pour ligne de base est un consommateur primaire, il a donc un TL = 2.

Pour l'organisme représentant la ligne de base, il est recommandé d'utiliser des consommateurs primaires longévives (e.g. mollusques bivalves ou gastéropodes) (Post, 2002, Vander Zanden et Rasmussen, 2001). La corbicule (*Corbicula fluminea*), bivalve filtreur, vivant dans le sédiment, est présent sur ce site de manière récurrente. Cette espèce a été utilisée précédemment comme ligne de base sur ce site (Lopes *et al.*, 2011b). Les autres mollusques (gastéropodes ou bivalves) sont présents de manière plus variable. La corbicule reste donc le choix optimal, avec TL = 2.

Les TL ont été calculés avec un ΔN de 3.4 ‰ (Post, 2002). Ils varient entre 1.77 et 2.89 pour les invertébrés ; la distribution des TL des poisons est reportée au Tableau 9.

Espèce	Min	1er quartile	Médiane	3ème quartile	Max
BAF	3.12	3.32	3.39	3.42	3.64
GAR	3.27	3.49	3.54	3.59	3.65
GOU	3.20	3.31	3.34	3.36	3.41

Tableau 9 - Niveaux trophiques des poissons

4.5 Contamination des proies

4.5.1.1 Végétaux

Les résultats des mesures de PFAS sur les macrophytes *Myriophyllum spicatum*, *Ceratophyllum demersum* et *Valisneria spiralis* collectés en septembre 2012 figurent au Tableau 10 ci-dessous. Le profil moléculaire est similaire à celui des autres organismes échantillonnés, avec une différence plus faible (non significative) entre PFNA et PFUnDA/PFTrDA que chez les invertébrés ou les poissons. Les niveaux de contamination sont faibles.

	Myriophyllum spicatum	*Ceratophyllum demersum*	*Valisneria spiralis*
PFOA	<LD	0.022	0.032
PFNA	1.023	1.085	1.677
PFDA	<LD	0.020	0.047
PFUnDA	1.583	1.282	2.308
PFDoDA	0.036	0.016	0.046
PFTrDA	2.514	1.993	2.909
PFTeDA	0.030	0.032	0.019
PFHxS	0.007	0.006	0.009
PFHpS	0.002	0.002	0.002
PFOS	0.262	0.144	0.229
PFDS	<LD	<LD	<LD
MeFOSAA	0.002	<LD	0.016
FOSA	0.011	<LD	0.010
MeFOSA	<LD	<LD	<LD
6:2 FTSA	0.091	0.030	0.099
Σ15PFAS	**5.823**	**4.777**	**7.630**

Tableau 10 - Profils de contamination par les PFAS (ng.g^{-1} pf) de 3 végétaux aquatiques

4.5.1.2 Invertébrés

De tous les taxons ou groupes collectés à l'ile du Beurre, les chironomes sont les moins contaminés (ΣPFAS 6.5 – 10.2 ng.g^{-1} pf), les gammares les plus contaminés (ΣPFAS 104.9 – 355.8 ng.g^{-1} pf), suivis par les oligochètes (ΣPFAS 139.8 – 2013.5 ng.g^{-1} pf). A la différence des résultats antérieurs dans le Rhône (Babut *et al.*, 2010a), les mollusques présentent des niveaux de contamination notables, plus élevés en tous cas que les chironomes, notamment pour *Radix* et *Potamopyrgus antippodarum* (Figure 11).

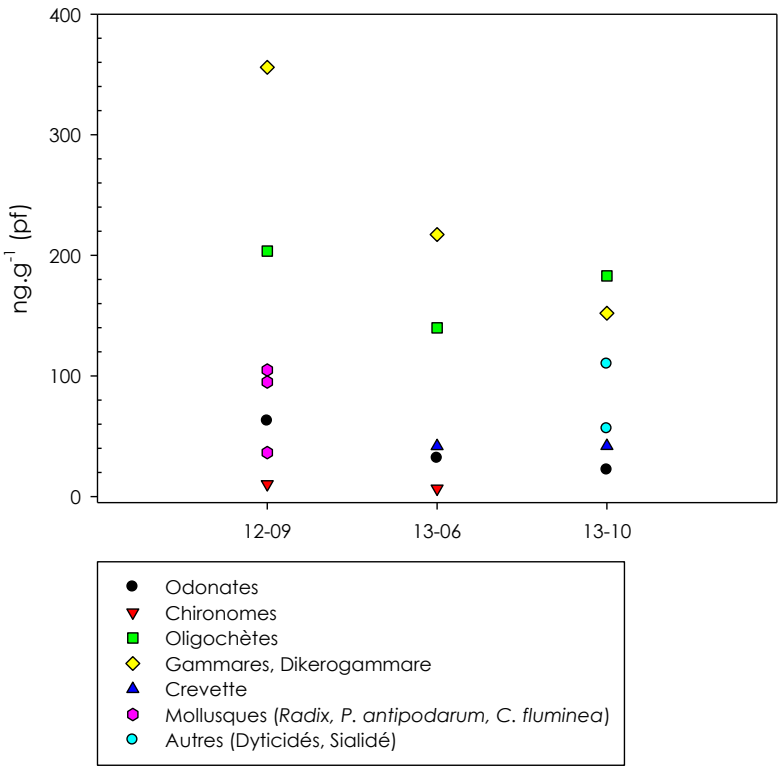


Figure 11 - Contamination des proies invertébrées au cours du temps à l'Ile du Beurre (ΣPFAS)

Les profils moléculaires sont dominés par le PFUnDA, le PFTrDA et dans une moindre mesure le PFOS (L > R). Compte tenu de la faiblesse des effectifs respectifs, il n'a pas été possible de tester la différence de concentrations en PFNA ou PFOS dans les chironomes et gammares, qui aurait pu contribuer à expliquer les niveaux plus élevés de ces composés dans les barbeaux juvéniles par rapport aux adultes. On notera également que les barbeaux adultes présentent une signature $\delta^{13}C$ plus négative que les juvéniles (§ 4.4.4.2), signifiant qu'ils exploitent plus les ressources benthiques (donc les chironomes ou oligochètes) que leurs congénères juvéniles. La concentration plus élevée en PFNA et PFOS chez les barbeaux juvéniles ne s'explique donc pas directement par les ressources trophiques exploitées.

Le régime alimentaire du goujon, tel qu'il ressort des contenus stomacaux, n'explique donc que partiellement la contamination de cette espèce par rapport aux 2 autres : les insectes étant dominants dans l'alimentation des goujons, on comprend pourquoi les goujons sont plutôt moins contaminés que les barbeaux, notamment pour les PFAS à longue chaîne, mais cela n'explique pas les différences de profil moléculaire, i.e. la plus forte accumulation de PFSA, du FOSA et 6:2 FTSA notée au Tableau 5.

L'examen des contenus stomacaux suggère que les gammares constituent une source importante de contamination des barbeaux pour PFUnDA et PFTrDA (et par conséquent ΣPFAS). Les mollusques et les végétaux consommés par les adultes pourraient diluer l'apport des gammares ; cependant, le fait que les jeunes barbeaux consomment souvent des chironomes et des insectes terrestres devrait aussi diminuer l'absorption de PFAS. Par contre la composition de la diète n'explique pas la plus faible contamination des adultes par le PFNA, bien que les juvéniles soient seuls à consommer des chironomes. Ceux-ci en effet n'accumulent pas beaucoup le PFNA (environ 30-50 fois moins que les gammares). La différence entre adultes et juvéniles pourrait par conséquent plutôt s'expliquer par la capacité accrue des adultes à éliminer le PFNA.

4.6 Transfert du sédiment aux organismes – bioamplification

4.6.1 Facteurs d'accumulation sédiment-invertébrés (BSAF)

On désigne par facteur d'accumulation sédiment – biote (BSAF) le quotient de la concentration d'un contaminant dans un organisme dont le sédiment est la source de contamination et de la concentration de ce contaminant dans le sédiment. Implicitement, les deux compartiments sont considérés comme étant à l'équilibre. Par conséquent, bien que des BSAF aient parfois été publiés pour des poissons, cet indicateur devrait plutôt être appliqué aux invertébrés benthiques.

Pour les contaminants hydrophobes, il est préférable de normaliser les concentrations par la teneur en lipides de l'organisme et par le taux de carbone organique respectivement (Burkhard, 2006). Dans le cas des PFAS, dont l'accumulation dans le biote n'est pas influencée par leur teneur en lipides, le BSAF sera plutôt calculé selon l'Équation 2.

$$BSAF = \frac{C_{org}}{C_{sed}}$$

Équation 2

avec C_{org} la concentration tissulaire (ng.g^{-1} pf), et C_{sed} la concentration dans le sédiment en ng.g^{-1} (ps). La concentration des PFAS (au moins à chaine longue) dans les sédiments étant contrôlée par la matière organique, il est préférable de normaliser C_{sed} par le taux de matière organique (Higgins *et al.*, 2007).

Les données sédiments sont extraites de la série de mesures de PFAS dans les sédiments de surface à l'entrée de la lône (Figure 6 page 23), en sélectionnant les échantillons dont les dates de prélèvement correspondent (à 1 mois près) aux trois dates d'échantillonnage de benthos. Les BSAF ne peuvent être déterminés si soit *Csed* soit *Corg* soit les 2 sont <LD. La substitution par 0.5 * LD ou LD ne parait pas satisfaisante (Helsel, 2006).La distribution des BSAF non corrigés par la teneur en matière organique est présentée au Tableau 11.

	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTrDA	PFTeDA	PFOS	FOSA
%ND	25.0%	16.7%	25.0%	0.0%	16.7%	0.0%	25.0%	41.7%	41.7%
Min	0.91	0.31	0.11	1.10	0.03	0.89	1.52	4.42	1.17
P25	1.74	1.58	0.34	3.70	0.77	13.11	1.86	19.68	9.40
Médiane	2.05	2.39	0.95	12.63	2.85	21.21	7.81	30.44	11.05
P75	6.58	9.84	2.74	29.26	7.67	37.86	11.94	71.08	19.29
Max	19.13	121.32	4.62	93.14	11.61	66.37	26.06	80.94	28.37

Tableau 11 - BSAF chez l'ensemble des invertébrés benthiques

Les valeurs de BSAF sont élevées, notamment pour les composés à chaîne longue (PFUnDA, PFTrDA), plus enclins à s'adsorber aux particules de sédiment, ainsi que pour le PFOS et le FOSA.

4.6.2 Bioamplification

Ce terme désigne une augmentation des concentrations de contaminants le long des chaines trophiques. Il signifie que le flux de contaminant entrant dans un organisme est supérieur au flux sortant (ou cinétique d'élimination). Les indicateurs couramment utilisés pour caractériser la bioamplification sont le facteur de bioamplification (BMF) et le facteur d'amplification trophique (TMF). Le TMF représente en pratique la bioamplification moyenne dans une chaine trophique, et pour un composé donné devrait en principe être proche des BMF de ce composé. Il y a bioamplification si BMF ou TMF >1.

4.6.2.1 Facteurs de bioamplification (BMF)

Le facteur de bioamplification (BMF) désigne l'augmentation des concentrations entre un prédateur et sa proie ; le BMF est déterminé pour des couples prédateurs-proie sélectionnés par rapport aux éléments dominants de la nourriture du prédateur.

$$BMF = \frac{[prédateur]}{[proie]}$$

Équation 3

[*prédateur*] désigne la concentration dans l'organisme prédateur, [*proie*] la concentration dans sa proie.

L'ajustement du BMF aux niveaux trophiques (TL) du prédateur et de sa proie (Équation 4, d'après (Fisk *et al.*, 2001) permet de réduire l'influence du niveau trophique et de mieux comparer des sites ou des études entre elles.

$$BMF_{TL} = \frac{BMF}{(TL_{prédateur}/TL_{proie})}$$

Équation 4

L'ajustement au TL pourrait aussi se faire en soustrayant le TL de la proie à celui du prédateur (Franklin, 2016). Compte tenu des informations collectées dans cette étude sur l'alimentation des espèces de poissons étudiées (§ 4.4.4) il est possible de déterminer des BMF pour les couples barbeau-gammares et goujon-chironomes.

- Barbeaux / gammares

Les BMF ajustés au TL selon l'Équation 4, sur la base des concentrations dans le muscle du barbeau (20 échantillons individuels) et les mesures dans les gammares en 2012 ou 2013 sont résumés dans le Tableau 12). Les BMF du PFOA n'ont pas été déterminés, les mesures dans le barbeau étant généralement <LD ; pour ce composé, les BMF seront donc nécessairement <1. Il en va de même pour le PFDS, les concentrations dans le muscle des barbeaux étant <LD dans la plupart des cas.

	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTrDA	PFTeDA	PFHxS	PFHpS	PFOS	FOSA
Min	0.01	0.15	0.30	0.35	0.76	0.42	0.09	0.09	0.32	0.18
Méd	0.15	0.46	1.36	0.86	1.64	2.17	0.21	0.31	0.75	0.58
Max	3.40	1.42	6.18	2.51	3.19	11.79	0.51	0.57	1.13	1.14

Tableau 12 – BMF ajustés au TL pour les couples barbeau/gammares (minimum, médiane, maximum ; gammares prélevés en 2012 et 2013 – mesures dans les filets de barbeau)

Ces BMF sont néanmoins sous-estimés, puisque les concentrations dans le filet sont inférieures à celles d'autres organes (foie, sang notamment). Nous avons donc essayé d'estimer des concentrations dans l'organisme entier, en utilisant les facteurs de conversion déterminés par régression entre concentrations dans le filet et concentrations reconstituées dans l'organisme entier sur 5 barbeaux ou 5 barbeaux + 9 chevaines provenant de 3 sites de la région Rhône-Alpes[3]. Les pentes de ces régressions sont reportées dans le Tableau 13. En règle générale nous avons utilisé celles obtenues pour le barbeau (BAF), sauf quand le coefficient de détermination était trop faible. Malheureusement il n'a pas été possible d'appliquer cette approche à tous les PFAS mesurés dans les filets de barbeaux.

[3] En marge d'une étude sur la bioamplification de composés prioritaires au titre de la directive 2000/60 sur l'eau, dont le PFOS Babut M, Ferrari BJD, Lauzent M, Simonnet-Laprade C, Labadie P, Budzinski H (2015). *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*, Onema

	Pente (BAF)	R^2	*p*-value	Pente (BAF+CHE)	R^2	*p*-value
PFNA	2.37 ±0.23	0.880	0.0005	2.32 ±0.17	0.891	< 0.0001
PFDA	-	0.069	0.001	**2.66** ±0.21	0.807	< 0.0001
PFUnDA	**3.06** ±0.26	0.953	0.0003	2.84 ±0.17	0.906	< 0.0001
PFDoDA	**3.07** ±0.25	0.844	0.0003	2.37 ±0.18	0.782	< 0.0001
PFTrDA	**2.88** ±0.14	0.949	< 0.0001	2.37 ±0.19	0.837	< 0.0001
PFTeDA	-	0.286	0.0001	**2.56** ±0.19	0.819	< 0.0001
PFOS	**2.80** ±0.17	0.369	< 0.0001	2.20 ±0.17	0.884	< 0.0001
FOSA	**3.10** ±0.33	0.647	0.001	1.92 ±0.23	0.641	< 0.0001

Tableau 13 - Régressions organisme entier - filet chez le barbeau (N=5) ou barbeau + chevaine (N=14)

Les concentrations estimées dans les barbeaux entiers sont reportées en Annexe 5.

Les BMF ajustés au TL ainsi calculés sont représentés Figure 12 : le panneau de gauche pour les PFCA, du PFNA (n = 8 C perfluorés) au PFTrDA (n= 12 C perfluorés), et celui de droite pour le PFOS (médiane 8.06) et le FOSA. Ils sont logiquement plus élevés que les BMF_{TL} déterminés à partir des teneurs dans les filets. A nombre de C perfluorés égal, les BMF du PFOS et du FOSA sont plus élevés que celui du PFNA, comme déjà observé dans d'autres réseaux trophiques (Kannan *et al.*, 2005). La corrélation de la longueur de chaine perfluorée à la médiane des BMF_{TL} (organisme entier) n'est pas significative pour les PFCA testés (test de Pearson ; n=5 ; R^2 = 0.863, *p*-value 0.06). La *p*-value est cependant proche du seuil conventionnel de significativité (0.05) ; à noter que lorsque les BMF sont déterminés à partir des concentrations dans le filet (Tableau 12) la corrélation est significative (R^2 = 0.623 ; *p*-value 0.007).

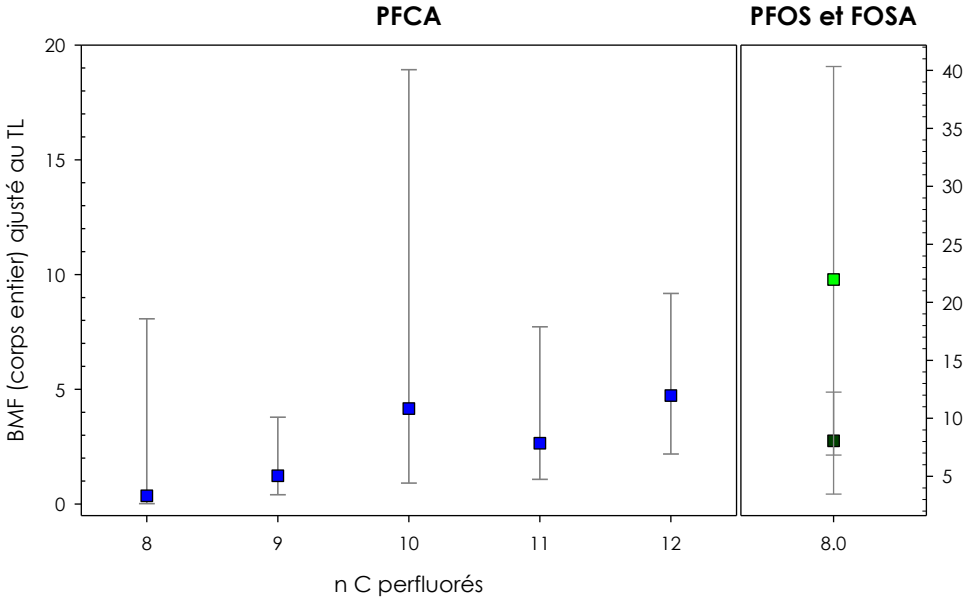


Figure 12 - BMF_{TL} calculés sur les concentrations estimées dans les barbeaux entiers (min-médiane-max)

Par convention, on considère que la bioamplification est avérée si le BMF>1 (en-dessous de cette valeur les concentrations diminuent entre la proie et le prédateur, et sont équivalentes chez le prédateur et sa proie si BMF = 1). Le PFUnDA, le PFDoDA, le PFTrDA, le PFOS et le FOSA sont clairement bioamplifiés chez le barbeau, puisque la totalité des valeurs de BMF_{TL} (20 individus * 2 lots de gammares) sont > 1. Dans le cas du PFDA, ce seuil est situé entre le premier quartile et la médiane, et donc la majorité des valeurs de BMF dépassent le seuil. La distribution des BMF est influencée par les teneurs des gammares (plus basses en 2013, induisant des valeurs de BMF plus élevées) et par l'âge des barbeaux (cf. § 4.4.3), les jeunes/petits barbeaux étant plus contaminés par le PFDA que les gros/plus âgés. Ainsi, pour ce composé la bioamplification reste incertaine puisque les poissons ont été capturés en 2011 : si le niveau de contamination des gammares restait faible après 2013, il n'est pas certain qu'on observerait des BMF>1 pour le PFDA sur des jeunes barbeaux pêchés après cette date. Le même raisonnement peut être fait dans le cas du PFNA ; néanmoins pour ce composé le seuil est légèrement inférieur au 3ème quartile. Ainsi le PFNA ne devrait pas être considéré comme bioamplifié.

- Goujons / chironomes

Pour PFOA, PFDA, PFDoDA, PFHxS, PFHpS et PFDS, les concentrations dans les chironomes sont <LD en 2012. Il en va de même pour le PFTeDA en juin 2013 ; enfin, aucun chironome n'a été collecté en octobre 2013. Par conséquent, pour ces PFAS (sauf PFTeDA, non calculable), une seule mesure dans les chironomes a pu être prise en compte pour calculer le BMF. Pour les autres PFAS, à savoir PFNA, PFUnDA, PFTrDA, PFOS et FOSA, deux séries de mesures dans les chironomes étaient disponibles. Les mesures dans le goujon concernent les filets ; les BMF ajustés au TL selon l'Équation 4 sont reportés dans le Tableau 14. Les concentrations du PFDoDA dans les chironomes étant comprises entre LD et LQ, le BMF de ce composé est certainement très surestimé.

	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTrDA	PFHxS	PFHpS	PFOS	PFDS	FOSA
Min	2.18	2.81	25.8	14.3	178	11.7	2.06	3.45	3.16	9.42	5.67
Med	3.39	6.10	36.0	22.4	225	23.5	3.69	7.30	6.21	11.6	10.8
Max	5.47	13.8	45.1	38.9	295	40.9	6.76	12.4	12.4	14.0	27.8

Tableau 14 - BMF ajustés au TL pour les couples goujon/chironomes (minimum, médiane, maximum ; chironomes prélevés en 2013, ou 2012 et 2013)

Les BMF augmentent avec le nombre de carbone perfluorés, et sont plus élevés pour les sulfonés que pour les carboxylates de même longueur de chaine carbonée (Figure 13). Les médianes de ces BMF ne sont pas corrélées à la longueur de chaîne carbonée pour les PFCA (Pearson ; R^2 = 0.501, *p*-value 0.075), mais là encore la *p*-value est proche du seuil de significativité.

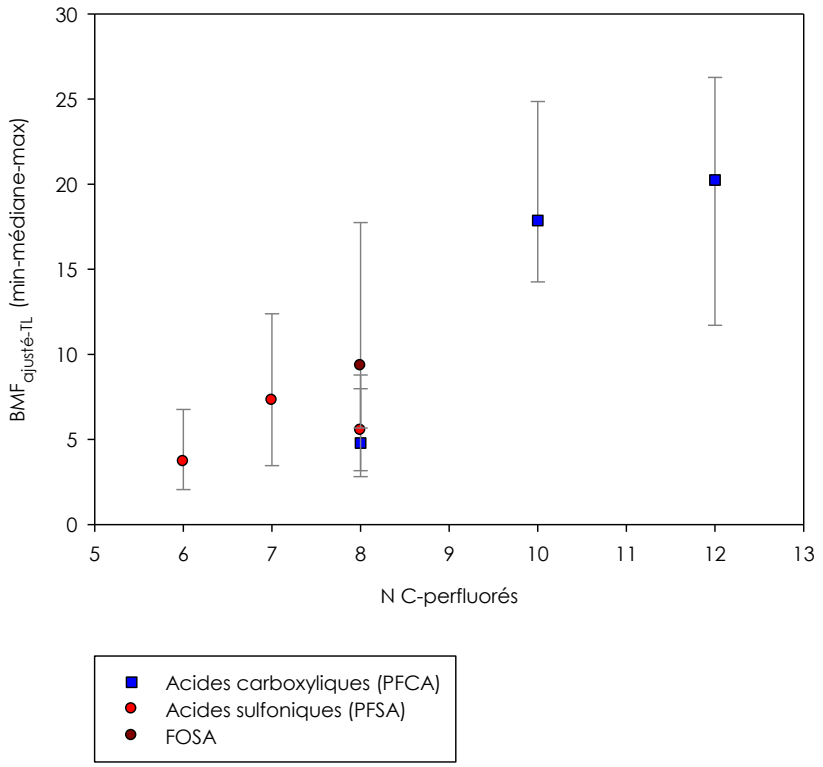


Figure 13 – Relation entre BMF et longueur de chaine perfluorée (muscle des goujons-chironomes)

- Discussion

Les BMF obtenus à partir des mesures dans le filet sont plus précis que ceux estimés dans l'organisme entier, qui cumulent l'incertitude analytique et celle de la régression filet – organisme entier. De plus, les régressions ne sont pas disponibles pour tous les composés. Par ailleurs, les BMF- filet restent pertinents dans une perspective d'estimation (grossière) du risque sanitaire.

La variabilité globale des BMF (filet ou organisme entier) n'est que partiellement appréhendée : alors que la variabilité des concentrations chez les poissons est assez bien estimée grâce à des analyses individuelles sur des effectifs conséquents, on n'a que peu d'échantillons d'invertébrés, on ne connait pas les fluctuations éventuelles au cours du temps (effet des saisons, tendances interannuelles), ni la variabilité de la disponibilité des proies.

L'utilisation des BMF est aussi critiquable dans la mesure où elle ne considère qu'une seule proie à la fois comme source de contamination d'un prédateur, alors que la diète est couramment composée de plusieurs proies ; il serait sans doute plus réaliste de prendre en compte la composition réelle de la diète (Ramu *et al.*, 2006) ou les proportions respectives des proies dans la détermination des BMF. Une alternative, potentiellement meilleure, serait d'estimer un facteur d'enrichissement trophique moyen (i.e. TMF) sur plusieurs échelons du réseau trophique.

4.6.2.2 Facteurs d'amplification trophique (TMF)

Le TMF est obtenu à partir d'une régression linéaire des concentrations log-transformées sur les TL (Équation 5), de préférence lorsque des données sont disponibles sur ≥ 2 TL (Borgå *et al.*, 2012).

$$Log[substance] = a + (b * TL)$$

Équation 5

Le TMF est obtenu en appliquant l'Équation 6 :

$$TMF = e^b$$

Équation 6

Les deux équations peuvent être remplacées par des formules équivalentes en base décimale. Idéalement, le composé doit être mesuré dans l'organisme entier à tous les niveaux de la chaine trophique. Dans le cas de chaines trophiques impliquant des mammifères (cétacés, pinnipèdes) à l'échelon le plus élevé, il arrive que la mesure de contaminant ne concerne que certains organes, ce qui constitue un biais (Borgå *et al.*, 2012), à moins qu'il ne soit possible d'extrapoler aux teneurs dans l'organisme entier (Houde *et al.*, 2006a, Houde *et al.*, 2011). Comme dans le cas du BMF, la bioamplification est avérée si TMF > 1.

Plusieurs approches de régression peuvent être employées pour la régression (Équation 5) : une régression simple lorsque les données ne sont pas censurées (i.e. taux de détection 100 %), régression de Kendall pour des taux de détection entre 20% et 100% (fonction *cenken* sous R), et régression linéaire à effets mixtes (fonction *lmec* sous R) pour tenir compte à la fois des données censurées et des effectifs déséquilibrés selon les niveaux trophiques. La première et la troisième approches permettent d'obtenir également l'erreur sur la pente et sur l'ordonnée à l'origine ; par ailleurs, on obtient également des indications sur la fiabilité des régressions pour la première (R^2, *p*-value) et la deuxième (τ, *p*-value) mais pas la troisième, où l'évaluation de la qualité de la régression repose sur le critère AIC[4]. Pour une discussion sur les mérites comparés de ces 3 approches, on se réfèrera à (Babut *et al.*, 2015) ; les modèles les plus appropriés selon cette étude sont la régression simple et le modèle à effets mixtes.

Les TMF ont été déterminés pour le barbeau. La description de son réseau trophique et la sélection des données utilisées pour la détermination des TMF figurent en Annexe 6. Les concentrations dans le barbeau ont été estimées dans l'organisme entier sur la base des facteurs de conversion filet-organisme entier

[4] Critère d'information d'Akaike : mesure de la qualité d'un modèle statistique, qui tient compte du nombre de paramètres pris en compte (critère de parcimonie), couramment utilisé pour comparer des modèles entre eux. Les modèles utilisant un plus grand nombre de paramètres sont pénalisés, avec des valeurs d'AIC plus élevées. Le critère AIC-cens (Tableau 15) tient en outre compte de la taille du jeu de données, et pénalise plus fortement les jeux de données réduits, comme c'est généralement le cas ici.

mentionnés au Tableau 13. Les TMF calculés à l'Ile du Beurre selon la régression simple (TMF[1]) et le modèle à effets mixtes (TMF[2]) sont présentés au Tableau 15.

	TMF[1]	R^2	*p*-value	TMF[2] [min-max]	AIC (cens)
PFOA	nd	-	-	0.38 [0.28 - 0.48]	100
PFNA	nd	-	-	15.74 [7.77 - 23.7]	136
PFDA	nd	-	-	5.98 [4.73 - 7.24]	101
PFUnDA	15.14 ±4.25	0.721	<0.0001	3.37 [3.06 – 3.70]	74
PFDoDA	nd	-	-	1.64 [PNS - 1.64]	114
PFTrDA	7.64 ±2.30	0.552	<0.0001	1.12 [1.02 – 1.23]	74
PFTeDA	nd	-	-	1.55 [0.95 – 2.15]	124
PFHxS	nd	-	-	1.87 [1.57 - 2.17]	93
PFHpS	nd	-	-	1.02 [0.96 – 1.07]	69
PFOS	5.73 ±2.41	0.310	0.0002	PNS	134
PFDS	nd	-	-	0.73 [0.02 - 0.13]	188
FOSA	nd	0.014	0.226	1.78 [1.53 – 2.03]	85
6:2 FTSA	nd	-	-	0.13 [0.08 - 0.18]	113
MeFOSAA	nd	-	-	1.82 [1.26 – 2.37]	114

Tableau 15 – TMF à l'Ile du Beurre (réseau trophique du barbeau)
nd : non déterminé ; PNS : pente non significativement différente de 0

L'option de retirer les barbeaux juvéniles du jeu de données, qu'on peut justifier par le fait que leur réseau trophique est différent de celui des adultes (cf. § 4.4.4.2), produit des valeurs de TMF plus faibles par régression linéaire (4.38 ±2.36 pour le PFOS, 6.58 ±2.96 pour le PFTrDA) mais un moins bon ajustement (R^2 respectifs 0.186 et 0.422, *p*-value 0.028 et 0.0003). La régression linéaire à effets mixte renvoie une pente significativement différente de 1 dans le cas du PFOS (2.42 ±1.50, AIC-cens = 170).

Aucune méthode ne permet de déterminer de TMF pour l'EtFOSAA, notamment en raison de la proportion élevée de concentrations <LD. Cela dit, ce composé est un précurseur du PFOS, et l'absence de TMF dans ce cas peut paraitre moins critique, puisque sa dégradation aboutit à la formation de PFOS, pour lequel le classement comme composé bioamplifiable est acquis. PFOA, PFDS, 6:2 FTSA ne sont pas bioamplifiés ; pour tous les autres, l'ensemble de l'intervalle est > 1 avec le modèle à effets mixtes, ou avec la régression simple quand elle est applicable. Le PFNA, pour lequel il n'avait pas été possible de conclure à la bioamplification en se basant sur le BMF, la régression linéaire à effets mixtes amène à conclure que ce composé est bioamplifié, mais la valeur élevée du critère AIC et l'étendue de l'intervalle du TMF incitent à considérer la valeur du TMF comme incertaine. De même, les TMF du PFDS et du MeFOSAA paraissent plus incertains, au vu de leurs critères AIC respectifs.

Dans la mesure où seules les valeurs non censurées sont prises en compte dans la régression simple, les TMF obtenus par cette approche semblent moins fiables et dans le cas présent tendent à être plus élevés.

- Synthèse

Deux types d'indicateur de bioamplification ont été testés, BMF ajusté au niveau trophique pour des couples prédateur-proie constitués de barbeau-gammares et goujon-chironomes, et des TMF. D'après les valeurs de BMF_{TL}, PFUnDA, le PFDoDA, le PFTrDA, PFOS et FOSA sont clairement bioamplifiés chez le barbeau ; le résultat est incertain pour PFNA et PFDA. Chez le goujon, les mêmes composés, plus PFOA, PFNA, PFHxS et PFDS sont également bioamplifiés, sur la base des mesures dans le filet (BMF sous-estimés).

Dans le cas du barbeau, le BMF_{TL} augmente avec la longueur de chaine perfluorée pour les PFCA, mais la relation n'est pas significative, quoique la *p*-value soit proche du seuil de significativité. Cette corrélation devient significative pour les BMF déterminés à partir des mesures dans le filet.

L'utilisation des BMF est critiquable dans la mesure où on ne considère qu'une seule proie à la fois comme source de contamination d'un prédateur, alors que la diète est couramment composée de plusieurs proies, comme l'attestent les mesures de rapports isotopiques. C'est pourquoi des TMF ont été déterminés en considérant les proies benthiques consommées par les barbeaux. Plusieurs approches statistiques ont été appliquées, les plus appropriées étant la régression linéaire, applicable quand aucune mesure n'est censurée, et la régression linéaire à effets mixtes, qui permet de prendre en compte les données censurées et les effectifs disparates. D'après les TMF obtenus, PFOA, PFDS, 6:2 FTSA ne sont pas bioamplifiés, et il n'est

pas possible d'obtenir de TMF pour EtFOSAA ; pour le PFNA, la régression linéaire à effets mixtes amène à conclure que ce composé est bioamplifié, mais la valeur élevée du critère AIC et l'étendue de l'intervalle du TMF incitent à considérer la valeur du TMF comme incertaine. PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFHxS, PFHpS, PFOS et FOSA sont bioamplifiés, mais les valeurs de TMF sont plus ou moins entachées d'incertitude (faibles R^2, ou critère AIC élevé). Ceci pourrait être dû, pour partie, à une connaissance imparfaite des réseaux trophiques, et à leur variabilité.

5 ETUDE AU LABORATOIRE DE LA BIOACCUMULATION DES PFAS PAR DEUX ESPECES D'INVERTEBRES BENTHIQUES

Cette partie du rapport est tirée de la thèse de Delphine BERTIN, intitulée « Transfert de composés perfluorés du sédiment aux invertébrés benthiques ». Elle a été soutenue le 1er décembre 2014 à Villeurbanne. Il en a été tiré 3 articles publiés dans ou soumis à des journaux scientifiques (cf. Annexe 8 page 65).

Deux questions principales ont été abordées pendant cette thèse :

i. quel rôle du compartiment sédimentaire dans l'accumulation des composés perfluorés dans le biote ?

ii. quel effet de l'espèce, de ses traits de vie, sur la bioaccumulation des PFAS ?

Pour répondre à la première question, les cinétiques d'accumulation et d'élimination des PFAS ont été décrites pour deux organismes benthiques, le chironome (*Chironomus riparius*) et le gammare (*Gammarus* sp.) exposés en laboratoire au sédiment de la lône de l'Ile du Beurre. Les expérimentations réalisées visaient aussi à comprendre les voies de transfert de ces composés du sédiment à l'organisme. Des constantes d'accumulation et d'élimination ont pu être définies pour ces deux organismes ainsi que des facteurs de bioaccumulation sédiment-biote (BSAF). Ces données obtenues au laboratoire ont ensuite été comparées aux données acquises sur le terrain (chapitre 4.3.1), afin de mieux comprendre les facteurs environnementaux influençant l'accumulation des PFAS, notamment l'influence de l'intégrité de la structure sédimentaire et de celle des matières en suspension et de l'eau de surface comme sources de contamination.

Pour aborder la deuxième question, les données de bioaccumulation obtenues chez le chironome et chez le gammare ont été comparées, et discutées en fonction des comportements respectifs, en particulier leur mode d'alimentation : le chironome se nourrit essentiellement de la matière organique contenue dans les sédiments tandis que le gammare est un organisme détritivore.

5.1 Cinétiques d'accumulation et voies de transfert des PFAS

Les mesures de PFAS réalisées dans les différents compartiments des systèmes expérimentaux (eau de surface, sédiment, eau interstitielle, nourriture apportée aux organismes, organismes) permettent de dessiner un modèle conceptuel des voies de contamination dans les conditions de l'expérimentation source de contamination unique, à savoir le sédiment) pour chaque espèce testée.

5.1.1 Chironome

Le chironome accumule rapidement les acides perfluoroalkyles carboxylique (PFCA) à chaîne longue (de C11 à C14, i.e. PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA et PFTeDA), et dans une mesure moindre le PFOS, et son précurseur le FOSA. L'état stable est atteint rapidement et les cinétiques d'accumulation suivent un modèle exponentiel. L'accumulation de ces composés intervient principalement pendant le quatrième stade larvaire, qui correspond à une période de croissance rapide et linéaire.

L'élimination des composés est également rapide, comme l'a montré une expérimentation en deux temps – accumulation pendant 48 heures, transfert des organismes dans des aquariums non contaminés, et suivi de l'élimination (Figure 14). Les demi-vies (temps nécessaire à l'élimination de 50% de la charge accumulée) sont courtes, de 7 h (PFOS), 12 h (PFUnDA), 17 h (PFTrDA) et 19 h (FOSA).

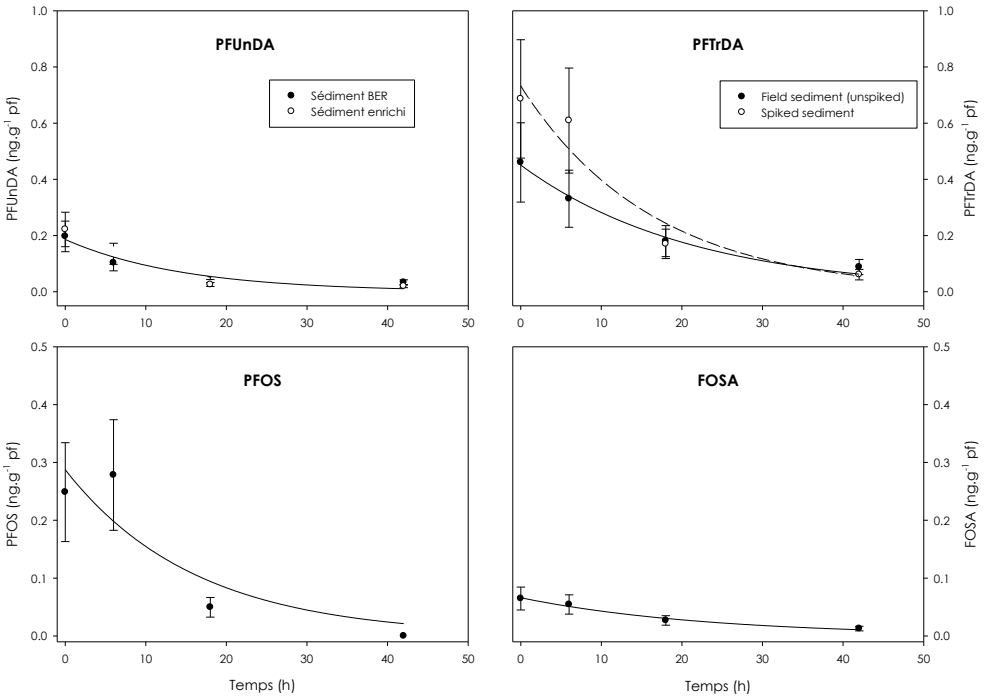


Figure 14 – Cinétiques d'élimination de quelques PFAS chez le chironome, d'après (Bertin *et al.*, submitted)

La présence de tous les composés accumulés par le chironome dans les sédiments et de trois composés dans l'eau interstitielle conduit à supposer deux voies de transfert pour ces composés : une voie trophique pour tous les composés, et une voie tégumentaire pour les trois composés présents dans l'eau interstitielle : PFUnDA, le PFOS et le 6:2 FTSA (Figure 15). Cependant, dans le test d'accumulation avec des sédiments dopés (cf. ci-dessous) la concentration de PFUnDA dans l'eau interstitielle a augmenté, mais pas celle des chironomes (ni des particules de sédiment), ce qui remet en cause pour ce composé l'importance de la voie tégumentaire. Bien que la nourriture ajoutée (Tetramin ®) contienne des concentrations mesurables de PFOS, et dans une moindre mesure de PFNA, PFUnDA et FOSA, le fait qu'aucune accumulation de ces composés n'ait lieu dans les aquariums témoins indique que cette nourriture ajoutée ne joue pas de rôle significatif. La voie trophique implique essentiellement la consommation de particules de sédiment.

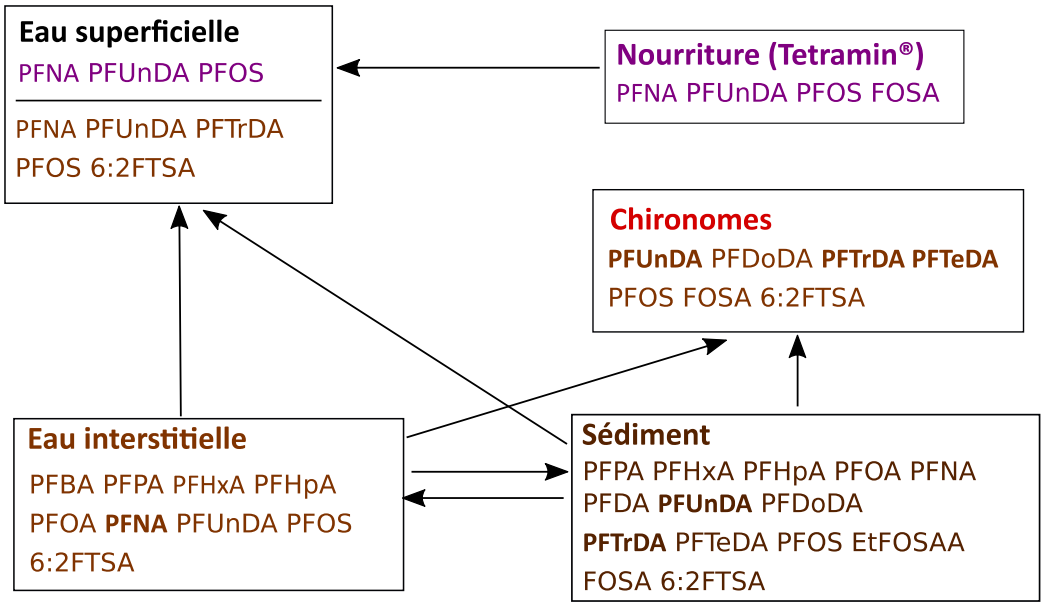


Figure 15- Modèle conceptuel de la contamination du chironome par les PFAS du sédiment de l'Ile du Beurre d'après (Bertin *et al.*, 2014b)

La fonction exponentielle à laquelle sont ajustées les données expérimentales de la phase d'accumulation est supportée par deux modèles différents : un modèle classique de partition (Higgins *et al.*, 2007), qui implique que les concentrations de PFAS dans le sédiment et l'organisme sont proportionnelles à l'état stable, et un modèle de pseudo-adsorption (Liu *et al.*, 2011). Ce deuxième modèle présuppose que la cinétique d'absorption dépend de la concentration, en raison d'un phénomène de saturation de sites d'adsorption membranaires. Un test d'accumulation sur sédiment dopé (à *5 et *10 les concentrations respectives de POS, PFUnDA et PFTrDA, et *20 - *25 pour le FOSA) du sédiment provenant de l'Ile du Beurre – BER) a donc été réalisé pour essayer de vérifier cette hypothèse. Le dopage n'a réussi que pour le PFTrDA, tandis que pour PFUnDA, PFOS et FOSA les concentrations dans la fraction particulaire n'évoluaient pas après dopage. Pour le PFTrDA, les concentrations mesurées (réelles) après dopage représentaient *2.65 à 3.5 au lieu de *5, et *7.90 au lieu de *10 la concentration de base ; la concentration de PFTrDA dans les chironomes exposés au sédiment dopé représentaient respectivement *1.5 à 3.4 et *5.6 celle des chironomes exposés au sédiment non dopé, ce qui suggère une dépendance à la concentration pour ce composé. Deux modèles de bioaccumulation tenant compte de la dilution des PFAS par la croissance ont été développés : le premier faisant l'hypothèse de la dépendance à la concentration du PFTrDA, le second sur celle d'une partition simple. Les deux modèles donnent des résultats très voisins (R^2 ajustés 0.96 et 0.97 respectivement, distances 0.99 et 0.91), indiquant que l'accumulation du PFTrDA par les chironomes peut tout à fait s'expliquer par une partition simple. Le modèle développé permet d'optimiser simultanément les taux d'accumulation (k_u) et d'élimination (k_e). A partir de ces constantes il est ensuite possible de dériver des BSAF « cinétiques » (Équation 7), plus génériques et plus fiables que les BSAF empiriques (Équation 2). Les résultats pour les 4 PFAS de l'expérience d'enrichissement sont reportés au Tableau 16 ci-dessous.

$$BSAF_{cin} = \frac{k_u}{k_e}$$

Équation 7

Paramètres	PFUnDA	PFTrDA	PFOS	FOSA
k_u ($g.g_{pf}.h^{-1}$)	0.03	0.045	0.05	0.08
k_e (h^{-1})	0.05	0.033	0.09	0.03
$BSAF_{cin}$	0.63	1.36	0.60	2.99

Tableau 16 – Taux d'absorption, d'élimination et BSAF dérivés par modélisation pour 4 PFAS chez *Chironomus riparius*.

Ces résultats sont comparés à ceux d'autres organismes au § **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**.

5.1.2 Gammare

Exposés à des sédiments de l'Ile du Beurre en présence de feuilles d'aulne non contaminées au départ, les gammares ont accumulé à des niveaux variables quatre composés carboxylates à longue chaîne (PFNA, PFUnDA, PFDoDA et PFTrDA), le PFOS, trois précurseurs du PFOS (MeFOSAA, EtFOSAA et FOSA). Le fluorotélomère 6:2 FTSA et les composés à chaine courte (PFHxA, PFHpA etc.) sont peu ou pas accumulés. L'état stable n'est pas atteint après trois semaines d'exposition (Figure 16, partie à gauche des pointillés dans chaque panneau). Les cinétiques d'élimination (à droite des pointillés) dépendent de la longueur de chaine fluorée : les composés à chaine plus courte (PFOS, MeFOSAA, PFNA cf. Annexe 3 page 59) sont éliminés plus rapidement que ceux à chaine longue (PFUnDA, PFTrDA : les ½ vies[5] respectives sont de 7.5 jours pour le 6:2 FTSA, 10.8 jours pour le MeFOSAA, 15.0 jours pour le FOSA, 19.4 jours pour le PFOS et 14.5 jours pour le PFUnDA. Il n'y avait pas d'élimination significative du PFDoDA et du PFTrDA au bout de 21 jours.

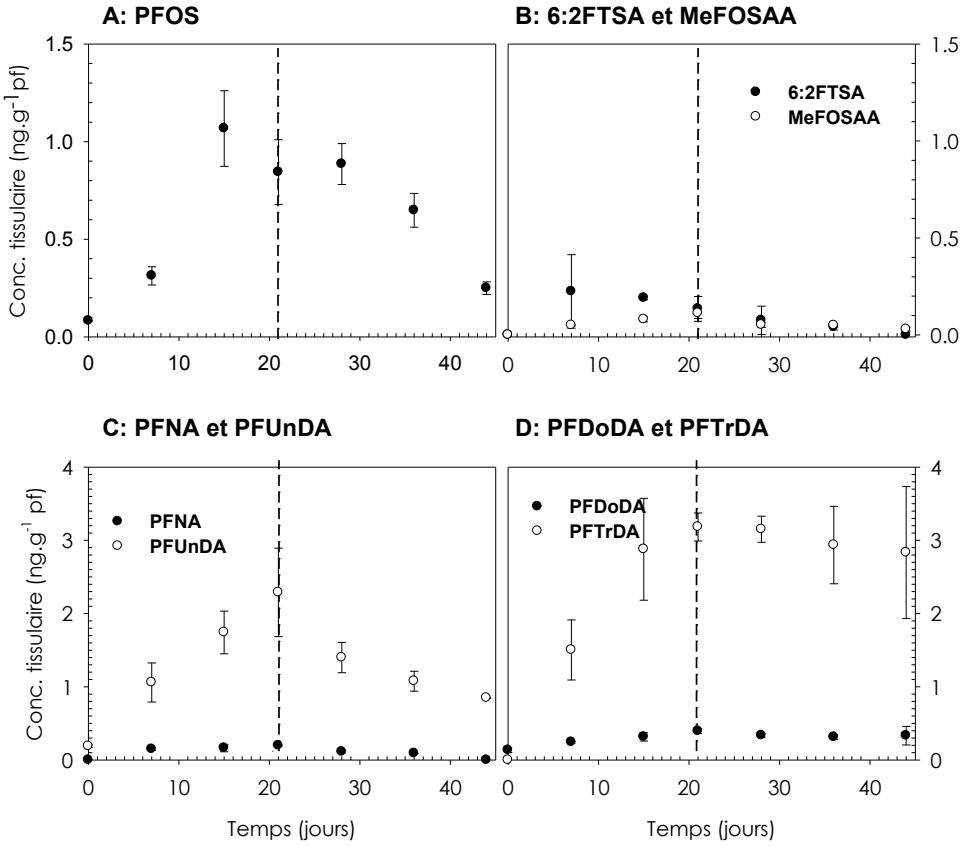


Figure 16 – Cinétiques d'accumulation et d'élimination de PFAS chez le gammare exposé au sédiment de l'Ile du Beurre, d'après (Bertin *et al.*, in press)

Les composés accumulés par le gammare sont présents de manière prépondérante dans les sédiments. Ils sont également retrouvés dans les feuilles (non contaminées au départ), dans l'eau interstitielle (analysée non filtrée) et dans l'eau de surface, à l'exception des précurseurs du PFOS et du fluorotélomère. Ceci suggère une contamination des différents compartiments à partir du sédiment, et impliquant les particules en suspension pour les composés à chaine plus longue, en particulier le PFTrDA. Les voies d'exposition du gammare dans ce système expérimental impliquent la nourriture (feuilles et particules / biofilm en surface des feuilles) pour les

[5] Temps nécessaire à l'élimination de 50% de la charge accumulée. Ce paramètre est dérivé de l'équation de la courbe d'élimination : $T_{1/2} = \frac{ln2}{k_e}$

composés à chaine longue (PFUnDA, PFTrDA) et par diffusion passive pour les composés plus solubles (Figure 17).

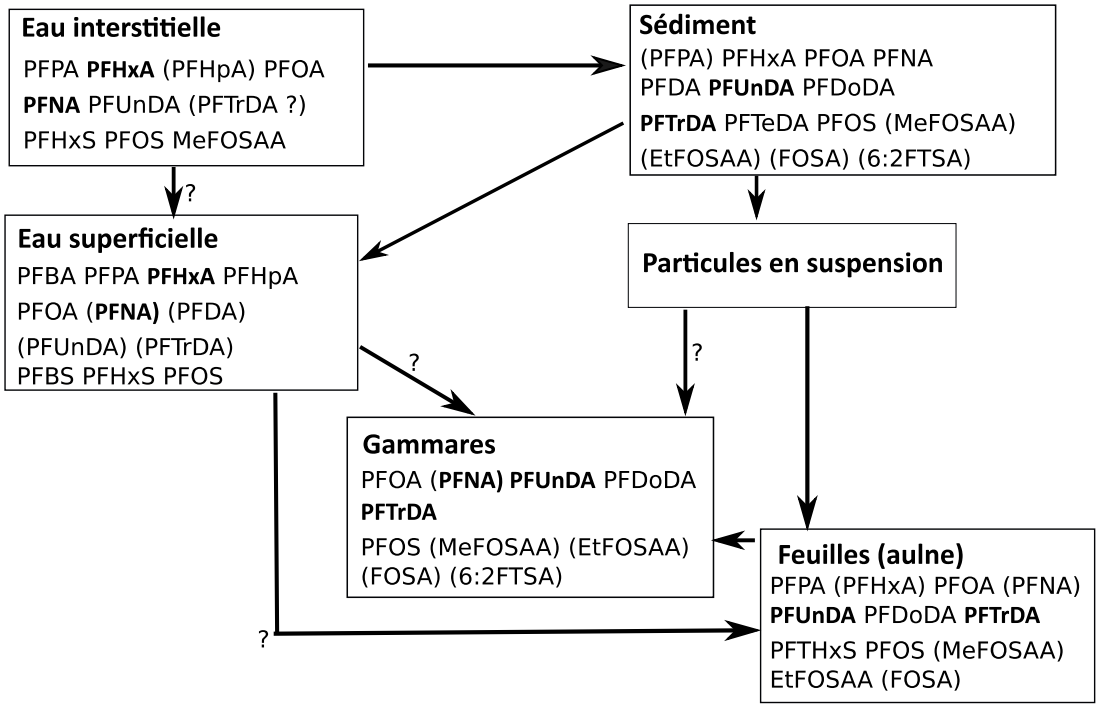


Figure 17 - Modèle conceptuel de la contamination du gammare par les PFAS du sédiment de l'Ile du Beurre d'après (Bertin *et al.*, in press)

Les cinétiques d'élimination (Figure 16) montrent une élimination lente, mais presque complète pour le PFOS ses précurseurs du PFOS (FOSA, MeFOSAA, EtFOSAA). L'élimination des composés carboxylates dépend de la longueur de chaîne des composés, avec une élimination de plus en plus lente puis non significative (PFDoDA et PFTrDA) en 21 jours lorsque la longueur de chaîne des PFCAs augmente. Les constantes d'accumulation et d'élimination ont été déterminées de manière simultanée avec un modèle du même type que celui appliqué au chironome (sans dépendance à la concentration) et sont présentées au Tableau 17. Les valeurs des BSAF calculées à partir de ces constantes suggèrent également un effet de la longueur de chaîne ; toutefois, l'élimination du PFDoDA et du PFTrDA n'étant pas significatives, le k_e et le BSAF pour ces composés n'ont qu'une valeur indicative. Par ailleurs, en accord avec les résultats de (Lasier *et al.*, 2011) sur *L. variegatus*, la valeur de BSAF du PFOS est plus élevée que celle du PFNA qui présente le même nombre de carbone mais un groupement fonctionnel différent.

Paramètres	PFNA	PFUnDA	PFDoDA	PFTrDA	PFOS	FOSA
k_u ($g.g_{pf}.jr^{-1}$)	0.094	0.141	0.078	0.089	0.202	0.218
k_e (jr^{-1})	0.087	0.048	(0.015)	(0.011)	0.042	0.066
$BSAF_{cin}$	1.08	2.92	(5.05)	(8.13)	4.76	3.32

Tableau 17 - Taux d'absorption, d'élimination et BSAF dérivés par modélisation pour quelques PFAS chez *Gammarus* sp.

5.1.3 Variabilité de l'accumulation entre invertébrés benthiques

Le Tableau 18 résume les résultats des essais de bioaccumulation des PFAS chez le chironome et le gammare détaillés ci-dessus, c'est-à-dire à partir d'un sédiment naturel soumis à l'impact d'un rejet industriel particulier. Les profils moléculaires (composés accumulés ainsi que les vitesses d'accumulation et d'élimination des composés, notamment des composés carboxylates diffèrent entre ces deux organismes. Le chironome accumule et élimine rapidement tous les composés sans effet patent de la longueur de chaîne. A contrario le

gammare accumule plus lentement ces composés, à des niveaux plus élevés (à la fin du test, soit 21 jours) ; lorsque la longueur de la chaine perfluorée des composés carboxylates augmente, l'élimination devient plus lente voire non observable en 21 jours.

	Chironomus riparius	*Gammarus sp.*
Composés accumulés - PFCA	pas d'accumulation du PFNA accumulation rapide des PFCAs (PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA et PFTeDA) atteinte de l'état stable	accumulation du PFNA accumulation des PFCAs (PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA et PFTeDA) ; état stable non atteint en 21 jours
Composés accumulés – PFSA et précurseurs du PFOS	accumulation rapide du PFOS, et du FOSA avec atteinte de l'état stable	accumulation du PFOS et plus faiblement de ses précurseurs (FOSA, MeFOSAA, EtFOSAA) ; état stable non atteint en 21 jours
Composés accumulés 6:2 FTSA	accumulation faible et rapide du 6:2 FTSA avec atteinte de l'état stable	accumulation faible et rapide du 6:2 FTSA ; état stable non atteint en 21 jours
Elimination	élimination rapide de tous les composés incluant ceux à longue chaîne (N ≥ 8). Demi-vies de de 7h (PFOS) à 19 h (FOSA)	élimination lente du PFOS, de ses précurseurs, et du 6:2 FTSA; élimination lente à très lente des PFCA, selon la longueur de chaine. Demi-vies de 7.5 jours (6:2 FTSA) à 14.5 jours (PFUnDA), non déterminée pour PFTrDA.
Voie(s) d'exposition	voies d'exposition trophique pour tous les composés ; diffusion pour le 6:2 FTSA et le PFOS	voies d'exposition trophique et diffusion passive

Tableau 18 - Principales différences dans la bioaccumulation des PFAS chez le chironome et le gammare d'après (Bertin, 2014a) , (Bertin *et al.*, submitted) et (Bertin *et al.*, in press)

Une des difficultés d'interprétation de ce type d'essai tient à la source de contamination, ici un sédiment impacté par un effluent industriel contenant un mélange complexe de composés fluorés. L'effluent pourrait contenir, outre les 22 composés analysés, d'autres composés fluorés précurseurs de ceux analysés (Ahrens et Bundschuh, 2014). En outre, parmi ceux qui ont été analysés, certains (FOSA, MeFOSAA, EtFOSAA) sont effectivement déjà connus comme précurseurs de PFSA comme le PFOS, ou de PFCA (Buck *et al.*, 2011 , Mejia Avendaño et Liu, 2015). Il parait donc possible que par exemple le PFOS mesuré dans les tissus des chironomes ou gammares résulte non seulement de l'accumulation de ces composés, mais aussi de la dégradation des précurseurs dans le sédiment ou les tissus, ce qui amènerait à surestimer les k_u et sous-estimer les k_e du PFOS ou de certains PFCA. De même la non-atteinte de l'état stable chez le gammare pourrait être due à la dégradation de précurseurs (non mesurés).

Ces arguments restent néanmoins très hypothétiques ; il y a par contre un certain nombre d'arguments suggérant qu'un éventuel processus de dégradation de précurseurs non identifiés n'est pas la principale explication des observations :

- Le PFUnDA et le PFTrDA sont présents dans l'effluent en tant qu'impuretés du produit technique à base de PFNA qui intervient en tant que fluide transporteur de monomère dans la production de polymères fluorés sur le site de Pierre-Bénite (Dauchy *et al.*, 2012a). Les concentrations de PFNA, PFUnDA et PFTrDA restent stables dans les enceintes expérimentales, ce qui ne devrait pas être le cas si la transformation de précurseurs était significative.

- De même dans le cas du PFOS, dont l'origine est probablement différente de celle du PFTrDA et du PFUnDA, les concentrations restent stables dans le sédiment.
- Les cinétiques de dégradation des précurseurs dans les sols sont lentes (t1/2 de l'ordre d'années) avec des rendements très faibles, de quelques % au plus (Liu et Mejia Avendaño, 2013).
- La dégradation de certains précurseurs en PFCA ou PFSA a été décrite in vitro pour des cellules de mammifères (rat, ours polaire, phoque annelé, beluga) (Letcher *et al.*, 2014), mais il n'y a eu jusqu'à présent aucune indication que ce type de transformation puisse advenir chez des invertébrés, qui sont dotés d'enzymes moins diversifiés que les mammifères.
- Une analyse étendue par recherche de suspects sur le sédiment du site expérimental a permis de mettre en évidence plusieurs fluorotélomères sulfonamide bétaïnes (FTAB) à des concentrations de 0.019 à 0.23 $ng.g^{-1}$(ps) ; ces composés sont présents dans des mousses extinctrices, et pourraient avoir une autre source que la plateforme industrielle à l'origine de la contamination par le PFTrDA et le PFUnDA (Munoz *et al.*, accepted).

Les différences entre chironome et gammare pourraient s'expliquer par les traits de vie (mode d'alimentation notamment) et la physiologie des organismes.

Le chironome (*Chironomus riparius*) est un organisme exclusivement benthique qui se nourrit de la matière organique en surface du sédiment, tandis que le gammare est un organisme épi-benthique qui va plutôt vivre dans la colonne d'eau et avoir des contacts fréquents avec le sédiment, avec un mode de nutrition réputé majoritairement détritivore. Le chironome sera donc plus directement exposé au sédiment, dont il ingère des particules organiques. Les différences des taux d'élimination, ou des demi-vies, seront plus en rapport avec la physiologie.

A notre connaissance, il n'y a eu que peu d'expérimentations avec d'autres espèces d'invertébrés jusqu'à présent. La comparaison avec les résultats de nos propres expérimentations ne va pas sans difficulté, à cause des différences de protocole ou de contexte.

(Higgins *et al.*, 2007) ont exposé l'oligochète, *Lumbriculus variegatus* à des sédiments (non contaminés) enrichis et deux sédiments collectés à l'aval de STEP (contaminés). Les k_u et k_e pour PFOA à PFDoDA et PFOS, PFDS, ont été déterminés à l'aide d'un modèle à 2 compartiments. Les valeurs de k_u vont de $10.7 \pm 1.1 * 10^{-4}$ à $19.3 \pm 2.0 * 10^{-4}$ (PFUnDA $11.6 \pm 1.2 * 10^{-4}$; PFOS $19.3 \pm 2.0 * 10^{-4}$). Les valeurs de k_e (h^{-1}) vont de $6.8 \pm 1.6 * 10^{-4}$ à $36.8 \pm 3.3 * 10^{-4}$ (PFUnDA $18.8 \pm 3.2 * 10^{-4}$; PFOS $15.8 \pm 2.8 * 10^{-4}$). Ces valeurs de k_e plus faibles que celles du chironome, impliquant donc une élimination plus lente, expliquent qu'au total *L. variegatus* accumule plus les PFAS que *C. riparius*. Cette étude rapporte également des BSAF estimés à l'état stable, standardisés par rapport à la teneur en carbone organique, pour une gamme de PFCA (PFOA à PFDoDA), le PFOS, le PFDS, et le N-EtFOSAA. La gamme de valeurs est de 0.12 ± 0.03 à 1.60 ± 0.40 ; le BSAF du PFUnDA est égal à 0.62 ± 0.12, celui du PFOS à 1.22 ± 0.25, soit une valeur comparable au $BSAF_{cin}$ du PFUnDA chez *C. riparius*, mais supérieure dans le cas du PFOS.

(Lasier *et al.*, 2011) ont également exposé des oligochètes (*L. variegatus*) à des sédiments de rivière contaminés, collectés à l'aval d'un rejet mixte industriel-domestique avec un historique d'utilisation industrielle de PFAS. Les composés étudiés incluaient une gamme de PFCA (de C4, PFBA, à C14, PFTeDA) et quelques PFSA (de C4, PFBS à C8, PFOS), les profils dans le sédiment étant dominés par PFDA, PFUnDA, PFDoDA et PFOS. Les BSAF calculés de la même façon que chez (Higgins *et al.*, 2007) étaient de 0.20 pour le PFNA, 0.29 pour le PFUnDA, 0.34 pour le PFDoDA, 0.62 pour le PFTrDA et 0.63 pour le PFTeDA, avec des coefficients de variation de 40 à 50%. Le BSAF du PFOS était égal à 0.49. Les $BSAF_{cin}$ des *C. riparius* de notre étude sont plus élevés dans le cas du PFTrDA et du PFOS ; cependant les valeurs de $BSAF_{cin}$ tendent à être plus élevées que des valeurs de BSAF estimées à l'équilibre à partir des concentrations mesurées dans les mêmes tests (Bertin *et al.*, submitted).

(Xia *et al.*, 2012) ont examiné l'effet de différents types de matériaux à base de carbone (nano-tubes, charbon actif etc.) sur l'accumulation du PFOS et de PFCA de C8 (PFNA) à C12 (PFDoDA) par le chironome *Chironomus plumosus* à partir d'un sédiment enrichi. Pour les PFCA, les valeurs de k_u ($g_{oc}.g_{ps}.jr^{-1}$) varient entre 0.120 et 0.128, celles de k_e (jr^{-1}) de 1.10 à 0.900 ; dans le cas du PFOS les k_u et k_e valent respectivement 0.374 et 0.990 ; toutefois les k_u et k_e dans cette étude ne sont pas directement comparables à ceux du chironome de notre étude, les unités étant différentes. Les BSAF des essais sans carbone à l'état stable vont de 0.103 (PFOA) à 0.152 (PFDoDA) et 0.394 pour le PFOS, et diffèrent peu des $BSAF_{cin}$ que ces auteurs ont également déterminés.

Enfin, (Prosser *et al.*, 2016) ont exposé en laboratoire des oligochètes (*L. variegatus*) et des larves d'éphémères (*Hexagenia* sp.) à des sédiments d'une rivière contaminée par plusieurs effluents contenant des PFAS (eaux pluviales d'un aéroport, site industriel produisant des PFAS). Les auteurs ont déterminé des BSAF de la même façon que (Higgins *et al.*, 2007). Les BSAF du chez *L. variegatus* varient entre 0.42 - 0.64, 0.45- 0.70, 0.55 - 0.81 et 0.51 – 0.87 pour le PFNA, PFDA, PFUnDA et PFDoDA respectivement, et 0.74 - 0.96 pour le PFOS. Chez *Hexagenia* sp. Les BSAF varient entre 0.52 – 0.53, 0.35 – 0.42, 0.52 – 0.59, et 0.25 – 0.31 pour PFNA, PFDA, PFUnDA et PFDoDA respectivement, et 1.0 – 1.1 pour le PFOS.

La Figure 19 récapitule les BSAF publiés par ces auteurs pour les PFCA (de PFHpA à PFTeDA) en fonction de la longueur de chaîne, en reprenant les régressions de (Prosser *et al.*, 2016) et en y ajoutant des régressions linéaire ou quadratique pour (Higgins *et al.*, 2007) et (Lasier *et al.*, 2011).

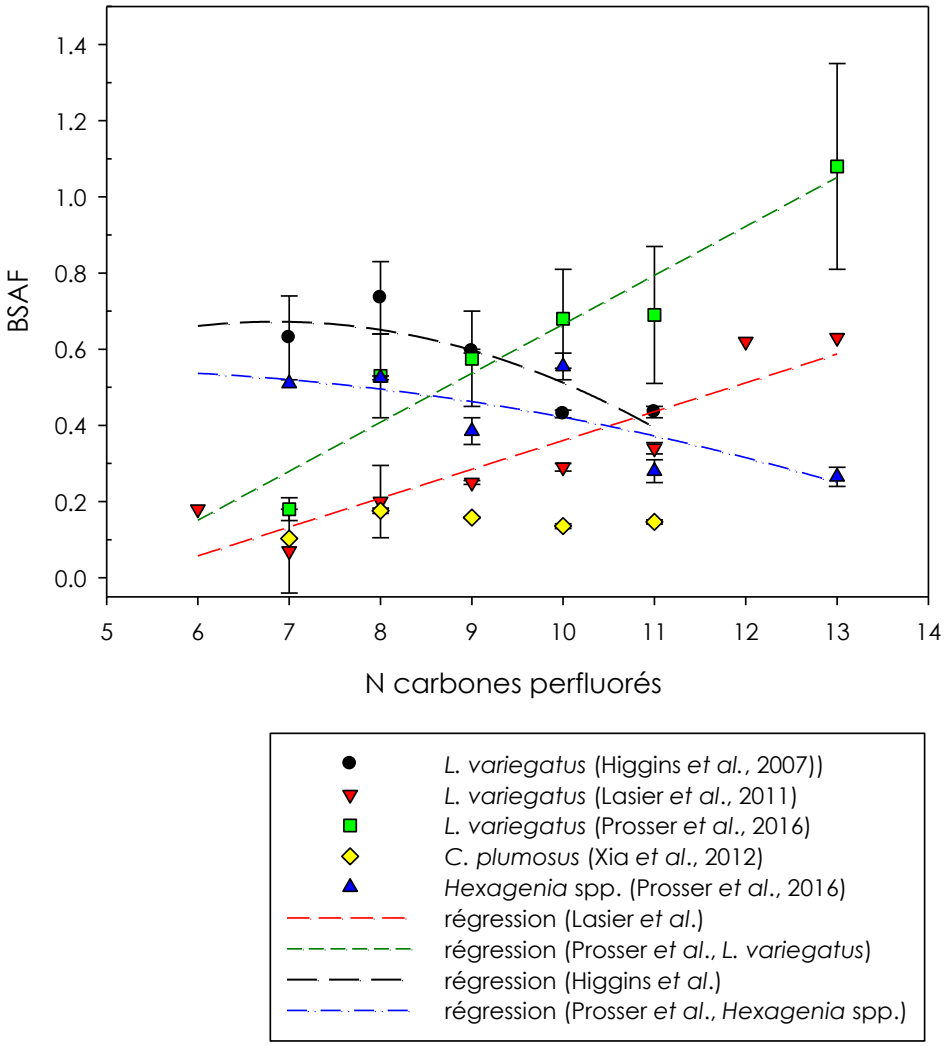


Figure 18 – Revue des BSAF publiés pour différentes espèces d'invertébrés

Ces auteurs ont travaillé avec des sédiments différents en termes de niveaux de contamination ou de teneur en carbone organique, utilisé des protocoles parfois divergents (sédiment naturel ou enrichi), et exposé plusieurs espèces, impliquant des modes d'alimentation et des physiologies différentes. Ceci induit des BSAF différents, ce qui reste cohérent lorsqu'on confronte les valeurs de BSAF entre espèces ; les chironomes tendent en outre à accumuler moins les PFCA (de même que les PFSA) que *L. variegatus* ou *Hexagenia*. Les BSAF obtenus sur *C. plumosus* sont en outre similaires à ceux issus de notre étude avec *C. riparius* (Bertin *et al.*, 2014a, Bertin *et al.*, submitted), cf. Tableau 16. Les BSAF des gammares exposés au laboratoire (Tableau 17) sont plus élevés que ceux de *L. variegatus*. Les valeurs de BSAF issues des expérimentations en laboratoire sous-estiment les BSAF

obtenus par observation directe (Tableau 11 page 35), essentiellement parce que les concentrations mesurées dans les organismes, notamment gammares et oligochètes, sont plus élevées in situ.

En revanche, les régressions entre valeurs de BSAF et nombre d'atomes de carbone perfluorés diffèrent non seulement entre espèces, mais aussi entre expérimentations sur l'oligochète *L. variegatus*.

La diminution des BSAF à partir d'une certaine longueur de chaîne perfluorée, en tous cas chez *Hexagenia*, pourrait s'expliquer par une absorption moins rapide, en raison par exemple du volume des molécules (encombrement stérique), ou par une moindre biodisponibilité (adsorption plus forte). Des résultats similaires (décroissance des teneurs accumulée au-delà d'un certain nombre de carbones perfluorés) ont été obtenus dans plusieurs maillons du réseau trophique de la truite du lac Ontario (Martin *et al.*, 2004). Les différences entre les trois séries de BSAF de *L. variegatus* pourraient s'expliquer par des variations de biodisponibilité, liées à la matière organique.

5.2 Réalisme environnemental des tests de bioaccumulation en laboratoire

5.2.1 Comparaison des niveaux d'accumulation en laboratoire et in situ

Les chironomes et gammares autochtones (§ 4.3.1) présentent des niveaux de PFAS plus élevés que les organismes homologues exposés au laboratoire (§ 5.1.1 et 5.1.2). Ce constat soulève donc la question de la validité des tests en laboratoires, ou du caractère prédictif des résultats de ces tests. La discussion qui suit porte principalement sur le chironome, pour lequel l'analyse a été plus fouillée.

Plusieurs hypothèses peuvent être proposées pour expliquer l'écart des concentrations entre terrain et laboratoire :

i. les espèces échantillonnées sur le terrain et celles utilisées au laboratoire sont différentes, et n'ont donc pas les mêmes traits de vie, ce qui induit des différences de dynamique de contamination ;

ii. la nourriture ajoutée lors des tests en laboratoire réduit l'exposition (dilue la contamination) ;

iii. la variabilité spatio-temporelle de la contamination des sédiments : l'homogénéisation des sédiments préalablement aux essais d'accumulation réduit fortement la variabilité spatiale, mais devrait plutôt conduire à maximiser l'exposition ; par ailleurs les échantillonnages in situ ne sont pas simultanés aux essais en laboratoire ;

iv. le sédiment des essais en laboratoire a été modifié (homogénéisation), ce qui affecte la biodisponibilité des contaminants ;

v. les organismes in situ sont exposés à d'autres sources de contaminations telles que MES, eau de surface.

La contamination en PFAS des sédiments superficiels de la lône varie effectivement au cours du temps (Figure 6 page 23). Le niveau global (ΣPFAS) et celui du PFTrDA diminuent entre 2012 et 2013. Cette diminution pourrait s'expliquer par la diminution du rejet industriel, ou par des évènements hydrologiques ponctuels, comme la chasse sédimentaire du Haut-Rhône en juin 2012, qui aurait apporté des sédiments non contaminés au barrage de Vaugris, recouvrant les sédiments impactés par le rejet industriel et diminuant les transferts de PFAS associés aux particules vers l'aval du barrage.

Des chironomes (*Chironomus riparius*) et des gammares (*Gammarus* sp.) ont été exposés sur le site de l'ile du Beurre dans le cadre d'une autre étude (Babut *et al.*, 2015), à des périodes plus ou moins concomitantes avec celle des prélèvements d'invertébrés in situ. Les chironomes encagés en octobre 2013 (Figure 19-A), et les gammares encagés en juin et octobre 2013 (Figure 19-B), sont nettement moins contaminés que leurs homologues autochtones, à l'exception du 6:2 FTSA chez les chironomes en octobre (Figure 19-A).

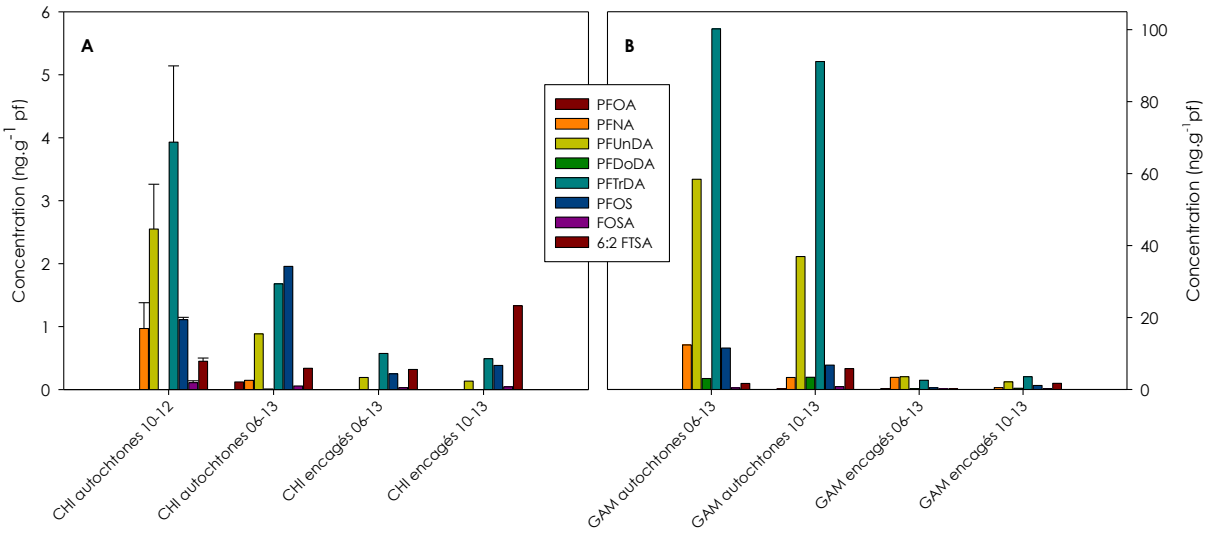


Figure 19 – Comparaison des concentrations de PFAS dans les organismes autochtones et encagés (A - chironomes ; B - gammares)

La variation temporelle de la contamination n'explique donc pas à elle seule les différences de niveaux de PFAS entre des chironomes autochtones et des chironomes exposés au laboratoire.

Les chironomes ont été exposés à des carottes de sédiments provenant de la lône (même secteur que le sédiment homogénéisé) afin de se placer dans des conditions d'exposition proches de celles du milieu. Plusieurs carottes ont été utilisées afin de répliquer l'expérience : même si des différences ont pu être notées concernant les profils en profondeur des PFAS de ces carottes, les concentrations en surface (couche de 2 cm, à laquelle sont exposés les chironomes) étaient les mêmes dans les carottes analysées (Annexe 6), ainsi que dans les sédiments homogénéisés lors des tests en aquarium (§ 5.1.1). Il a ainsi été possible de comparer différentes modalités d'exposition des chironomes : chironomes autochtones, *Chironomus riparius* sur mini-carotte, et *Chironomus riparius* encagé (Figure 20).

Le PFOS, le PFUnDA et le PFTrDA sont plus fortement accumulés chez les chironomes du terrain que chez les encagés, et a fortiori que chez ceux des carottes. Les 2 modalités « labo – carotte » et « terrain-encagés » ont en commun l'organisme testé et l'apport de nourriture, et ainsi permettent de discuter de l'exposition par deux voies, les particules de sédiment d'une part, les MES et l'eau d'autre part. Dans la Figure 20, les chironomidés autochtones ont été prélevés en juin 2013, les encagés étant exposés en même temps. L'expérimentation avec les mini-carottes a été réalisée en juillet 2013 : il s'agit donc du même sédiment dans les 3 cas.

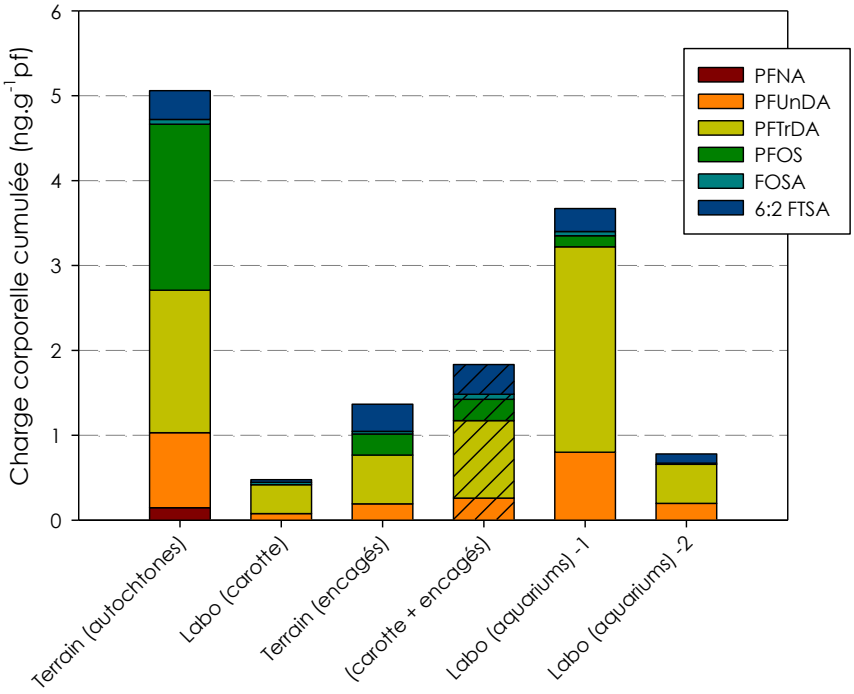


Figure 20 – Comparaison de différentes modalités d'exposition des chironomes

La conception des cages implique que les organismes ne sont pas exposés directement au sédiment, mais seulement aux MES et à l'eau (Besse *et al.*, 2012, Lopes *et al.*, 2011a). Il est donc logique que dans cette modalité les chironomes soient moins contaminés que les autochtones. Les résultats de l'exposition « labo-carotte » et « terrain-encagés » complète le diagnostic posé plus haut (§ 5.1.1) sur les voies d'exposition, en faisant ressortir le rôle des MES, qui parait prépondérant par rapport au sédiment proprement dit. Cependant la somme des concentrations des modalités « labo – carotte » et « terrain-encagés » reste nettement inférieure à la somme des concentrations observées chez les organismes autochtones.

Les chironomidés collectés sur le terrain peuvent appartenir à différents taxons, qui ne présentent pas tous les mêmes traits bioécologiques, y compris l'alimentation (Tachet *et al.*, 2010). L'apport de nourriture (Tetramin ®) aux aquariums et dans les tests avec les mini-carottes ne s'imposait pas dans l'absolu ; il a été décidé au vu des mauvaises survies des chironomes constatées lors de tests préliminaires avec les sédiments de la lône. Dans le cas des organismes encagés, l'apport de nourriture était appliqué dans le cadre du protocole d'encagement développé à Irstea (Besse *et al.*, 2012, Lopes *et al.*, 2011a). Dans tous les cas cet apport réduit l'exposition des chironomes, d'autant plus que les contaminants sont plus adsorbés

L'exposition en aquarium à du sédiment homogénéisé n'est malheureusement pas directement comparable aux autres modalités : l'expérimentation d'avril 2012 (labo-aquarium -1) impliquait des sédiments plus contaminés que ceux de juin-juillet 2013 (cf. Figure 6 page 23) ; dans celle de mars 2013 (labo-aquarium -2), utilisant un sédiment similaire à celui de juin 2013, la phase d'accumulation a été raccourcie par rapport au test en carotte. Alors que les concentrations dans le sédiment global sont comparables (cf. Annexe 6) mais la durée d'exposition plus courte, les chironomes exposés en aquarium en mars 2013 accumulent autant que ceux exposés aux mini-carottes : ainsi, la biodisponibilité des PFAS dans le sédiment homogénéisé est augmentée par rapport à un sédiment dont la structure n'est pas modifiée, comme cela a déjà été observé pour d'autres contaminants (Ferrari *et al.*, 2014). Le remaniement des sédiments a donc bien un effet sur l'accumulation des PFAS, mais cet effet n'est pas susceptible d'expliquer la plus forte contamination des chironomes du terrain.

Les gammares encagés (Figure 19-B) présentent un niveau de contamination comparable à ceux exposés en laboratoire ; ceci parait cohérent avec les voies d'exposition identifiées comme probables au laboratoire (cf. Figure 17 page 46), à savoir le dépôt de MES sur les feuilles. En effet les gammares encagés ne sont pas directement exposés au sédiment, mais seulement à l'eau et aux MES. Les gammares autochtones sont nettement plus contaminés, probablement en raison de leur comportement omnivore, qui les expose à des proies contaminées en plus de la litière et des MES déposées à la surface de la litière.

5.2.2 Quelles méthodes pour l'étude de la bioaccumulation au laboratoire et in situ ?

Dans une revue publiée récemment des BMF et TMF observés sur le terrain pour les PFAS, (Franklin, 2016) note une grande variabilité des BMF et TMF, les valeurs relevées pour un même composé pouvant être tantôt <1, tantôt > 1. Compte tenu de l'importance qu'ont pris le BMF et le TMF dans le contexte réglementaire, il tire argument de cette variabilité pour rejeter l'usage des BMF et TMF de PFAS basés sur des observations de terrain dans une perspective réglementaire.

Une partie importante de la variabilité des BMF et TMF est selon (Franklin, 2016) attribuable à des différences, voire des biais, méthodologiques (définition des BMF ou TMF, fraction analysée chez les prédateurs, atteinte incertaine de l'état stable), aux organismes impliqués et des conditions d'exposition. Une autre source d'incertitude, moins explorée jusqu'à présent, concerne les composés susceptibles de se biotransformer, par exemple le FOSA, ce qui aurait pour effet de modifier les BMF ou TMF des composés biotransformés et du composé issu de la dégradation, notamment le PFOS dans le cas du FOSA ou d'autres précurseurs. Certaines de ces objections sont fondées, et avaient déjà été relevées par d'autres études, soit d'une manière générale sur l'élaboration des TMF (Borgå *et al.*, 2012), soit plus spécifiquement sur l'application aux PFAS (Houde *et al.*, 2011).

(Franklin, 2016) conclut sa revue en préconisant que l'évaluation de la bioaccumulation dans une perspective réglementaire soit basée sur des BMF issus d'études réalisées en conditions d'exposition contrôlées (laboratoire). Il cite plusieurs exemples de telles études, réalisées sur poisson, cochon ou vache, avec des BMF généralement <1. Il note enfin que les BMF sont corrélés aux ½ vies (élimination) des composés, celles-ci pourraient donc (à terme) être adjointes aux BMF dans l'évaluation réglementaire.

Sans méconnaitre les difficultés inhérentes à l'estimation des BMF et TMF, telles qu'elles ressortent aussi de notre étude, nous estimons que les recommandations de (Franklin, 2016) seront valides si les études de laboratoire s'avèrent comparables aux études de laboratoire en termes de cinétique et de niveaux accumulés. De plus, bien qu'il ait signalé que le choix des espèces analysées expliquait une part sans doute importante de la variabilité des BMF et TMF, J. Franklin omet cette difficulté dans ses recommandations : dans la mesure où l'origine des différences entre espèces n'est pas encore élucidée, l'évaluation du potentiel de bioaccumulation ne devrait pas se limiter à un petit nombre d'espèces dont on ne sait pas a priori quelle est la position relative dans le spectre des espèces. De plus, comme on a pu le voir avec l'oligochète *Lumbriculus variegatus* (§ 5.1.3 ci-dessus), les résultats peuvent différer pour une même espèce entre deux études, sans qu'il y ait pour autant de biais évident, ou de contradiction, entre ces études.

A notre point de vue, les deux approches (terrain et laboratoire) restent complémentaires, et indispensables pour les composés dont les processus d'accumulation sont complexes.

S'agissant de méthode d'étude in situ, l'encagement d'organismes reste une possibilité à ne pas négliger ; dans notre cas elle apporte notamment des informations appuyant les observations faites en laboratoire sur les voies d'exposition. Cependant, l'utilisation d'organismes encagés pour évaluer la bioaccumulation doit se faire sans apport de nourriture autre que celle que les organismes trouvent sur site.

6 CONCLUSIONS

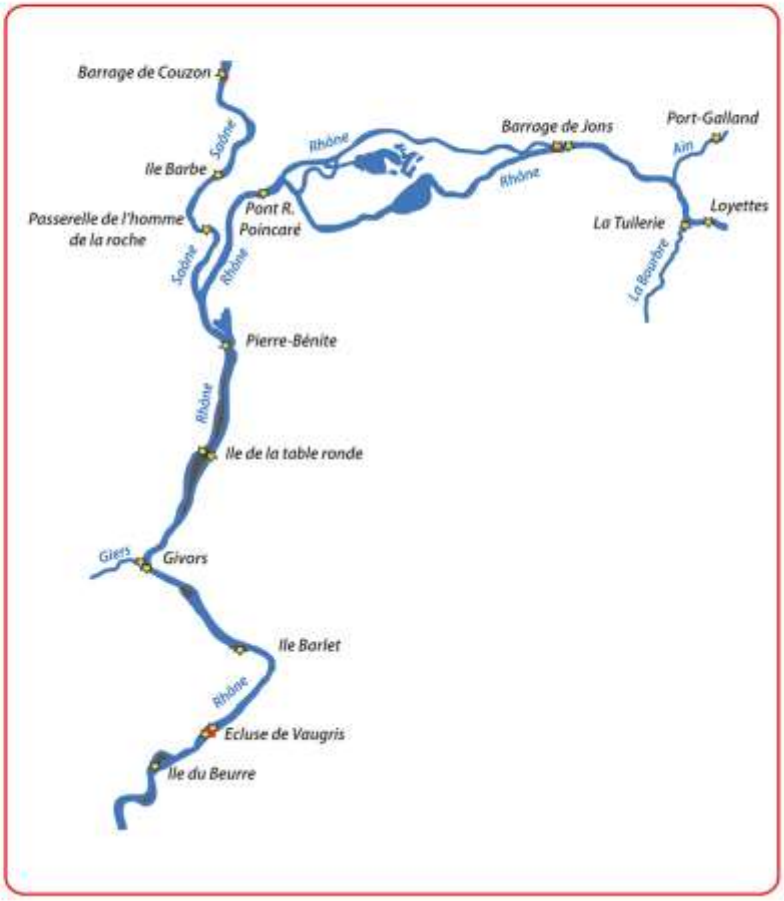
Les cinétiques d'accumulation et d'élimination des composés per- et polyfluorés présents dans le sédiment de la lône de l'ile du Beurre (objectif 1 de l'étude) ont été décrites chez le chironome (larves de *Chironomus riparius*) et le gammare (*Gammarus* sp.). L'accumulation et l'élimination sont rapides chez le chironome, et plus lentes chez le gammare où l'état stable n'était pas atteint en 21 jours. L'hypothèse d'une dépendance à la concentration, ou transport actif de ces composés lors de l'accumulation, a également été examinée chez le chironome à l'aide d'un test sur sédiment enrichi. Si ce mécanisme ne peut être exclu pour le PFTrDA (C13), il n'explique pas mieux l'accumulation que la diffusion simple. L'accumulation, chez le chironome et le gammare, est plus importante pour les composés à longue chaîne perfluorée ($C \geq 8$), notamment en raison de cinétiques d'élimination plus lentes chez le gammare. L'accumulation des PFAS chez les trois espèces de poissons cyprinidés étudiés (barbeau fluviatile – *Barbus barbus*, gardon – *Rutilus rutilus*, et goujon – *Gobio gobio*), les niveaux relatifs d'accumulation s'expliquent soit par la composition de la diète et des niveaux de contamination des proies préférées par chaque espèce (par exemple gammare pour le barbeau), mais aussi probablement par des différences de physiologie (PFNA ou PFOS chez les barbeaux juvéniles par rapport aux adultes, PFSA chez le goujon).

Le rôle du sédiment dans le processus de bioaccumulation des PFAS (objectif 2) a été examiné à partir des résultats des tests en laboratoire sur chironome et gammare, ainsi qu'en comparant ces résultats aux concentrations accumulées par les mêmes organismes in situ, et à l'accumulation par des organismes encagés. Les tests en laboratoires ont permis de dresser des schémas conceptuels des voies d'absorption, qui varient selon les PFAS et leur capacité d'adsorption à la matière organique du sédiment. Le chironome se contamine à partir de l'eau (voie respiratoire) pour les composés les plus solubles, par voie trophique pour les composés à chaîne longue, qui sont adsorbés à la matière organique ($C \geq 12$), et par les deux voies simultanément pour les composés intermédiaires. Le gammare se contamine aussi par voie respiratoire pour les composés solubles et par voie trophique pour les composés plus adsorbés ; la voie trophique implique notamment les matières en suspension déposées en surface de la litière plutôt que directement le sédiment. Dans les deux cas cependant les organismes in situ sont nettement plus contaminés que les encagés ou que ceux des tests ; cette observation suggère un comportement trophique plus omnivore que détritivore pour le gammare en conditions réelles. Les raisons de la différence de concentrations accumulées entre chironomes in situ et en laboratoire n'ont pas été élucidées, alors que la biodisponibilité des PFAS a été maximisée au laboratoire. Cet écart est probablement attribuable en grande partie à des différences d'espèces. Parmi les poissons prélevés et analysés sur le site d'étude, ceux dont la source de carbone ($\delta^{13}C$) est le plus liée au sédiment, à savoir les barbeaux de grande taille, sont les plus contaminés en PFCA à chaine longue ($C \geq 10$).

L'historique de la contamination des sédiments (objectif 3) a été étudiée à l'aide d'une carotte de sédiments datée, réalisée dans la lône de l'Ile du Beurre ; cette carotte, complétée par des échantillons de sédiments de surface prélevés depuis l'amont de l'agglomération lyonnaise sur la Saône et le Rhône jusqu'au site de l'ile du Beurre, montre clairement l'impact du rejet d'une plateforme industrielle sur le niveau de contamination des sédiments et sur la composition du cortège de PFAS. Le niveau de contamination est en baisse continue depuis le milieu de la décennie 1990-2000.

Nos résultats montrent également que dans le Rhône les composés perfluoro-alkyl carboxylates (PFCA) et sulfonates (PFSA) ayant 8 atomes de carbone perfluorés ou plus sont bioamplifiés. La longueur de chaine et le groupement fonctionnel influent positivement sur les descripteurs de la bioaccumulation et de la bioamplification ; l'influence de la longueur de chaine est significative (au sens statistique) ou proche du seuil de significativité, selon les indicateurs utilisés.

Annexe 1 Secteur couvert par l'étude



Annexe 2 Illustrations

Planche 1 - Réalisation d'une carotte de sédiment

Planche 2 - Exposition des chironomes au sédiment non modifié : réalisation de mini-carottes (gauche) et chambres d'exposition (droite)

Planche 3 – Dispositifs d'encagement des chironomes (avec tuyaux pour l'ajout de nourriture)

Annexe 3 Signification des acronymes (PFAS) et formules chimiques, d'après (Buck *et al.*, 2011)

Composé	Acronyme	CAS	N carbone	N carbone perfluorés	Formule
Acide Perfluorobutanoïque	PFBA	45048-62-2	4	3	$C_3F_7COO^- H^+$
Acide Perfluoropentanoïque	PFPA	45167-47-3	5	4	$C_4F_9 COO^- H^+$
Acide Perfluorohexanoïque	PFHxA	92612-52-7	6	5	C5F11 $COO^- H^+$
Acide Perfluoroheptanoïque	PFHpA	120885-29-2	7	6	$C_6F_{13} COO^- H^+$
Acide Perfluorooctanoïque	PFOA	45285-51-6	8	7	$C_7F_{15} COO^- H^+$
Acide Perfluorononanoïque	PFNA	72007-68-2	9	8	$C_8F_{17} COO^- H^+$
Acide Perfluorodécanoïque	PFDA	73829-36-4	10	9	$C_9F_{19}COO^- H^+$
Acide Perfuoroundécanoïque	PFUnDA	196859-54-8	11	10	$C_{10}F_{21}COO^- H^+$
Acide Perfluorododécanoïque	PFDoDA	171978-95-3	12	11	$C_{11}F_{23}COO^- H^+$
Acide Perfluorotridécanoïque	PFTrDA	862374-87-6	13	12	$C_{12}F_{25}COO^- H^+$
Acide Perfluorotétradécanoïque	PFTeDA	365971-87-5	14	13	$C_{13}F_{27}COO^- H^+$
Acide Perfluorobutane sulfonique	PFBS	375-73-5 ([6])	4	4	$C_4F_9SO_3H$
Acide Perflurohexane sulfonique	PFHxS	355-46-4	6	6	$C_6F_{13}SO_3H$
Acide Perfluoroheptane sulfonique	PFHpS	375-92-8	7	7	$C_7F_{15}SO_3H$
Acide Perfluorooctane sulfonique	PFOS	1763-23-1	8	8	$C_8F_{17}SO_3H$
Acide Perfluorodécane sulfonique	PFDS	335-77-3	10	10	$C_{10}F_{21}SO_3H$
Perfluorooctane sulfonamide	FOSA	754-91-6	8	7	$C_8F_{17}SO_2NH_2$
N-Méthyl perfluorooctane sulfonamide	MeFOSA	31506-32-8	8	7	$C_8F_{17}SO_2NH(CH_3)$
N-Ethyl perfluorooctane sulfonamide	EtFOSA	4151-50-2	8	7	$C_8F_{17}SO_2NH(C_2H_5)$
Acide N-Ethyl perfluorooctane sulfonamidoacétique	EtFOSAA	2991-50-6	8	8	$C_8F_{17}SO_2N(C_2H_5)CH_2COOH$
Acide N-Methyl perfluorooctane sulfonamidoacétique	MeFOSAA	2355-31-9	8	8	$C_8F_{17}SO_2N(CH_3)CH_2COOH$
Acide 6:2 Fluorotélomère sulfonique	6:2 FTSA	27619-97-2	8	6	$C_6F_{13}CH_2CH_2SO_3H$

[6] Ou 59933-66-3 ; à noter que les sulfonates (sels) dérivés des acides sulfoniques mentionnés dans le tableau sont des composés à part, dotés de numéros CAS propres

Annexe 4 Caractéristiques des poissons (taille, masse, genre, masse des foies)

Ref-échantillon	Espèce	Taille (mm)	Masse (g)	Genre[7]	Foie-masse (mg)
BER11-10-GAR1	gardon	140	54	1	416
BER11-10-GAR2	gardon	139	41	2	540
BER11-10-GAR3	gardon	148	53.8	1	700
BER11-10-GAR4	gardon	133	41.8	1	426
BER11-10-GAR5	gardon	130	39.8	1	606
BER11-10-GAR6	gardon	133	32.3	2	395
BER11-10-GAR7	gardon	127	32.1	1	540
BER11-10-GAR8	gardon	130	33.8	1	558
BER11-10-GAR9	gardon	120	26.4	2	340
BER11-10-GAR10	gardon	133	35	2	160
BER11-10-GAR11	gardon	126	22	1	195
BER11-10-GAR12	gardon	104	17.5	2	149
BER11-10-GOU1	goujon	109	15.5	2	147
BER11-10-GOU2	goujon	108	15.1	1	90
BER11-10-GOU3	goujon	106	13.7	ND	50
BER11-10-GOU4	goujon	106	14.8	1	118
BER11-10-GOU5	goujon	110	15.2	ND	120
BER11-10-GOU6	goujon	113	16.5	2	51
BER11-10-GOU7	goujon	106	13	1	39
BER11-10-GOU8	goujon	112	15.8	2	105
BER11-10-GOU9	goujon	104	12.2	ND	103
BER11-10-GOU10	goujon	108	13.8	2	150
BER11-10-GOU11	goujon	100	14.6	ND	45
BER11-10-GOU12	goujon	104	14.2	ND	40
BER11-10-GOU13	goujon	104	14.6	ND	50
BER11-10-GOU14	goujon	102	12.5	ND	65
BER11-10-GOU15	goujon	104	12.4	ND	40
BER11-10-BAF1	barbeau fluviatile	140	39.2	2	128
BER11-10-BAF2	barbeau fluviatile	134	32.4	2	165
BER11-10-BAF3	barbeau fluviatile	128	28.1	ND	117
BER11-10-BAF4	barbeau fluviatile	129	26.1	ND	144
BER11-10-BAF5	barbeau fluviatile	130	27.2	ND	208
BER11-10-BAF6	barbeau fluviatile	142	40.1	ND	112
BER11-10-BAF7	barbeau fluviatile	105	13.8	ND	47
BER11-10-BAF8	barbeau fluviatile	113	18.3	ND	52
BER11-10-BAF9	barbeau fluviatile	112	17.86	ND	102
BER11-10-BAF10	barbeau fluviatile	112	17.6	ND	112
BER11-10-BAF11	barbeau fluviatile	101	12	ND	76
BER11-11-BAF12	barbeau fluviatile	475	1163	2	20600
BER11-11-BAF13	barbeau fluviatile	450	1175	2	10600
BER11-11-BAF14	barbeau fluviatile	540	1077.5	1	31600
BER11-11-BAF15	barbeau fluviatile	620	3033	1	74400
BER11-11-BAF16	barbeau fluviatile	620	2785	1	53200
BER11-11-BAF17	barbeau fluviatile	482	1295	2	23800
BER11-11-BAF18	barbeau fluviatile	560	2707	1	47800

[7] 1 = femelles, 2=mâle, ND=non déterminé (juvénile)

Ref-échantillon	Espèce	Taille (mm)	Masse (g)	Genre	Foie-masse (mg)
BER11-11-BAF19	barbeau fluviatile	540	2170	1	37200
BER11-11-BAF20	barbeau fluviatile	505	1543	2	27600

Annexe 5 – Concentrations de PFAS dans les barbeaux (organismes entiers) estimées à partir des concentrations dans le filet

Modèle utilisé :

$$C_{org} = a \times C_{fil}$$

Avec C_{org} la concentration dans l'organisme entier, C_{fil} la concentration dans le filet, a la pente de la droite de régression (passage forcé par l'origine). Les valeurs de pente sont présentées au Tableau 13.

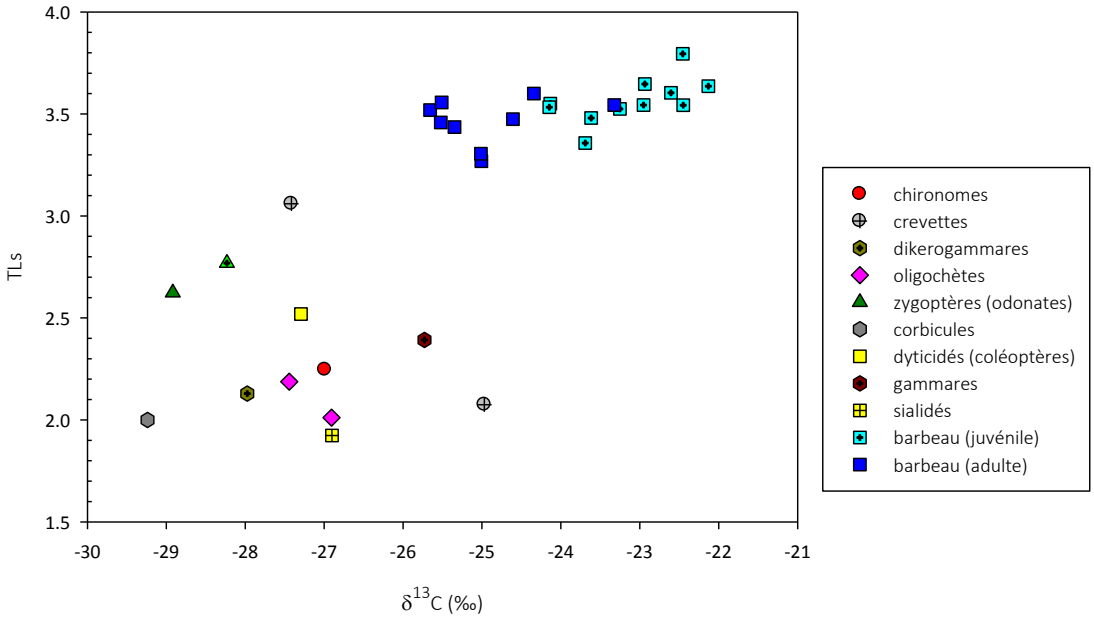
	PFNA	PFDA	PFUnDA	PFDoDA	PFTrDA	PFOS	FOSA
BAF1	37.62	7.01	699	18.29	948	23.55	2.68
BAF2	34.65	7.06	650	17.61	810	24.55	2.18
BAF3	36.19	5.48	543	13.85	776	25.92	2.43
BAF4	25.65	4.92	438	12.11	484	22.46	2.40
BAF5	16.25	2.63	197	6.56	517	13.38	3.03
BAF6	27.22	9.33	1066	39.83	1133	21.43	2.29
BAF7	39.36	6.12	546	15.32	830	25.15	2.93
BAF8	25.58	4.51	339	9.19	457	20.69	3.86
BAF9	38.13	6.36	645	17.67	461	29.62	2.87
BAF10	27.16	5.25	539	14.26	476	19.49	3.01
BAF11	23.16	4.35	342	8.80	383	22.32	2.40
BAF12	3.67	3.71	611	23.34	703	20.16	0.94
BAF13	2.92	2.78	375	9.44	700	16.73	1.31
BAF14	1.76	2.69	381	13.95	850	14.27	0.92
BAF15	1.75	3.35	300	10.30	500	10.17	0.75
BAF16	1.67	1.97	280	7.92	433	8.12	0.64
BAF17	9.86	5.75	745	28.04	1195	30.55	1.30
BAF18	2.41	3.89	288	7.99	330	15.29	1.39
BAF19	2.45	2.72	496	17.69	679	15.48	0.99
BAF20	2.50	2.87	467	17.70	804	15.71	1.35

Concentrations exprimées en $ng.g^{-1}$ de poids frais.

Annexe 6 Description du réseau trophique du barbeau

Ligne de base : le mollusque corbicule (*Corbicula fluminea*, bivalve filtreur, vivant dans le sédiment) est présent sur ce site de manière récurrente. Cette espèce a utilisée précédemment comme ligne de base sur ce site (Lopes et al., 2011b). Les autres mollusques (gastéropodes ou bivalves) sont présents de manière plus variable. La corbicule reste donc le choix optimal, avec TL=2.

Les gastéropodes (GAST), herbivores, de même que le Potamopyrgus antipodarum (POT) présentent de ce fait des valeurs de 13C moins négatives que les autres taxons échantillonnés. Ils se situeraient donc hors du réseau trophique conduisant au barbeau. Cette vision est cependant assez réductrice, dans la mesure où des résidus de mollusques ont été observés dans les contenus stomacaux des barbeaux de ce site (données non publiées).



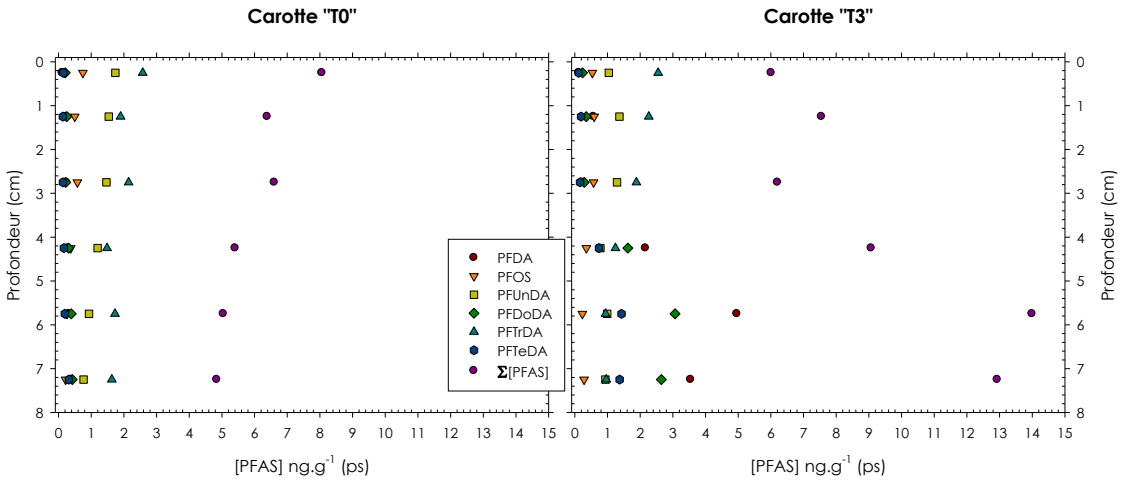
La signature 13C des barbeaux juvéniles (100-150mm) est significativement différente de celle des individus de grande taille (test de Mann-Whitney, p-value =0.001) ; en d'autres termes, les « gros » barbeaux (>450mm) consomment plus de proies dont la signature 13C est plus détritique, mais ne consomment pas que ces proies- là, d'où leur position proche de celle des invertébrés de la lône.

- CRE (*Atyaephyra desmarestii*) : omnivore ; proie des poissons
- DYT : les larves sont prédatrices ; les adultes sont broyeurs / prédateurs
- SIA : les larves se nourrissent de CHI ; les adultes ont un δ^{15}N inférieur à celui du CHI
- DIK : omnivore prédateur (en théorie) ; à BER il affiche un δ^{15}N relativement bas (8.28 ‰ comparé au chironome (8.68 ‰) ou aux oligochètes (8.77‰)
- GAM : détritivore (omnivore)

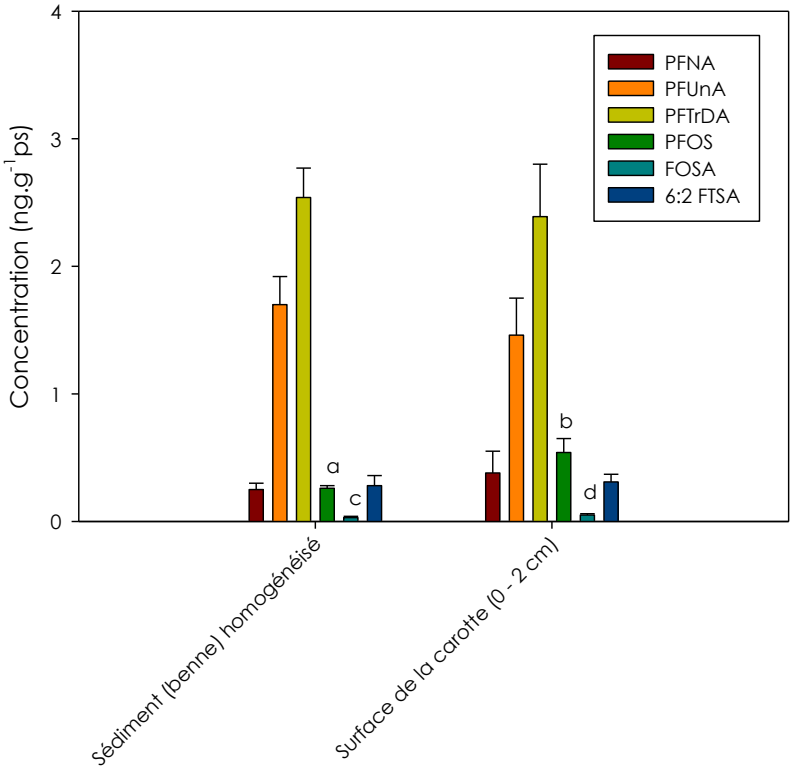
Compte tenu de son δ^{15}N assez bas, nous avons conclu que le Dikérogammare ne consommait pas de chironome ou d'oligochète. Les contenus stomacaux des barbeaux ne contenaient pas de résidus pouvant être attribués aux Odonates ni aux crevettes ; le calcul du N n'a donc pas pris ces taxons en considération. Par ailleurs, les barbeaux juvéniles ont également été écartés de ce calcul, puisqu'ils n'utilisent pas les mêmes ressources trophiques que les gros.

Les données utilisées dans la régression incluent les invertébrés benthiques (y compris les corbicules) et les barbeaux adultes, mais pas les mollusques gastéropodes ni les barbeaux juvéniles.

Annexe 7 PFAS dans les mini-carottes extraites de la lône



Profils en profondeur de 2 mini-carottes



Comparaison des teneurs en PFAS en surface des carottes et dans les aquariums (prélèvement à la benne puis homogénéisation)

Annexe 8 Actions de valorisation

Communication, diffusion des informations

Organisation de deux séminaires : présentation des PFAS, de leurs propriétés, de l'avancement du projet

A. 22 janvier 2013 : 36 participants, 6 présentations (dont 2 sur le projet, 1 sur les usages des PFAS, 1 sur les impacts sur la ressource en eau potable, 1 sur la situation au Canada)

B. 19 novembre 2014 : 39 participants, 10 présentations (dont 3 sur le projet, 2 sur la situation dans d'autres fleuves français, et 3 présentations sur la Suisse et l'Italie

Communication scientifique – participation à des conférences scientifiques

Affiches

- Bertin, D., Labadie, P., Ferrari, B.J.D., Garric, J., Budzinski, H., Babut, M. Transfer of perfluorinated compounds from bottom sediment to benthic invertebrates – Conférence SETAC Europe, Glasgow (UK), 12-16/05/2013 ; également présentée à la conference "Environmental Health", Boston [3-6 mars 2013]
- Bertin, D., Garric, J., Ferrari, B.J.D., Babut M., Labadie P., Budzinski, H. Accumulation and depuration of perfluorinated compounds in *Chironomus riparius* larvae – Conférence SETAC North-America, Nashville (TN, USA), [17 - 21 Nov. 2013] ; également présentée au "PFAS workshop" Helsingor (DK) [27- 29 Oct. 2013]
- Raux J., Desmet M., Labadie P., Debret M., Grosbois C., Copard Y., Pardon P., Budzinski, H., Babut M. A unique record of perfluorinated compounds in Europe: a sediment core case study from the Rhône fluvial system, France - PFAS workshop Helsingor (DK) [27- 29 Oct. 2013]
- Bertin, D., Garric, J., , Babut M., Labadie P., Budzinski, H., Ferrari, B.J.D. PFASs exposure routes for midges (*Chironomus riparius*): a field experiment - Conférence SETAC Europe, Bâle (CH), [11-15 mai 2014]
- Babut M., Labadie P., Bertin, D., Munoz, G., Budzinski H. Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds by benthic invertebrates and fish downstream of an industrial platform in the Rhone River (France) - Conférence SETAC Europe, Barcelone (SP), [03-07 mai 2015]
- Bertin, D., Babut M., Munoz, G., Labadie P., Budzinski, H., Accumulation and depuration of per- and polyfluorinated compounds from bottom sediment by a freshwater amphipod (*Gammarus* spp.): assessment of exposure routes, accumulation and depuration kinetics - Conférence SETAC Europe, Barcelone (SP), 03-07 mai 2015
- Babut M., Labadie P., G., Budzinski H., Bertin, D., Munoz Contamination of benthic invertebrates and fish by perfluorinated compounds in the Rhone River (France) – Conférence IS.Rivers Lyon (FR) [22-26 juin 2015]

Communications orales

- Bertin, D., Garric, J., , Babut M., Labadie P., Budzinski, H., Ferrari, B.J.D. Accumulation and elimination of perfluoroalkyl substances (PFASs) by the insect (*Chironomus riparius*) larvae (Diptera, Chironomidae) exposed to sediment - Conférence SETAC Europe, Bâle (CH), 11-15/05/2014
- Bertin, D., Ferrari, B.J.D., Labadie, P., Garric, J., Budzinski, H., Babut, M. Bioaccumulation de composés perfluorés (PFAS) à partir de sédiment naturel chez deux espèces d'invertébrés benthiques – Conférence SEFA, Besançon.

Articles dans des revues scientifiques à comité de lecture

1. Bertin, D., Ferrari, B.J.D., Labadie, P., Sapin, A., Garric, J., Budzinski, H., Houde, M., Babut, M., 2014. Bioaccumulation of perfluoralkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ. Pollut*. 189, 27–34
2. Bertin, D., Ferrari, B.J.D., Labadie, P., Sapin, A., Beaudouin, R., Pery, A.R.R., Garric, J., Budzinski, H., Babut , M.. Refining uptake and depuration constants for fluoroalkyl chemicals in *Chironomus riparius* larvae on the basis of experimental results and modelling. Soumis à *Chemosphere*

3. Bertin, D., Labadie, P., Ferrari, B.J.D., Sapin, A., Garric, J., Budzinski, H., Babut, M. 2016. Potential exposure routes and accumulation kinetics for poly- and perfluorinated alkyl compounds for a freshwater amphipod: Gammarus spp. (Crustacea). *Chemosphere*, 155, 380-387.

Annexe 9 Références

Ahrens L, Bundschuh M (2014). Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: A review. *Environ Toxicol Chem*, **33**: 1921-1929.

ANSES L (2011). *Campagne nationale d'occurrence des composés alkyls perfluorés dans les eaux destinées à la consommation humaine*, Ministère du Travail, de l'Emploi et de la Santé - Anses

Babut M, Ferrari BJD, Lauzent M, Simonnet-Laprade C, Labadie P, Budzinski H (2015). *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*, Onema

Babut M, Miege C, Roy A, Lopes C (2010a). *Transferts de contaminants du sédiment au biote et construction de modèles dans une perspective de gestion*

Babut M, Roy A, Lopes C, Pradelle S (2010b). *Contamination des poissons d'eau douce et des sédiments par les PCB et d'autres contaminants persistants dans le bassin du Rhône - Implications pour la détermination de concentrations dans les sédiments compatibles avec la consommation de poissons et la surveillance des milieux aquatiques*, Cemagref; DREAL (Délégation de Bassin), Lyon.

Babut M, Roy A, Lopes C, Pradelle S (2011). *Contamination des poissons d'eau douce par les PCB et d'autres contaminants persistants dans le bassin Rhône-Méditerranée. Détermination de facteurs d'accumulation sédiments-poissons et d'une valeur seuil dans le sédiment au-delà de laquelle les poissons risquent de dépasser le seuil réglementaire de consommation*, Cemagref - DREAL Rhône-Alpes, Délégation de bassin, Lyon.

Baduel C, Lai FY, Townsend K, Mueller JF (2014). Size and age-concentration relationships for perfluoroalkyl substances in stingray livers from eastern Australia. *Sci Tot Environ*, **496**: 523-530.

Bečanová J, Komprdová K, Vrana B, Klánová J (2016). Annual dynamics of perfluorinated compounds in sediment: A case study in the Morava River in Zlín district, Czech Republic. *Chemosphere*, **151**: 225-233.

Bertin D (2014a). *Transfert de composés perfluorés du sédiment aux invertébrés benthiques et aux poissons*. Thèse de doctorat, université Claude Bernard Lyon I

Bertin D (2014b). *Transfert des composés perfluorés des sédiments aux invertébrés benthiques*. Lyon.

Bertin D, Ferrari B, Labadie P, Sapin A, Garric J, Budzinski H, Houde M, Babut M (2014a). Bioaccumulation of perfluoroalkyl compounds in midge (Chironomus riparius) larvae exposed to sediment. *Environ Pollut*, **189**: 27-34.

Bertin D, Ferrari BJD, Labadie P, Sapin A, Beaudouin R, Pery ARR, Garric J, Budzinski H, Babut M (submitted). Refining uptake and depuration constants for fluoroalkyl chemicals in *Chironomus riparius* larvae on the basis of experimental results and modelling. *Chemosphere*

Bertin D, Ferrari BJD, Labadie P, Sapin A, Garric J, Budzinski H, Houde M, Babut M (2014b). Bioaccumulation of perfluoralkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ Pollut*, **189**: 27–34.

Bertin D, Labadie P, Ferrari BJD, Sapin A, Garric J, Budzinski H, Babut M (in press). Potential exposure routes and accumulation kinetics for poly- and perfluorinated alkyl compounds for a freshwater amphipod: Gammarus spp. (Crustacea). *Chemosphere*

Beškoski VP, Takemine S, Nakano T, Slavković Beškoski L, Gojgić-Cvijović G, Ilić M, Miletić S, Vrvić MM (2013). Perfluorinated compounds in sediment samples from the wastewater canal of Pančevo (Serbia) industrial area. *Chemosphere*

Besse JP, Geffard O, Lopes C, Chaumot A, Coquery M (2012). *Développement d'une méthodologie pour l'amélioration du suivi chimique des eaux continentales - Approche de biosurveillance active sur Gammarus fossarum*, Onema (DAST) - Irstea

Bodin N, Budzinski H, Le Ménach K, Tapie N (2009). ASE extraction method for simultaneous carbon and nitrogen stable isotope analysis in soft tissues of aquatic organisms. *Analytica Chimica Acta*, **643**: 54-60.

Borgå K, Kidd KA, Muir DCG, Berglund O, Conder JM, Gobas FAPC, Kucklick J, Malm O, Powell DE (2012). Trophic magnification factors: Considerations of ecology, ecosystems and study design. *Integr Environ Assess Manag*, **8**: 64-84.

Buck RC, Franklin J, Berger U, Conder JM, Cousins IT, de Voogt P, Jensen AA, Kannan K, Mabury SA, van Leeuwen SPJ (2011). Perfluoroalkyl and polyfluoralkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins. *Integr Environ Assess Manag*, **7**: 513-541.

Burkhard LP (2006). *Estimation of biota sediment accumulation factor (BSAF) from paired observations of chemicals concentrations in biota and sediment*. Report No. EPA/600/R-06/047, U.S. Environmental Protection Agency, Cincinatti (OH).

Campo J, Lorenzo M, Pérez F, Picó Y, Farré Ml, Barceló D (2016). Analysis of the presence of perfluoroalkyl substances in water, sediment and biota of the Jucar River (E Spain). Sources, partitioning and relationships with water physical characteristics. *Environmental Research*, **147**: 503-512.

Campo J, Pérez F, Masiá A, Picó Y, Farré M, Barceló D (2015). Perfluoroalkyl substance contamination of the Llobregat River ecosystem (Mediterranean area, NE Spain). *Sci Tot Environ*, **503-504**: 48-57.

Codling G, Vogt A, Jones PD, Wang T, Wang P, Lu YL, Corcoran M, Bonina S, Li A, Sturchio NC, Rockne KJ, Ji K, Khim JS, Naile JE, Giesy JP (2014). Historical trends of inorganic and organic fluorine in sediments of Lake Michigan. *Chemosphere*, **114**: 203-209.

Dauchy X, Boiteux V, Rosin C, Munoz JF (2012a). Relationship Between Industrial Discharges and Contamination of Raw Water Resources by Perfluorinated Compounds. Part I: Case Study of a Fluoropolymer Manufacturing Plant. *Bull Environ Contam Toxicol*, **89**: 525-530.

Dauchy X, Boiteux V, Rosin C, Munoz JF (2012b). Relationship between industrial discharges and contamination of raw water resources by perfluorinated compounds: Part II: Case study of a fluorotelomer polymer manufacturing plant. *Bull Environ Contam Toxicol*, **89**: 531-536.

Desmet M, Mourier B, Mahler B, van Metre P, Roux G, Persat H, Lefèvre I, Peretti A, Chapron E, Simonneau A, Miège C, Babut M (2012). Spatial and Temporal Trends in PCBs in Sediment along the Lower Rhône River, France. *Sci Tot Environ*, **433**: 189-197.

Fair PA, Houde M, Hulsey TC, Bossart GD, Adams J, Balthis L, Muir DCG (2012). Assessment of perfluorinated compounds (PFCs) in plasma of bottlenose dolphins from two southeast US estuarine areas: Relationship with age, sex and geographic locations. *Mar Pollut Bull*, **64**: 66-74.

Falk S, Failing K, Georgii S, Brunn H, Stahl T (2015). Tissue specific uptake and elimination of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in adult rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) after dietary exposure. *Chemosphere*, **129**: 150-156.

Ferrari BJD, Vignati DAL, Dominik J (2014). Bioaccumulation kinetics and effects of sediment-bound contaminants on chironomids in deep waters: New insights using a low-disturbance in situ system. *Environmental Technology (United Kingdom)*, **35**: 456-469.

Fisk AT, Hobson KA, Norstrom RJ (2001). Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the Northwater Polynya marine food web. *Environ Sci Technol*, **35**: 732-738.

Franklin J (2016). How reliable are field-derived biomagnification factors and trophic magnification factors as indicators of bioaccumulation potential? Conclusions from a case study on per- and polyfluoroalkyl substances. *Integr Environ Assess Manag*, **12**: 6-20.

Gellrich V, Stahl T, Knepper TP (2012). Behavior of perfluorinated compounds in soils during leaching experiments. *Chemosphere*, **87**: 1052-1056.

Giesy JP, Kannan K (2001). Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in Wildlife. *Environ Sci Technol*, **35**: 1339-1342.

Goeritz I, Falk S, Stahl T, Schäfers C, Schlechtriem C (2013). Biomagnification and tissue distribution of perfluoroalkyl substances (PFASs) in market-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ Toxicol Chem*, **32**: 2078-2088.

Hart K, Kannan K, Tao L, Takahashi S, Tanabe S (2008). Skipjack tuna as a bioindicator of contamination by perfluorinated compounds in the oceans. *Sci Tot Environ*, **403**: 215-221.

Helsel DR (2006). Fabricating data: How substituting values for nondetects can ruin results, and what can be done about it. *Chemosphere*, **65**: 2434-2439.

Higgins CP, McLeod PB, Macmanus-Spencer LA, Luthy RG (2007). Bioaccumulation of perfluorochemicals in sediments by the aquatic oligochaete *Lumbriculus variegatus*. *Environ Sci Technol*, **41**: 4600-4606.

Hoff PT, Van Campenhout K, Van De Vijver K, Covaci A, Bervoets L, Moens L, Huyskens G, Goemans G, Belpaire C, Blust R, De Coen W (2005). Perfluorooctane sulfonic acid and organohalogen pollutants in liver of three freshwater fish species in Flanders (Belgium): Relationships with biochemical and organismal effects. *Environ Pollut*, **137**: 324-333.

Hoff PT, Van de Vijver K, Van Dongen W, Esmans EL, Blust R, De Coen WM (2003). Perfluorooctane sulfonic acid in bib (*Trisopterus luscus*) and plaice (*Pleuronectes platessa*) from the Western Scheldt and the Belgian North Sea: Distribution and biochemical effects. *Environ Toxicol Chem*, **22**: 608-614.

Houde M, Bujas TAD, Small J, Wells RS, Fair PA, Bossart GD, Solomon KR, Muir DCG (2006a). Biomagnification of perfluoroalkyl compounds in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) food web. *Environ Sci Technol*, **40**: 4138-4144.

Houde M, De Silva AO, Muir DCG, Letcher RJ (2011). Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environ Sci Technol*, **45**: 7962-7973.

Houde M, Martin JW, Letcher RJ, Solomon KR, Muir DCG (2006b). Biological monitoring of polyfluoroalkyl substances: A review. *Environ Sci Technol*, **40**: 3463-3473.

Kannan K, Tao L, Sinclair E, Pastva SD, Jude DJ, Giesy JP (2005). Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain. *Arch Environ Contam Toxicol*, **48**: 559-566.

Kwadijk CJAF, Korytár P, Koelmans AA (2010). Distribution of perfluorinated compounds in aquatic systems in the Netherlands. *Environ Sci Technol*, **44**: 3746-3751.

Labadie P, Chevreuil M (2011). Partitioning behaviour of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ Pollut*, **159**: 391-397.

Lasier PJ, Washington JW, Hassan SM, Jenkins TM (2011). Perfluorinated chemicals in surface waters and sediments from northwest Georgia, USA, and their bioaccumulation in *Lumbriculus variegatus*. *Environ Toxicol Chem*, **30**: 2194-2201.

Lescord GL, Kidd KA, de Silva A, Williamson M, Spencer C, Wang X, Muir DCG (2015). Concentrations and biomagnification of polyfluorinated compounds through lake food webs in the Canadian high Arctic. *Environ Sci Technol*, **49**: 2694–2702.

Letcher RJ, Chu S, McKinney MA, Tomy GT, Sonne C, Dietz R (2014). Comparative hepatic in vitro depletion and metabolite formation of major perfluorooctane sulfonate precursors in arctic polar bear, beluga whale, and ringed seal. *Chemosphere*, **112**: 225-231.

Liu C, Gin KYH, Chang VWC, Goh BPL, Reinhard M (2011). Novel Perspectives on the Bioaccumulation of PFCs – the Concentration Dependency. *Environ Sci Technol*, **45**: 9758-9764.

Liu J, Mejia Avendaño S (2013). Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environ Int*, **61**: 98-114.

Lopes C, Garric J, Coquery M, Ferrari B, Chaumot A, Geffard O (2011a). *Effet des substances chimiques sur les organismes aquatiques - Développement d'une batterie multi spécifique pour l'évaluation écotoxicologique de la qualité chimique du milieu*, Onema (DAST) - Irstea

Lopes C, Perga ME, Peretti A, Roger M-C, Persat H, Babut M (2011b). Is PCBs concentration variability between and within freshwater fish species explained by their contamination pathways? *Chemosphere*, **85**: 502-508.

Martin JW, Mabury SA, Solomon KR, Muir DCG (2003). Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). *Environ Toxicol Chem*, **22**: 196-204.

Martin JW, Whittle DM, Muir DCG, Mabury SA (2004). Perfluoroalkyl contaminants in a food web from lake Ontario. *Environ Sci Technol*, **38**: 5379-5385.

McLachlan MS, Holmstrom KE, Reth M, Berger U (2007). Riverine discharge of perfluorinated carboxylates from the European continent. *Environ Sci Technol*, **41**: 7260-7265.

Mejia Avendaño S, Liu J (2015). Production of PFOS from aerobic soil biotransformation of two perfluoroalkyl sulfonamide derivatives. *Chemosphere*, **119**: 1084-1090.

Michel J-M *Contribution à l'histoire indistrielle des polymères en France - B2 - Les polymères fluorés*. *In*: France SCd (ed)

Miège C, Roy A, Labadie P, Budzinski H, Le Bizec B, Vorkamp K, Tronczynski J, Persat H, Coquery M, Babut M (2012). Occurrence of priority and emerging organic substances in fishes from the Rhone river in the area of Lyon. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, **4**: 2721-2735.

Moon HB, Kannan K, Yun S, An YR, Choi SG, Park JY, Kim ZG, Moon DY, Choi HG (2010). Perfluorinated compounds in minke whales (Balaenoptera acutorostrata) and long-beaked common dolphins (Delphinus capensis) from Korean coastal waters. *Mar Pollut Bull*, **60**: 1130-1135.

Munoz G, Giraudel J-L, Botta F, Lestremau F, Dévier M-H, Budzinski H, Labadie P (2015). Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey. *Sci Tot Environ*, **517**: 48-56.

Munoz G, Vo Duy S, Labadie P, Botta F, Budzinski H, Lestremau F, Liu J, Sauvé S (accepted). Analysis of Zwitterionic, Cationic and Anionic Poly and Perfluoroalkyl Surfactants in sediments by liquid chromatography Polarity-Switching electrosray ionization coupled to Orbitrap Mass Spectrometry. *Talanta*

Pistocchi A, Loos R (2009). A Map of European Emissions and Concentrations of PFOS and PFOA. *Environ Sci Technol*, **43**: 9237-9244.

Post DM (2002). Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods, and assumptions. *Ecology*, **83**: 703-718.

Prosser RS, Mahon K, Sibley PK, Poirier D, Watson-Leung T (2016). Bioaccumulation of perfluorinated carboxylates and sulfonates and polychlorinated biphenyls in laboratory-cultured Hexagenia spp., Lumbriculus variegatus and Pimephales promelas from field-collected sediments. *Sci Tot Environ*, **543**: 715-726.

Ramu K, Kajiwara N, Lam PKS, Jefferson TA, Zhou K, Tanabe S (2006). Temporal variation and biomagnification of organohalogen compounds in finless porpoises (Neophocaena phocaenoides) from the South China Sea. *Environ Pollut*, **144**: 516-523.

Smithwick M, Muir DGG, Mabury SA, Solomon KR, Martin JW, Sonne C, Born EW, Letcher RJ, Dietz R (2005). Perflouroalkyl contaminants in liver tissue from East Greenland polar bears (Ursus maritimus). *Environ Toxicol Chem*, **24**: 981-986.

Tachet H, Richoux P, Bournaud M, Usseglio-Polatera P (2010). *Invertébrés d'eau douce - Systématique, biologie, écologie*. Vol. CNRS éditions

Taniyasu S, Kannan K, So MK, Gulkowska A, Sinclair E, Okazawa T, Yamashita N (2005). Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short- and long-chain perfluorinated acids in water and biota. *Journal of Chromatography A*, **1093**: 89-97.

Tomy GT, Budakowski W, Halldorson T, Helm PA, Stern GA, Friesen K, Pepper K, Tittlemier SA, Fisk AT (2004). Fluorinated organic compounds in an Eastern arctic marine food web. *Environ Sci Technol*, **38**: 6475-6481.

Van De Vijver KI, Holsbeek L, Das K, Blust R, Joiris C, De Coen W (2007). Occurrence of perfluorooctane sulfonate and other perfluorinated alkylated substances in harbor porpoises from the Black Sea. *Environ Sci Technol*, **41**: 315-320.

Vander Zanden MJ, Rasmussen JB (2001). Variation in δ15N and δ13C trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. *Limnol Oceanogr*, **46**: 2061-2066.

Weiner B, Yeung LWY, Marchington EB, D'Agostino LA, Mabury SA (2013). Organic fluorine content in aqueous film forming foams (AFFFs) and biodegradation of the foam component 6:2 fluorotelomermercaptoalkylamido sulfonate (6:2 FTSAS). *Environmental Chemistry*, **10**: 486-493.

Xia X, Chen X, Zhao X, Chen H, Shen M (2012). Effects of carbon nanotubes, chars, and ash on bioaccumulation of perfluorochemicals by *Chironomus plumosus* larvae in sediment. *Environ Sci Technol*, **46**: 12467-12475.

Yeung LWY, De Silva AO, Loi EIH, Marvin CH, Taniyasu S, Yamashita N, Mabury SA, Muir DCG, Lam PKS (2013). Perfluoroalkyl substances and extractable organic fluorine in surface sediments and cores from Lake Ontario. *Environ Int*, **59**: 389-397.

Yeung LWY, Mabury SA (2013). Bioconcentration of aqueous film-forming foam (AFFF) in juvenile rainbow trout (Oncorhyncus mykiss). *Environ Sci Technol*, **47**: 12505-12513.