



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :

Ecologie Fonctionnelle

Présentée et soutenue par :

M. STÉPHANE MOMBO

le jeudi 27 octobre 2016

Titre :

TRANSFERTS DES METAUX ET METALLOIDES DANS LE SYSTEME
SOL-PLANTE-ATMOSPHERE: MECANISMES BIOGEOCHIMIQUES ET
CONSEQUENCES ENVIRONNEMENT-SANTE

Ecole doctorale :

Sciences de l'Univers de l'Environnement et de l'Espace (SDUEE)

Unité de recherche :

Ecologie Fonctionnelle (ECOLAB)

Directeur(s) de Thèse :

MME CAMILLE DUMAT

M. CHRISTOPHE LAPLANCHE

Rapporteurs :

M. CARLOS SANCHEZ HERNANDEZ, UNIVERSITE CASTILLA LA MANCHA ALBACETE

M. THIERRY LEBEAU, UNIVERSITE DE NANTES

Membre(s) du jury :

M. JEAN-LUC ROLS, UNIVERSITE TOULOUSE 3, Président

M. ALEXIS NICAISE LEPENGUE, UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECH MASUKU, Membre

M. CHRISTOPHE LAPLANCHE, INP TOULOUSE, Membre

M. CHRISTOPHE MAZZIA, UNIVERSITE D'AVIGNON, Membre

Mme CAMILLE DUMAT, INP TOULOUSE, Membre

Mme EVA SCHRECK, UNIVERSITE PAUL SABATIER, Membre

► En zones (péri)urbaines très peuplées à l'échelle globale, des pollutions des sols en métaux et metalloïdes persistants (éco)toxiques sont couramment observées. Certains éléments (Se, Cu...) ont des rôles biologiques. D'autres (Pb, Cd...) ont uniquement un impact (éco)toxique fortement influencé par leur spéciation chimique et compartimentation, qui modifient leurs transferts et biodisponibilité. Dans une optique de gestion des sols et d'alimentation durables, des questions scientifiques pluridisciplinaires sont à creuser concernant : (i) les mécanismes en jeu dans la biodisponibilité et l'impact sur les organismes vivants des éléments inorganiques en lien avec leur spéciation ; (ii) la co-gestion des risques environnement-santé induits par des installations industrielles classées ICPE en France (ex. usines de recyclage de batteries) avec les riverains qui cultivent des potagers ou les employés. Dans ce contexte, ont été étudiés : (i) le transfert des métaux entre phase solide et solution du sol sous l'influence des vers de terre sur un site ICPE; (ii) le transfert et la bioaccessibilité du Se en conditions contrôlées pour 2 formes chimiques; (iii) le risque sanitaire pour les riverains d'un site ICPE qui jardinent, et les facteurs influant les plombémies des professionnels (étude statistique des données). Une review bibliographique de la qualité du manioc en lien avec les pratiques culturelles et culinaires et les caractéristiques de l'environnement a finalement été réalisée pour compléter la démarche « Sciences et Société » de la thèse.

L'analyse des différents isotopes du plomb dans les sols aux alentours de l'usine de recyclage a permis de conclure que 84 à 100% du plomb des sols de surface est d'origine anthropique. Un comportement d'évitement des zones les plus polluées en plomb a été observé pour l'espèce de vers de terre *A. caliginosa*. Le transfert racinaire, la translocation du sélénium vers le maïs et sa bioaccessibilité dans le grain sont plus élevés dans le cas du séléniate (facteur de translocation de 1,1, et bioaccessibilité humaine de 89,3%) par rapport au sélénite (0,13, et bioaccessibilité de 82,7%). L'étude de la qualité des cultures des jardins proches de l'usine (à Bazoches), en relation avec la qualité du sol (faible contamination, pH basique et teneur élevée en matières organiques qui réduisent les transferts) et de l'atmosphère a mis en évidence un transfert atmosphère- plante qui dépend du métal (le Cd est le plus biodisponible) et du végétal. Les concentrations en Pb et Cd suivent respectivement les séquences : [laitue>poireau>céleri>carotte] et [laitue>céleri>carotte>poireau]. Pour réduire l'exposition des populations, un lavage soigneux des productions avant la consommation est préconisé.

Cette thèse illustre bien l'intérêt de l'analyse socio-scientifique et des interactions multi-acteurs pour aborder efficacement la gestion durable des sites et sols pollués.

Mots clés : Gestion durable des sols pollués ; Métaux et métalloïdes ; Transferts ; Bioaccessibilité ; (Eco)toxicologie ; Vers de terre ; Bioturbation.

Pollution of (peri)urban soils by (eco)toxic metal(loid)s is commonly observed on a global scale. Some elements (Se, Cu ...) have biological roles and other (Pb, Cd ...) only have an (eco)toxic impact influenced by their speciation and compartmentalization that can change their transfers and bioavailability. With the perspective of sustainable management of soil and food, multidisciplinary scientific questions are digging for: (i) the mechanisms involved in the bioavailability and impact on living organisms of inorganic elements related to speciation; (ii) the co-management of environmental-health risks from industrial regulated plants (ICPE in France, such as former battery recycling plant) with residents who grow vegetable gardens or employees.

In this context, were studied: (1) the transfer of metals between solid phase and soil solution under the influence of earthworms on a ICPE site; (2) the transfer and bioavailability of Se in controlled conditions for two chemical forms; (3) the health risk for the residents with gardening activities near ICPE plant and factors influencing blood lead of professionals (statistical analysis of data). A literature review of the quality of cassava in connection with the cultivation and culinary practices and characteristics of the environment was finally performed to complete the "Science and Society" process of the thesis.

From the analysis of different isotopes of lead in the soil around the recycling plant it was concluded that 84 to 100% of lead in surface soils has anthropogenic origin. Avoidance behavior in the most lead polluted areas was observed for *A. caliginosa* earthworm species. The selenium root transfer, translocation to corn and its bioavailability in the grain are higher in the case of selenate (translocation factor of 1.1, and human bioavailability of 89.3%) compared to selenite (0.13 and bioaccessibility 82.7%). The study of crops quality in the gardens near the ICPE plant (in Bazoches), in relation to atmosphere and soil quality (low Pb contamination, alkaline pH and high organic content that reduce pollutants transfers) highlighted an atmosphere-plant transfer which depends on the metal (Cd is the most bioavailable) and plant species. Pb and Cd concentrations follow respectively the sequences: [lettuce> Leek> celery> carrot] and [lettuce> celery> carrot> leek]. To reduce population exposure, thorough washing of productions before consumption is recommended. This thesis illustrates the interest of socio-scientific analysis and multi-stakeholder interactions to effectively address the sustainable management of contaminated land.

Key Words: Sustainable management of polluted soil; Metals and metalloid; Transfers; Bioaccessibility; Ecotoxicology; Earthworms; Bioturbation.

Remerciements :

Ça fait déjà trois ans, comme le temps passe vite. Avant de commencer j'aimerais dire merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement et au bon déroulement de ce travail.

Tout d'abord je tiens à remercier le Gouvernement Gabonais et l'organisme SFERE, ainsi que la Société de Traitements Chimiques des Métaux (STCM) entreprise ICPE pour la confiance et le soutien financier tout au long de ces trois années de thèse.

Par ailleurs, Je tiens à remercier tout particulièrement Camille Dumat ma directrice de thèse pour m'avoir accepté, encadré guidé dans mon travail. Ta sagesse infinie, ton enthousiasme et inspiration, ton grand sens de l'observation et l'analyse des situations m'étonneront toujours. Merci pour m'avoir fait confiance en me conduisant lentement mais sûrement vers ce jour. Aussi, pour tes précieux conseils, ta grande patience et ton sens aiguisé de la rigueur. Je vais appliquer tes précieux conseils et suivre tes méthodes tout au long de mon parcours avenir.

Merci à Christophe Laplanche pour ta rigueur et tes conseils. Je vais continuer à m'appliquer sur le logiciel R.

Yvan Capowiez merci pour tous les conseils et les moments passés sur le terrain et au laboratoire à Avignon, merci pour toutes tes implications, ton dynamisme et ta disponibilité pendant ces trois années.

Un grand merci à Eva Schreck pour ses précieux conseils et toutes les petites astuces concernant les graphiques. Merci à Maryse Castrec-Rouelle pour la collaboration. Jean-Luc Rols qui m'a fait confiance le premier et m'a conduit vers cette thèse.

Merci à tous les enfants de Camille Dumat dispersés dans le monde : Shahid Muhammad, Yann Foucault, Sylvaine Goix, Thibaut Lévêque, Tiantian Xiong, Antoine Pierart grand merci.

Merci à la Direction du laboratoire ECOLAB qui a contribué au bon déroulement de ces travaux. Aussi à tous les membres des équipes qui composent ce grand laboratoire, en particulier « BIOGEOCHIM » et « CIRCE », pour m'avoir accueilli et partagé avec moi tous ces moments. Merci à Annick Corrège pour sa disponibilité et ses conseils, à Christelle Radou et Cécille Odorico.

Merci aux filles du bureau 226 qui m'ont supporté tout ce temps Laura Lagier, Marion Gracci, Eva Roubau vous allez pouvoir vous lâcher en toute liberté maintenant que le seul homme du bureau est parti.

Ma famille

Je remercie tous les membres de la famille qui ont patienté toutes ces années et qui n'ont pas une seule fois doutés de moi maintenant c'est fait.... et je vous en suis sincèrement reconnaissant.

Mon père Mombo Robert pour tes multiples encouragements ta confiance, ta patience tes précieux conseils, Ibogni Mouketou Séraphine ma mère qui n'a jamais perdu confiance depuis toujours et qui m'a toujours soutenu.

Pierre Brando Mouketou, Michel Mombo, Jean Jacques Mombo, Irène Mombo, Lucie Bouanga, Jean Delphin Mouketou, Itsiembou Mombo Elise m'a deuxième petite maman qui a énormément contribué de près et de loin à ce que ce jour arrive. Mombo Doukaga Remi, Simbou Mombo véronique, Marc Aurel Mouketou, Ibouily Rodrigue (solo), Mouketou Jean Delphin, Boussougou Mombo Aliain, Nzizngui Mombo Emmanuel, Abraham Charli, Ngombou Roberte Martine, Ossavou Ibogni Aude Varenne.

Toute l'équipe de Toulouse, en premier Yvette Wilson (maman Niango) mon petit poussin qui m'a soutenu et supporté ces trois dernières années. Dr Clève Mboyi, Dr Gemaël Cedrick Taty Taty, Dr Amel Mankou Makaya, Grâce Amandine Matondo, le soldat Jazhiel Mba Nguema, le caporal Sthoy Otounga.

Un grand merci à toute mon équipe de karaté en particulier Amar Ben Salha, Anael, Damien et tous les autres.

Je remercie sincèrement les membres du jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer mon travail de recherche : Thierry Lebeau, professeur à l'université de Nantes, Sanchez-Hernandez Juan C, professeur à l'université de Castilla-La Mancha, Nicaise Lepengue, professeur à l'université des Sciences et Techniques de MASUKU (Gabon), Christophe Mazzia, maître de conférences à l'université d'Avignon, Yvan Capowiez de l'Ira Avignon, Eva Schreck maître de conférences à l'université Toulouse III Paul Sabatier, Jean Luc Rols professeur à l'université Toulouse III Paul Sabatier.

Liste des figures :

| | |
|--|----|
| Figure 1: cycle des métaux lourds dans l'environnement d'après..... | 23 |
| Figure 2 : Les diverses sources de pollutions des sols et leurs conséquences (Dumat & Austruy, 2014)..... | 24 |
| Figure 3 : Organismes vivants dans le sol participant à la dégradation de la matière organique | 30 |
| Figure 4 : Localisation des trois catégories écologiques de vers de terre anécique, épigé et endogé et leurs actions sur les MOS. | 31 |
| Figure 5 : Schéma de la relation entre bioaccessibilité et biodisponibilité (Caboche, 2009). . | 40 |
| Figure 6 : Schéma représentant le contexte scientifique général de la thèse. | 43 |
| Figure 7 : Localisation des différentes usines de la STCM en France..... | 54 |
| Figure 8 : Plan de situation du site STCM de Toulouse et des infrastructures situées à proximité. | 55 |
| Figure 9 : Zone d'échantillonnage (friche) à proximité de la STCM Bazoches-les-Gallerandes. | 56 |
| Figure 10 : Echantillonnage à trois distances 10, 30 et 60 m de l'usine et trois profondeurs 0-5, 5-17 et 17-30 cm. | 57 |
| Figure 11 : Reconstitution de sol avec la presse hydraulique | 58 |
| Figure 12 : Matière organique disposée au dessus des colonnes dans lesquelles les vers de terre ont été introduits, colonne fermée grâce à un couvercle pour éviter que les vers de terre ne s'échappent..... | 59 |
| Figure 13 : <i>Lumbricus terrestris</i> | 59 |
| Figure 14 : <i>Apporectodea caliginosa</i> | 60 |
| Figure 15 : Plaque de minéralisation et tubes à minéraliser utilisés pour les échantillons de sols végétaux et vers de terre..... | 62 |
| Figure 16 : Design expérimental de la croissance du maïs pendant l'exposition. | 63 |
| Figure 17 A : Croissance du maïs après germination en condition hydroponique 6 ^e jours de croissance ; B Maïs après 5 semaines de croissance prêts à être échantillonné et traité pour les différentes analyses. | 64 |
| Figure 18 : Echantillons de maïs séché, broyés préparé avant analyse | 64 |
| Figure 19 : Description du test de bioaccessibilité BARGE (Caboche, 200) | 67 |

| | |
|--|-----|
| Figure 20 : Schéma des effets des retombés atmosphériques de particules riches en métaux (entreprise ICPE) sur le comportement des vers de terre et effet des vers de terre sur la mobilité des métaux dans le sol..... | 72 |
| Figure 21 Figure 21 : (A) Soil sampling in the field near the factory (10, 30 and 60 m), with a gradient of metal(loid)s concentrations: high contents (HC) and low contents (LC) of metal(loid)s, and (B) Experimental design of the field experiment..... | 74 |
| Figure 22 : Litter consumption (% of litter remaining at the end of the experiment) during the exposure experiment. Results are means \pm MSE. The letters represent the results of statistical tests (HSD; $p < 0.05$): two different letters indicate significant difference..... | 81 |
| Figure 23 : Metal(loid) concentrations in earthworms (mg kg^{-1}) in function of the species and the distance from the factory at which soil was sampled. Results are mean \pm MSE. The letters represent the results of statistical tests (HSD; $p < 0.05$): bars bearing different letters are significantly different. Each earthworm species was tested separately (capitals and lowercase letters concern respectively <i>L. terrestris</i> and <i>A. caliginosa</i>). | 82 |
| Figure 24 : Results of earthworm biomass changes during the exposure experiment for the two earthworm species. Results are illustrated as the mean \pm MSE and ANOVA was performed. The letters represent the results of statistical tests (HSD; $p < 0.05$): two different letters indicate significant differences of pollutant concentration in earthworm. Capitals and lowercase letters concern respectively data measured for <i>L. terrestris</i> (depending the distances to factory), and <i>A. caliginosa</i> | 83 |
| Figure 25 : Earthworm burrow activity in soil for three different distances from the factory (10, 30 and 60 m). Three-dimensional reconstructions of earthworm burrow, imaged by X-ray CT. Color gradations used for 3-D rendering, yellow for the foreground to blue for the background. All results are given in supplementary information. | 85 |
| Figure S26 : Total concentrations (mg kg^{-1}) measured in soils in function of the distance from the factory (10, 30 and 60 m) and depth (0-5, 5-17 and 17-30 cm). Values 0-5, 5-17 and 17-30 were selected for the lower values with respect to the depth. | 98 |
| Figure S27 : Total metal(loid)s concentrations in litter. Histograms show the comparison between concentrations in litter at different distances. Results are illustrated as the mean \pm MSE and ANOVA was performed..... | 99 |
| Figure S28 : Three-dimensional reconstructions of earthworm community bioturbation behavior, imaged by X-ray CT. Color gradations used for 3-D rendering are: yellow for the foreground to blue for the background. Letters represent distance to factory A: 60 m, B: 30 m and C: 10 m. | 100 |

| | |
|--|-----|
| Figure S29 : Water infiltration rate in soil, for the two earthworm species incubated in soil repacked cores using the soil coming from different distances from factory (10, 30 and 60 m). Error bars represent the mean time for pouring each water volume. | 101 |
| Figure 30 : Graphical abstract | 104 |
| Figure 31 : A Logarithmic Pb concentrations as a function of the distance from the factory for bulk soils, casts and earthworms and B Charts of relation between Pb concentrations in earthworms and casts (upper chart), Pb concentrations in earthworms and bulk soils (middle chart) and Pb concentrations in casts and bulk soils (lower chart). | 110 |
| Figure 32 : Plot of $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ as a function of $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ for casts, soils and earthworms. French and local end members from literature data were added in the left chart. Error bars represent standard deviations | 111 |
| Figure 33 Organic carbon in soil (OC) in function of the distance from the factory..... | 113 |
| Figure 34 $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratio and Pb concentrations in soils as a function of soil organic matters (SOM)..... | 113 |
| Figure 35 : Effets des retombés atmosphériques de particules riches en métaux (entreprise ICPE) sur le sol et les plantes potagères au voisinage d'une usine de industrielle. | 126 |
| Figure 36 : Study area of the campaign to prevent exposure to pollutants at Bazoches-les-Gallerande, Loiret (source:Google map data 2015). STCM Société de Traitement Chimique des Métaux..... | 132 |
| Figure 37 : Lead and cadmium concentrations in the four garden soils | 136 |
| Figure 38 Selenium distribution at the global scale. World regions naturally enriched in Selenium appear in red (filled square), whereas pink areas correspond to regions with naturally low Se concentration (filled square) and white areas correspond to regions with unknown concentration (opened square). This spatial distribution figure was built according to the information provided by the World Health Organization (1996) concerning Se contents recorded in various regions worldwide. Areas are qualified of “enriched in Se” when their topsoil Se content exceeds 1.0 mg kg ⁻¹ according to Zhang et al. (2014)..... | 156 |
| Figure 39 A Experimental design of plant cultures. B General experimental design with the main measures performed in controlled | 161 |
| Figure 40 : Plant biomass (g DW) measured in different aerial maize compartments (stems, leaves, and seeds) for two speciations: selenite and selenate added in the hydroponic solution at 1 mg L ⁻¹ and controls, three conditions and five plants for each condition. Results are illustrated as the mean ± SEM (n=5). ANOVA (SW: 0.615; BF: 0.466; biomass was log transformed to satisfy ANOVA assumptions) shows significant differences of biomass across | |

| | |
|---|-----|
| treatments ($p=5.399e-14$ ***), compartments ($p=3.399e-06$ ***), plants ($p=5.942e-07$ ***), and a significant treatment: compartment interaction ($p=2.847e-05$ ***). Levels of significance are: *** ($p<0.001$), ** ($p<0.01$), * ($p<0.05$). Different letters indicate significant pairwise differences across treatments and plant compartments (LSD; $p<0.05$). | 164 |
| Figure 41 : Se total concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW) measured in different aerial maize compartments (stems, leaves, and seeds) for two speciations: selenite and selenate added in the hydroponic solution at 1 mg L^{-1} and controls. ANOVA (SW: 0.6719; BF: 0.1481; controls were excluded to satisfy ANOVA assumptions) shows significant differences of Se concentration across treatments ($p=4.948e-4$ ***), compartments ($p=5.515e-4$ ***), plants ($p=0.0403$ *), and a significant treatment: compartment interaction ($p=1.163e-07$ ***). See legend of Figure-3 for the interpretation of confidence intervals, significance levels, and grouping letters. | 165 |
| Figure 42 : Se bioaccessible fractions estimated in different maize compartments (stems, leaves, and seeds) for two speciations of complemented Se: selenite and selenate added in the hydroponic solution at 1 mg L^{-1} and control. ANOVA (SW: 0.666; BF: 0.207) shows significant differences of bioaccessible fraction across treatments ($p=1.715e-10$ ***) and compartments ($p=0.007375$ **) without differences between plants ($p=0.904$) and without treatment: compartment interaction ($p=0.0701$). See legend of Figure-3 for the interpretation of confidence intervals, significance levels, and grouping letters. | 165 |
| Figure 43 : schéma récapitulatif des étapes de la bioaccessibilité depuis le transfert des éléments vers la plante. | 187 |
| Figure 44 : bioaccessibilité du sélénium après ingestion (Mombo et al 2016) | 191 |
| Figure 45 : | 198 |
| Figure 46 : General pathways for pollutant transfer in soil-plant-atmosphere systems..... | 199 |
| Figure 47 : Cassava preparation before consumption to avoid the risk of exposure to cyanide | 203 |
| Figure 48 : Cassava producer countries around the world in 2015. Countries that produce cassava are in brown | 203 |
| Figure 49 : évolution du nombre de de saturnisme reconnu depuis 1988. | 249 |

Liste des tableaux :

| | |
|---|-----|
| Tableau 1 : Contaminants inorganiques. Source BRGM 99-F-194..... | 22 |
| Tableau 2 : Fond géochimique naturel des métaux lourds couramment observés dans les sols en France (Baize. 1997). | 24 |
| Tableau 3 : Valeurs limites de la concentration en plomb dans différents substrats et compartiments (e = salade, céleri, épinards) source : (Cellule inter-régionale d'épidémiologie d'intervention Rhône-Alpes-Auvergne Novembre 1999)..... | 37 |
| Tableau 4 : caractéristiques physico-chimiques des sols à 10 30 et 60 m de l'usine. | 61 |
| Tableau 5 : Composition des solutions digestives pour le test de bioaccessibilité UBM..... | 65 |
| Tableau 6 : Mean Bioaccumulation factors (BAF) of metal(loid)s in two earthworm species incubated in the soil sampled at different distances to the factory (10, 30 and 60 m). | 84 |
| Tableau 7: .Earthworm burrow systems (control column) characteristics and the data measured at the end of the experiment (5 weeks): burrow number and their continuity and water infiltration parameters within the galleries. | 86 |
| Tableau S8 : Soil physico-chemical characteristics at three distances: 10, 30 and 60 m. CEC and CaCO ₃ obtained from Cecchi et al (2008). | 98 |
| Tableau 9 : Soil characteristics, Pb concentrations in casts, earthworms and soils, concentration factor (CF) and anthropogenic fraction of Pb in soils (X _{ant}) expressed for each sampling point, in function of the distance from the factory. | 109 |
| Tableau 10: Composition of the digestive solutions used for the bioaccessibility test | 134 |
| Tableau 11 : Soil physico-chemical parameters of four gardens..... | 135 |
| Tableau 12 : Pb and Cd concentrations in vegetables (dry and fresh matters)..... | 137 |
| Tableau 13 : Metal bioaccumulation factors of vegetables dry and fresh matters | 139 |
| Tableau 14 : Bioaccessibility of Pb and Cd concentrations in vegetables | 140 |
| Tableau 15 Variations of Se rates by country | 157 |

| | |
|--|-----|
| Tableau 16 : Translocation factors (TF) calculated for leaves, stems, and seeds for each Se species exposure | 163 |
| Tableau 17 : Calculated maximum daily quantities of maize seeds (g d ⁻¹) exposed to Se in seleniferous regions that can be consumed without exceeding the TDI..... | 172 |
| Tableau 18 : pourcentage de bioaccessibilité des légumes dans quatre parcelles situé à proximité d'une usine de recyclage de batterie..... | 189 |
| Tableau 19 : évaluation du risque lié à la bioaccessibilité du sélénium dans une zone avec une concentration de 1 g L ⁻¹ pour une personne de 65 kg..... | 193 |
| Tableau 20 Daily per capita consumption in 2005 of fresh and dried cassava. Countries are classified from the highest to the lowest quantities consumed. (Cañigueral and Vanaclocha 2010)..... | 200 |
| Tableau 21 : Energetic contribution of cassava..... | 201 |
| Tableau 22: Percentage of protein in Flour and Gari after transformation of cassava and Mineral composition of fermented cassava products (ppm dry weight). (Oboh and Akindahunsi, 2003) | 204 |
| Tableau 23 : Effect of TME (Cd, Ni and Pb) on percentage sprouting of cassava on five different cassava varieties (TME 419, TMS 98/0505, TMS 98/0510, TMS 98/0581 and TMS 97/2205). (Ano et al. 2013) | 210 |
| Tableau 24 : Effect of TME (Cd, Ni and Pb) on number of cassava leaves per plant. (Ano et al. 2013) | 210 |
| Tableau 25 : Calculated maximum daily quantities of cassava tuber exposed to metals (g d ⁻¹ , dry weight) that can be consumed without exceeding the TDI..... | 213 |
| Tableau 26 : Valeurs limites de concentrations en plomb dans différents substrats et compartiments (e = salade, céleri, épinards), utilisées par la cellule inter-régionale d'épidémiologie d'intervention Rhône-Alpes-Auvergne Novembre 1999) | 248 |

Tables des matières

| | |
|--|----|
| Chapitre 1. (Introduction) : synthèse bibliographique, contexte scientifique global et objectifs de la thèse | 19 |
| 1.1 Les sols pollués par les métaux lourds et métalloïdes..... | 22 |
| 1.1.1 « Métaux lourds » et Origines des polluants inorganiques dans les sols. | 22 |
| 1.1.2 Origines. | 23 |
| 1.1.3 Les pollutions organiques, inorganiques et leurs caractéristiques. | 24 |
| 1.1.4 Pollutions en Europe | 25 |
| 1.1.5 Pollutions en France. | 25 |
| 1.1.6 Effets sanitaires de la pollution des métaux lourds | 26 |
| 1.1.7 Pollutions des sols | 27 |
| 1.2 Interactions entre les vers de terre et les ETM | 29 |
| 1.2.1 Historique et généralités sur les différentes espèces de vers de terre..... | 30 |
| 1.2.2 Taxonomie des vers de terre..... | 31 |
| 1.2.3 Ecologie des vers de terre..... | 32 |
| 1.2.4 Effets de la porosité des vers de terre sur les sols | 33 |
| 1.2.5 Effets des vers de terre sur la mobilité des ETM | 34 |
| 1.3 Transfert des métaux du sol vers la plante | 35 |
| 1.3.1 Divers scénarios de pollution des végétaux cultivés dans les jardins urbains ... | 35 |
| 1.4 Transfert des polluants des végétaux vers l’Homme. | 37 |
| 1.4.1 Concentration des métaux lourds dans l’organisme et conséquences..... | 38 |
| 1.4.2 Conséquences de la pollution métallique sur les l’Homme. | 40 |
| 1.5 Objectifs de la thèse : | 43 |
| Chapitre 2. Matériels et méthodes | 51 |
| 2.1 Présentation des sites d’études. | 53 |
| 2.1.1 La Société de Traitements Chimiques des métaux (STCM)..... | 53 |
| 2.1.2 Prélèvement des échantillons | 56 |
| 2.1.3 Préparation des échantillons..... | 57 |
| 2.1.4 Réalisation des colonnes | 58 |
| 2.1.5 Constitution des différents horizons de sol | 58 |

| | | |
|-------------|---|-----|
| 2.1.6 | Exposition des vers de terres | 59 |
| 2.2 | Les espèces de vers de terre utilisées | 59 |
| 2.2.1 | Lumbricus terrestris (Lt) | 59 |
| 2.2.2 | Aporrectodea caliginosa (Ac)..... | 60 |
| 2.2.3 | Analyse des caractéristiques physico-chimiques des sols..... | 61 |
| 2.3 | Minéralisation des échantillons sol, végétaux et vers de terre..... | 61 |
| 2.3.1 | Sol..... | 61 |
| 2.3.2 | Végétaux et vers de terre..... | 62 |
| 2.4 | Transfert sol plante culture en hydroponie..... | 63 |
| 2.4.1 | Culture du maïs en condition contrôlée..... | 63 |
| 2.5 | Préparation des échantillons de maïs | 64 |
| 2.6 | Biodisponibilité des ETM et impacts sur la santé humaine | 65 |
| 2.6.1 | Mesure de la bioaccessibilité gastro-intestinale..... | 65 |
| Chapitre 3. | Résultats & Discussions | 69 |
| 3.1 | Transferts des métaux lourds dans les systèmes sols-vers de terre : études des influences réciproques (vers/métaux et métaux/vers)..... | 71 |
| 3.1.1 | Introduction | 75 |
| 3.1.2 | Materials and Methods | 76 |
| 3.1.3 | Results | 81 |
| 3.1.4 | Discussion | 86 |
| 3.1.5 | Reverse effects of earthworm activities on pollutant's fate and soil physical properties..... | 91 |
| 3.1.5.1 | Metal(loid) fate in soils in function of depth..... | 91 |
| 3.1.5.2 | Soil aeration and infiltration water rates | 91 |
| 3.1.6 | Conclusions and Perspectives | 92 |
| 3.1.7 | Effet de ces vers de terre sur la mobilité des métaux dans le sol | 102 |
| 3.2 | Phytoabsorption (racinaire et foliaire) des métaux et métalloïdes | 125 |
| 3.2.1 | Introduction | 129 |
| 3.2.2 | Materials and methods | 131 |
| 3.2.3 | Results | 135 |
| 3.2.4 | Discussion | 141 |
| 3.2.5 | Conclusions and perspectives..... | 146 |
| 3.2.6 | Introduction | 155 |
| 3.2.7 | Materials and methods | 159 |

| | | |
|------------|--|-----|
| 3.2.8 | Results and discussion..... | 164 |
| | Conclusions et Perspectives..... | 184 |
| 3.3 | Scénarios d'exposition Bioaccessibilité, biodisponibilité des ETM de particules dans l'organisme, conséquences sanitaires..... | 185 |
| 3.3.1 | Bioaccessibilité du cadmium et du plomb issus des jardins potagers situé à proximité d'une usine recyclage de batterie..... | 188 |
| 3.3.2 | Bioaccessibilité du sélénium..... | 190 |
| | A socio-scientific analysis of the environmental and health benefits and potential risks of cassava crops production and consumption in the world..... | 194 |
| 3.3.3 | Introduction..... | 196 |
| 3.3.4 | Part I: Global characteristics of cassava and its interest for human nutrition .. | 197 |
| 3.3.5 | Part II: Cassava contamination, phytotoxicity and consequences on human health. 206 | |
| 3.3.6 | II-2. Risks of consuming cassava grown in polluted areas and natural cassava toxicity. 211 | |
| 3.3.7 | Part III: Environmental benefits of cassava cropping..... | 214 |
| 3.3.8 | Conclusions and perspectives..... | 216 |
| 3.4 | References..... | 233 |
| 3.5 | Valorisation des travaux..... | 237 |
| | □ Culture du manioc dans le monde: Analyse socioscientifique des opportunités environnementales et des risques, pour promouvoir la transition écologique. « http://reseau-agriville.com/cours/course/view.php?id=64 »..... | 239 |
| Annexe 1 : | | 241 |
| Annexe 2 | | 261 |

Glossaire :

AEE : Agence Européenne de l'Environnement

ANOVA : Analyse Of Variance

APSM: Affinerie de Pont Sainte Maxence

BARGE: BioAccessibility Research Group of Europe.

BCF: Bio-Concentration Factor

BF: Bioaccumulation Factor (Facteur de bioaccumulation)

DI: Daily intake

DREAL: Directions Régionales de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement

ETM : Elément Trace Métallique

GEF : Global Enrichment Factor

GF: Gastric Bioaccessibility

ICP-MS : Analyse par spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif.

ICP-OES: Induced Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry

ICPE: Installation Classée pour la Protection de l'Environnement

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

PCA : Principal Component Analysis

PPRT : Plan de Prévention des Risques Technologiques.

SOM : Soil Organic Matter

SSP: Sites et Sols Pollués

STCM : Société de Traitements Chimiques des Métaux.

TF: Translocation Factor

UBM: Unified Barge Method

VTR: Valeur Toxicologique de Référence

**Chapitre 1. (Introduction) : synthèse bibliographique,
contexte scientifique global et objectifs de la thèse**

Cette introduction générale a pour objectif de présenter les principaux concepts et questionnements développés dans la thèse et relatifs à la gestion durable environnement-santé des sols pollués par les métaux lourds. Ce travail de thèse vise tout d'abord à investiguer des questions de recherche novatrices en lien avec la compréhension des mécanismes biogéochimiques en jeu et également de s'inscrire de façon pragmatique dans le développement d'outils, de procédures opérationnelles pour la gestion durable des pollutions avec les populations concernées en relation avec des acteurs industriels et institutionnels et des jardiniers.

C'est pourquoi ce chapitre-1 débute avec une analyse bibliographique concernant les sols pollués, la biologie des sols, et certains organismes participant au bon fonctionnement de ses sols notamment les vers de terre qui sont des organismes ingénieurs et qui ont des fonctions très importante (comme on va le voir), pour le « bon fonctionnement » des sols etc. Puis présente les questions scientifiques visées tant en recherche fondamentale qu'en recherche appliquée dans une optique « Sciences & Société ».

1.1 Les sols pollués par les métaux lourds et métalloïdes

Dans cette partie, sont présentés les principaux polluants inorganiques observés dans l'environnement en France et en Europe : leur (éco)toxicité et leurs différentes sources naturelles et anthropiques. De la même façon seront abordés les oligoéléments (Se, Zn etc.), qui à forte concentration peuvent devenir (éco)toxiques. Quelques informations sont également apportées sur les différentes pollutions organiques environnementales.

1.1.1 « Métaux lourds » et Origines des polluants inorganiques dans les sols.

L'expression « métal lourd » désigne des métaux de numéros atomiques élevés, de densité supérieure ou égale à 5 g.cm^{-3} et qui forment des sulfures insolubles. Ces éléments sont aussi de façon plus scientifique souvent appelés éléments traces métalliques (ETM). Le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le cobalt (Co), le chrome (Cr), le mercure (Hg), le nickel (Ni) et le zinc (Zn) sont des ETM très souvent rencontrés dans l'environnement, et plus particulièrement en milieu urbain (Almasoud et al. 2014; McBride et al. 2014). D'autres éléments comme l'arsenic (As) ont des propriétés proches des métaux et sont nommés métalloïdes. L'arrêté du 02 Février 1998 définit les éléments inorganiques devant faire l'objet d'un contrôle par les installations classées (ICPE en France), il prend en compte : Pb, Cd, Hg, Ni, As, Co, Sb, Cr, Cu, Mn, V, Sn, Se, Te, Zn, Ti. (Tableau. 1) (Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes).

Tableau 1 : Contaminants inorganiques. Source BRGM 99-F-194.

| Produits | Polluants types |
|---------------------------------------|---|
| Métaux, métalloïdes et non métaux. | Pb, Cd, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ag, Hg, Ti As Se Sn Sb Te V, Bi |
| Anioniques et autres | Nitrates, Sulfates, Nitrites, fluorures-chlorures- cyanures |

1.1.2 Origines.

Les ETM sont naturellement présents dans les sols, l'air, l'eau, les océans, les plantes (Figure. 1), car ils proviennent du processus d'altération de la roche mère (Leveque et al. 2014). Les roches (lithosphère) peuvent ainsi renfermer des minéraux riches en métaux et métalloïdes. **Ils sont généralement retrouvés en très faible quantité dans l'environnement d'où l'appellation d'éléments traces** (Tableau. 2).

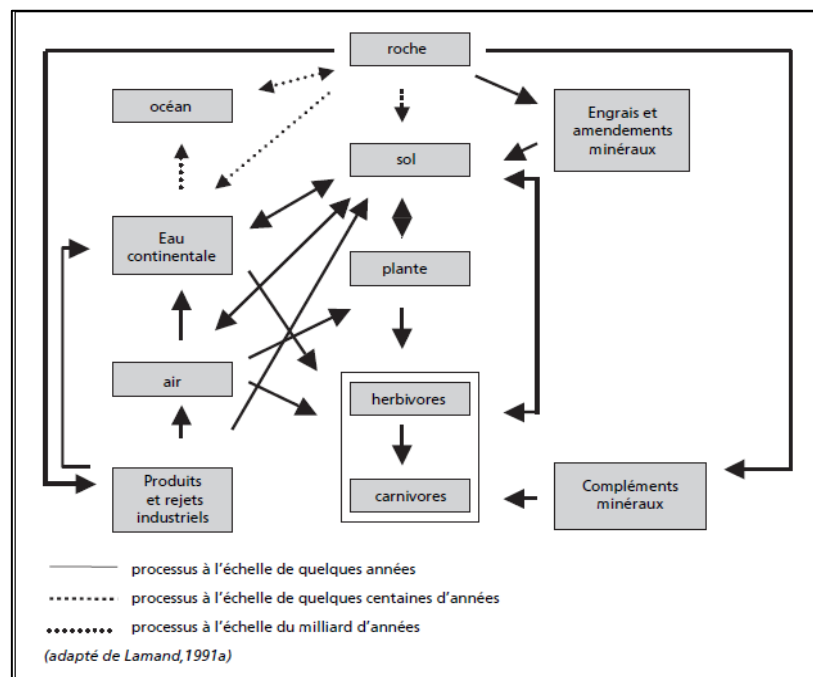


Figure 1: cycle des métaux lourds dans l'environnement d'après.

Toutefois, ces concentrations peuvent augmenter sous l'influence des activités humaines (Singh et al. 2011; Cheng et al. 2014) : stockage de déchets industriels et urbains (mines et fonderie de métaux non ferreux, décharges publiques), pratiques agricoles (fertilisation par des engrais phosphatés pouvant apporter du cadmium, composts urbains, déjections animales, boues de station d'épuration, etc.) (Micó et al. 2006; Jaradat et al. 2010; Cai et al. 2012). Les pollutions dues aux retombés atmosphériques (essence au plomb, poussière des industries métallurgiques, incinération d'ordures ménagères) (Goix et al. 2015; Lévêque et al. 2015; Austruy et al. 2016).

Tableau 2 : Fond géochimique naturel des métaux lourds couramment observés dans les sols en France (Baize, 1997).

| Éléments | Cd | Co | Cr | Cu | Ni | Pb | Zn | Mn | Fe |
|---|-----|------|------|------|------|------|-----|------|-----|
| Concentrations moyennes dans les sols français (mg kg ⁻¹ MS) | 0.4 | 17.1 | 75.0 | 14.9 | 41.3 | 64.8 | 149 | 1585 | 3.6 |

1.1.3 Les pollutions organiques, inorganiques et leurs caractéristiques.

Il existe plusieurs types de polluants susceptibles d'altérer la qualité de l'environnement. Parmi les différentes sortes de polluants on retrouve deux grandes catégories: (i) des polluants organiques susceptibles pour certains (selon leur structure chimique et leurs interactions avec les constituants du milieu) d'être progressivement dégradés, tels que les hydrocarbures, solvants organiques, produits phytosanitaires et (ii) les polluants inorganiques persistants qui font l'objet de notre étude ; essentiellement représentés par des métaux lourds. **Ils sont une préoccupation majeure du fait de leur (éco)toxicité, leur persistance dans les sols et leur présence très fréquente dans les zones urbaines les plus peuplées (Jianshu et al. 2014; Wu et al. 2015 ; Alloway 1995). Au cours des dernières décennies, la quantité de métaux lourds d'origine anthropique rejetée dans les sols de notre planète a fortement augmenté ; les quantités suivantes ont été estimées par Singh et al. (2003) : 783.000 tonnes de plomb, 22.000 t de cadmium, 939.000 tonnes de cuivre et 1.350.000 t de zinc. Comme illustré par la figure 2 suivante, les sources d'ETM sont très nombreuses.**

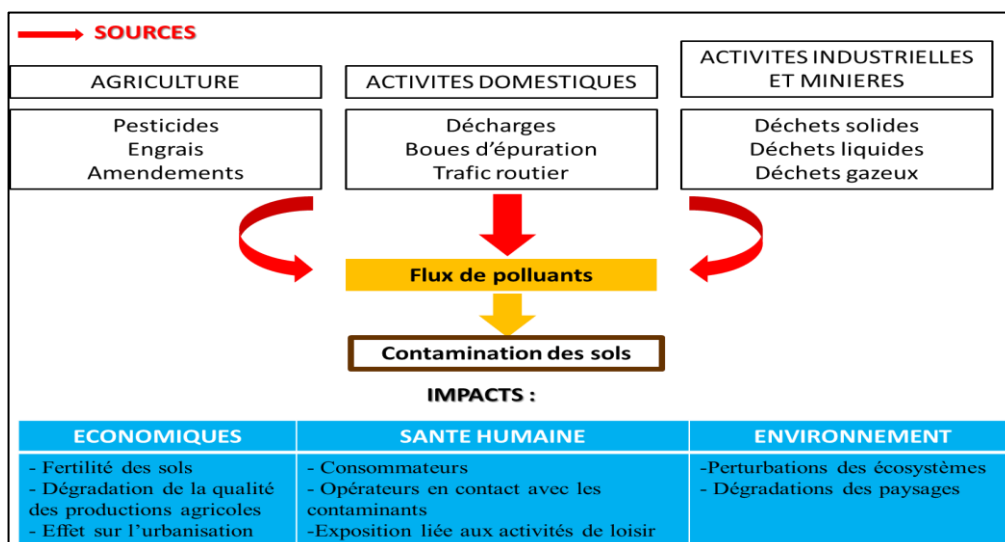


Figure 2 : Les diverses sources de pollutions des sols et leurs conséquences (Dumat & Austruy, 2014).

1.1.4 Pollutions en Europe

La contamination des sols reste une préoccupation majeure en Europe, en raison de son passé industriel. Selon l'Agence européenne de l'environnement (AEE), le nombre de sites sur lesquels des activités polluantes ont eu lieu par le passé en Europe était estimé à quasiment 3 millions en 2006. Un peu plus de 8 % de ces sites (soit 242 000 sites) étaient estimés contaminés et nécessitant des mesures urgentes de réhabilitation. **Les contaminants le plus souvent identifiés dans les sols et dans les nappes des sites contaminés en Europe en 2006 étaient alors des métaux lourds et métalloïdes (près de 40 %).**

1.1.5 Pollutions en France.

Un rapport du commissariat général au développement durable en partenariat avec la direction régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement (DREAL) a recensé en 2013 plus de **4142 sites et sols pollués (SSP)** en France. Les sites et sols pollués sont définis comme nécessitant une action des pouvoirs publique. **260.000 sites anciennement pollués ont effectivement subi un aménagement des pouvoirs publics en France en 2013.** Ce sont les anciennes régions minières et les régions les plus urbanisées qui concentrent le plus de SSP. L'Île-de-France, le Nord Pas de- Calais et Rhône-Alpes comptabilisent ainsi à elles seules 40 % des SSP (soit environ 1 600 sites).

Globalement à l'échelle nationale début 2012, près de 25 % des sols et des eaux des sites inventoriés dans Basol (Base de données sur les sites et sols pollués, ou potentiellement pollués, appelant une action des pouvoirs publics, à titre préventif ou curatif) sont pollués par les métaux et métalloïdes et près de 65 % par les différentes familles d'hydrocarbures, à savoir les hydrocarbures chlorés (environ 18 %), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (quasiment 15 %) et les autres hydrocarbures (33 %). **Trois métaux sont particulièrement présents : tout d'abord, le plomb signalé dans 17 % des sols et dans 9 % des nappes, le chrome et le cuivre identifiés dans 14 % des sols et dans 7 % des nappes.** Avec le développement ces dernières années des bases de données nationales sur la qualité des sols telles que BASOL, RMQS, les informations sur la nature et la répartition des polluants sont de plus en plus robustes.

1.1.6 Effets sanitaires de la pollution des métaux lourds

Les métaux lourds peuvent causer plusieurs effets délétères chez l'Homme et affecter différents organes cibles comme le cerveau, les reins, le foie etc., mais aussi différents systèmes comme le système nerveux, le système cardiovasculaire et le système reproducteur (Tang et al. 2016). Gollenberg et al. (2010) ont constaté une perturbation des hormones reproductrices chez des jeunes filles impubères, suivit d'une réduction de la fertilité après avoir atteint l'âge favorable à la reproduction (Chang et al. 2006), caractérisée par des anomalies menstruelles (Tang and Zhu 2003). Une étude réalisée par Eum et al. (2014) sur les concentrations en plomb osseux sur 621 femmes a démontré que le Pb pouvait contribuer à de nombreux problèmes de santé ultérieurement dont une ménopause précoce. Des mesures préventives ont donc en particulier été prises par les pouvoirs législatifs afin de réduire l'exposition professionnelle au plomb.

Dans des entreprises ICPE telle que la STCM, il est indispensable de mettre en place des mesures de prévention des risques liés aux émissions. Dans ce contexte, des bases de données des plombémies ont été créées afin de mieux comprendre et de pouvoir anticiper in fine les risques liés aux différents facteurs d'exposition en fonction des différents postes d'affectations des travailleurs, par exemple de l'ancienneté dans la société ou des anciennes activités du salarié nouvellement recruté. C'est le cas effectivement pour la STCM qui m'a confié dans le cadre de la thèse un travail d'analyse statistique des données confidentielles et anonymées des employées de l'une de ses usines en France : l'Affinerie de Pont Sainte Maxence (APSM) afin de révéler les facteurs qui favorisent l'exposition des salariés de l'usine pour cibler des mesures de prévention. Des liens statistiques ont été révélés entre la plombémie des employés et certains postes d'activité et de constater qu'un facteur comme **l'ancienneté dans la société n'était pas directement corrélé à une plombémie élevée**. Finalement, en dépit de certains facteurs comme le poste d'affectation qui a un effet direct sur la plombémie des employés ; les analyses statistiques ont surtout éclairé l'impact important des comportements à risque (comme fumer pendant les heures de travail pour les employés situés à des postes ou ne pas respecter les consignes de sécurité) sur la plombémie des salariés. **Ce travail est décrit de manière plus précise en annexe 1, mais il ne sera pas présenté dans son intégralité puisqu'il comporte des informations confidentielles.**

1.1.7 Pollutions des sols

Les sols peuvent être dégradés de diverses manières : stockage de déchets, différents épandages, etc.). Les émissions des particules métalliques dans l'environnement induites par de nombreuses activités anthropiques posent des questions dans le domaine de la santé, mais aussi de l'environnement (Goix et al. 2015; Lévêque et al. 2015; Austruy et al. 2016). Ces émissions de particules métalliques engendrent en effet des accumulations des métaux lourds dans les sols et l'environnement à proximité et même des impacts plus lointains selon les facteurs climatiques, pédologiques ou de relief.

Le Pb, Cd, Cu, As sont des polluants métalliques couramment retrouvés dans les écosystèmes (Wu et al. 2015). Tous persistants, certains sont (éco)toxiques même à faible concentration (Wongsasuluk et al. 2014) comme cela a été démontré par exemple dans le cas des particules riches plomb émises dans l'environnement par diverses entreprises (Jarup 2003; Hernández-Ochoa et al. 2005).

Dans de nombreux pays et en France en particulier, la réglementation a été récemment renforcée pour améliorer la gestion de l'(éco)toxicité induite par les substances chimiques (règlement REACH CE 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil du 18 Décembre 2006; Système global harmonisé). Mais, dans le cas des métaux et métalloïdes persistants, une pollution significative à l'échelle globale des écosystèmes est observée, due en particulier aux activités passées (en Europe très souvent), ou actuelles dans le monde (cas des pays comme la Chine, l'Inde, le Pakistan, etc.) dans certains pays sans mise en œuvre de techniques efficaces pour réduire les émissions vers l'environnement (contrairement à la France, où la réglementation sur les émissions s'est renforcée dans les ICPE). Le plomb, classé comme une substance préoccupante, est émis dans l'environnement notamment par les activités de recyclage actuellement (Donisa et al. 2000; Goix et al. 2015) ; il a longtemps été émis dans l'atmosphère par l'essence qui a ainsi pollué pendant des décennies les zones urbaines et les bordures des axes routiers.

Suite à l'interdiction du plomb dans l'essence, à l'amélioration des procédés et au renforcement de la réglementation, les quantités totales de plomb d'origine anthropique émis dans l'environnement ont fortement diminué au cours de ces dernières années (Glorennec et al. 2007). Mais, en raison de la persistance des métaux lourds dans l'environnement, un grand nombre de friches industrielles ou de sols de jardins impactés par des retombées atmosphériques passées de particules riches en polluants sont désormais contaminés (Uzu et al. 2010; Schreck

et al. 2011; Foucault et al. 2013). Ainsi, l'excès de polluants inorganiques peut induire une dégradation de la qualité des sols en particulier dû à leurs effets écotoxiques sur les microorganismes (Bérard et al. 2015), ce qui peut avoir des conséquences négatives sur les services écosystémiques tels que la biodégradation de la matière organique ou la production végétale (Austruy et al. 2016). Les organismes ingénieurs du sol tels les vers de terre sont également impactés par ces pollutions (Lévêque et al. 2015). Ces métaux lourds peuvent plus largement causer des risques environnementaux et sanitaires. En conséquence, dans un contexte de développement durable, la gestion raisonnée des friches industrielles ainsi que la surveillance des zones susceptibles d'être contaminées (zones à risques) est nécessaire (Schreck et al. 2012; Foucault et al. 2013). Le débat est actuellement ouvert avec la nouvelle réglementation d'urbanisme (ALUR) sur la reconquête des friches industrielles. Le Sénateur Vandierendonck a porté en 2014 un amendement déterminant dans le cadre de l'examen du projet de loi ALUR visant à introduire dans la loi des dispositions destinées à faciliter la reconquête des friches industrielles. Cet amendement a été adopté à l'unanimité par le Sénat. Ces dispositions permettent de doter les collectivités territoriales d'une véritable boîte à outils afin de répondre à deux impératifs : le développement de nouveaux programmes d'aménagement urbain, intégrant notamment des opérations de logements, et la limitation de l'étalement urbain. En France, 260 000 terrains ont connu par le passé une activité industrielle, représentant environ 87 000 hectares, soit l'équivalent de 9 fois la superficie de Paris. Seuls 5 000 sites font l'objet d'un suivi particulier, en termes de surveillance et de diagnostic de la part des pouvoirs publics.

Or, une étape de remédiation et une étape de re-fonctionnalisation des sols sont souvent indispensables pour atteindre une qualité des sols compatible avec les utilisations visées (Wong et al. 2006). D'autre part, **les activités de jardinage ont fortement augmenté pour des raisons économiques, sociales, sanitaires et politiques dans le monde** (Xiong et al. 2016). Produire des légumes de qualité est une forte source de motivation pour les jardiniers dont le but est de consommer des aliments sains comme on peut le constater avec la multiplicité des jardins collectifs dans les grandes villes (Pourias et al. 2015). Des techniques biologiques de remédiation et/ou gestion des sols pollués, efficaces, peu coûteuses et respectueuses des sols doivent donc être de plus en plus développées. Dans un contexte où la pression urbaine laisse progressivement de moins en moins de sols fertiles dédiés aux cultures alimentaires : érosion des sols fertiles ! En effet, dans le monde et plus particulièrement en France où la pression foncière est forte, la gestion raisonnée des sites industriels en zones urbaines ou péri-urbaines présentant des pollutions historiques des sols en métaux et métalloïdes revêt des enjeux

importants en termes de maîtrise des risques environnementaux et sanitaires et de gestion de la ressource sol. A Toulouse par exemple, le site de la Cartoucherie a été réhabilité pour créer un éco-quartier en cœur de ville. Cependant, les méthodes d'évaluation des risques et de la qualité des sols renseignent rarement sur l'ensemble des aspects agronomiques, (éco)toxicité et sanitaires. Il en va de même pour les techniques visant à réduire les impacts négatifs des polluants. Cette vision partielle des différents avantages et inconvénients des procédures de gestion et/ou remédiation des sols pollués peut conduire à des choix peu judicieux. Par ailleurs, la perception des risques liés à la pollution historique des sols par des professionnels et les riverains des sites industriels concernés n'est pas toujours raisonnée à partir de mesures objectives des transferts et impacts des polluants. Ces aspects de gestion raisonnée et pluridisciplinaire des sites et sols pollués recèlent encore de forts enjeux en termes d'innovation.

1.2 Interactions entre les vers de terre et les ETM

Le sol est de moins en moins considéré comme une simple surface dont l'utilité se limite à l'apport de nutriments nécessaires à la croissance des plantes (Lavelle and Spain 2001). En effet, le sol est une matrice vivante et multidimensionnelle qui renferme une très grande biodiversité d'organisme caractérisée par un ensemble complexe de microorganismes (Foster 1988), champignons, faune et flore qui interagissent tous avec les composantes organiques et inorganiques du sol (Bender et al. 2016). Cet ensemble complexe d'organisme vivant dans le sol participe de manière importante au bon fonctionnement de ce dernier car c'est grâce à leurs différentes activités finalement complémentaire, qu'est possible en particulier la dégradation progressive de la matière organique à la base de nombreux cycles biogéochimiques naturels (Figure. 3).

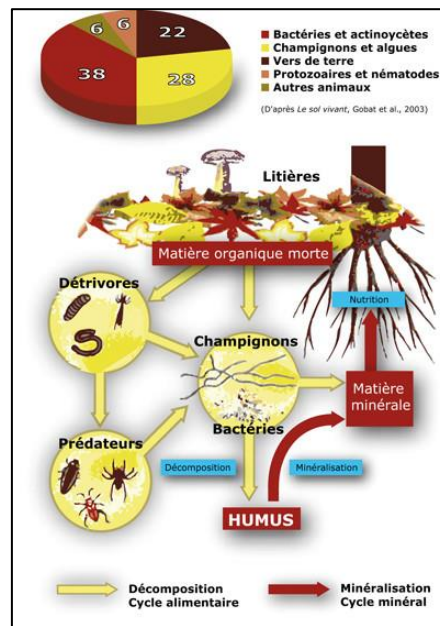


Figure 3 : Organismes vivants dans le sol participant à la dégradation de la matière organique (Gobat et al. 2003)

1.2.1 Historique et généralités sur les différentes espèces de vers de terre.

Les vers de terre ont toujours attiré l'attention des hommes. Leurs effets bénéfiques sur la fertilité des sols étaient déjà connus dans l'Égypte antique où ils étaient déclarés sacrés par la reine Cléopâtre (69 - 30 av. J.-C.), rendant passible de la peine de mort toute extraction du sol. De grands philosophes grecs tels Aristote (384 – 322 av. J.-C.) reconnurent aussi leur vertu en les qualifiant « d'intestins de la terre ». Cependant, du 17^{ème} siècle au 20^{ème} siècle, ils furent souvent considérés comme nuisibles, nécessitant d'être éradiqués des sols. Ils seront heureusement par la suite réhabilités au travers d'ouvrages de grands naturalistes tels que Darwin (1881). Depuis le début du 20^{ème} siècle jusqu'à aujourd'hui, de nombreuses expériences ont démontré l'effet important des vers de terre sur la structure et la fertilité du sol, la croissance des plantes et plus largement divers services écosystémiques (Lavelle et al. 2006; Capowiez et al. 2009; Capowiez et al. 2012; Crumsey et al. 2015).

1.2.2 Taxonomie des vers de terre

Les vers de terre appartiennent au sous ordre des lombrics (*Lumbricina*), sous division de la sous-classe des Oligochètes (*Oligochaeta*) appartenant à l'embranchement des annélides (*Annelidae*). Les vers de terre représentent plus de la moitié des 6000 espèces décrites chez les oligochètes et regroupent un ensemble de vers terrestres, arboricoles et aquatiques. Très répandus, ils se retrouvent dans la plupart des régions du monde, à l'exception des milieux climatiques extrêmes à l'image des déserts ou encore des régions constamment enneigées ou recouvertes de glace. La diversité des espèces de vers de terre rend difficile les généralisations sur leur impact sur le sol : chaque espèce a ses spécificités en termes de comportement et impact sur le sol. Cependant, dans son ouvrage référençant les vers de terre en France, [Bouché \(1971\)](#) a distingué 3 classes écologiques distinctes de vers de terre, suivant des paramètres morphologiques et comportementaux (physiologiques) reflétant leurs modes de vie et activités dans le sol: (1) les épigés, (2) les anéciques et (3) les endogés. La Figure 4 présente les 3 grandes familles de vers de terre, leurs zones de mobilité dans les sols et leurs principales actions sur les MOS.

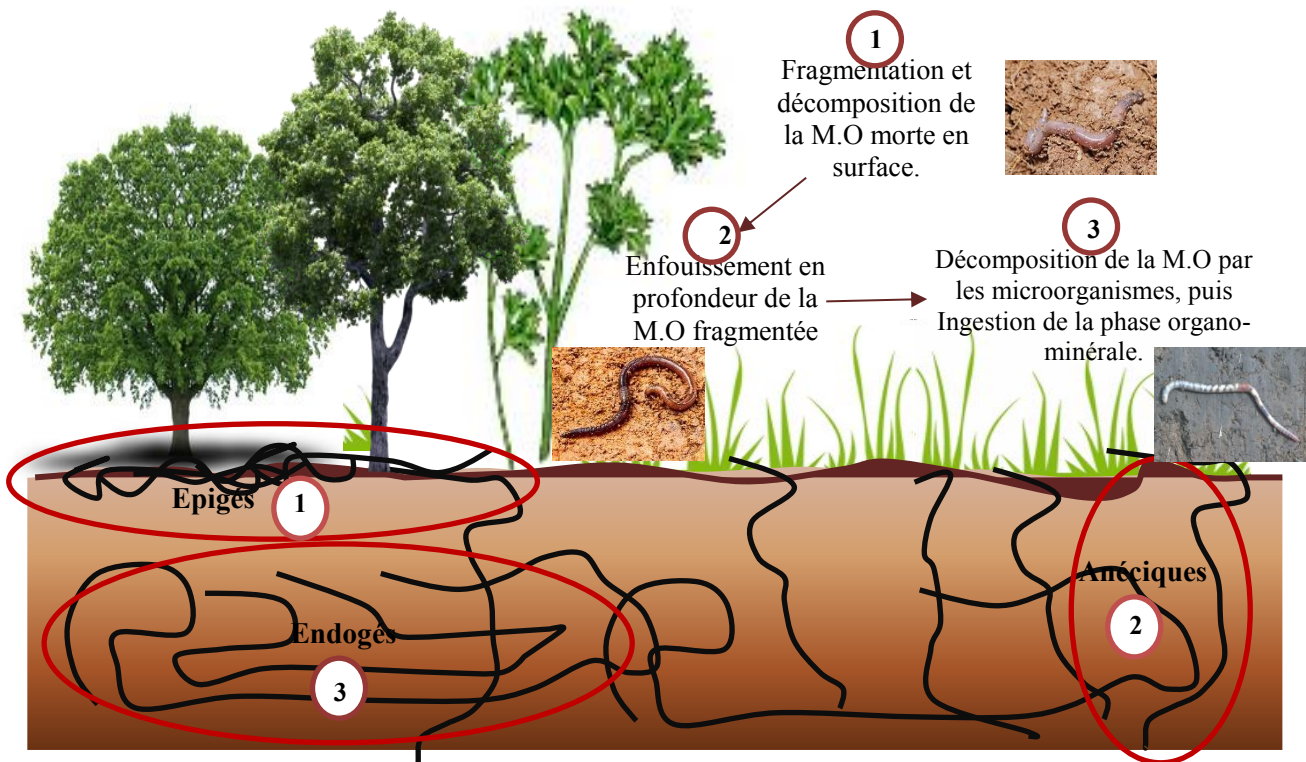


Figure 4 : Localisation des trois catégories écologiques de vers de terre anécique, épigé et endogé et leurs actions sur les MOS.

1.2.3 Ecologie des vers de terre

La classe des **épigés**, décrite par [Bouché \(1971\)](#), concerne les vers de terre vivant à la surface du sol (Figure. 4), dans la litière (en dehors de la phase minérale du sol). Ces vers de terre, généralement de petite taille et fortement mobiles, possèdent une forte pigmentation qui leur confèrent une coloration rouge foncé leur permettant de se dissimuler dans la litière de feuilles mortes et les déjections animales dans lesquelles ils vivent. Ces vers de terre, de par leur régime alimentaire, vont être responsables de la décomposition et de la fragmentation de la matière végétale morte (feuille, tige, écorces) et de toute autre matière organique résiduelle à la surface du sol.

La classe des **anéciques** (Figure. 4), regroupe les vers de terre vivant dans le sol et créant des galeries verticales. Ces vers de terre à pigmentation brune, parfois irisée (mimétisme crépusculaire) possèdent une taille beaucoup plus importante que les vers de terre épigés. Ils sont caractérisés par une forte activité dans le sol, observable par le réseau complexe de galeries et les nombreux turricules (déjections) qu'ils déposent à la surface du sol. Ces vers de terre sortent généralement la nuit, afin de limiter la prédation. Ils vont prélever la litière superficielle, qu'ils enfouissent dans leurs galeries. Ils réutilisent les mêmes galeries pendant un certain temps, à la différence des endogés.

La classe des **endogés** (Figure. 4) regroupe des vers de terre, de taille petite à intermédiaire qui sont souvent caractérisés par un manque de pigmentation. Cette caractéristique est répandue dans la faune édaphique de profondeur. Vivant en permanence dans le sol, dans des galeries horizontales, ils se nourrissent de la phase organo-minérale du sol (géophagie), de fragments de racines mortes (rhizophagie), mais aussi de la microflore et mésofaune qui sont ingérées avec le sol. Cependant, leurs habitudes alimentaires sont hétérogènes et dépendent fortement de leur préférence pour le type de matière organique ([Curry and Schmidt 2007](#)). Les turricules résultant de leur activité métabolique sont déposés dans les galeries souterraines, qui sont donc peu réutilisées.

Dans la plupart des écosystèmes, les vers de terre sont des facteurs clés pour la fragmentation des matières organiques ([Wolters 2000](#); [Lavelle and Spain 2001](#); [Amossé et al. 2015](#)). On estime ainsi qu'ils sont capables d'ingérer et transformer la quasi-totalité de la litière superficielle produite annuellement ([Suárez et al. 2006](#)). L'activité conjointe de ces 3 classes écologiques de vers de terre permet in fine la dégradation fine des matières organiques ainsi

que leur enfouissement dans le sol selon la chronologie suivante : (i) dans un premier temps, la litière en surface du sol va être fragmentée par les vers de terre épigés ; (ii) puis, cette litière fragmentée, sera à son tour consommée par les vers de terre anéciques, la dégradant encore plus et permettant son enfouissement dans le sol ; (iii) cette matière organique fortement dégradée va poursuivre son cycle en étant ingérée par les vers de terre endogés et subissant un nouveau processus de dégradation et de dissolution. L'activité conjointe des vers de terre contribue ainsi à l'incorporation du carbone dans les sols, à la dynamique des métaux liés aux matières organiques dans les couches les plus profondes du sol favorisant ainsi l'augmentation de la concentration de ces derniers dans les horizons inférieurs du sol, et donc finalement va ainsi permettre tous les processus bio-physico-chimiques décrits ci-après.

1.2.4 Effets de la porosité des vers de terre sur les sols

La création de galeries dans les sols par les vers de terre, va fortement influencer la porosité de ce dernier. La porosité est le résultat de l'agencement entre les espaces vides et des agrégats de sol de tailles différentes. Cette modification de la porosité va avoir une influence au niveau de la croissance des plantes en modifiant les échanges gazeux, la résistance à la pénétration racinaire, la composition biotique de la rhizosphère mais surtout aussi l'infiltration et la rétention de l'eau (Shipitalo and Bayon 2004). **Les pores ainsi formés, remplis d'eau ou d'air vont servir d'habitat à de nombreux organismes tel que des bactéries, des protozoaires** (Figure. 3) ou encore des nématodes dans la phase aqueuse et des champignons, racines et microarthropodes dans la phase gazeuse (Brown et al. 2000). En plus d'influencer les habitats de ces organismes, la porosité du sol va également influencer la capacité de rétention de l'eau par le sol. La capacité de rétention de l'eau d'un sol résulte essentiellement des forces de tension superficielles exercées sur les molécules d'eau dues aux effets de liaison autour des particules de sol et aux effets de capillarités dans les pores (Gobat et al. 2004). En modifiant la porosité du sol, par la création de galeries, mais aussi en compactant ou décompactant le sol (Blanchart et al. 1997; Blanchart et al. 1999), les vers de terre peuvent donc significativement influencer l'espace entre les particules de sol (porosité) et donc sur la capacité de rétention de l'eau par le sol. Enfin, la modification de la porosité va également influencer sur les processus

métaboliques, en changeant notamment les concentrations en O₂, favorisant plus ou moins les processus métaboliques anaérobiques (Brown et al. 2000; Lavelle and Spain 2001).

A noter, que l'influence de l'activité des vers de terre sur la porosité du sol est très dépendante de la catégorie écologique du vers de terre. Une série d'expériences, montre que les galeries créées par des vers de terre anéciques ou endogés ont une bonne conductivité hydraulique. Cependant, l'activité principale des vers de terre endogés ayant principalement lieu sous la surface du sol, il en résulte la création de galeries horizontales souvent obstruées par des turricules. Par conséquent, ils n'influencent probablement pas directement le transport de l'eau dans le sol (Shipitalo and Bayon 2004). C'est pour cette raison que la plus plupart des recherches ce sont centrées autour des vers de terre anéciques tel que *Lumbricus terrestris*, ayant probablement la plus grande action au niveau de la conductivité hydraulique dans le sol, dû à la création de galeries verticales, partant de la surface et allant vers les profondeurs du sol. Les vers sont donc caractérisés par leur forte activité de bioturbation et l'excrétion de quantités importantes de turricules déposés sur la surface ou dans la profondeur du sol grâce à leurs nombreux réseaux de galeries (Le Bayon et al. 2002).

1.2.5 Effets des vers de terre sur la mobilité des ETM

Les vers de terre sont des organismes ingénieurs des écosystèmes. Ils sont susceptibles de jouer des rôles importants liés à la formation, la structure et la fertilité des sols (Jouquet et al. 2006). **Ils représentent la plus grande biomasse animale des sols dans la plupart des écosystèmes terrestres ils peuvent atteindre jusqu'à 1332 individus.m⁻²** (Cluzeau et al. 2012). Selon Sivakumar (2015), plus de 80 % de la biomasse des invertébrés terrestres est composée de vers de terre. De plus, les vers de terre participent à la redistribution des matières qui peut être liée au ETM sur le profil de sol, à la transformation et à la minéralisation des matières organiques, améliorant ainsi leur recyclage (Boyer et al. 2010) et leur décomposition par les microorganismes du sol (Jusselme et al. 2013). Ce processus de minéralisation de la matière organique par les microorganismes pourra ainsi favoriser la solubilisation des ETM. L'ensemble des éléments ainsi minéralisés pourront ainsi être plus mobile dans le sol.

1.3 Transfert des métaux du sol vers la plante

Avec la pression urbaine et l'augmentation de la population mondiale estimée à 9,3 milliards d'individus en 2050 (FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/>). Les activités de jardinage à l'échelle mondiale se développent de plus en plus dans les villes avec l'objectif de produire des aliments sains et frais (McBride et al. 2014; Galt et al. 2014). Pour produire de la nourriture saine (Gojard and Weber 1995), les jardiniers urbains et péri-urbains doivent plus particulièrement être attentifs aux potentielles sources de pollutions liées aux activités anthropiques présentes ou passées : installations industrielles, voies de transport, etc.

1.3.1 Divers scénarios de pollution des végétaux cultivés dans les jardins urbains

La pollution des végétaux peut se faire selon divers scénarios. Dans certaines régions du monde, la contamination des sols des jardins potagers par les ETM peut entraîner des effets toxiques (Alloway 2004; Rahman et al. 2014). Les sols peuvent être souvent pollués par des émissions provenant d'activités industrielles telles que les fonderies (Shahid et al. 2013a) ou la circulation routière (Álvarez-Ayuso et al. 2012; Reis et al. 2014; Xiong et al., 2016). Des études dans les zones urbaines ont montré que les niveaux de particules atmosphériques en suspension peuvent être largement augmentées du fait des émissions des usines (Jang et al. 2007; Fernández-Camacho et al. 2012). Pour limiter les émissions des particules en suspension provenant des usines, différents dispositifs de piégeage peuvent être utilisés, mais ces systèmes de traitement ne sont pas toujours efficaces, en particulier pour les particules métalliques fines et ultrafines qui peuvent ne pas être retenues par ces dispositifs de filtration (Schaumann et al. 2004; Biswas and Wu 2005) et, finalement s'échapper et devenir des polluant pour l'environnement (Waheed et al. 2011).

Les métaux lourds issues de ces différentes sources peuvent s'accumuler dans les sols et ainsi interagir plus ou moins avec les constituants tels que les argiles, les matières organiques, etc. Ceci va avoir des conséquences sur leur mobilité et biodisponibilité. Il est souvent observé une accumulation des métaux dans la fraction granulométrique fine du sol (Quenea et al., 2006). En fonction de ces liaisons fortes ou faibles, les métaux lourds vont donc être plus ou moins phytodisponibles (Sungur et al. 2014) et donc induire des pollutions des végétaux cultivés. Ces phénomènes d'absorption dépendent des espèces végétales, de la spéciation des métaux lourds, des conditions physico-chimiques et peuvent impacter de manière significative ou pas les

différentes parties des végétaux (compartimentation dans les végétaux) on va alors parler de compartimentation préférentielle des métaux lourds dans la plante.

En plus du transfert des métaux lourds du sol vers la plante, le transfert atmosphère-plante peut également augmenter la concentration de ces derniers dans la plante et ainsi modifier la qualité des végétaux consommés par l'homme ou les animaux (Xiong et al. 2014). Lorsque les métaux et métalloïdes ont été absorbés par les racines ou les feuilles des végétaux, ils peuvent se concentrer de manière variable ou préférentielle dans les différentes parties de la plante en fonction de leurs spéciations (la forme chimique des différents éléments) (Mombo et al. 2015b). Les organes dont la surface est en contact avec la solution du sol (racines) et ceux en contact avec l'atmosphère (feuilles, tiges) seront les voies d'entrée prépondérantes du polluant au sein du végétal. Finalement selon le mode de transfert de métaux vers la plante, les caractéristiques des sources de métaux, les biotransformations qui peuvent se produire dans la plante, etc. in fine le métal peut être plus ou moins biodisponible pour l'homme. C'est tout l'intérêt des mesures de bioaccessibilité des ETM que de permettre d'intégrer tous ces paramètres.

Les racines permettent l'absorption de l'eau et des sels minéraux présents dans la solution du sol et indispensables à la croissance des plantes. L'eau et les solutés se déplacent librement de la solution du sol vers l'intérieur des racines. Pour que les molécules rejoignent les vaisseaux de circulation de la sève brute (vaisseau du xylème), elles doivent traverser une membrane, l'endoderme ou cadre de Caspary, constituée de cellules cireuses, en s'insinuant dans les espaces interstitiels (symplaste). Seuls les composés hydrophiles pourront transiter par le symplaste, alors que les composés lipophiles s'accumuleront au niveau du cadre de Caspary. Ainsi, les polluants libres contenus dans la solution du sol suivent de manière passive ou active l'eau par convection jusqu'au xylème.

Les feuilles jouent un rôle d'interface majeur entre l'atmosphère et la plante. Elles sont recouvertes d'une fine couche protectrice appelée cuticule (dont la fonction primaire est de limiter les pertes d'eau mais aussi l'infection par les agents pathogènes), constituée d'une fine couche de cires hydrophobes. Par ailleurs, en plus de la cuticule, des ouvertures microscopiques, appelées stomates, ont un caractère fortement hydrophile et assurent la régulation du courant de transpiration au travers de la plante. Deux voies de passage se présentent donc au niveau de la feuille : (i) les stomates, pour les molécules hydrophiles et (ii) la cuticule pour les substances lipophiles. Ces voies de transfert vont permettre l'absorption de certains polluants selon leur degré de lipophilicité. Les métaux utilisant cette voie de transfert foliaire ne subiront pas les mêmes transformations (phylosphère/rhizosphère ; les

biotransformations dans la plante seront aussi différentes) que ceux qui transitent par le système sol-racines.

Tableau 3 : Valeurs limites de la concentration en plomb dans différents substrats et compartiments (e = salade, céleri, épinards) source : (Cellule inter-régionale d'épidémiologie d'intervention Rhône-Alpes-Auvergne Novembre 1999)

| Valeur limite | le sol (mg/kg MS) | Eau ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | Air ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) | Fruits (mg/kg poids frais) | Légumes (mg/kg poids frais) |
|---------------|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Plomb | 100 | 0,1-1,0 | 0,1-1,0 | 0.3 | 0.5e |

1.4 Transfert des polluants des végétaux vers l'Homme.

Une des principales voies d'entrée des polluants métalliques dans l'organisme humain est la consommation d'aliments aussi bien la consommation d'animaux (pour l'apport protéique), que des végétaux (apport énergétique) (Radwan and Salama 2006). Or, les fruits et légumes représentent les principaux aliments consommés par la population mondiale. L'Organisation Mondiale de la Santé (1990) recommande d'ailleurs une consommation d'au moins 400 g de fruits et légumes par jour (Oyebode et al. 2014).

En fonction de l'environnement ou l'animale va être élevé et surtout de ce qu'il va consommer pendant sa croissance, il sera plus ou moins exposé aux métaux lourds et pourra en conséquence en absorber. Ces polluants, pourront à leur tour se retrouver dans l'organisme de l'animal, où ils seront plus ou moins dégradés en fonction de leurs concentrations et leurs spéciations chimiques. La maladie de minamata au Japon avec la contamination des poissons au mercure, puis le transfert de cet élément des poissons vers l'homme est une bonne illustration de ce phénomène de bioaccumulation par la chaîne alimentaire. Un des problèmes majeurs des métaux est en effet leurs capacités à persister dans l'environnement ce qui favorise ensuite la bioaccumulation dans différents organes cibles comme les reins, le foie, etc.

Pour les végétaux, le principe est le même, en fonction de leur environnement de croissance, ils vont plus ou moins accumuler les métaux qui se trouvent dans le sol ou dans l'atmosphère proche de l'endroit où ils poussent (Shahid et al. 2013b; Mombo et al. 2015a). Quelque-soit l'organisme vivant (animal ou végétal) dans lequel les métaux vont s'accumuler,

à la fois la spéciation chimique et la compartimentation dans la cible, vont influencer la biodisponibilité et la toxicité dans le cas d'une consommation alimentaire. Cette exposition humaine dépendra in fine de la concentration en polluant dans la matrice, de sa biodisponibilité et des quantités consommées. Ces diverses influences sont prises en compte de façon intégrée lors des calculs d'évaluations quantitatives des risques sanitaires.

1.4.1 Concentration des métaux lourds dans l'organisme et conséquences.

Les maladies dues à l'absorption (l'accumulation) des métaux dans l'organisme humain sont nombreuses. Ces maladies dues à la consommation des aliments pollués seront abordées après un premier chapitre consacré aux notions de bioaccessibilité et bioaccumulation.

La biodisponibilité orale est la fraction de composé ingérée qui est absorbée et atteint la circulation systémique (Cave et al. 2006). La biodisponibilité absolue peut donc se définir comme le ratio de la dose absorbée sur la dose administrée (Ruby et al. 1996; Basta and Gradwohl 2000). La notion de biodisponibilité relative vise à comparer l'absorption d'un composé sous deux spéciations, tel que le carbonate de Pb et l'acétate de Pb, ou du même composé administré par différents milieux tels que la nourriture, le sol ou l'eau (Kelley et al. 2002). Cette notion est importante car un calcul de risque revient à mettre en relation les doses d'exposition et les valeurs toxicologiques de références (VTR), celles-ci étant établies à partir d'une matrice spécifique comme les aliments ou l'eau, pour laquelle la substance en question a une biodisponibilité spécifique. Donc si la biodisponibilité de la substance incriminée dans le sol est supérieure à la biodisponibilité dans la matrice utilisée pour l'étude menant à l'obtention de la VTR, la biodisponibilité relative sera supérieure à 1 et le niveau de risque sera supérieur au niveau calculé sans intégrer ce paramètre.

La biodisponibilité se mesure par le biais d'expérimentation *in vivo* sur des modèles animaux dont le système digestif est proche de celui de l'homme. Les modèles les plus souvent utilisés sont les porcs juvéniles (US-EPA, 2007). Mais ces méthodes sont coûteuses et demandent un savoir-faire en expérimentation animale. De plus ces expériences sur animaux soulèvent des questions éthiques, notamment, dans le cadre de la réglementation REACH, où une diminution des expérimentations *in vivo* est demandée.

On mesure la biodisponibilité absolue en comparant les concentrations de l'élément mesurées dans le sang après injection intraveineuse et après une administration par voie orale.

La biodisponibilité peut également se mesurer à partir de la concentration de la substance considérée dans un organe cible, après une période d'exposition de quelques semaines (Cave et al. 2006; Jack et al. 2015)

La mesure in vitro de bioaccessibilité permet d'éviter le passage par l'expérimentation animale pour mesurer la biodisponibilité, il faut intégrer : la fraction de polluant extraite par les fluides digestifs au niveau du système salivaire et du tractus gastro-intestinal. Elle peut s'exprimer selon le ratio :

$$\text{Dose extraite de la matrice du sol} / \text{Dose administrée} \times 100.$$

L'équation suivante est ensuite utilisée pour déterminer la biodisponibilité d'une substance polluante:

$$B = Ba \times Fa \times Fh$$

avec :

B : biodisponibilité absolue

Ba : bioaccessibilité absolue

Fa : taux d'absorption par le système digestif de la fraction bioaccessible

Fh : taux de transmission à la circulation systémique de la fraction absorbée.

La fraction biodisponible d'une substance est donc inférieure à la fraction bioaccessible de cette substance, ce qui nous permet de dire que la bioaccessibilité est un paramètre limitant de la biodisponibilité. Le lien entre bioaccessibilité absolue et biodisponibilité absolue est schématiquement illustré sur la figure suivante (Figure 5). Comme pour la biodisponibilité relative, la notion de bioaccessibilité relative vise à comparer l'extraction d'un composé sous deux spéciations différentes (carbonate de Pb vs acétate de Pb) ou du même composé extrait à partir de différentes matrices (nourriture, sol ou eau). Pour un calcul de risque, dans lequel il convient de distinguer la différence de bioaccessibilité entre le sol et la matrice utilisée pour l'établissement de la VTR, la notion de bioaccessibilité relative est donc cruciale.

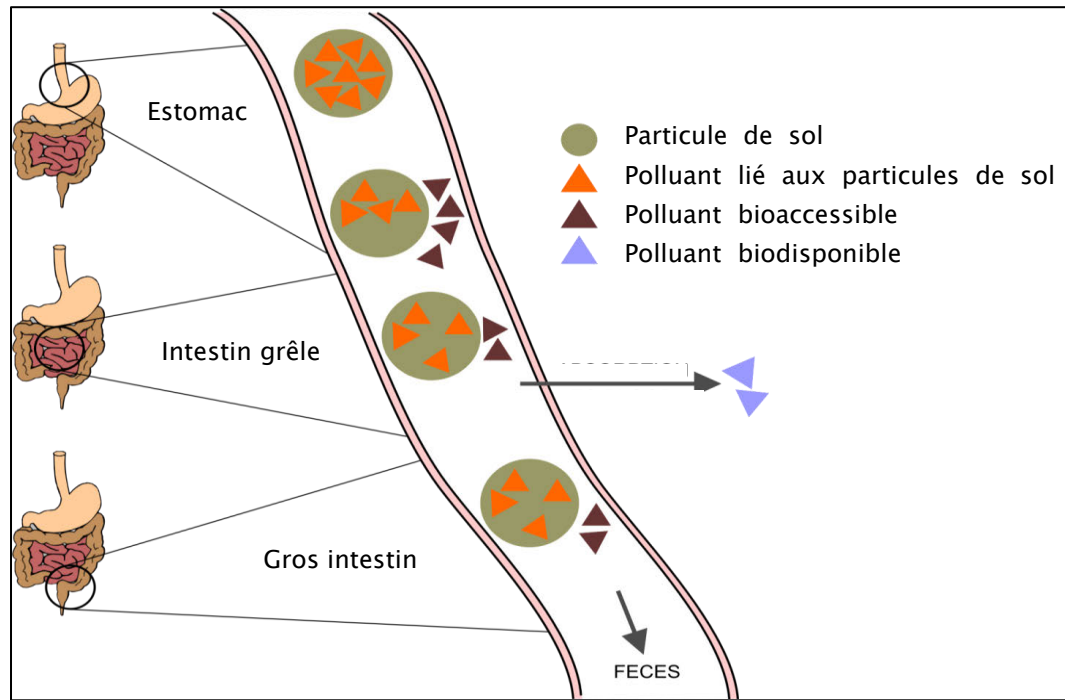


Figure 5 : Schéma de la relation entre bioaccessibilité et biodisponibilité (Caboche, 2009).

1.4.2 Conséquences de la pollution métallique sur les l'Homme.

Une fois que la partie de polluant biodisponible se retrouve absorbée dans l'organisme, les molécules de polluants se fixent de préférence sur certains organes cibles reins foie etc. Différents symptômes, disfonctionnements, anomalies ou maladies, sont alors observés. Nous allons décrire quelques symptômes issus de l'accumulation du plomb et du cadmium dans l'organisme humain.

1.4.2.1 Effet de deux métaux lourds: plomb et cadmium sur l'organisme.

1.4.2.1.1 Le plomb (Pb):

Le plomb (Pb) est un élément chimique de la famille des cristallogènes, de numéro atomique 82. Très persistant, il est toxique même à faible concentration (Uzu et al. 2010; Roy and McDonald 2015), la phytotoxicité et la toxicité humaine et des particules microniques de plomb même à faible concentration a déjà été démontrée par plusieurs auteurs (Hernández-Ochoa et al. 2005; Sammut et al. 2010). Il peut causer plusieurs anomalies chez l'Homme et

affecter différents organes cibles comme le cerveau, les reins, le foie etc., mais aussi différents systèmes telles que : le système nerveux, le système cardiovasculaire, et le système reproducteur (Apostoli et al. 1998). Gollenberg et al. (2010) a constaté une perturbation des hormones reproductrices chez des jeunes filles impubères, suivie d'une réduction de la fertilité (Chang et al. 2006), caractérisée par des anomalies menstruelles (Tang and Zhu 2003). Une étude réalisée par Eum et al. (2014) sur les concentrations en plomb osseux sur 621 femmes a démontré que le Pb pouvait contribuer à de nombreux problèmes de santé ultérieurement dont une ménopause précoce. La France a été l'un des premier pays à imposer des mesures de réduction des niveaux d'exposition au Pb en 1940 par principe de précaution selon un rapport de l'INRS du 15/06/2010 (Plomb au travail).

En ce qui concerne la plombémie (c'est-à-dire la concentration en plomb dans le sang humain), la législation européenne autorise un taux de plomb sanguin de 70 µg/dL. Tandis que la législation française, plus sévère impose actuellement un taux en plombémie maximal de 40 µg/dL. Un débat est ouvert actuellement concernant la plombémie : la réglementation en Europe est amenée à se durcir dans les 2 à 3 ans qui viennent et l'Allemagne étudie actuellement une baisse de la plombémie utilisée. Dans le sang et les tissus mous, la demi-vie du plomb est d'environ 30 jours, le plomb sanguin représente 1 à 2 % de la quantité de plomb présent dans l'organisme. Mais, plus de 80 % de plomb contenu dans l'organisme est osseux : dans ce cas, la demi-vie est plus longue, 10 à 30 ans. Or, seul le plomb présent dans la moelle osseuse est susceptible d'être toxique (Direction régionale des affaires sanitaires et sociales Rhône-Alpes 1999).

1.4.2.1.2 Le cadmium (Cd):

Le cadmium (Cd) est un élément chimique de numéro atomique 48, classiquement utilisé comme pigment pour la peinture de certains matériaux en céramiques ou éléments exposés à de très fortes températures (Jansen and Letschert 2000), résistant à la corrosion sur l'acier, son utilisation a considérablement augmenté dans les temps modernes, en particulier dans les batteries au nickel-cadmium (dont la commercialisation a été restreinte en Europe au cours des dernières années aux usages industriels), les engrais, le revêtement et les stabilisateurs en plastique (Santos-Gallego and Jialal 2016). Le cadmium semble être omniprésent dans notre environnement, car il se trouve dans les plantes (légumes, fruits et grains), les crustacés et les viandes biologiques (Oymak et al. 2009). Il a été observé que les légumes ayant des grandes feuilles comme la laitue ou les épinards ont généralement les concentrations les plus élevée en

ETM (Oymak et al. 2009). Les principales voies d'absorption de cadmium pour les humains sont l'inhalation de fumée (tabagisme actif ou passif) et l'alimentation (légumes contaminés en particulier). Bien qu'on observe seulement 1-5% du Cd ingéré, et 25 à 50% du Cd inhalé est absorbé, sa demi-vie biologique dans le corps humain est exceptionnellement longue (jusqu'à 45 ans) (Fransson et al. 2014). Une fois absorbé par les plantes, le cadmium s'allie aux métallothionéines (MT) pour former un complexe Cd-MT qui s'accumule principalement dans les reins après consommation des plantes contaminées par l'homme (car il n'y a pas de mécanisme d'excrétion efficace du Cd chez l'homme) pouvant conduire à une éventuelle atteinte rénale (Santos-Gallego and Jialal 2016).

1.5 Objectifs de la thèse :

Dans ce contexte scientifique global, des travaux de recherche supplémentaires sont donc nécessaires pour mieux cerner les transferts des ETM dans les sols, ces systèmes complexes sous l'influence des facteurs biogéochimiques. C'est pourquoi, trois principaux objectifs ont été visés par les travaux de cette thèse comme indiqué dans le schéma récapitulatif ci-dessous :

- Etude des transferts et de l'écotoxicité des ETM dans un sol historiquement contaminé. Effet de ces ETM sur l'activité des vers de terre, et par ricochet, effets des vers sur la mobilité des métaux et l'évolution du sol et des écosystèmes contaminés.
- Transfert, compartimentation et bioaccessibilité de différents ETM absorbés par diverses plantes en fonction des conditions de transfert (racinaire/foviaire), de la spéciation initiale ETM et des différents organes du végétale (feuilles, tiges, racines).
- Évaluation du risque sanitaire induit par l'exposition aux ETM lors de la consommation de végétaux cultivés en zones industrielles ou urbaines, avec un focus sur les jardins potagers.

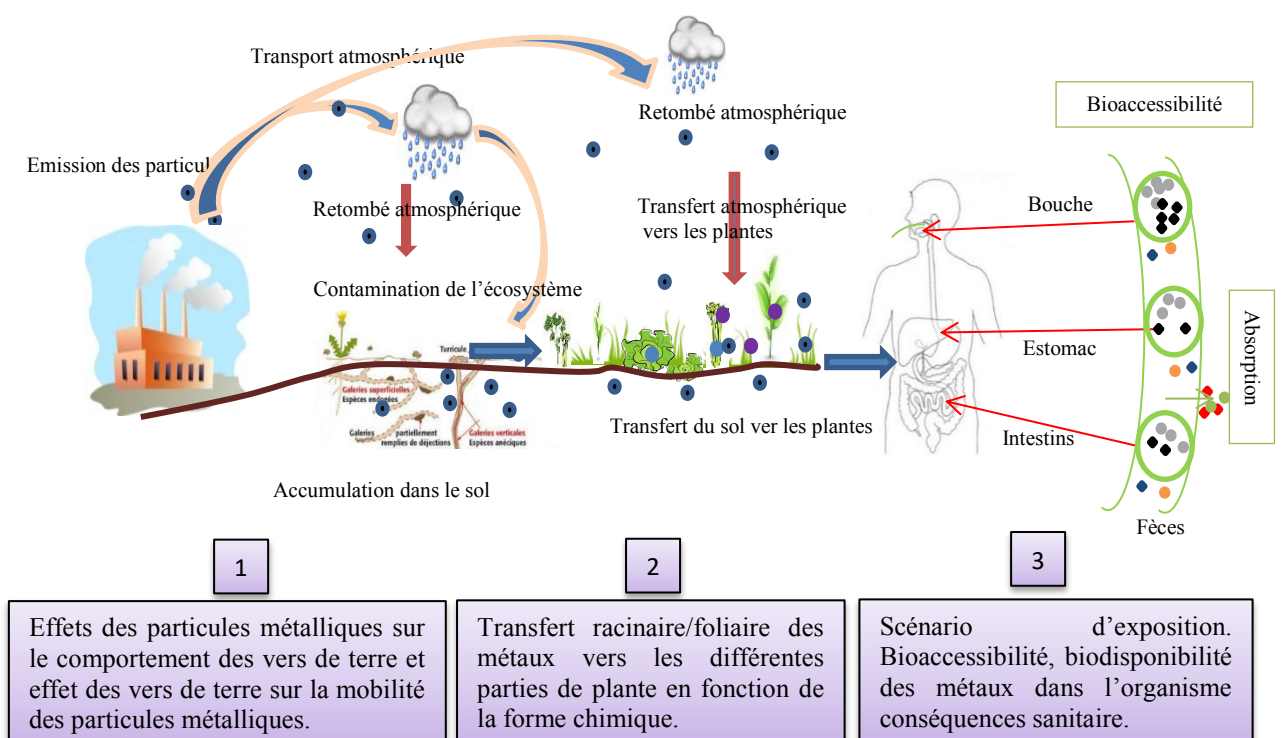


Figure 6 : Schéma représentant le contexte scientifique général de la thèse.

Cette thèse a donc abordé de façon pluridisciplinaire (biogéochimie, sciences du sol, écologie et sciences humaines et sociales) la problématique de la gestion durable des sites et sols pollués. Ce travail de recherche a été réalisé entre plusieurs laboratoires aux compétences complémentaires (Certop, GET, INRA Avignon et EcoLab) et dans le cadre d'une collaboration avec une entreprise ICPE dotées de 3 usines (Bazoches les Gallérandes, Toulouse & Pont Sainte Maxence) : la Société de Traitements Chimiques des Métaux (STCM). La STCM a été particulièrement volontaire pour développer dans le cadre de cette thèse des projets Sciences et Société en lien avec la gestion durable de la pollution historique des sols et la communication avec les riverains sur la question des risques.

Suite à cette introduction générale, le manuscrit est organisé selon un chapitre matériel et méthode, puis un chapitre résultats et discussions qui présente les travaux réalisés pour répondre aux trois questions scientifiques de la thèse présentées ci-dessus et enfin une conclusion générale et des perspectives.

References

- Alloway BJ (2004) Contamination of domestic gardens and allotments. *L Contam Reclam* 12:179–187. doi: 10.2462/09670513.658
- Alloway BJ (1995) *Heavy Metals in Soils*. Blackie Academic & Professional, London
- Almasoud FI, Usman AR, Al-Farraj AS (2014) Heavy metals in the soils of the Arabian Gulf coast affected by industrial activities: analysis and assessment using enrichment factor and multivariate analysis. *Arab J Geosci* 1–13. doi: 10.1007/s12517-014-1298-x
- Álvarez-Ayuso E, Otones V, Murciego a, et al (2012) Antimony, arsenic and lead distribution in soils and plants of an agricultural area impacted by former mining activities. *Sci Total Environ* 439:35–43. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.09.023
- Amossé J, Turberg P, Kohler-Milleret R, et al (2015) Effects of endogeic earthworms on the soil organic matter dynamics and the soil structure in urban and alluvial soil materials. *Geoderma* 243-244:50–57. doi: 10.1016/j.geoderma.2014.12.007
- Apostoli P, Kiss P, Porru S, et al (1998) Male reproductive toxicity of lead in animals and humans. 364–374.
- Austruy A, Laplanche C, Mombo S, et al (2016) Ecological changes in historically polluted soils: Metal(loid) bioaccumulation in microarthropods and their impact on community structure. *Geoderma* 271:181–190. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.02.011
- Basta N, Gradwohl R (2000) Estimation of Cd, Pb, and Zn Bioavailability in Smelter-Contaminated Soils by a Sequential Extraction Procedure. *Soil Sediment Contam* 9:149–164. doi: 10.1080/10588330008984181
- Bender SF, Wagg C, van der Heijden MGA (2016) An Underground Revolution: Biodiversity and Soil Ecological Engineering for Agricultural Sustainability. *Trends Ecol Evol* xx:1–13. doi: 10.1016/j.tree.2016.02.016
- Bérard A, Capowiez L, Mombo S, et al (2015) Soil microbial respiration and PICT responses to an industrial and historic lead pollution: a field study. *Environ Sci Pollut Res*. doi: 10.1007/s11356-015-5089-z
- Biswas P, Wu C-Y (2005) Nanoparticles and the Environment. *J Air Waste Manage Assoc* 55:708–746. doi: 10.1080/10473289.2005.10464656
- Blanchart E, Albrecht A, Alegre J, et al (1999) Effects of earthworms on soil structure and physical properties. 149–172.
- Blanchart E, Lavelle P, Braudeau E, et al (1997) Regulation of soil structure by geophagous earthworm activities in humid savannas of Côte d’Ivoire. *Soil Biol Biochem* 29:431–439.
- Bouché MB (1971) *Lombriciens de France*. *Ecologie et systématique*. 671.
- Brown GGG, Barois I, Lavelle P (2000) Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *Eur J Soil Biol* 36:177–198. doi: 10.1016/S1164-5563(00)01062-1
- Cai L, Xu Z, Ren M, et al (2012) Source identification of eight hazardous heavy metals in agricultural soils of Huizhou, Guangdong Province, China. *Ecotoxicol Environ Saf* 78:2–8. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.07.004

- Capowiez Y, Cadoux S, Bouchant P, et al (2009) The effect of tillage type and cropping system on earthworm communities, macroporosity and water infiltration. *Soil Tillage Res* 105:209–216. doi: 10.1016/j.still.2009.09.002
- Capowiez Y, Samartino S, Cadoux S, et al (2012) Role of earthworms in regenerating soil structure after compaction in reduced tillage systems. *Soil Biol Biochem* 55:93–103. doi: 10.1016/j.soilbio.2012.06.013
- Cave M, Wragg J, Klinck B, et al (2006) Preliminary assessment of a unified bioaccessibility method for potentially harmful elements in soils. *Int. Conf. Environ. Epidemiol. Expo.*
- Cecchi M, Dumat C, Alric a., et al (2008) Multi-metal contamination of a calcic cambisol by fallout from a lead-recycling plant. *Geoderma* 144:287–298. doi: 10.1016/j.geoderma.2007.11.023
- Chang SH, Cheng BH, Lee SL, et al (2006) Low blood lead concentration in association with infertility in women. *Environ Res* 101:380–386. doi: 10.1016/j.envres.2005.10.004
- Cheng H, Li M, Zhao C, et al (2014) Overview of trace metals in the urban soil of 31 metropolises in China. *J Geochemical Explor* 139:31–52. doi: 10.1016/j.gexplo.2013.08.012
- Cluzeau D, Guernion M, Chaussod R, et al (2012) Integration of biodiversity in soil quality monitoring: Baselines for microbial and soil fauna parameters for different land-use types. *Eur J Soil Biol* 49:63–72. doi: 10.1016/j.ejsobi.2011.11.003
- Crumsey JM, Capowiez Y, Goodsitt MM, et al (2015) Exotic earthworm community composition interacts with soil texture to affect redistribution and retention of litter-derived C and N in northern temperate forest soils. *Biogeochemistry* 126:379–395. doi: 10.1007/s10533-015-0164-6
- Curry JP, Schmidt O (2007) The feeding ecology of earthworms - A review. *Pedobiologia (Jena)* 50:463–477. doi: 10.1016/j.pedobi.2006.09.001
- Darwin C (1881) *The formation of vegetable mould : through the action of worms, with observations on their habits / by Charles Darwin ; with illustrations.* J. Murray, London ;
- Donisa C, Mocanu R, Steinnes E, Vasu A (2000) Heavy metal pollution by atmospheric transport in natural soils from the northern part of Eastern Carpathians. *Water Air Soil Pollut* 120:347 – 358. doi: 10.1023/A:1005255718970
- Eum K-D, Weisskopf MG, Nie LH, et al (2014) Cumulative lead exposure and age at menopause in the Nurses' Health Study cohort. *Environ Health Perspect* 122:229–34. doi: 10.1289/ehp.1206399
- Fernández-Camacho R, Rodríguez S, de la Rosa J, et al (2012) Ultrafine particle and fine trace metal (As, Cd, Cu, Pb and Zn) pollution episodes induced by industrial emissions in Huelva, SW Spain. *Atmos Environ* 61:507–517. doi: 10.1016/j.atmosenv.2012.08.003
- Foster RC (1988) Microenvironments of soil microorganisms. *Biol Fertil Soils* 6:189–203. doi: 10.1007/BF00260816
- Foucault Y, Lévêque T, Xiong T, et al (2013) Green manure plants for remediation of soils polluted by metals and metalloids: ecotoxicity and human bioavailability assessment. *Chemosphere* 93:1430–5. doi: 10.1016/j.chemosphere.2013.07.040
- Fransson MN, Barregard L, Sallsten G, et al (2014) Physiologically-Based Toxicokinetic Model for Cadmium Using Markov-Chain Monte Carlo Analysis of Concentrations in Blood , Urine , and Kidney Cortex from Living Kidney Donors. 141:365–376. doi: 10.1093/toxsci/kfu129
- Galt RE, Gray LC, Hurley P (2014) Subversive and interstitial food spaces: transforming selves, societies, and society–environment relations through urban agriculture and foraging. *Local Environ* 19:133–146. doi: 10.1080/13549839.2013.832554

- Glorennec P, Bemrah N, Tard A, et al (2007) Probabilistic modeling of young children's overall lead exposure in France: Integrated approach for various exposure media. *Environ Int* 33:937–945. doi: 10.1016/j.envint.2007.05.004
- Gobat J-M, Aragno M, Matthey W (2004) *The Living Soil: Fundamentals of Soil Science and Soil Biology*. Science Publishers, Inc., USA
- Goix S, Mombo S, Schreck E, et al (2015) Field isotopic study of lead fate and compartmentalization in earthworm–soil–metal particle systems for highly polluted soil near Pb recycling factory. *Chemosphere* 138:10–17. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.05.010
- Gojard S, Weber F (1995) Jardins, jardinage et autoconsommation alimentaire. *INRA Sci Soc* 1–4.
- Gollenberg AL, Hediger ML, Lee PA, et al (2010) Association between lead and cadmium and reproductive hormones in peripubertal U.S. girls. *Environ Health Perspect* 118:1782–7. doi: 10.1289/ehp.1001943
- Hernández-Ochoa I, García-Vargas G, López-Carrillo L, et al (2005) Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. *Reprod Toxicol* 20:221–228. doi: 10.1016/j.reprotox.2005.01.007
- Jack N, Juhasz A, Smith E, Naidu R (2015) Assessing the bioavailability and bioaccessibility of metals and metalloids. *Environ Sci Pollut Res* 22:8802–8825. doi: 10.1007/s11356-013-1820-9
- Jang HN, Seo YC, Lee JH, et al (2007) Formation of fine particles enriched by V and Ni from heavy oil combustion: Anthropogenic sources and drop-tube furnace experiments. *Atmos Environ* 41:1053–1063. doi: 10.1016/j.atmosenv.2006.09.011
- Jansen M, Letschert HP (2000) Inorganic yellow-red pigments without toxic metals. *Nature* 404:980–982. doi: 10.1038/35010082
- Jaradat QM, Massadeh AM, Momani KA, AlSaleem MA (2010) The Spatial Distribution of Pb, Cd, Zn, and Cu in Agricultural Roadside Soils. *Soil Sediment Contam* 19:58–71. doi: 10.1080/15320380903390554
- Jarup L (2003) Hazards of heavy metal contamination. *Br Med Bull* 68:167–182. doi: 10.1093/bmb/ldg032
- Jianshu L, Liu Y, Zhang Z, et al (2014) Identifying the origins and spatial distributions of heavy metals in soils of Ju country (Eastern China) using multivariate and geostatistical approach. *J Soils Sediments* 15:163–178. doi: 10.1007/s11368-014-0937-x
- Jouquet P, Dauber J, Lagerlöf J, et al (2006) Soil invertebrates as ecosystem engineers: Intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Appl Soil Ecol* 32:153–164. doi: 10.1016/j.apsoil.2005.07.004
- Kelley ME, Brauning SE, Schoof RA, Ruby M V. (2002) Assessing oral bioavailability of metals in soil.
- Lavelle P, Decaëns T, Aubert M, et al (2006) Soil invertebrates and ecosystem services. *Eur J Soil Biol.* doi: 10.1016/j.ejsobi.2006.10.002
- Lavelle P, Spain A (2001) *Soil Ecology*, Kluwer Aca. Springer Science & Business Media
- Lévêque T, Capowiez Y, Schreck E, et al (2015) Science of the Total Environment Effects of historic metal (loid) pollution on earthworm communities. *Sci Total Environ* 511:738–746. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.101
- McBride MB, Shayler HA, Spliethoff HM, et al (2014) Concentrations of lead, cadmium and barium in

- urban garden-grown vegetables: The impact of soil variables. *Environ Pollut* 194:254–261. doi: 10.1016/j.envpol.2014.07.036
- Micó C, Recatalá L, Peris M, Sánchez J (2006) Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere* 65:863–872. doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.03.016
- Mombo S, Foucault Y, Deola F, et al (2015a) Management of human health risk in the context of kitchen gardens polluted by lead and cadmium near a lead recycling company. *J Soils Sediments*. doi: 10.1007/s11368-015-1069-7
- Mombo S, Schreck E, Dumat C, et al (2015b) Bioaccessibility of selenium after human ingestion in relation to its chemical species and compartmentalization in maize. *Environ Geochem Health* 38:869–883. doi: 10.1007/s10653-015-9767-z
- Oyebode O, Gordon-Dseagu V, Walker A, Mindell JS (2014) Fruit and vegetable consumption and all-cause, cancer and CVD mortality: analysis of Health Survey for England data. *J Epidemiol Community Health* 1–7. doi: 10.1136/jech-2013-203500
- Oymak T, Tokaloğlu Ş, Yılmaz V, et al (2009) Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method. *Food Chem* 113:1314–1317. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.064
- Pourias J, Aubry C, Duchemin E (2015) Is food a motivation for urban gardeners? Multifunctionality and the relative importance of the food function in urban collective gardens of Paris and Montreal. *Agric Human Values* 257–273. doi: 10.1007/s10460-015-9606-y
- Radwan MA, Salama AK (2006) Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. *Food Chem Toxicol* 44:1273–1278. doi: 10.1016/j.fct.2006.02.004
- Rahman MA, Rahman MM, Reichman SM, et al (2014) Heavy metals in Australian grown and imported rice and vegetables on sale in Australia: health hazard. *Ecotoxicol Environ Saf* 100:53–60. doi: 10.1016/j.ecoenv.2013.11.024
- Reis a. P, Patinha C, Wragg J, et al (2014) Urban geochemistry of lead in gardens, playgrounds and schoolyards of Lisbon, Portugal: Assessing exposure and risk to human health. *Appl Geochemistry* 44:45–53. doi: 10.1016/j.apgeochem.2013.09.022
- Roy M, McDonald LM (2015) Metal Uptake in Plants and Health Risk Assessments in Metal-Contaminated Smelter Soils. *L Degrad Dev* 26:785–792. doi: 10.1002/ldr.2237
- Ruby M V., Davis A, Schoof R, et al (1996) Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. *Environ Sci Technol* 30:422–430. doi: 10.1021/es950057z
- Sammut ML, Noack Y, Rose J, et al (2010) Speciation of Cd and Pb in dust emitted from sinter plant. *Chemosphere* 78:445–50. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.10.039
- Santos-Gallego CG, Jialal I (2016) Cadmium and Atherosclerosis: Heavy Metal or Singing the Blues? *Atherosclerosis*. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.01.041
- Schaumann F, Borm PJA, Herbrich A, et al (2004) Metal-rich ambient particles (particulate matter 2.5) cause airway inflammation in healthy subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 170:898–903. doi: 10.1164/rccm.200403-423OC
- Schreck E, Foucault Y, Geret F, et al (2011) Influence of soil ageing on bioavailability and ecotoxicity of lead carried by process waste metallic ultrafine particles. *Chemosphere* 85:1555–1562. doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.07.059
- Schreck E, Foucault Y, Sarret G, et al (2012) Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: Mechanisms involved for lead. *Sci Total Environ* 427-

- 428:253–262. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.03.051
- Shahid M, Ferrand E, Schreck E, Dumat C (2013a) Behavior and impact of zirconium in the soil-plant system: plant uptake and phytotoxicity. *Rev Environ Contam Toxicol* 221:107–27. doi: 10.1007/978-1-4614-4448-0_2
- Shahid M, Xiong T, Castrec-Rouelle M, et al (2013b) Water extraction kinetics of metals, arsenic and dissolved organic carbon from industrial contaminated poplar leaves. *J Environ Sci (China)* 25:2451–2459. doi: 10.1016/S1001-0742(12)60197-1
- Shipitalo M, Bayon R Le (2004) 10 Quantifying the Effects of Earthworms on Soil Aggregation and Porosity.
- Singh R, Gautam N, Mishra A, Gupta R (2011) Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J Pharmacol* 43:246–53. doi: 10.4103/0253-7613.81505
- Sivakumar S (2015) Effects of metals on earthworm life cycles: a review. *Environ Monit Assess* 187:530. doi: 10.1007/s10661-015-4742-9
- Solenkova N V., Newman JD, Berger JS, et al (2014) Metal pollutants and cardiovascular disease: Mechanisms and consequences of exposure. *Am Heart J* 168:812–822. doi: 10.1016/j.ahj.2014.07.007
- Suárez ER, Fahey TJ, Yavitt JB, et al (2006) Patterns Of Litter Disappearance In A Northern Hardwood Forest Invaded By Exotic Earthworms. *Ecol Appl* 16:154–165. doi: 10.1890/04-0788
- Sungur A, Soylak M, Ozcan H (2014) Investigation of heavy metal mobility and availability by the BCR sequential extraction procedure: Relationship between soil properties and heavy metals availability. *Chem Speciat Bioavailab* 26:219–230. doi: 10.3184/095422914X14147781158674
- Tang N, Zhu ZQ (2003) Adverse reproductive effects in female workers of lead battery plants. *Int J Occup Med Environ Health* 16:359–361.
- Tang S, Yu X, Wu C (2016) Comparison of the Levels of Five Heavy Metals in Human Urine and Sweat after Strenuous Exercise by ICP-MS. 183–188. doi: 10.1177/0004563215602028
- Uzu G, Sobanska S, Sarret G, et al (2010) Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts. *Environ Sci Technol* 44:1036–42. doi: 10.1021/es902190u
- Waheed A, Li XL, Tan MG, et al (2011) Size Distribution and Sources of Trace Metals in Ultrafine/Fine/Coarse Airborne Particles in the Atmosphere of Shanghai. *Aerosol Sci Technol* 45:163–171. doi: 10.1080/02786826.2010.528079
- Wolters V (2000) Invertebrate control of soil organic matter stability. *Biol Fertil Soils* 31:1–19. doi: 10.1007/s003740050618
- Wong CSC, Li X, Thornton I (2006) Urban environmental geochemistry of trace metals. *Environ Pollut* 142:1–16. doi: 10.1016/j.envpol.2005.09.004
- Wongsasuluk P, Chotpantarat S, Siriwong W, Robson M (2014) Heavy metal contamination and human health risk assessment in drinking water from shallow groundwater wells in an agricultural area in Ubon Ratchathani province, Thailand. *Environ Geochem Health* 36:169–182. doi: 10.1007/s10653-013-9537-8
- Wu S, Peng S, Zhang X, et al (2015) Levels and health risk assessments of heavy metals in urban soils in Dongguan, China. *J Geochemical Explor* 148:71–78. doi: 10.1016/j.gexplo.2014.08.009
- Xiong T, Dumat C, Pierart A, et al (2016) Measurement of metal bioaccessibility in vegetables to improve human exposure assessments: field study of soil–plant–atmosphere transfers in urban

areas, South China. *Environ Geochem Health* 1–19. doi: 10.1007/s10653-016-9796-2

Xiong TT, Leveque T, Austruy A, et al (2014) Foliar uptake and metal(loid) bioaccessibility in vegetables exposed to particulate matter. *Environ Geochem Health* 36:897–909. doi: 10.1007/s10653-014-9607-6

Chapitre 2. Matériels et méthodes

La stratégie globale adoptée pour répondre aux questions scientifiques de la thèse et les méthodes utilisées sont présentées dans le tableau ci-dessous qui résume les différentes techniques utilisées pour chaque questionnement. De façon plus détaillée, les protocoles utilisés sont développés plus tard dans cette partie du manuscrit.

| <u>Question 1</u> | <u>Question 2</u> | <u>Question 3</u> |
|--|--|--|
| <p>Effets des ETM de particules métalliques sur le comportement des vers de terre et effet des vers de terre sur la mobilité des ETM des particules métalliques.</p> | <p>Transfert racinaire/foliaire des ETM vers les différentes parties de la plante en fonction de la spéciation chimique.</p> | <p>Scénarios d'exposition. Bioaccessibilité, biodisponibilité des ETM de particules dans l'organisme, conséquences sanitaires.</p> |
| <ul style="list-style-type: none"> - Réalisation des colonnes au laboratoire à partir des sols échantillonnés sur le terrain. - Mesure des métaux totaux dans le sol, les vers de terre et l'eau ayant traversé les colonnes avec « l'eau régale ». - Mesure des caractéristiques physico-chimiques du sol (pH, pourcentage d'argile, de limon et sable, calcaire actifs totaux). - Scan des colonnes pour étudier le mouvement des vers de terre pendant l'exposition. - Calcule du volume des galeries. | <ul style="list-style-type: none"> - Mesure des métaux totaux dans les différents compartiments de la plante, racines, tiges, feuilles graines de maïs. - Culture du maïs en hydroponie. - Préparation des solutions nutritives. - Mesure des métaux totaux dans le sol, les plante dans les jardins « l'eau régale ». | <ul style="list-style-type: none"> - Préparation des solutions pour doser la bioaccessibilité des métaux en condition contrôlée. - Mesure des concentrations totales en métaux dans l'organisme. - Gestion des jardins potagers situés à proximité d'une usine de recyclage de batterie. - Mesure des métaux pseudo-totaux (eau régale) dans le sol, les plantes cultivées dans les jardins. |

2.1 Présentation des sites d'études.

Afin de répondre aux questions scientifiques visées dans le cadre de cette thèse, différents sites et friches industrielles ont été étudiés avec plusieurs objectifs. Cette première partie permet de donner des informations générales sur les trois sites que possède l'entreprise de recyclage de batteries (STCM) partenaire du projet et de comprendre le contexte général de chacun des sites pollués étudiés.

2.1.1 La Société de Traitements Chimiques des métaux (STCM)

2.1.1.1 Présentation de l'entreprise

La STCM est spécialisée dans la fabrication et la commercialisation de plomb et alliage de plomb d'origine secondaire. Son activité consiste à traiter les produits contenant du plomb en fin de vie, en particulier les batteries plomb / acide pour les automobiles et différents usages industriels (stockage d'énergie, traction de matériel roulant). Elle les transforme en plomb pur ou en alliages de plomb utilisés pour fabriquer de nouveaux produits. C'est donc le maillon principal de la chaîne de recyclage du plomb.

La STCM produit du plomb de différentes puretés et des alliages de plomb (calcium – antimoine – étain). Avec 65.000 tonnes de plomb par an, la STCM est le premier producteur de plomb recyclé en France. Les principaux marchés sont la construction de batteries, la fabrication des câbles électriques pour la distribution de l'électricité et les protections contre les rayonnements ionisants.

Établie en 1952 à Toulouse (31), une deuxième usine fut construite à Bazoches-les-Gallerandes (45) en 1967. Par la suite, cette entreprise a été achetée en 1993 par un groupe allemand « Metallgesellschaft » puis en 1996 par le groupe américain « Quexco » via sa filiale anglaise « ECO-BAT technologies » aujourd'hui leader mondial du plomb. En juin 2001, la STCM a intégré l'usine GAST située à Pont-Sainte-Maxence (60) (Figure. 7). L'usine continue de fonctionner sous le nom APSM (Affinerie de Pont-Sainte-Maxence) tandis que les usines de Toulouse et Bazoches opèrent sous le nom STCM. Le siège de la STCM se situe à Bazoches-les-Gallerandes et comprend les services « ressources humaines », « ventes », « achats » et « finances » de la STCM et d'APSM.



Figure 7 : Localisation des différentes usines de la STCM en France

2.1.1.2 Qualité, sécurité et politique environnementale

La STCM est certifiée ISO 9001 depuis août 2003 pour son système de management de la qualité (SMQ). La certification ISO 14007 a été obtenue en septembre 1999 puis re-certifiée avec la certification OHSAS 18001 depuis décembre 2002 pour le Système de Management de l'Environnement (SME) et le Système de Management de la Santé et de la Sécurité au travail (SMS). Toutes ces certifications sont réunies en un Système de Management Intégré.

En France, les entreprises telles que la STCM susceptibles de générer des risques pour l'environnement et la santé sont soumises à une législation et une réglementation particulière, relatives à ce que l'on appelle « les Installations Classées pour la Protection de l'Environnement » (ICPE). Un portail national des ICPE permet de suivre l'actualité très dynamique de ces installations qui peuvent potentiellement induire des effets environnementaux et/ou sanitaires (<http://www.installationsclassees.developpement-durable.gouv.fr/>). Le cours de Dumat (2016) dédié aux ICPE est également disponible en ligne : <http://moodle-ensat.inp-toulouse.fr/course/view.php?id=323>. Les dirigeants de ces entreprises ICPE sont responsables de la réalisation et de l'exécution de stratégies de management afin de minimiser les impacts sur l'environnement et la santé humaine. Ce règlement des ICPE apporte d'ailleurs de façon indirecte une protection fonctionnelle des sols en garantissant en particulier des budgets réservés à la réhabilitation des sols lorsque nécessaire (Dumat & Austruy, 2014).

2.1.1.3 La STCM Toulouse

Lors de sa création en 1952, l'usine de Toulouse était dans une zone éloignée de toute habitation. Avec le temps, la zone d'habitation s'est progressivement développée (Figure.8). Le nord de Toulouse est devenu le centre industriel de la ville. Le site STCM Toulouse d'une superficie de 23. 650 m² est maintenant entourée d'un dépôt de carburant (Esso) classé Seveso seuil haut (sites industriels présentant des risques d'accidents majeurs : explosion, incendie), une laiterie, etc. La 1^{ère} instruction du Plan de Préventions des Risques Technologiques) – dispositif de règlementation de l'urbanisme autour des sites SEVESO seuil haut - d'Esso a montré qu'en cas d'explosion, une partie des infrastructures de la STCM ne résisterait pas au souffle de l'explosion. Dans ce contexte, et pour des raisons stratégiques et économiques, la STCM a pris l'option de l'expropriation des infrastructures abritant les fours et a donc stoppé son activité de fusion et d'affinage fin 2011. Conformément à la législation sur la cessation d'activités des ICPE, et selon le respect du principe pollueur-payeur, l'entreprise devra à terme réhabiliter ses sols contaminés en Pb et autres métaux et metalloïdes (Cd, Cu, Zn, Sb, etc.) selon l'usage futur des sols. Le plan de situation du site de la STCM à Toulouse est présenté ci-dessous :

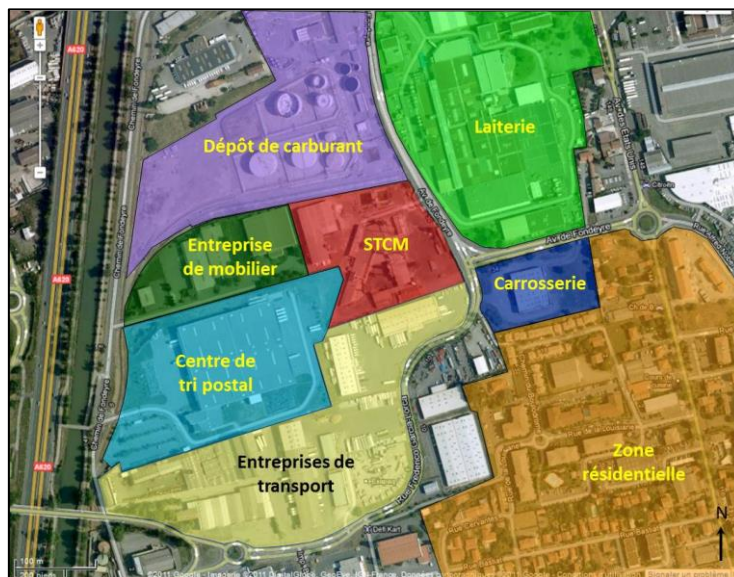


Figure 8 : Plan de situation du site STCM de Toulouse et des infrastructures situées à proximité.
(Source : Google Map pour le fond de carte)

2.1.1.4 La STCM Bazoches-les-Gallerandes

Créée en 1967 pour répondre à la forte demande en Pb au nord de la Loire, à Bazoches-les-Gallerandes (Loiret), l'usine s'est rapidement révélée trop petite. Un second site (B2) a été construit à quelques centaines de mètres du village et est maintenant destiné au regroupement / tri / broyage des batteries usagées et au procédé de fusion-réduction du Pb tandis que le site original (B1) est actuellement dédié à l'affinage.

Le site d'étude retenu pour cette thèse est une prairie en jachère attenante à l'enceinte du bâtiment de fusion-réduction de la STCM (B2). Cette parcelle a été achetée par la STCM dans les années 90 afin de limiter les cultures à proximité directe de l'usine (Figure. 9).



Figure 9 : Zone d'échantillonnage (friche) à proximité de la STCM Bazoches-les-Gallerandes.

2.1.2 Prélèvement des échantillons

Afin d'étudier l'écotoxicité le sol contaminé (plomb et autres ETM) a été prélevé à proximité de l'usine de la STCM Bazoches-les-Gallerandes. 10 kg de sol ont été prélevés à trois distances différentes 10, 30 et 60 m de l'usine, et trois profondeurs différentes 0-5 cm pour la couche superficielle 5-17 cm pour l'horizon intermédiaire et enfin 17-30 cm pour la couche la plus profonde, des précautions sont prises afin de ne pas contaminer les couches inférieures du sol, en évitant notamment tout matériel en métal. La litière a aussi été prélevée aux différentes distances 10 30 et 60 m pour être posée sur les sols en laboratoire (Figure. 10).



Figure 10 : Echantillonnage à trois distances 10, 30 et 60 m de l'usine et trois profondeurs 0-5, 5-17 et 17-30 cm.

2.1.3 Préparation des échantillons

Les échantillons de sol sont mis à sécher à l'air libre pendant une semaine, débarrassés des racines, ils ont ensuite été broyés et tamisés à 2 mm grâce à un tamis en inox. Cette fraction < 2 mm a ensuite été utilisée pour la réalisation des colonnes (reconstruction du sol en microcosme dans des tubes en pvc).

2.1.4 Réalisation des colonnes

La réalisation des colonnes s'est effectuée avec une presse hydraulique (Figure. 11) et des tuyaux pvc de 15,5 cm de diamètre et 50 cm de hauteur. 500 g de sol préalablement tamisé < 2 mm, de la profondeur 17-30 cm ont été introduits dans les pvc pour constituer l'horizon du sol correspondant à la profondeur 17-30 cm sur le terrain. Les différentes couches ont ensuite été pressées par horizon de l'horizon le plus profond 17-30 cm vers l'horizon le moins profonds 0-5 cm avec une pression de 1,75 bar. 500 g de sol représentent environ 20 cm d'épaisseur. Le temps de chaque phase de presse était de 4 minutes.



Figure 11 : Reconstitution de sol avec la presse hydraulique

2.1.5 Constitution des différents horizons de sol

L'horizon de sol le plus profond est constitué de sept couches de 2 cm donnant ainsi une hauteur totale de 14 cm, cet horizon correspond sur le terrain à la couche allant de 17 à 30 cm. L'horizon intermédiaire est constitué de 5 couches de sol de 600 g qui correspond à une hauteur de 12,5 cm, cette couche a été effectuée avec le sol prélevé sur le terrain compris entre 5 et 17 cm, enfin l'horizon le plus haut composé de 2 couches de 500 g pour une épaisseur de 4 cm. Ce sol prélevé sur le terrain correspondant à la couche comprise entre 0 et 5 cm.

2.1.6 Exposition des vers de terres

Après la réalisation des colonnes, le sol a été humidifié plusieurs fois avec 15 cl d'eau, puis 4 grammes de paille séchée (matière organique pour les vers) découpée en petits morceaux ont été posés au-dessus des colonnes (Figure. 12). La paille utilisée a été récoltée sur le terrain aux mêmes distances que les l'échantillonnage de sol s'est réalisé.



Figure 12 : Matière organique disposée au dessus des colonnes dans lesquelles les vers de terre ont été introduits, colonne fermée grâce à un couvercle pour éviter que les vers de terre ne s'échappent.

2.2 Les espèces de vers de terre utilisées

2.2.1 Lumbricus terrestris (Lt)

- Embranchement : Annélida
- Classe : Clitellata
- Ordre : Haplotaxida
- Famille : Lumbricidae
- Genre : *Lumbricus*
- Espèce : *L. terrestris*



Figure 13 : *Lumbricus terrestris*

Lumbricus terrestris (Figure. 13) est une espèce anécique appartenant à la famille des lumbricidae. Il s'agit d'un ver à tête rougeâtre mesurant de 12 à 30 cm et pesant entre 5 et 10 g. Ce ver représente la plus grande biomasse de ver de terre dans la plupart des écosystèmes tempérés et c'est le ver anécique le plus commun en Europe. Il se nourrit partiellement de matières organiques de surface et de la matière organique du sol. Il forme des galeries verticales permanentes dans le sol et il incorpore la matière organique qu'il va chercher à la surface dans les couches plus profondes du sol induisant ainsi des transferts de matières organiques au sein du sol ainsi que des polluants potentiellement associés. Son intérêt en écotoxicologie est évident vu son impact sur la structure du sol et sa grande densité dans la plupart des écosystèmes. De plus il est intéressant de comprendre l'impact des ETM sur une espèce de vers qui ne se nourrit pas exclusivement de la matière organique du sol.

2.2.2 *Aporrectodea caliginosa* (Ac)

Embranchement : Annélida

Classe : Clitellata

Ordre : Haplotaxida

Famille : Lumbricidae

Genre : *Aporrectodea*

Espèce : *A. caliginosa*



Figure 14 : *Aporrectodea caliginosa*

La classe des endogés (Figure. 1) regroupe les vers de terre, de petite taille à intermédiaire qui sont souvent caractérisés par un manque de pigmentation (Figure. 14). Cette caractéristique est répandue dans la faune édaphique de profondeur. Vivant en permanence dans le sol, dans des galeries horizontales, ils se nourrissent de la phase organo-minérale du sol (géophagie), de fragments de racines mortes (rhizophagie), mais aussi de la microflore et mésofaune qui sont ingérées avec le sol. Cependant, leurs habitudes alimentaires sont assez hétérogènes et dépendent fortement de la nature des matières organiques de l'écosystème (Curry & Schmidt, 2007). Les turricules résultant de leur activité métabolique sont déposés dans les galeries souterraines, qui sont donc peu réutilisées.

2.2.3 Analyse des caractéristiques physico-chimiques des sols

L'analyse des propriétés physico-chimiques du sol ont été déterminées au laboratoire de l'INRA aras Avignon France. Elles concernent le pourcentage en argiles, limon et sable (Tableau. 4).

Tableau 4 : caractéristiques physico-chimiques des sols à 10 30 et 60 m de l'usine.

| Distance (m) | | | | Total CaCO ₃ (g kg ⁻¹) | Field capacity (g. 100g ⁻¹) |
|--------------|------------|-----------|-----------|---|--|
| | Argile (%) | Limon (%) | Sable (%) | | |
| 10 | 30,4 | 55,5 | 14,1 | 205 | 22,6 |
| 30 | 32,7 | 56,5 | 10,8 | 201 | 23,5 |
| 60 | 34,1 | 55,8 | 10,1 | 182 | 24,1 |

2.3 Minéralisation des échantillons sol, végétaux et vers de terre.

2.3.1 Sol

Pour la détermination des teneurs en éléments traces (Pb, Cd, As, Cu, Sb, Zn), la méthode de minéralisation à l'eau régale est choisie car ce protocole de minéralisation normalisé (NF ISO 11466) (AFNOR, 1999). De plus, c'est un protocole d'analyses qui est largement utilisé pour des mesures de concentrations en éléments dans les sols, les végétaux ou vers de terre, ce qui facilite les comparaisons. Pour chaque échantillon, on mesure 0,5 g de sol tamisé à 200 µm, qui sont mis en contact pendant une nuit à température ambiante dans l'eau régale (mélange d'acide chlorhydrique HCl et d'acide nitrique HNO₃, en proportion ¼ HCl et ¾ HNO₃). Puis après une élévation progressive de la température, le mélange est porté à ébullition à 80°C pendant 4h heures par instrument Digiprep (Figure. 15). Après refroidissement, Les échantillons digérés sont filtrés à travers les filtres fins 0,45, dilués et stockés à 4 ° C pour analyse de la concentration des différents métaux. Les concentrations d'ETM ont été mesurées

par couplage inductif spectrométrie d'émission à plasma-optique ICP-OES (IRIS Intrepid II XXDL) ou couplage inductif spectrométrie de masse à plasma (ICP-MS, X Series II, Thermo Electron). Le contrôle du procédé a été effectué avec des échantillons de blancs et de références soumis au même traitement (minéralisation et dosage). La précision des mesures a été vérifiée à l'aide de matériaux de référence: (i) Feuilles de tabac Virginia pour les tissus végétaux, CTA-VTL-2, de l'Institut national de recherche sur les eaux, Canada. (ii) Loess suisse pour des échantillons de sol, RTH 912, des Évaluation des programmes de Wageningen pour les laboratoires d'analyse, Pays-Bas. Les limites détectées pour le Cr, Cu, Zn, Cd, Sb et Pb ont été respectivement de 0,1, 1,3, 2,2, 0,2, 0,2 et 0,3 $\mu\text{g de L}^{-1}$.

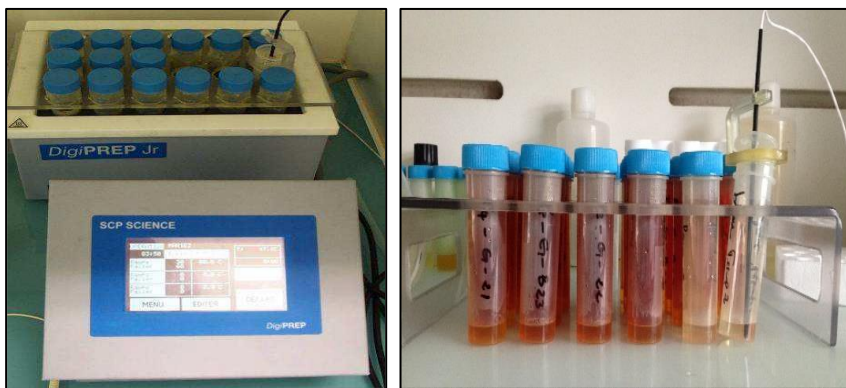


Figure 15 : Plaque de minéralisation et tubes à minéraliser utilisés pour les échantillons de sols végétaux et vers de terre

2.3.2 Végétaux et vers de terre

Pour les végétaux et vers de terre les étapes sont très similaires, mais la masse de l'échantillon à minéraliser est moins importante elle est de 0,125 g et l'eau régale est remplacée par HNO_3 65 % du fait que les végétaux se minéralise plus vite l'attaque acide n'a pas besoin d'être la même que pour le sol. Toutes les autres étapes sont les mêmes que pour le sol.

2.4 Transfert sol plante culture en hydroponie

2.4.1 Culture du maïs en condition contrôlée

Deux semaines après la germination des grains de maïs obtenue en grande surface, les plantules ont été cultivées en condition contrôlée en laboratoire dans des réservoirs en plastique 20 L remplis avec une solution nutritive de Hoagland modifiée consistant en KNO_3 (3 mM) ; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2,72 mM) ; NH_4NO_3 (2 mM), NaCl (0,2 mM) ; KH_2PO_4 (0,98 mM) ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,70 mM) ; du $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,04 μM) ; H_3BO_3 (24 μM), MnSO_4 (13 μM) ; ZnSO_4 (6 μM) ; CuSO_4 (1,5 μM) et FeEDDHA (6%) (4 μM) (Figure 9). Les solutions nutritives ont été respectivement complétées par 12 μM sélénium (soit 1 mg L^{-1} de sélénium) sous les deux formes inorganiques du Se que l'on retrouve majoritairement dans l'environnement: séléniate (Na_2SeO_4) et sélénite (Na_2SeO_3), afin d'atteindre des quantités réalistes de Se dans les tissus végétaux, après l'absorption et la translocation, tel que rapporté par Longchamp et al. (2012). Cinq plants de maïs ont été transplantés dans chaque réservoir, puis placés dans une chambre de croissance (Figures. 16, 17 & 18).

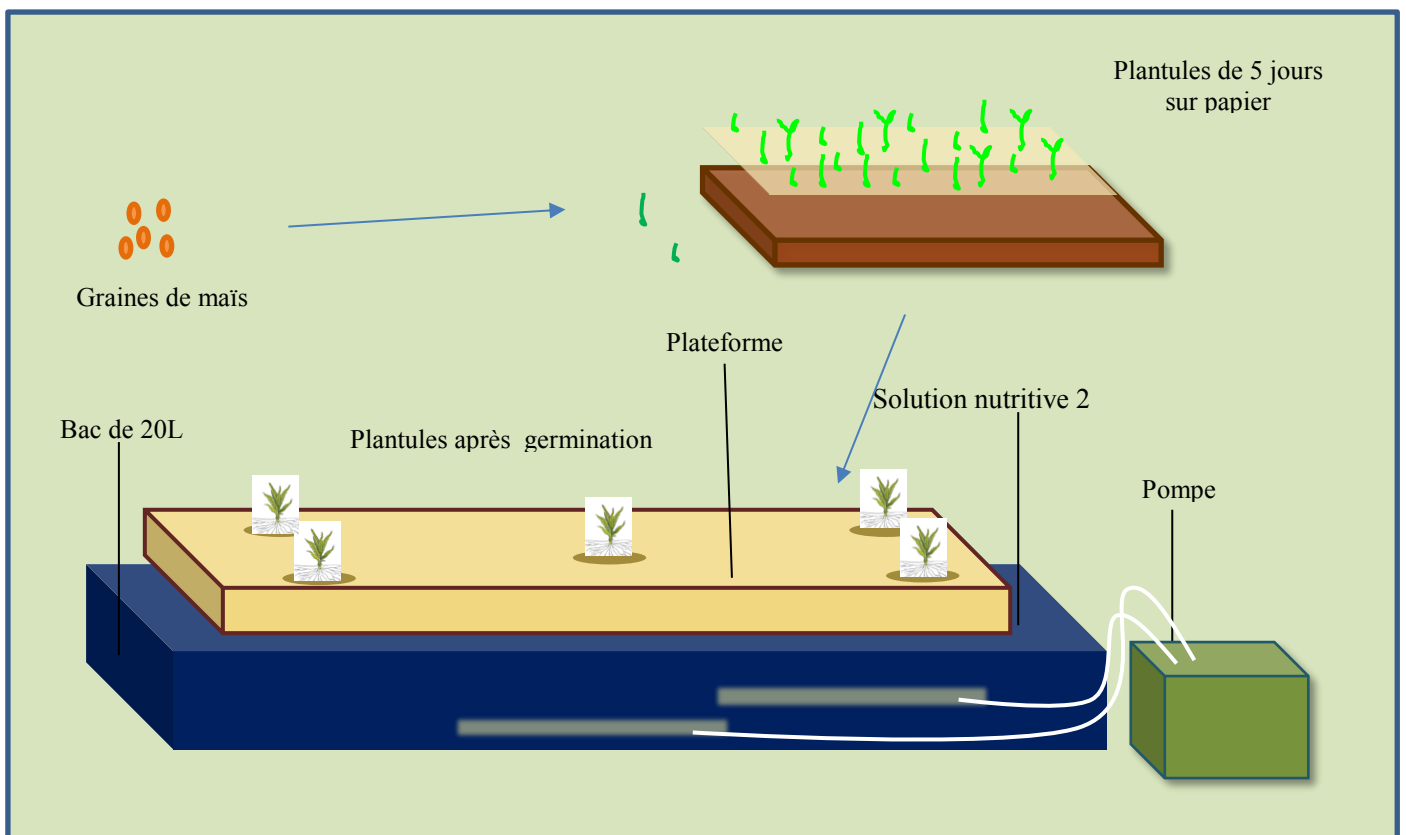


Figure 16 : Design expérimental de la croissance du maïs pendant l'exposition.

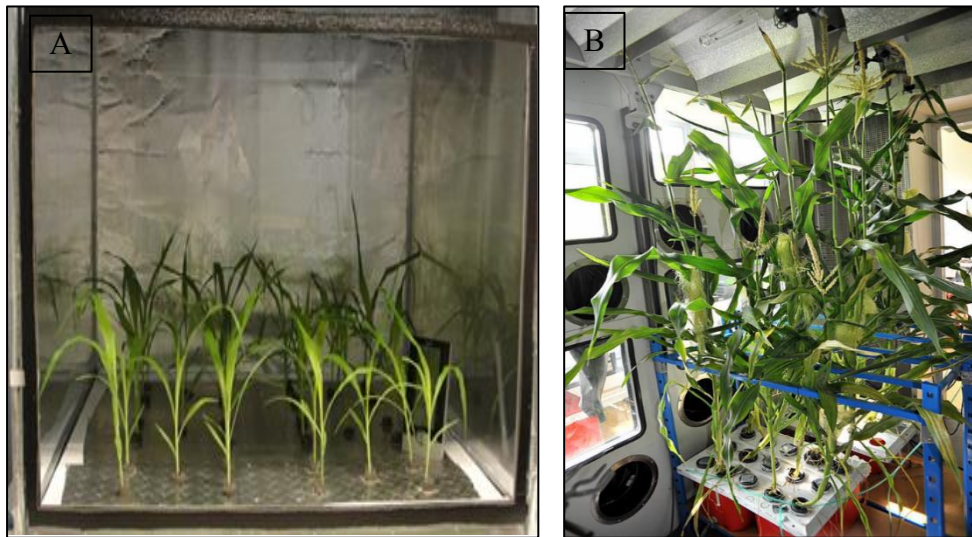


Figure 17 A : Croissance du maïs après germination en condition hydroponique 6^e jours de croissance ; B Maïs après 5 semaines de croissance près à être échantillonné et traité pour les différentes analyses.

2.5 Préparation des échantillons de maïs

Après la récolte, les organes des plantes (tiges, les feuilles et les graines) et les racines ont été séparées et pesées afin de déterminer leurs biomasses fraîches et sèches (en gramme). Les échantillons ont ensuite été séchés, broyés, puis les poudres obtenues ont été utilisées à la fois pour mesurer les concentrations totales en Se pour les différents organes de la plante (racines, tiges, graines et les feuilles) et les mesures de bioaccessibilité gastriques (Figure. 18).

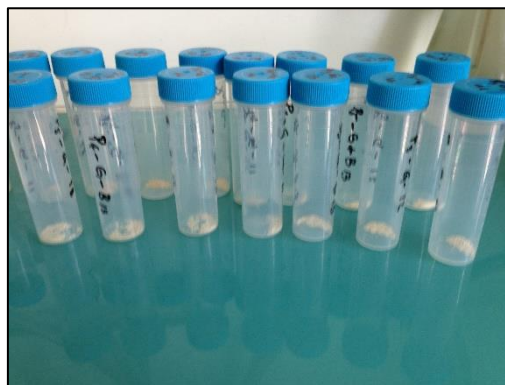


Figure 18 : Echantillons de maïs séché, broyés préparé avant analyse

2.6 Biodisponibilité des ETM et impacts sur la santé humaine

2.6.1 Mesure de la bioaccessibilité gastro-intestinale

Les mesures de bioaccessibilité gastro-intestinale ont été réalisées en utilisant le protocole européen BARGE (Mombo et al 2015; Xiang et al 2014; Uzu et al 2011; Cave et al 2006) qui simule de manière in vitro les différents processus chimiques se produisant dans les trois différents compartiments du système digestif : la bouche, l'estomac et les intestins. Les concepts de la bioaccessibilité gastrique et biodisponibilité sont d'une très grande importance car ils permettent de quantifier les risques associés à l'exposition par voie orale à des contaminants métalliques qui sont de plus en plus nombreux dans l'environnement (Guerin et al, 2015; Wragg et al, 2011). Il a été constaté par plusieurs auteurs que l'exposition aux ETM par la consommation de végétaux contaminés est l'une des voies principales de la contamination (Roy and Mcdonald 2015).

Tableau 5 : Composition des solutions digestives pour le test de bioaccessibilité UBM

| | Salivaire (pH = 6,5 ± 0,5) | Solution gastrique (pH = 1,0 ± 0,2) | Solution intestinale (pH = 7,4 ± 0,2) | Solution biliaire (pH = 8,0 ± 0,2) |
|--------------------|---|---|--|--|
| Inorganique | 448 mg KCl 444 mg NaH ₂ PO ₄ 100 mg KSCN 285 mg Na ₂ SO ₄ 149 mg NaCl 0.9 ml NaOH 1M | 1376 mg NaCl 133 mg Na ₂ PO ₄ 412 mg KCl 200 mg CaCl ₂ 153 mg NH ₄ Cl 4.15 ml HCl (37% g g ⁻¹) | 3506 mg NaCl 2803 mg NaHCO ₃ 40 mg KH ₂ PO ₄ 282 mg KCl 25 mg MgCl ₂ 90 µl HCl (37% g g ⁻¹) | 2630 mg NaCl 2893 mg NaHCO ₃ 188 mg KCl 90 µl HCl (37% g g ⁻¹) |
| Organique | 100 mg urea | 325 mg glucose 10 mg glucuronic acid 42.5 mg urea 165 mg glucosamine hydrochloride | 50 mg urea | 125 mg urea |
| Autres | 72.5 mg α-amylase 25 mg mucin 7.5 mg uric acid | 500 mg bovine albumin 1500 mg mucin 500 mg pepsin | 100 mg CaCl ₂ 500 mg bovine albumin 1500 mg pancreatin | 111 mg CaCl ₂ 900 mg bovine albumin 3000 mg porcine bile |

La mesure du test de BARGE est réalisée grâce à différentes étapes d'extractions successives mettant en œuvre des solutions digestives synthétiques. Quatre solutions digestives qui représentent les quatre grandes unités du système digestif, la bouche par la salive, l'estomac, le duodénum et la bile, sont nécessaires pour le test *in vitro*. Ces solutions sont composées de produit organique et inorganique avec des conditions de pH et de température précises comme indiqué sur le tableau 5.

Les solutions digestives sont préparées la veille du test afin d'être agitées à l'aide d'un barreau magnétique pendant toute une nuit et peuvent être conservées pendant 48 h en prenant soin de les maintenir au frais (4°C) après utilisation. Le pH doit être vérifié et ajusté si nécessaire avant le début du test à l'aide d'une solution de NaOH 1 M et/ou HCl 37%.

Le jour des mesures, les solutions digestives sont placées au bain-marie à 37°C pendant au moins 1 heure avant la première extraction. La température est ensuite maintenue à 37°C pendant toute la procédure d'extraction.

Pour chaque échantillon sol ou végétal, nous avons besoin de deux répliques pour la phase gastrique nommés G1 et G2 et deux répliques pour la phase intestinale nommés I1 et I2, contenant chacun 0,6 g d'échantillon à analyser.

La première extraction consiste à mélanger la matrice à tester (sol, végétal) avec 9 mL de solution salivaire (pH 6,5). Cette suspension est agitée à la main pendant quelques secondes. Ensuite 13,5 mL de solution gastrique (pH 1,1) sont ajoutés à la suspension. Le pH est vérifié et ajusté si nécessaire à 1,2 avec de l'HCl (concentration : 37 % g.g⁻¹). La suspension est par la suite mélangée pendant 1 heure à l'aide d'un agitateur « end-over-end » placé dans une étuve réglée à 37°C. Cette étape terminée, les échantillons sont retirés de l'étuve et une mesure de pH est alors nécessaire. En effet le pH de la suspension doit être compris entre 1,1 et 1,5 afin de rester proches des conditions stomacales. Si le pH est supérieur à 1,5, le test doit être recommencé depuis le début. Si la mesure de pH est satisfaisante les échantillons de la phase gastrique G1 et G2 sont centrifugés à 4500 g pendant 15 minutes. Le surnageant est prélevé avec précaution et acidifié avec 500 microlitres d'HNO₃ (concentration 65% g.g⁻¹) puis conservé à 4°C avant analyse par ICP-OES.

Les prochaines étapes s'appliquent seulement aux échantillons de la phase intestinale I1 et I2. 27,5 mL de solution duodénale et 9 mL de solution biliaire sont ajoutés à la suspension obtenue à la fin de la phase gastrique. Le pH est vérifié et doit être ajusté si nécessaire avec NaOH 1M ou HCl 37% pour être compris entre 5.8 et 6.8. Les échantillons sont ensuite placés en agitation « end over end » à 37°C pendant 4 heures. Après cela le pH final est noté et les tubes sont centrifugés à 4500 g pendant 15 minutes. Le surnageant est prélevé puis acidifié avec 1 mL d'HNO₃ 65 % et conservé à 4°C pour être analysé par ICP OES. Cette manipulation est résumée sur la figure 19.

Test BARGE

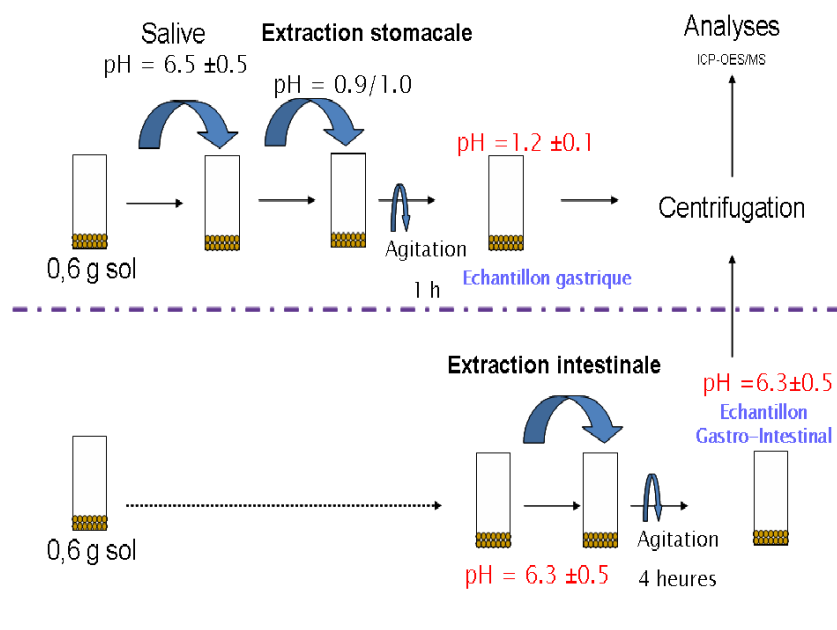


Figure 19 : Description du test de bioaccessibilité BARGE (Caboche, 200)

Chapitre 3. Résultats & Discussions

Ce chapitre qui présente les résultats obtenus au cours de la thèse et leur discussion, est organisé en trois grandes parties organisées sous la forme d'articles (généralement acceptés ou soumis). Les trois sous parties de ce chapitre vont être précédées d'une petite introduction qui va résumer les articles qui sont présentés.

- Une première partie (3.1) concerne l'étude du système « sol pollué-vers de terre-métaux ».
- Une deuxième partie (3.2) concerne le transfert des métaux du sol et de l'atmosphère vers les plantes cultivées pour la consommation humaine.
- Une troisième partie (3.3) enfin concerne l'exposition humaine aux métaux induite par les activités de jardinage.

3.1 Transferts des métaux lourds dans les systèmes sols-vers de terre : études des influences réciproques (vers/métaux et métaux/vers).

Avant-propos.

La synthèse bibliographique, nous a permis de conclure à la nécessité pour les responsables de certaines entreprises ICPE en France et les responsables des villes, d'étudier et de gérer les pollutions historiques des sols par les métaux lourds. Ces pollutions ont en effet des conséquences environnementales et sanitaires à plus ou moins long terme en particuliers dans les zones urbaines et péri-urbaines les plus peuplées.

Ce chapitre 3-1 expose les résultats et discussions relatives aux expériences réalisées aux abords d'une usine de recyclage de batteries automobiles. La partie 3.1.1, concerne des sols reconstitués en colonnes (microcosmes), afin d'étudier plus particulièrement l'influence de la pollution des métaux et métalloïdes sur le comportement des vers de terre et ses conséquences. La partie 3.1.2 concerne des analyses isotopiques du plomb sur des échantillons de sols, de vers de terre, des turricules et vers de terre, afin d'investiguer le devenir du plomb (polluant majeur du site) dans le système sol-vers de terre en relation avec son origine (anthropique ou naturelle).

Les vers de terre sont en effet, des organismes ingénieurs qui jouent un rôle très important dans le fonctionnement des sols. Ils participent de manière significative au bon fonctionnement des écosystèmes terrestres indirectement et du sol directement, certaines de ses fonctions sont par exemple : l'aération des sols, la fragmentation de la matière organique, son enfouissement dans les horizons inférieurs, l'augmentation de la diversité bactériennes. Ils sont le premier maillon de la décomposition de la matière organique et son souvent considéré comme des clés de voute de l'écosystème terrestre.

Dans le chapitre 3.1, ont été étudiés les effets des métaux lourds (Pb, Cd, Zn, Cu, As et Sb) issus d'une usine de recyclage de batterie, en particulier sur la biomasse de deux espèces contrastées de vers de terre (*Lombtricus terrestris* et *Aporrectodea caliginosa*) et leurs comportements (3.1.1). Par ailleurs, l'effet des vers de terre sur la mobilité des métaux dans le sol a été investiguées (3.1.2).

La figure 20 ci-dessous résume les différentes parties de cette étude.

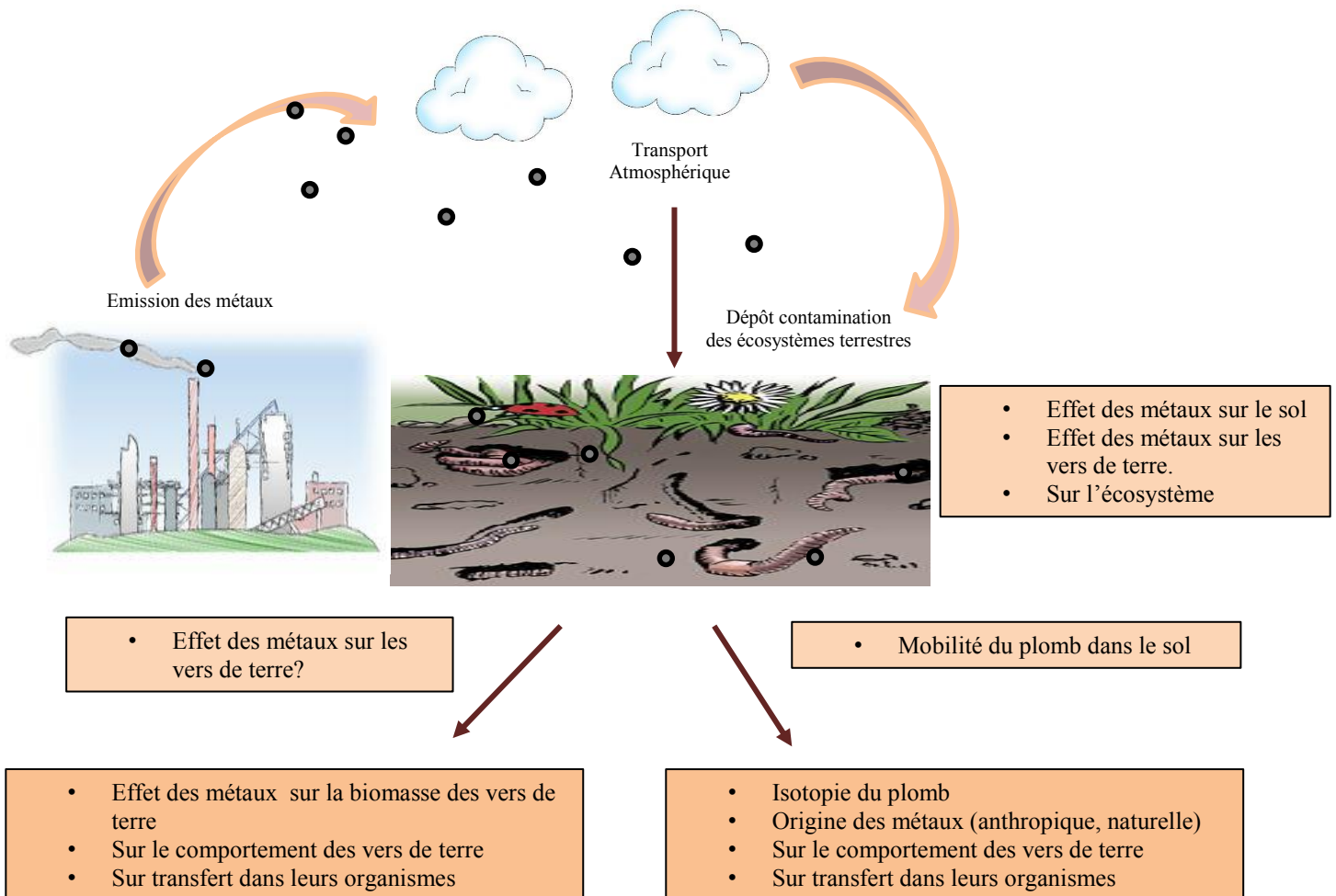


Figure 20 : Schéma des effets des retombés atmosphériques de particules riches en métaux (entreprise ICPE) sur le comportement des vers de terre et effet des vers de terre sur la mobilité des métaux dans le sol.

**Effects of soil pollution by metalloids on earthworm behavior - a mesocosm study
with *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea caliginosa***

Publication soumise à la revue biology and fertility soils

Stéphane Mombo^{1,2}, Eva. Schreck³, Christophe. Laplanche^{1,2}, Camille. Dumat^{1,5}, Yvan. Capowiez*⁴

¹Université de Toulouse; Institut National Polytechnique de Toulouse-Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse (INP-ENSAT), Avenue de l'Agrobiopole, 31326 Castanet Tolosan, France.

²Centre national de la recherche scientifique (CNRS); EcoLab; 31326 Castanet Tolosan, France.

³Géosciences Environnement Toulouse (GET), Observatoire Midi Pyrénées, Université de Toulouse, CNRS, IRD, 14 avenue E. Belin, F-31400 Toulouse, France.

⁴INRA, UR 1115, Plantes et Systèmes Horticoles, Site Agroparc, 84914 Avignon cedex 09, France

⁵Centre d'Etude et de Recherche Travail Organisation Pouvoir (CERTOP), UMR5044, Université Toulouse Jean Jaurès - TOULOUSE II, 5 allée Antonio Machado, 31058 Toulouse Cedex 9, France.

Abstract

The fate of metals in the soil-plant system is currently studied with a focus on the effects of the rhizosphere. However earthworm activity is as well able to influence soil metal mobility. We used repacked soil cores with contaminated soil sampled at different distances (10, 30 and 60 m) from a lead- recycling firm and with two very current earthworm species (*Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus terrestris*). Both the fate of metals (total metal concentrations both in solid and liquid soil compartments) and the toxic effects on earthworms (metal accumulated by earthworm, soil macroporosity and litter removal) were studied.

At 10 m from factory with $12000 \text{ mgPb.kg}^{-1}$, a significant loss of biomass is observed for the two earthworm species, with a more pronounced loss for anecic species compared to endogenic species. That effect on earthworm biomass can be linked to the bioturbation activity of earthworms and on mobility of metals in soil and water infiltration. Against 30 and 60 m there is a biomass gain of the two earthworm species. Indeed, at these distances from the factory, lead concentrations still remains important (respectively $6376 \text{ mgPb.kg}^{-1}$ and $3227 \text{ mgPb.kg}^{-1}$). The biomass gain is more pronounced for the endogenic species. Lixiviation solution characteristics are mainly influenced by pH and soil organic matter that retain the particles. As earthworms are low disturbed in the field by the pollution, their exposure to metal (loid) s throughout soil solution appears therefore as an important way in comparison with solid phase. Finally that original study carry operational data useful for understand the effect of two ecological earthworms' species on the migration of metals in soil.

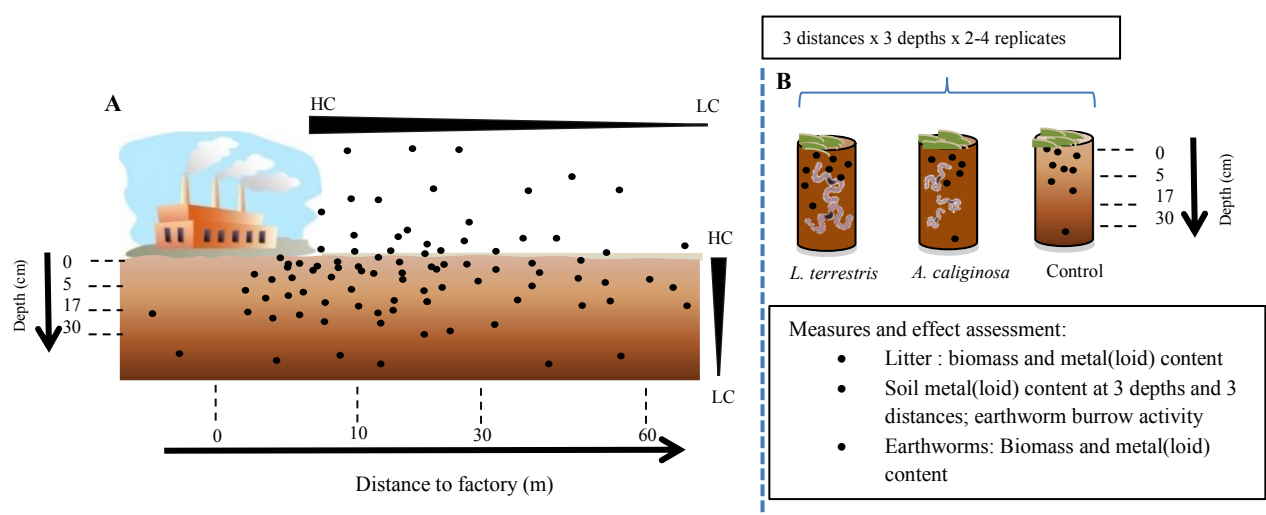


Figure 21: (A) Soil sampling in the field near the factory (10, 30 and 60 m), with a gradient of metal(loid)s concentrations: high contents (HC) and low contents (LC) of metal(loid)s, and (B) Experimental design of the field experiment.

Keywords: metallic contamination; earthworm bioturbation; burrows; *Lumbricus terrestris*; *Aporrectodea caliginosa*; bioaccumulation.

3.1.1 Introduction

Soils and their inhabitants are subject to various anthropogenic pressures such as pollutions that can modify the ecosystem services provided by these organisms (Dittbrenner et al. 2011). Indeed, many human activities such as agriculture (Baker 1998) or industrial activities including second metal smelters or battery recycling, contribute to significant metallic pollution of soils (Uzu et al. 2009; Schreck et al. 2012; Foucault et al. 2013; Mombo et al. 2015). Metal(loid)s are persistent pollutants and can induce (eco)toxicity (Simonin et al., 2015).

Due to their ubiquity, earthworms can be considered as model organisms for ecotoxicity tests to assess soil quality (Schreck et al. 2008; Capowiez et al. 2009; Schreck et al. 2012). Actually, earthworms play important roles related to soil formation, structure and fertility (Jouquet et al., 2006). They represent the largest animal biomass of soils in most terrestrial ecosystems, they can reach up to 1332 individus.m⁻² (Cluzeau et al. 2012). More than 80% of the biomass of terrestrial invertebrates Earthworm compound (Sivakumar, 2015), they are thus of primary importance in the fragmentation and burial of dead organic matters, redesign and stabilization of soil structure, aeration, drainage and fertility (Capowiez et al. 2012). These functions are associated to their important activities of burrows creation and excretion of large quantities of casts deposited on the soil surface or in depth (Le Bayon et al. 2002).

The effects of pollution by some metal(loid)s on earthworms, efficient soil engineers, was already studied (Kennette et al. 2002; Arnold et al. 2008; Capowiez et al. 2011; Cui et al. 2011; Qiu et al. 2014) but these studies mainly focused on mortality, weight loss and reproduction. However metal(loid)s can also modify earthworm behavior (Zorn et al. 2005), and thus burrow creation, cast production and organic matters (OM) burial and dynamics. These parameters can in turn strongly influence several soil functions.

In a previous study, we assessed the field effects of the soil contamination by metal(loid)s (As, Cd, Cu, Pb, Sb and Zn) on earthworm communities in a fallow meadow close to a metal recycling company (Leveque et al. 2015). At increasing distance from the factory,

we had observed an increase in earthworm abundance and diversity, and higher proportion of juveniles. It was however difficult to assess the effects of these metalloids on earthworm behavior and thus on main soil functions. In the present study, we used mesocosms and two current earthworm species, present in this fallow meadow and belonging to two different ecological types: *Lumbricus terrestris* (*L. terrestris*) and *Aporrectodea caliginosa* (*A. caliginosa*). Our aim was to mimic the field conditions observed at three distances from the factory (10, 30 and 60 m) for 3 soil layers (0-5, 5-17 and 17-30 cm) in order to study the effects of this pollution on individuals (earthworm biomass and bioaccumulation) and their behavior (burrowing and organic matter burial) after 5 weeks of exposure. Additionally, water infiltration was assessed in the mesocosms to determine whether modification of the burrowing behaviour could alter soil transfer properties.

3.1.2 Materials and Methods

3.1.2.1 Experimental design from field to mesocosms

The experiment was performed in mesocosms aiming at mimicking the conditions of a historically polluted site (Leveque et al. 2015). The soil (calcic cambisol according to FAO (1998)) was sampled near a secondary lead smelter that recycles since 1967 car batteries in Bazoches-les-Gallérandes (Loiret department, France), 45 km from Orleans and 80 km south of Paris. The soil is largely contaminated by a cocktail of metals and metalloids: As, Cd, Cu, Pb, Sb and Zn. Annex 1 (Supplementary information) reports the soil profiles of metal(loid) concentrations (expressed in mg.kg⁻¹) according to the distance from the factory. The highest concentrations of metals in soils were found at 10 m (62.9, 318.7, 90.2, 11984.2, 256.8 and 493.7 mg kg⁻¹ for respectively As, Cd, Cu, Pb, Sb and Zn). By contrast, the concentrations measured at 60 m from the factory were 18.9, 0.9, 32.8, 62.9, 125.3 and 3227.3, mg kg⁻¹ for respectively As, Cd, Cu, Pb, Sb and Zn.

In this fallow meadow, we chose three distances (10, 30 and 60 m) from the wall of the secondary recycling smelter (Fig 1- A) according to the results of Lévêque et al. (2015). At 10 m, no earthworm was found in the fallow. At 30 m, only adult earthworms were found, mainly *A. longa* (an anecic species). At 60 m, juveniles were also present and some endogeic earthworms were found. At each distance, 10 kg of soil was sampled in three soil layers (0-5,

5-17 and 17-30 cm) to take into account the soil pollution gradient according to depth which is very likely for Pb (Fernandez et al. 2010). Moreover, soil litter was also sampled at the soil surface at these 3 same distances (10, 30 and 60 m) from the plant.

3.1.2.2 Soil characteristics

For soil characterization, soil samples (1000 g) were air dried (for a week), then ground and sieved through a 2 mm stainless steel sieve and a 250 μm nylon sieve and several soil characteristics were determined. The soil pH was measured in water using a 1/5 (v/v) soil/solution ratio according to the standard ISO 10390 procedure according to (Goix et al. 2015). The soil organic carbon and total nitrogen contents were determined by heating the samples at 1000°C in the presence of oxygen according to standard procedures ISO 10694 and ISO 13878 respectively (Cecchi et al 2008). The percentage of clay, sand and silt was determined, those soil characteristics were determined at an independent analytical laboratory in France (INRA, Arras) and main results are summarized in Table 1 (supplementary information).

3.1.2.3 Rebuilding soil

Mesocosms were assembled following the protocol of Capowiez et al. (2014), using a hydraulic press and PVC cylinders of 15.5 cm of diameter and 40 cm high. Soil was first sieved (to 2 mm) and then humidified to reach 18 % (gravimetric). Soil cores were done by adding soil layers. Each layer was compacted by applying a pressure of 175 kPa for 3 min on sieved soil. The bottom side of the column was glued onto a PVC screen with 1.5 mm circular openings occupying 35 % of the surface.

Each soil core was then made of three different horizons. The horizon at the bottom of the column consists of seven layers of 0.5 kg (about 2×7 cm) using the soil sampled between 17 to 30 cm depth. The intermediate horizon consists of 5 layers of 0.6 kg (about 2.5×5 cm) using the soil sampled between 5 and 17 cm depth. The last horizon consists of 2 layers of 0.6 kg (about 2.5×2 cm) using the soil sampled between 0 and 5 cm depth. After completion, the

soil was moistened with 15 mL of water and 4 grams of dried straw (organic matter coming from the corresponding distance) cut into small pieces were placed on top of the cores.

3.1.2.4 Exposition and origin of earthworms

Two earthworm species were used: *L. terrestris* (anecic specie) that was obtained in fish supply (Decathlon®) and *A. caliginosa* (endogeic specie) that was harvested in a wet meadow near Valence, France. *L. terrestris* is the most abundant earthworm in terms of biomass in various temperate ecosystems, it strongly affects the soil organic matter dynamic (Maleri et al., 2008). *A. caliginosa* is a very common species and well known for its intense bioturbation activities (Dittbrenner et al., 2011a). For each distance, ten mesocosms were assembled: 2 control (without earthworm), 4 mesocosms with 2 adults of *L. terrestris* (mean weight = 4.48 g) and 4 mesocosms with 3 adults of *Ac* (mean weight = 0.43 g). Soil columns were then placed in a dark chamber at 12° C during 5 weeks for the exposure experiment.

3.1.2.5 Determination of earthworm biomass and litter consumption

To determine the variation in earthworm biomass, earthworms were weighted before and after the experiment respectively after 4 days of fasting.

Four g of dry litter was introduced at the beginning of the experiment, the remaining litter was harvested, dried (35°C during 2 days in an oven) and weighed at the end of the experiment in order to assess the percentage of litter that was buried or eaten during exposure in each mesocosm.

3.1.2.6 Reconstruction and characterization of 3D earthworm burrow systems

After 5 weeks of incubation, mesocosms were imaged using a medical X-ray scanner (Bright Speed Exel 4, General Electric) at the INRA centre in Nancy to obtain a set of images with 1.25 mm thick every 1.25 mm. The settings at which the X-ray beam was operated were 130 mA and 50 kV. Images resulting from tomography are in the DICOM format and were transformed to 8-bit images by setting the minimum and maximum greylevel values that will be kept (in our case, these values were 1000 and 2000 HU). Images were then easily binarized

(threshold =185) since the greylevel histograms clearly showed two peaks, one for the soil matrix and one for the pores (Capowiez et al. 1998).

The burrow system were then reconstructed in 3D and the number of macropores and the volume of macroporosity in each mesocosm were simply computed by counting the number of 3D macropores (whose volume was larger than 500 voxels, i.e. 0.1 cm³) and summing their volume. This volume was computed for each soil layer in order to evaluate the percentage of burrow volume in each soil layer. The burrow system continuity was assessed by counting the number of macropores whose vertical extension was superior to the soil mesocosm depth (continuity 100%) or half this depth (continuity 50%).

3.1.2.7 Water infiltration in the mesocosms

The Beerkan method, based on *in situ* single-ring water infiltration experiments and adapted from Braud et al. (2005), was applied for all mesocosms at the end of the experiment. Measured doses of water of the same volume (0.2 L) were prepared and then poured into the soil as soon as the previous volume was infiltrated. The time required for the infiltration of each volume was measured. The relationship between the total volume infiltrated and time is linear after a few volumes and enables to compute final infiltration rate (L min⁻¹) (Capowiez et al. 2014).

3.1.2.8 Metal(loid) contents determination in soil, litter and earthworm samples

For determining the concentration of metal(oid)s in the soil, after dried and sieved to under 22 mm, 0.5 g were mineralized in aqua regia according to ISO 11466 (ISO 1995)(HNO₃ 65 %, HCl37%;ratio 1:3v/v) (Mombo et al 2015). For earthworm and litter samples (0.125 g) were acid mineralized in 5 mL HNO₃ 70 % at 80 °C for 4 h with a Digiprep® instrument from SCP Science producer, which is a block digestion system allowing fast and uniform plant sample digestion.

As, Cd, Cu, Pb, Sb and Zn concentrations were then measured in the different samples by inductively coupled plasma-optical emission spectrometry ICP-OES (IRIS Intrepid II XXDL) as described by Schreck et al. (2012).

Three replicates were performed for each sample and the control consisted of blank samples subjected to the same treatment (mineralization and assay). The detection limits for As, Cd, Cu, Pb, Sb and Zn were respectively 0.2, 0.2, 0.2, 0.3, 0.2 and 0.3 $\mu\text{g L}^{-1}$, whereas the limits of quantification were respectively 0.3, 0.3, 0.3, 0.4, 0.3, and 0.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ for As, Cd, Cu, Sb, Zn and Pb (Schreck et al., 2012; Mombo et al., 2015). The accuracy of the acid digestion and the analytical procedures was verified using reference materials: lobster tissue (TORT-2) for earthworm mineralization, Virginia tobacco leaves (CTA-VTL-2, ICHTJ and TM-26.3) certified reference material from the National Water Research Institute Canada for straw samples. The concentrations found were within 95–102% of the certified values for all measured elements. ICP-OES measures were done in triplicate.

3.1.2.9 Bioaccumulation factor

In this study, the BioAccumulation Factor (BAF) was used to estimate the bioavailability of As, Cd, Cu, Pb, Sb and Zn in the two earthworm species. It was calculated as the ratio of the element concentration in earthworm (in mg kg^{-1} of dry weight DW) to the total soil element content (in mg kg^{-1} of dry weight DW).

3.1.2.10 Statistical analysis

Following one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's HSD tests were performed to determine significant differences, a Tukey's test was used to test for pairwise differences in earthworm abundance, relative to the gradient of metal(loid) concentrations. Homogeneity of variance was first tested using Levene's test. If the dependent variables were not homogeneous even after logarithmic transformation, non-parametric Kruskal–Wallis and Mann–Whitney tests were applied (for example for burrow continuity). Results were expressed as means \pm SD (standard deviation). Statistical differences were accepted when the probability of the result assuming the null hypothesis (p) was less than 5%. Statistical computations were done using R 2.1.3 software.

3.1.3 Results

3.1.3.1 General properties of soils

Table S1 lists the general properties of the soils. The pH of soils slightly increases with distance from factory 7.9 to 8.3. Field capacity depending the distance to the plant increases slightly without being significant. CEC is different to 60 m. The percentages in different elements clay, silt and sand can changing very little with the distance of factory.

3.1.3.2 Earthworm litter consumption

The percentage of litter removed from the top of the mesocosm by earthworms is significantly influenced by the distance from the factory for both species. For *L. terrestris* values increase with distance from the plant they are: 10.16 % of litter was removed to 10 m and 57.75% to 60 m. For *A. caliginosa* the trend is the same with the lower percentages were: -2.5% to 10 m, and 11.94% to 60 m (Figure. 22).

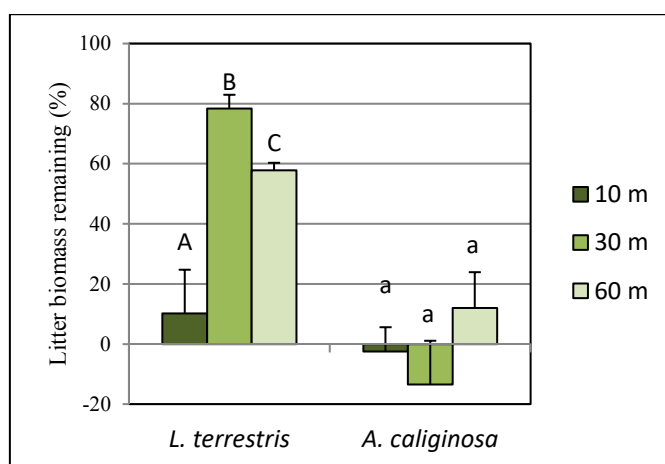


Figure 22 : Litter consumption (% of litter remaining at the end of the experiment) during the exposure experiment. Results are means \pm MSE. The letters represent the results of statistical tests (HSD; $p < 0.05$): two different letters indicate significant differed

3.1.3.3 Metal (loid) concentrations in earthworms and litter

Lead concentrations in *L. terrestris* and *A. caliginosa* were respectively 3476.5 ± 627 and $380.2 \pm 74 \text{ mg kg}^{-1}$ at 10 m from the factory, 1681.7 ± 267 and $3188.9 \pm 1079 \text{ mg kg}^{-1}$ at 30 m from the factory and 684.1 ± 32 and $1476.5 \pm 206 \text{ mg kg}^{-1}$ at 60 m from the factory (Figure 3). Zinc concentrations are lower than lead concentrations, and are respectively 410.7 ± 63 and $194.8 \pm 161 \text{ mg kg}^{-1}$ at 10 m from the factory, 367.1 ± 26 and $559 \pm 203 \text{ mg kg}^{-1}$ at 30 m from the factory and 522.2 ± 115 and $419 \pm 29 \text{ mg kg}^{-1}$ at 60 m from the factory. For cadmium, the concentrations in *L. terrestris* and *A. caliginosa* are respectively 206.4 ± 61 and $47.4 \pm 31 \text{ mg kg}^{-1}$ at 10 m from the factory, 31.4 ± 2.5 and $155.2 \pm 99 \text{ mg kg}^{-1}$ at 30 m from the factory and 14.7 ± 5.6 and $50.1 \pm 7.2 \text{ mg kg}^{-1}$ at 60 m (Figure. 23).

Metal (oid) s concentration measurements in litter show that it is highly concentrated. With concentration levels that vary depending on the distance to the plant. At all distances 10 30 and 60 m, they follow the order $\text{Pb} > \text{Zn} > \text{Sb} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{As}$ (Figure. S26).

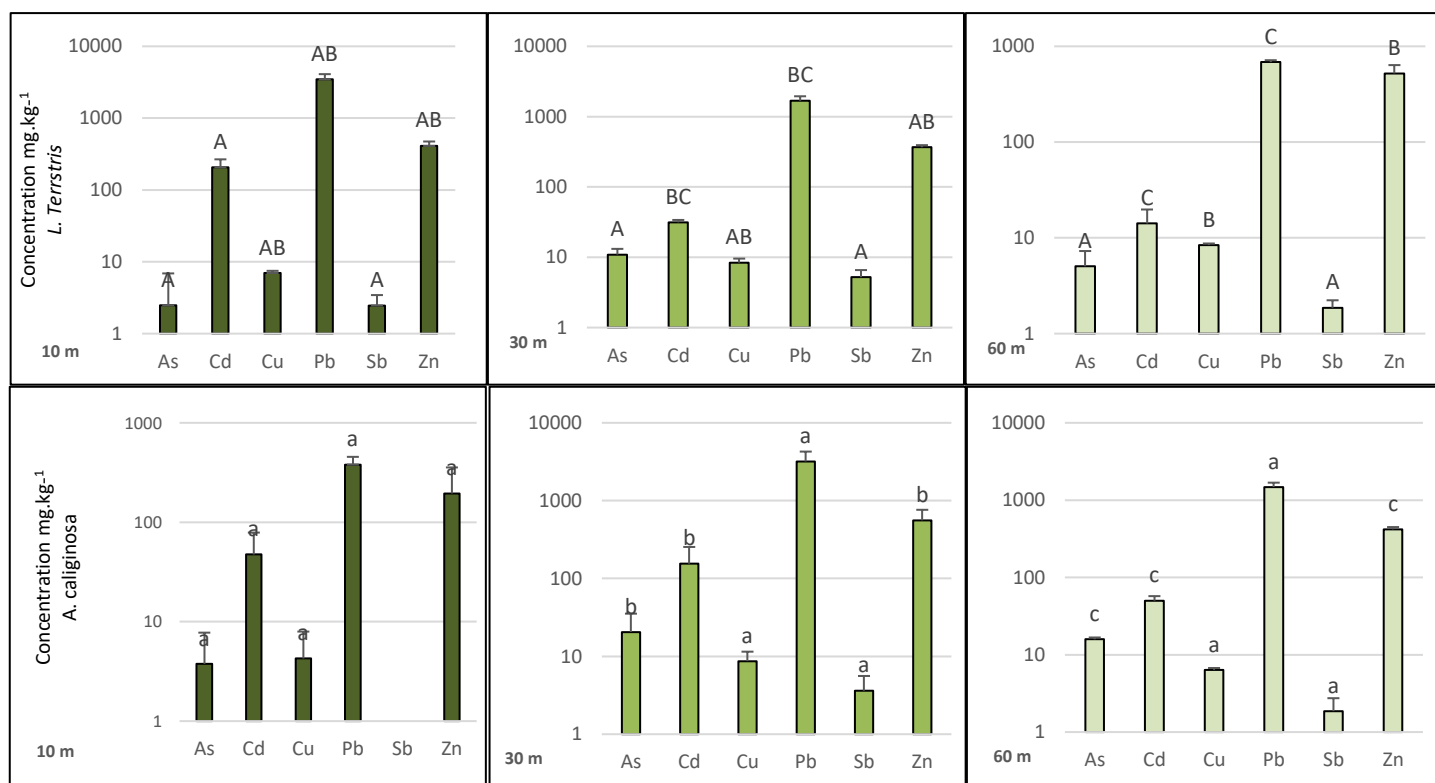


Figure 23 : Metal(loid) concentrations in earthworms (mg kg^{-1}) in function of the species and the distance from the factory at which soil was sampled. Results are mean \pm MSE. The letters represent the results of statistical tests (HSD; $p < 0.05$): bars bearing different letters are significantly different. Each earthworm species was tested separately (capitals and lowercase letters concern respectively *L. terrestris* and *A. caliginosa*).

3.1.3.4 Earthworm biomass

For both earthworm species, earthworms lost weight in mesocosms corresponding to soil conditions at 10 m from the factory and thus the highest metal(loid)s concentrations (Figure. 2 4). However, these weight losses remained limited (about 10.5 % and 1.5 % for *L. terrestris* and *A. caliginosa*, respectively) albeit significantly different from the other mesocosms (30 and 60 m) for both species. For all the other mesocosms (30 and 60 m), earthworms gained weight respectively (28.57 and 22.85) for *L. terrestris* and (22.74 and 60.37) for *A. caliginosa*. This increase of biomass was no significant different observed between these two distances for each species.

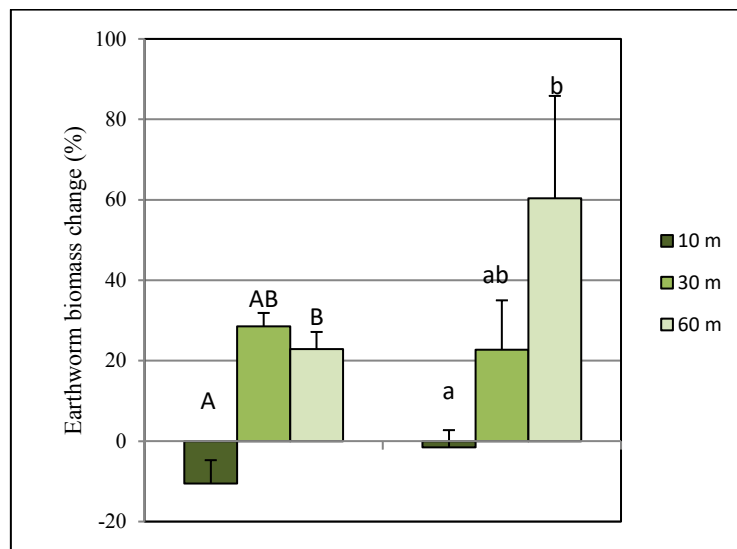


Figure 24 : Results of earthworm biomass changes during the exposure experiment for the two earthworm species. Results are illustrated as the mean \pm MSE and ANOVA was performed. The letters represent the results of statistical tests (HSD; $p < 0.05$): two different letters indicate significant differences of pollutant concentration in earthworm. Capitals and lowercase letters concern respectively data measured for *L. terrestris* (depending the distances to factory), and *A. caliginosa*.

3.1.3.5 Bioaccumulation factor (BAF)

Table 6 presents the mean BioAccumulation Factors (BAF) of metal (loid) s in *L. terrestris* and *A. caliginosa* for each distance from the factory: 10, 30 and 60 m. For both species, BAF values rank as follows: Cd > Zn > Pb > Cu > As > Sb. Only Cd and Zn showed bioaccumulation factor values above 1, indicating that these two elements were accumulated by both species. For As, Cu, Pb and Sb, BAF values were below 1 and very similar for both species

Tableau 6 : Mean Bioaccumulation factors (BAF) of metal (loid) s in two earthworm species incubated in the soil sampled at different distances to the factory (10, 30 and 60 m).

| | Distance sampling soil (m) | As | Cd | Cu | Pb | Sb | Zn |
|------------------------------------|----------------------------|------|------|------|------|-------|------|
| BAF <i>L. terrestris</i> | 10 | 0.05 | 0.74 | 0.13 | 0.34 | 0.015 | 0.88 |
| | 30 | 0.29 | 0.98 | 0.29 | 0.43 | 0.068 | 3.08 |
| | 60 | 0.32 | 1.27 | 0.36 | 0.34 | 0.040 | 5.71 |
| BAF <i>A. caliginosa</i> | 10 | NA | 0.17 | 0.08 | 0.04 | 0.00 | 0.41 |
| | 30 | NA | 4.86 | 0.30 | 0.82 | 0.05 | 4.70 |
| | 60 | NA | 4.86 | 0.27 | 0.74 | 0.04 | 4.58 |

3.1.3.6 Characteristics of the 3D burrow systems

The burrow systems made by the two earthworm species during the experiment were different quantitatively and qualitatively (Fig. 25). These differences were not unexpected (Dittbrenner et al. 2011a, Capowiez et al. 2015) since these two earthworm species belong to different ecological groups (anecic vs endogeic). Indeed *L. terrestris* made significantly less burrows ($p < 0.01$) since they were more continuous burrows and these burrows had a large diameter which results in a significantly higher volume of macroporosity compared to *A. caliginosa* ($p < 0.01$). It was as well striking that both species, at least at 30 and 60 m, preferentially burrowed in the top layer (0-5 cm) representing 42 to 78 % of the macroporosity with no significant difference observed between the two species.

Beyond these obvious differences, the origin of the soil (i.e. the distance from the plant) has a marked influence on the burrow system. In the soil that was sampled at 10 m from the plant, both *L. terrestris* and *A. caliginosa* made a significantly reduced volume of macroporosity, by respectively 75% and 65% compared to the values observed for 60 m (Table 2). Moreover, the continuity of the burrow systems made by *L. terrestris* (assessed by the

number of burrows whose vertical extension was greater than 12.5 cm) was significantly lower at 10 m by 60% compared to 30 and 60 m ($p=0.048$). Interestingly, the percentage of macroporosity made in the first soil layer (0-5 cm) was significantly less for *A. caliginosa* at 10 m (42.5%) compared to the two other distances (more than 60 %) indicating that the burrow system of *A. caliginosa* was more deep at 10 m. For *L. terrestris*, the opposite trend was observed, albeit non significantly, with 78.5% of the macroporosity concentrated in the first soil layer at 10 m compared to less than 60% at 30 and 60 m.

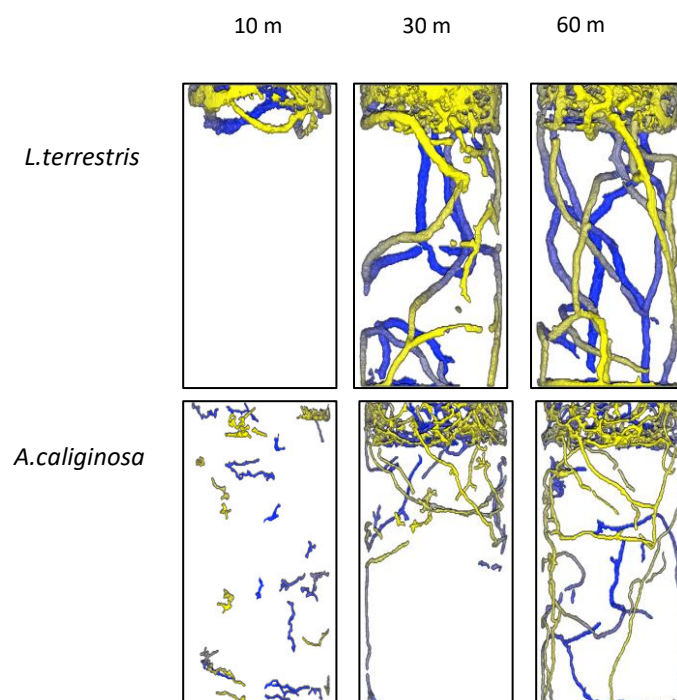


Figure 25 : Earthworm burrow activity in soil for three different distances from the factory (10, 30 and 60 m). Three-dimensional reconstructions of earthworm burrow, imaged by X-ray CT. Color gradations used for 3-D rendering, yellow for the foreground to blue for the background. All results are given in supplementary information.

3.1.3.7 Infiltration rates

At 30 and 60 m, the water infiltration was significantly and greatly higher and the breakthrough time significantly lower in the core incubated with *L. terrestris* compared to those incubated with *A. caliginosa* ($p<0.01$ for both parameters; Table 7). The water infiltration rate in the cores incubated with *L. terrestris* was significantly reduced at 10 m compared to 30 and 60 m ($p=0.036$) with a decrease of about 70%. The breakthrough time for *L. terrestris* was significantly higher at 10 m compared to 60 m ($p=0.034$). No significant

Tableau 7: Earthworm burrow systems (control column) characteristics and the data measured at the end of the experiment (5 weeks): burrow number and their continuity and water infiltration parameters within the galleries.

| | | <i>L. terrestris</i> | | | <i>A. caliginosa</i> | | |
|---|-------|----------------------|--------------------|--------------------|----------------------|-------------------|-------------------|
| Distance from the plant (m) | | 10 | 30 | 60 | 10 | 30 | 60 |
| Volume (cm ³) for the whole core | | 43.8 ^b | 162.7 ^a | 176.8 ^a | 15.12 ^b | 42.8 ^a | 43.4 ^a |
| Volume (cm ³) for each soil layer | 0-5 | 32.6±16.40 | 87.02±38.40 | 97.18± 36.99 | 8.11±7.57 | 27.03± 5.96 | 31.57 ± 18.27 |
| | 5-17 | 8.48±6.93 | 34.33±17.71 | 39.34 ± 26.57 | 3.18±3.05 | 14.67± 6.01 | 9.00 ± 2.05 |
| | 17-30 | 2.66±6.93 | 41.31±34.50 | 40.25 ± 21.70 | 3.83±3.05 | 1.07 ± 0.94 | 2.80 ±2.05 |
| Burrow number | | 16.3 | 32.2 | 20.0 | 54.5 | 71.7 | 58.7 |
| Continuity* (100 %) | | 0.00 | 0.75 | 0.75 | 0.00 | 0.00 | 0.25 |
| Continuity* (50 %) | | 0.33 ^b | 2.00 ^a | 1.25 ^a | 0.25 | 0.50 | 1.75 |
| Infiltration rate (mL.s ⁻¹) | | 6.3 ^b | 23.6 ^a | 18.6 ^a | 8.8 | 14.1 | 9.0 |
| Breakthrough time (s) | | 135.0 ^a | 48.2 ^{ab} | 12.7 ^b | 82.3 | 105.0 | 102.7 |

3.1.4 Discussion

3.1.4.1 Ecotoxic effects of metal (loid) s in reconstituted soil cores

3.1.4.1.1 Earthworm's mortality

Despite the very high concentrations of metal(loid)s in soils, no mortality of earthworms were recorded during the five weeks of exposure, suggesting earthworms, in short term studies, are robust and can be good bioindicator organisms (Nam et al. 2015; Tang et al. 2016). Sivakumar (2015) determined that Pb LC₅₀ concentration for *E. fetida* in artificial soil was 2589 mg Pb.kg⁻¹, concentrations lower that those observed in our study at 10 m and 30 m for the two first soil layers (0-17 cm). This demonstrated recent pollution with salt in artificial soils cannot be compared with historical pollution in natural soils.

3.1.4.1.2 Earthworm biomass and litter consumption

Observations and literature have shown the effects of the uptake of metal (loid) s by different earthworm species with direct consequences for their biomass (Morgan and Morgan, 1998; Nannoni et., 2011). These last can be very toxic, with the direct effect a loss of body biomass, reduced growth, fertility reduction, behavior modification and can kill earthworms (Ma et al. 2002; Zheng and Li 2009). As can be seen, the biomass of both earthworm species is strongly influenced by the metal content (Figure. 24). Indeed, the biomass of two earthworm species is strongly impacted 10 m. This loss of biomass relative to starting biomass is mainly due to very high concentrations of metal (loid) s that distance. *L. terrestris* is the species that is most affected because it loses more biomass than *A. caliginosa* (Figure. 24). *A. caliginosa* therefor obtained in a natural environment contre *L. terrestris* was achieved in gold shop He had never been Subjected to stressful situations May explain biomass loss. In his study (Song et al. 2002) observed inhibition of earthworm growth rates due to high concentrations of Cu. In his study (Song et al., 2002) observed inhibition of earthworm growth rates due to high concentrations of Cu. This loss of biomass has the direct consequence, the slowdown in various important earthworm activities for the proper functioning of soil (Ruiz et al. 2011; Jouquet et al. 2014). A 10 m the percentage of disappeared litter is significantly different, less important to the 30-and 60 m in particular the species *L. terrestris*. It has a direct relationship between the activity of earthworms, the soil concentration and biomass. Earthworm with a decline in biomass will be a less important activity that earthworms with biomass increases this well observed in (Fig. 25) to 30 and 60 for *L. terrestris*, there is an increase of the litter consumed which corresponds to a biomass increase of earthworms and also an increase in its Bioturbation activity. At these distances 30 and 60 m earthworms do not seem to be impacted by high concentrations. The anecic species will regularly go to the ground surface or the concentrations of metal (oid) s are higher in search of food and promoting its exposure to very high concentrations. *A. caliginosa* will have a low power consumption of a litter strong increase in biomass from its flights from biomass and less create gallery networks between the surface and the lower soil horizons to 10 m.

3.1.4.1.3 Metal (loid) bioaccumulation by earthworms: BAFs

BAFs information on the ability of worms to accumulate metal (loid) s in these different tissues. It is known that worms do not accumulate metals their homogeneously organisms according to the element concentration in the environments. Indeed, [Morgan et Morgan \(1990\)](#) concluded that the posterior part of the alimentary canal of worms of the genus *Aporrectodea*, accumulated significantly higher concentrations of Cd, Pb and Zn compared to other tissues. Similarly, [Lévêque et al \(2013\)](#) observed that the worms accumulated metal (loid) s in parts of their bodies including the longitudinal muscles and intestinal walls. Studies have shown that earthworms consumed litter contaminated with metal (loid) s selective manner compared to the level of concentration of metal (loid) s contained in the latter ([Sizmur et al. 2011](#)). What can explain the fact bioaccumulation of some metal (loid) s such as Cd and Zn are significantly higher than others (As, Sb). The concentrations metal (loid) s in the litter have certainly promote earthworms select the less contaminated elements.

Zinc and copper are essential micronutrients for earthworms, it has the ability regulate his body ([Spurgeon and Hopkin 1999](#); [Nannoni et al. 2011](#); [Giska et al. 2014](#)). Studies have shown that Zn participating in the control of respiration and growth of various tissues of earthworms ([Morgan, 1984](#)). However, we can see has very high concentrations in the soil the worms less likely to accumulate Zn in their various tissues as seen between 10 and 60 m, or bioaccumulation increases significantly, she spends respectively 0.88 to 5.71 for *L. terrestris* and 0.41 to 4.58 for *A. caliginosa*. These results have already observed a very high concentration of 80 to 100 mgkg⁻¹ dry weight ([van Gestel et al. 1993](#)). Above these levels, regulation of Zn by earthworms becomes difficult ([Lock and Janssen 2001](#)). This regulation can be explained by rapid excretion and or poor absorption. The report measures the concentrations in earthworms on concentrations in the casts show that *A. caliginosa* and *L. terrestris* evacuate metal (loid) s unessential opposite way. Concentrations in castings *L. terrestris* evolve in the same way that the concentrations in the soil, while for *A. caliginosa* concentrations changing inversely as the ground not supplied data.

For Cd, several other studies have demonstrated its high bioaccumulation in the earthworms despite the fact that he only toxicity ([Richardson et al. 2015](#)). Its high mobility and availability in the soil is one of the explanations, it is mainly associated with soluble and extractable soil fractions and therefore tends to be more readily available than many other metal(loid)s ([Asgher et al. 2015](#)). It is available as lead, because it is mainly found in the soil

solution (Cd^{2+} ion, inorganic or organic complexes) or slightly bound to the solid phase (Verbruggen et al., 2009). The Cd has high chemical affinity with zinc belonging to the same family of the periodic table. In addition, the particle size also can affect the availability of Cd (Wu et al. 2016). The earthworms are known to be tolerant to cadmium through its detoxification system by metallothionein proteins in the posterior gut (Morgan et al., 1989). For other metal (loid) s (As, Sb) which have no known function for earthworms, we find that their bioaccumulations factors increase slightly or remain constant regardless of the concentration in the soil.

3.1.4.2 Metalloid effect on the behavior of earthworms

Both earthworm species naturally have different behaviors because they belong to different groups. *L. terrestris* for food will go to the surface and preferably at night to seek food and escape predators. *A. caliginosa* when to him will stay in depth with predominantly horizontal galleries. The fact *L. terrestris* move by getting food to the area to bring it back into the lower soil horizons is a significant exposure factor. Contrast to *A. caliginosa* remains naturally in the lower horizons or concentrations are lower. The accumulation of metal(loid)s in earthworms depend on several factors including the type of habitat and species of earth worms (Sizmur et al. 2011). Earthworms absorb metal (loid) s by skin contact (Spurgeon et al., 1994) which increases the risk of exposure to *L. terrestris* and can explain the very high concentration in the body unlike 10 m to *A. caliginosa*. Studies have shown that a caliginosa appeared to be a species less resistant to pollutants than *L. terrestris*. Indeed, (Dittbrenner et al. 2011) observed a marked difference in the sensitivity to an organic pollutant three earthworm species subject to the same concentrations. The minimum concentration at which an effect was observed (LOEC) was significantly different for both species, it was 0.2 mg kg^{-1} for *A. caliginosa* and 2 mg kg^{-1} for *L. terrestris*. Which could explain the fact that for the very high concentrations (10 m) was a different behavior depending on earthworm species.

For biomass loss, they observed that *A. caliginosa* was more sensitive than *L. terrestris*. This difference in interspecies sensitivity can be the origin of behavior modification earthworms facing this exposure. At very high concentrations *A. caliginosa* will tend to take precautions to limit exposure by staying in more depth (Fig. 25). While *L. terrestris* is forced up to the surface or the risk of exposure is greatest will eventually spend its entire surface exposure time (Fig.

25). The horizon gallery volumes show that 10 m or concentrations are highest, *L. terrestris* stay mainly in the horizon 0-5 cm. Contrary, *A. caliginosa* will remain in the lower horizons and limited exposure to the maximum. This could explain its low bioaccumulation factor was this distance. *L. terrestris* Accumulates more metals at higher concentrations, whereas at low concentrations the accumulation was higher in *A. caliginosa* (Fig. 22).

30 and 60 m for *L. terrestris* and *A. caliginosa* will spend more time in the upper horizons (Fig. 25). At these distances against was observed for both earthworm species increased their biomass, despite the still high concentrations at these distances. Concentrations of EC₅₀ and LC₅₀ of earthworms, much larger than ours have been observed (Spurgeon et al., 1994). One might think that the concentrations at these distances are not important enough to disrupt the normal behavior of earthworms. 30 and 60 m of the factory there is an increase in the volume of galleries, characterized by increased earthworm activity contrary to 10 m or there is a decrease in activity of earthworms is characterized by a decline in biomass reduction of bioturbation activity. This kind of observation was made (Tang et al. 2016) which after exposure of earthworms mercury found a gradual decrease in the depth of burial and the total length of earthworm galleries (*Eisenia fetida*) with increase of the concentration of mercury in the soil.

3.1.4.3 Earthworms burrow activities

Disappearance of the litter or not by the worms to a direct effect on their behavior as can be seen in (Figure 25) who presents bioturbation of the behavior of both earthworm species 10 30 60 m. Indeed, here we can see a 10 m total change in the behavior of earthworms which is characterized by a total absence of gallery *L. terrestris* and a total discontinuity galleries for *A. caliginosa* which is consistent with the fact observed a decline in litter consumption at that distance or metal concentrations are highest.

The metal ions to very high concentrations have an effect on the biomass of earthworms, their behavior bioturbation, but also on their ability to produce castings as also found (Vorenhout et al. 2000). Another question is what may be the effect of earthworms on the mobility and fate of metals?

3.1.5 Reverse effects of earthworm activities on pollutant's fate and soil physical properties

3.1.5.1 Metal (loid) fate in soils in function of depth

When metals are on the soil, they bind to the organic material or not depending on their chemical forms (Van Herwijnen et al. 2007; Jouquet et al. 2014). In various forms they may be more or less readily bioavailable. Bioavailability of metals is controlled not only by the presence of elements in solution but also by their speciation (Gestel et al. 1995; Li and Li 2000; Thakali et al. 2006). Earthworms by their activities produce substances that promote the bioavailability of metals, earthworms can increase the mobility and availability of metal(loid)s in soils (Sizmur and Hodson 2009). Indeed, they produce intestinal mucus located with water, soluble carbon and nitrogen in comparison with bulk soil that will revive some bacteria through ingestion of soil and excrete some bacteria and mycorrhizal fungi are highly activated (Bernard et al. 2012). These bacteria promote degradation of the organic material which permits release metals which then migrate into the soil (Sizmur and Hodson 2009). In fact These microorganisms can change the status of chemical elements and thereby influence their availability (Wang and Rainbow 2008; Ruiz et al. 2009; Foucault et al. 2013).

It is known that clay particles and humus may have an excess of negative charges at their surfaces to which the colloidal cations can attach. These low fixed cations can be replaced by others and be released into the soil solution where they are available. However, worms are capable of inducing such replacements by altering the chemical form of metals but also soil pH (Leveque et al. 2014). Studies have shown that pH located near the galleries earthworms was higher than the surrounding soil (Dempsey et al. 2011) that increasing the pH can promote complexation no metal organic matter by reducing the solubility these latter. Indeed, (Jongmans et al. 2003) observed an increase in the fraction of metals bound to organic matter in the presence of earthworms. (Leveque et al. 2014) did not observe an increase in the bioavailability of metals influences the earthworms, is consistent with our results.

3.1.5.2 Soil aeration and infiltration water rates

As can be seen (Fig. S28) on the rate of water infiltration into the soil, greater infiltration was observed for the 60 and 30 m, 10 m is not only the most speed slow but also the longest time which shows contrast to the activity of both worm species that is completely disrupted at

10 m or concentrations are highest. Presumably this higher activity may affect migration (leaching) of metals. We realize that the level of migration of metals on different soils at all distances, we do not observe a significant difference in the waters trickling (leachate). In Epit of different diameters of galleries, their continuity, and their densities but also of species belonging to different ecological groups (different functional type).

The impact of bioturbation of earthworms on soil and its components varies according to their ecological categories. Earthworms influence the mineralogy of the soil components (Needham et al. 2004). Anecic them to land are part of the ecological kind that have a significant influence on the ground (Bouché, 1977). For these two categories, one can notice a significant bioturbation activity decreases with increasing concentrations of metal (loid) s (Fig. 25). In sites with large communities in volume galleries contributes greatly to soil porosity and thus provides a passage for air and water (Farenhorst et al. 2000; Jouquet et al. 2014). These activities lead to the improvement of macroporosity and gas exchange of the soil. Microcosms experiments have shown that the creation of galleries *L. terrestris* increased from 8 to 9 times the hydraulic conductivity (Capowiez et al. 2010). You might think that this increase in conductivity can also increase the concentration of metal ions into the lower soil horizons which apparently in this study is not the case.

As seen in Figure 8, the time of infiltration and rainwater on the bioturbated soil by both ecological type of worms Lt and remained Ac is approximately the same, with rates infiltration and flow that gradually decreases with increasing concentrations metal(loid)s. This reduction in the infiltration rate is direct consequence of the slowdown in activity in the soil bioturbation by two earthworm species with increasing concentrations of metal(loid)s, which inevitably leads to a lack of communication between the various horizons soil thus promoting its gradual degradation (Jouquet et al. 2014).

3.1.6 Conclusions and Perspectives

Earthworms are good bio-indicators for soil pollution by metal (loid) s. They have the ability to withstand natural conditions to very high concentrations without losing their bodily biomasses. They have the ability to regulate the levels of certain metal (loid) s beneficial or not for their organisms, when they are not excessively high in the ecosystem where they are. High

concentrations metalloid in their casts show that they can evacuate very large amount of metalloids by their faeces.

Behavior of bioturbation, the fact of going to the surface looking for food, *L. terrestris* tends to more exposure to metal (loid) s than *A. caliginosa*. Natural behavior in these conditions could be a limiting factor for him, unlike *A. caliginosa*. However, this behavior is exposed to Metalloids will allow a better aeration of the soil, an increase exchanges between the different soil horizons, a top soil tillage. For the purpose of sustainable management of soil contaminated with metal (loid) s, *L. terrestris* would be a better alternative than *A. caliginosa*. Indeed, this last for very high concentrations will avoid highly polluted areas to keep activity in less polluted areas. This avoidance behavior is a rare observation, it has a beneficial effect for the earth to but not against beneficial to the soil that will not benefit from the advantages of bioturbation.

Concentrations in rain water that flows through the soil or lived earthworm does not depend on the soil concentration or the presence of earthworms. More detailed studies on this level can be considered to better understand this phenomenon.

Acknowledgments

ANRT (National Agency for Research and Technology) and STCM (Société de Traitement Chimique des Métaux) are acknowledged for their financial support and technical help. This work has received support from the National Research Agency under reference ANR-12-0011-VBDU.

References

- Arnold RE, Hodson ME, Langdon CJ (2008) A Cu tolerant population of the earthworm *Dendrodrilus rubidus* (Savigny, 1862) at Coniston Copper Mines, Cumbria, UK. *Environ Pollut* 152:713–22. doi: 10.1016/j.envpol.2007.06.048
- Asgher M, Khan MIR, Anjum NA, Khan NA (2015) Minimising toxicity of cadmium in plants - role of plant growth regulators. *Protoplasma* 252:399–413. doi: 10.1007/s00709-014-0710-4
- Baker GH (1998) Recognising and responding to the influences of agriculture and other land-use practices on soil fauna in Australia. *Appl Soil Ecol* 9:303–310. doi: 10.1016/S0929-1393(98)00081-X
- Bernard L, Chapuis-Lardy L, Razafimbelo T, et al (2012) Endogeic earthworms shape bacterial functional communities and affect organic matter mineralization in a tropical soil. *ISME J* 6:213–222. doi: 10.1038/ismej.2011.87
- Capowiez Y, Cadoux S, Bouchant P, et al (2009) The effect of tillage type and cropping system on earthworm communities, macroporosity and water infiltration. *Soil Tillage Res* 105:209–216. doi: 10.1016/j.still.2009.09.002
- Capowiez Y, Dittbrenner N, Rault M, et al (2010) Earthworm cast production as a new behavioural biomarker for toxicity testing. *Environ Pollut* 158:388–93. doi: 10.1016/j.envpol.2009.09.003
- Capowiez Y, Sammartino S, Cadoux S, et al (2012) Role of earthworms in regenerating soil structure after compaction in reduced tillage systems. *Soil Biol Biochem* 55:93–103. doi: 10.1016/j.soilbio.2012.06.013
- Capowiez Y, Sammartino S, Michel E (2014) Burrow systems of endogeic earthworms: Effects of earthworm abundance and consequences for soil water infiltration. *Pedobiologia (Jena)* 57:303–309. doi: 10.1016/j.pedobi.2014.04.001
- Capowiez Y, Sammartino S, Michel E (2011) Using X-ray tomography to quantify earthworm bioturbation non-destructively in repacked soil cores. *Geoderma* 162:124–131. doi: 10.1016/j.geoderma.2011.01.011
- Cluzeau D, Guernion M, Chaussod R, et al (2012) Integration of biodiversity in soil quality monitoring: Baselines for microbial and soil fauna parameters for different land-use types. *Eur J Soil Biol* 49:63–72. doi: 10.1016/j.ejsobi.2011.11.003
- Cui L, Li L, Zhang A, et al (2011) Biochar amendment greatly reduces rice Cd uptake in a contaminated paddy soil: a two-year field experiment. *BioResources* 6:2605–2618.
- Dempsey MA, Fisk MC, Fahey TJ (2011) Earthworms increase the ratio of bacteria to fungi in northern hardwood forest soils, primarily by eliminating the organic horizon. *Soil Biol Biochem* 43:2135–2141. doi: 10.1016/j.soilbio.2011.06.017
- Dittbrenner N, Schmitt H, Capowiez Y, Triebskorn R (2011) Sensitivity of *Eisenia fetida* in comparison to *Aporrectodea caliginosa* and *Lumbricus terrestris* after imidacloprid exposure. Body mass change and histopathology. *J Soils Sediments* 11:1000–1010. doi: 10.1007/s11368-011-0397-5
- Farenhorst a., Topp E, Bowman BT, Tomlin a. D (2000) Earthworm burrowing and feeding activity and the potential for atrazine transport by preferential flow. *Soil Biol Biochem* 32:479–488. doi: 10.1016/S0038-0717(99)00177-7
- Foucault Y, Durand M-J, Tack K, et al (2013) Use of ecotoxicity test and ecoscores to improve the

- management of polluted soils: case of a secondary lead smelter plant. *J Hazard Mater* 246-247:291–9. doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.12.042
- Gestel CV, Rademaker MCJ, van Straalen NM (1995) Capacity controlling parameters and their impact on metal toxicity in soil invertebrates. *Biogeodynamics Pollut Soils Sediments* 171–192. doi: 10.1007/978-3-642-79418-6_8
- Giska I, van Gestel CAM, Skip B, Laskowski R (2014) Toxicokinetics of metals in the earthworm *Lumbricus rubellus* exposed to natural polluted soils – relevance of laboratory tests to the field situation. *Environ Pollut* 190:123–132. doi: 10.1016/j.envpol.2014.03.022
- Goix S, Mombo S, Schreck E, et al (2015) Field isotopic study of lead fate and compartmentalization in earthworm–soil–metal particle systems for highly polluted soil near Pb recycling factory. *Chemosphere* 138:10–17. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.05.010
- Jouquet P, Blanchart E, Capowiez Y (2014) Utilization of earthworms and termites for the restoration of ecosystem functioning. *Appl Soil Ecol* 73:34–40. doi: 10.1016/j.apsoil.2013.08.004
- Jouquet P, Dauber J, Lagerlöf J, et al (2006) Soil invertebrates as ecosystem engineers: Intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Appl Soil Ecol* 32:153–164. doi: 10.1016/j.apsoil.2005.07.004
- Kennette D, Hendershot W, Tomlin A, Sauvé S (2002) Uptake of trace metals by the earthworm *Lumbricus terrestris* L. in urban contaminated soils. *Appl Soil Ecol* 19:191–198. doi: 10.1016/S0929-1393(01)00181-0
- Le Bayon RC, Moreau S, Gascuel-Oudoux C, Binet F (2002) Annual variations in earthworm surface-casting activity and soil transport by water runoff under a temperate maize agroecosystem. *Geoderma* 106:121–135. doi: 10.1016/S0016-7061(01)00121-5
- Leveque T, Capowiez Y, Schreck E, et al (2014) Earthworm bioturbation influences the phytoavailability of metals released by particles in cultivated soils. *Environ Pollut* 191:199–206. doi: 10.1016/j.envpol.2014.04.005
- Li LY, Li RS (2000) The role of clay minerals and the effect of H⁺ ions on removal of heavy metal (Pb²⁺) from contaminated soils. *Can Geotech J* 37:296–307. doi: 10.1139/cgj-37-2-296
- Lock K, Janssen CR (2001) Zinc and cadmium body burdens in terrestrial oligochaetes: Use and significance in environmental risk assessment. *Environ Toxicol Chem* 20:2067–2072. doi: 10.1897/1551-5028(2001)020<2067:zacbbi>2.0.co;2
- Ma Y, Dickinson NM, Wong MH (2002) Toxicity of Pb/Zn mine tailings to the earthworm *Pheretima* and the effects of burrowing on metal availability. *Biol Fertil Soils* 36:79–86. doi: 10.1007/s00374-002-0506-0
- Mombo S, Foucault Y, Deola F, et al (2015) Management of human health risk in the context of kitchen gardens polluted by lead and cadmium near a lead recycling company. *J Soils Sediments*. doi: 10.1007/s11368-015-1069-7
- Nam T-H, Jeon H-J, Mo H-H, et al (2015) Determination of biomarkers for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) toxicity to earthworm (*Eisenia fetida*). *Environ Geochem Health* 37:943–51. doi: 10.1007/s10653-015-9706-z
- Nannoni F, Protano G, Riccobono F (2011) Uptake and bioaccumulation of heavy elements by two earthworm species from a smelter contaminated area in northern Kosovo. *Soil Biol Biochem* 43:2359–2367. doi: 10.1016/j.soilbio.2011.08.002
- Needham SJ, Worden RH, McIlroy D (2004) Animal-sediment interactions: the effect of ingestion and

- excretion by worms on mineralogy. *Biogeosciences Discuss* 1:533–559. doi: 10.5194/bgd-1-533-2004
- Pierart A, Shahid M, Séjalon-Delmas N, Dumat C (2015) Antimony bioavailability: Knowledge and research perspectives for sustainable agricultures. *J Hazard Mater* 289:219–234. doi: 10.1016/j.jhazmat.2015.02.011
- Qiu H, Peijnenburg WJGM, van Gestel C a M, Vijver MG (2014) Can commonly measurable traits explain differences in metal accumulation and toxicity in earthworm species? *Ecotoxicology* 23:21–32. doi: 10.1007/s10646-013-1147-9
- Richardson JB, Görres JH, Jackson BP, Friedland a. J (2015) Trace metals and metalloids in forest soils and exotic earthworms in northern New England, USA. *Soil Biol Biochem* 85:190–198. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.03.001
- Ruiz E, Alonso-Azcarate J, Rodriguez L (2011) *Lumbricus terrestris* L. activity increases the availability of metals and their accumulation in maize and barley. *Environ Pollut* 159:722–728. doi: 10.1016/j.envpol.2010.11.032
- Ruiz E, Rodríguez L, Alonso-Azcárate J (2009) Effects of earthworms on metal uptake of heavy metals from polluted mine soils by different crop plants. *Chemosphere* 75:1035–41. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.01.042
- Schreck E, Foucault Y, Sarret G, et al (2012) Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: Mechanisms involved for lead. *Sci Total Environ* 427-428:253–262. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.03.051
- Schreck E, Geret F, Gontier L, Treilhou M (2008) Development and validation of a rapid multiresidue method for pesticide determination using gas chromatography-mass spectrometry: A realistic case in vineyard soils. *Talanta* 77:298–303. doi: 10.1016/j.talanta.2008.06.026
- Simonin M, Guyonnet JP, Martins JMF, et al (2015) Influence of soil properties on the toxicity of TiO₂ nanoparticles on carbon mineralization and bacterial abundance. *J Hazard Mater* 283:529–535. doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.10.004
- Sivakumar S (2015) Effects of metals on earthworm life cycles: a review. *Environ Monit Assess* 187:530. doi: 10.1007/s10661-015-4742-9
- Sizmur T, Hodson ME (2009) Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? - A review. *Environ Pollut* 157:1981–1989. doi: 10.1016/j.envpol.2009.02.029
- Sizmur T, Tilston EL, Charnock J, et al (2011) Impacts of epigeic, anecic and endogeic earthworms on metal and metalloid mobility and availability. *J Environ Monit* 13:266–273. doi: 10.1039/C0EM00519C
- Song Y, Zhou Q, Xu H, et al (2002) Acute toxicological effects of heavy metal pollution in soils on earthworms. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 13:187–90.
- Spurgeon DJ, Hopkin SP (1999) Comparisons of metal accumulation and excretion kinetics in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to contaminated field and laboratory soils. *Appl Soil Ecol* 11:227–243. doi: 10.1016/S0929-1393(98)00150-4
- Spurgeon DJ, Hopkin SP, Jones DT (1994) Effects of cadmium, copper, lead and zinc on growth, reproduction and survival of the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny): Assessing the environmental impact of point-source metal contamination in terrestrial ecosystems. *Environ Pollut* 84:123–130. doi: 10.1016/0269-7491(94)90094-9
- Tang H, Yan Q, Wang X, et al (2016) Earthworm (*Eisenia fetida*) behavioral and respiration responses

- to sublethal mercury concentrations in an artificial soil substrate. *Appl Soil Ecol* 8–13. doi: 10.1016/j.apsoil.2015.12.008
- Thakali S, Allen HE, Di Toro DM, et al (2006) Terrestrial biotic ligand model. 2. Application to Ni and Cu toxicities to plants, invertebrates, and microbes in soil. *Environ Sci Technol* 40:7094–7100. doi: 10.1021/es061173c
- Uzu G, Sobanska S, Aliouane Y, et al (2009) Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation. *Environ Pollut* 157:1178–85. doi: 10.1016/j.envpol.2008.09.053
- van Gestel CAM, Dirven-van Breemen EM, Baerselman R (1993) Accumulation and elimination of cadmium, chromium and zinc and effects on growth and reproduction in *Eisenia andrei* (Oligochaeta, Annelida). *Sci Total Environ* 134:585–597. doi: 10.1016/S0048-9697(05)80061-0
- Van Herwijnen R, Hutchings TR, Al-Tabbaa A, et al (2007) Remediation of metal contaminated soil with mineral-amended composts. *Environ Pollut* 150:347–354. doi: 10.1016/j.envpol.2007.01.023
- Vorenhout M, van Straalen NM, Eijsackers HJP (2000) Assessment of the purifying function of ecosystems. *Environ Toxicol Chem* 19:2161–2163. doi: 10.1002/etc.5620190901
- Wang WX, Rainbow PS (2008) Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comp Biochem Physiol - C Toxicol Pharmacol* 148:315–323. doi: 10.1016/j.cbpc.2008.04.003
- Wu J, Li H, Li F, et al (2016) Distribution and fractionation of cadmium in soil aggregates affected by earthworms (*Eisenia fetida*) and manure compost. *J Soils Sediments*. doi: 10.1007/s11368-016-1433-2
- Zheng R, Li C (2009) Effect of lead on survival, locomotion and sperm morphology of Asian earthworm, *Pheretima guillelmi*. *J Environ Sci* 21:691–695. doi: 10.1016/S1001-0742(08)62325-6
- Zorn MI, Gestel VM, Cornelis A, Eijsackers H (2005) The effect of two endogeic earthworm species on zinc distribution and availability in artificial soil columns. *Soil Biol Biochem* 37:917–925. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.10.012

Supplementary information.

Tableau S8 : Soil physico-chemical characteristics at three distances: 10, 30 and 60 m. CEC and CaCO₃ obtained from Cecchi et al (2008).

| Distance (m) | pH | CEC Cmol+kg ⁻¹ | Clay (%) | Silt (%) | Sand (%) | Total CaCO ₃ (g.kg ⁻¹) | Field capacity (%) |
|--------------|-----|---------------------------|----------|----------|----------|---|--------------------|
| 10 | 7.9 | 15.1±1.9 | 30.4 | 55.5 | 14.1 | 2.5±1.2 | 22.6 |
| 30 | 8.3 | 15.6±2.5 | 32.7 | 56.5 | 10.8 | 2.1±1.2 | 23.5 |
| 60 | 8.2 | 20.5±1.4 | 34.1 | 55.8 | 10.1 | 0.73±0.3 | 24.1 |

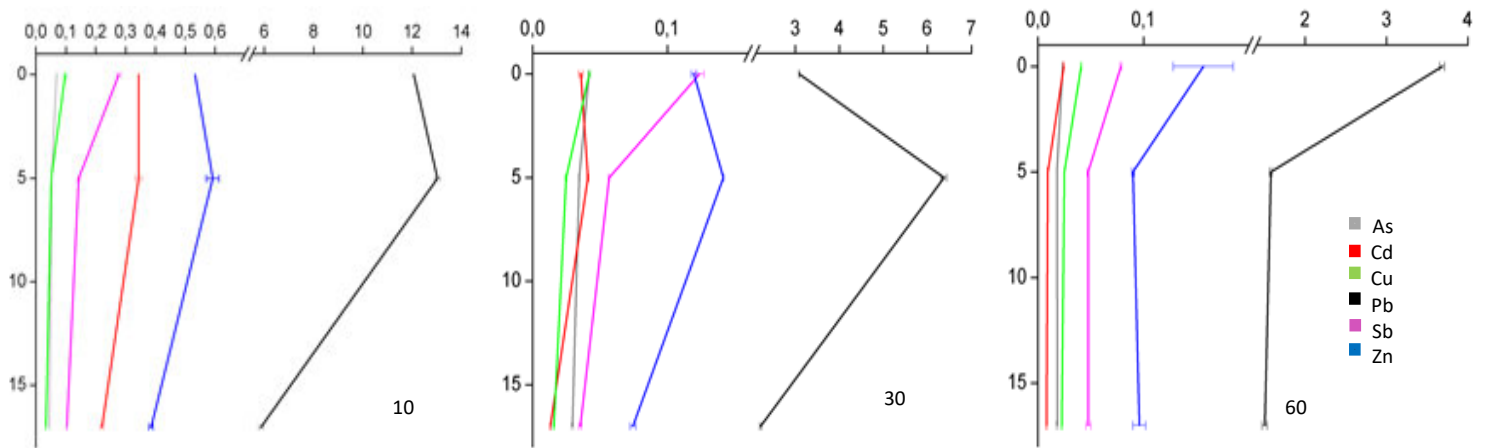


Figure S26 : Total concentrations (mg kg⁻¹) measured in soils in function of the distance from the factory (10, 30 and 60 m) and depth (0-5, 5-17 and 17-30 cm). Values 0-5, 5-17 and 17-30 were selected for the lower values with respect to the depth.

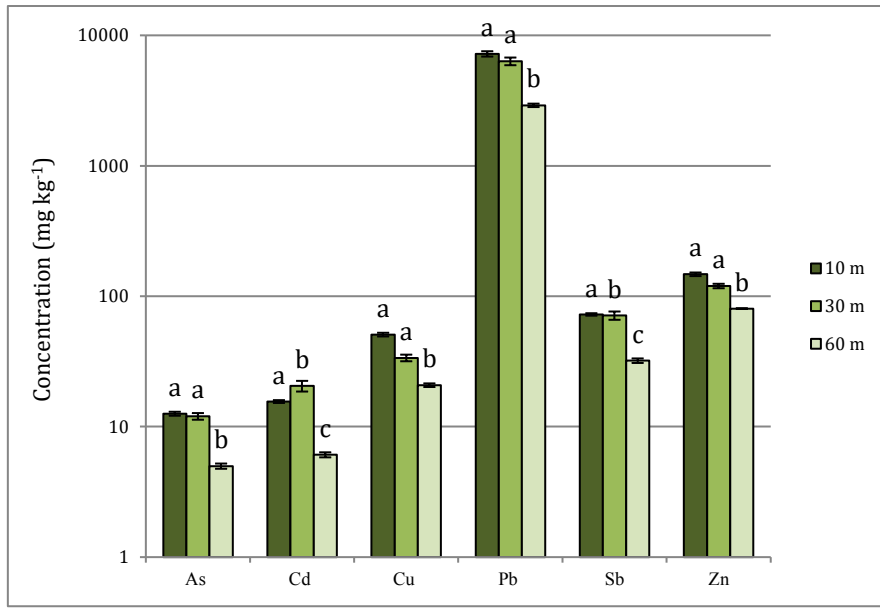


Figure S27 : Total metal (loid) s concentrations in litter. Histograms show the comparison between concentrations in litter at different distances. Results are illustrated as the mean \pm MSE and ANOVA was performed.

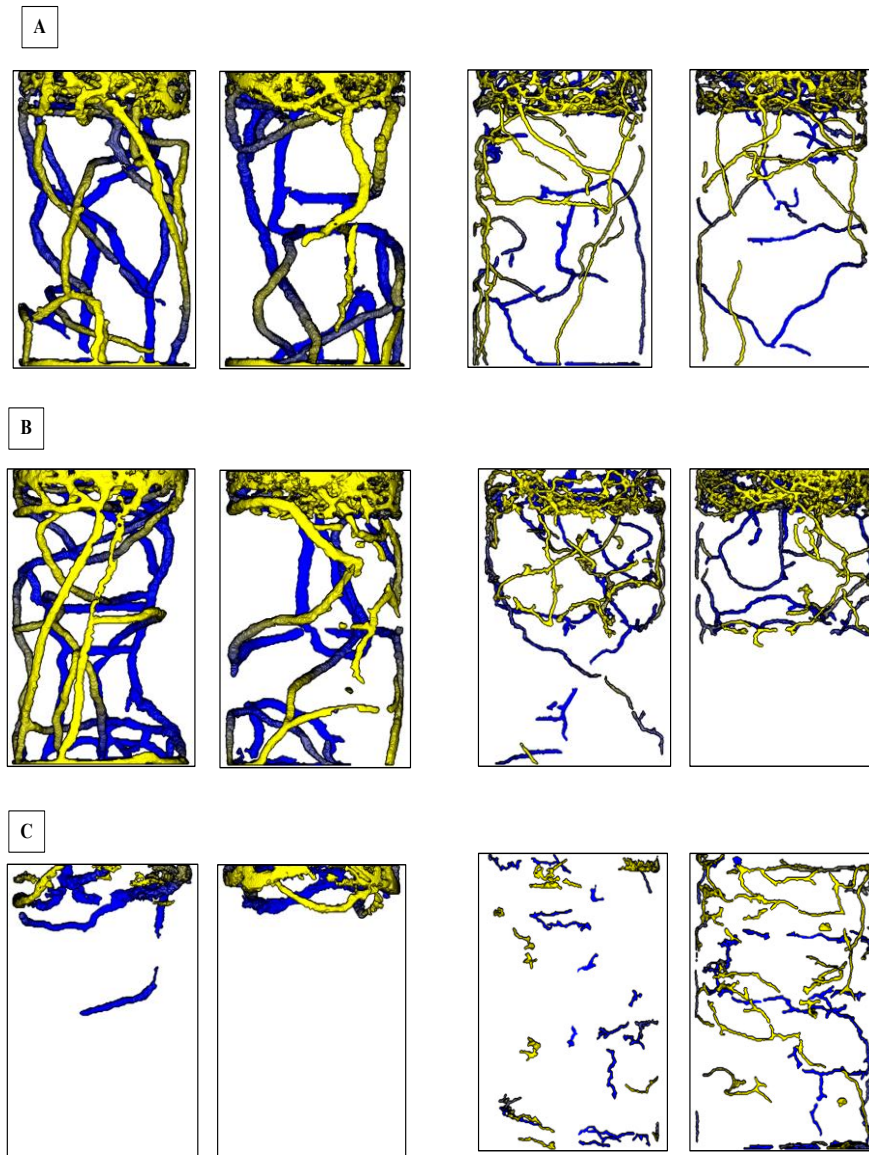


Figure S28 : Three-dimensional reconstructions of earthworm community bioturbation behavior, imaged by X-ray CT. Color gradations used for 3-D rendering are: yellow for the foreground to blue for the background. Letters represent distance to factory A: 60 m, B: 30 m and C: 10 m.

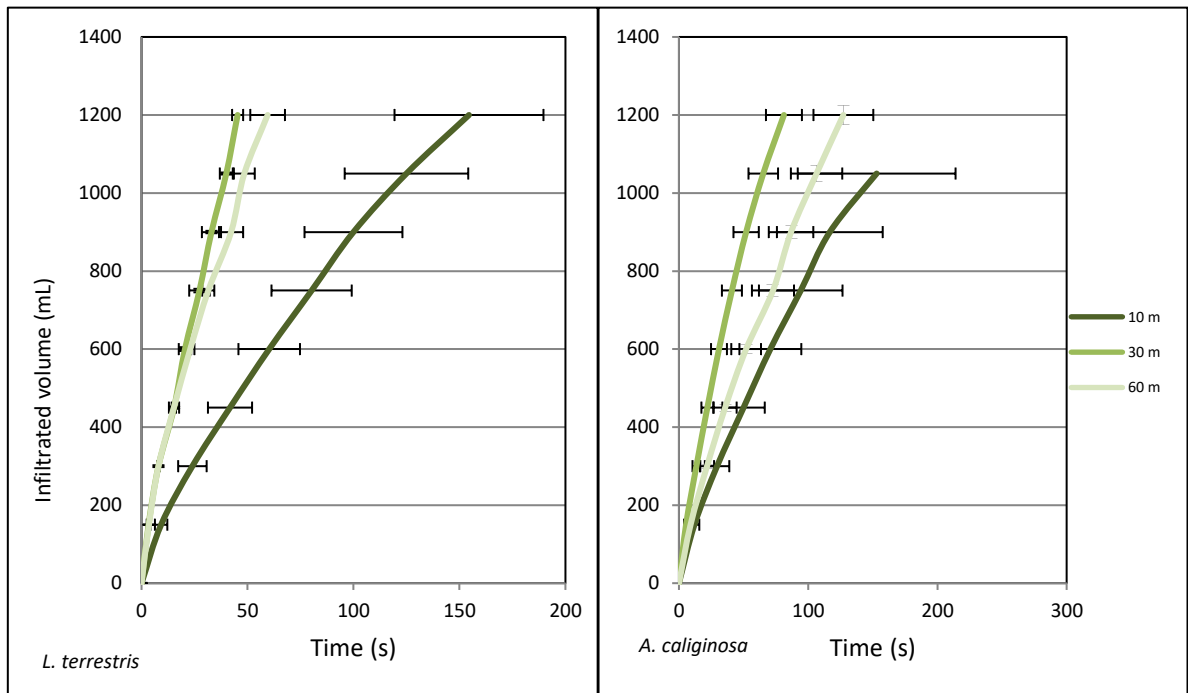


Figure S29 : Water infiltration rate in soil, for the two earthworm species incubated in soil repacked cores using the soil coming from different distances from factory (10, 30 and 60 m). Error bars represent the mean time for pouring each water volume.

3.1.7 Effet de ces vers de terre sur la mobilité des métaux dans le sol

L'effet des fortes concentrations d'un cocktail métallique (Pb, Cd, Cu, Sb, Zn et As), dont le plomb est l'élément majoritaire, sur les caractéristiques et le comportement de deux espèces écologiquement différentes de vers de terre (anéciques et endogés), respectivement *Lombtricus terrestris* et *Aporrectodea caliginosa* a été étudié.

Le plomb connu pour sa toxicité étant le polluant majoritaire dans cette zone, il a été étudié plus en détail (dans la partie 3.1.2) par une analyse isotopique afin de mieux comprendre quelle source de plomb (naturelle ou anthropique) a une plus grande influence sur les vers de terre. Cette étude a fait l'objet d'une publication intitulée : « **Field isotopic study of lead fate and compartmentalization in earthworm–soil–metal particle systems for highly polluted soil near Pb recycling factory** », dans la revue « *Chemosphere*, 2015 », dont je suis deuxième auteur.

Le plomb possède 38 isotopes connus actuellement dont seulement 4 stables : ^{204}Pb , ^{206}Pb , ^{207}Pb et ^{208}Pb . Les trois derniers sont des isotopes avec une composante primordiale (présente dès la formation de la terre) et une composante radiogénique. Le plomb 204 est entièrement un nucléide primordial et pas nucléide radiogénique. Chaque source de plomb a une signature isotopique caractéristique, qui ne se modifie pas au cours des processus physico-chimiques. L'analyse isotopique est donc un outil puissant pour tracer l'origine d'une contamination qu'elle soit naturelle ou anthropique à partir du moment où les signatures isotopiques des sources étudiées sont significativement très différentes.

Dans cette partie, les origines du plomb (biogéochimique et anthropiques) ont donc été tracées grâce à l'analyse isotopique des rapports $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ et $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$, et aux relations de bioaccumulation préférentielles de ces isotopes dans les vers de terre, les turricules et le sol à proximité d'une usine de recyclage de batterie. Finalement, l'impact des métaux sur le comportement de bioturbation des vers de terre est également présenté.

Field isotopic study of lead fate and compartmentalization in earthworm–soil–metal particle systems for highly polluted soil near Pb recycling factory.

Chemosphere, 138 (2015) 10-17

Sylvaine Goix ^{a,b,c}, Stephane Mombo ^{a,b}, Eva Schreck ^c, Antoine Pierart ^{a,b}, Thibaut Leveque ^{a,b}, Frederic Deola ^d, Camille Dumat ^{a,e,*}

^a Université de Toulouse, INP-ENSAT, Av. Agrobiopôle, 31326 Castanet-Tolosan, France

^bUMR 5245 CNRS-INP-UPS, EcoLab (Laboratoire d'écologie fonctionnelle et Environnement), Avenue de l'Agrobiopôle, BP 32607, 31326 Castanet-Tolosan, France

^c Géosciences Environnement Toulouse (GET), Observatoire Midi Pyrénées, Université de Toulouse, CNRS, IRD, 14 Avenue E. Belin, F-31400 Toulouse, France

^d STCM, Société de Traitements Chimiques des Métaux, 30 Avenue de Fondeyre, 31200 Toulouse, France

^e Certop UMR5044-Centre d'Etude et de Recherche Travail, Organisation, Pouvoir, France

Abstract

Earthworms are important organisms in soil macrofauna and play a key role in soil functionality, and consequently in terrestrial ecotoxicological risk assessments. Because they are frequently observed in soils strongly polluted by metals, the influence of earthworm bioturbation on Pb fate could therefore be studied through the use of Pb isotopes. Total Pb concentrations and isotopic composition (²⁰⁶Pb, ²⁰⁷Pb and ²⁰⁸Pb) were then measured in earthworms, casts and bulk soils sampled at different distance from a lead recycling factory. Results showed decreasing Pb concentrations with the distance from the factory whatever the considered matrix (bulk soils, earthworm bodies or cast samples) with higher concentrations in bulk soils than in cast samples.

The bivariate plot ²⁰⁸Pb/²⁰⁶Pb ratios versus ²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb ratios showed that all samples can be considered as a linear mixing between metallic process particulate matter (PM) and geochemical Pb background. Calculated anthropogenic fraction of Pb varied between approximately 84% and 100%. Based on Pb isotopic signatures, the comparison between casts, earthworms and bulk soils allowed to conclude that earthworms preferentially ingest the anthropogenic lead fraction associated with coarse soil organic matter. Actually, soil organic

matter was better correlated with Pb isotopic ratios than with Pb content in soils. The proposed hypothesis is therefore a decrease of soil organic matter turnover due to Pb pollution with consequences on Pb distribution in soils and earthworm exposure. Finally, Pb isotopes analysis constitutes an efficient tool to study the influence of earthworm bioturbation on Pb cycle in polluted soils.

Keywords: Earthworm, Pb, Particle, Polluted soil, Isotope, Soil organic matter, Bioturbation

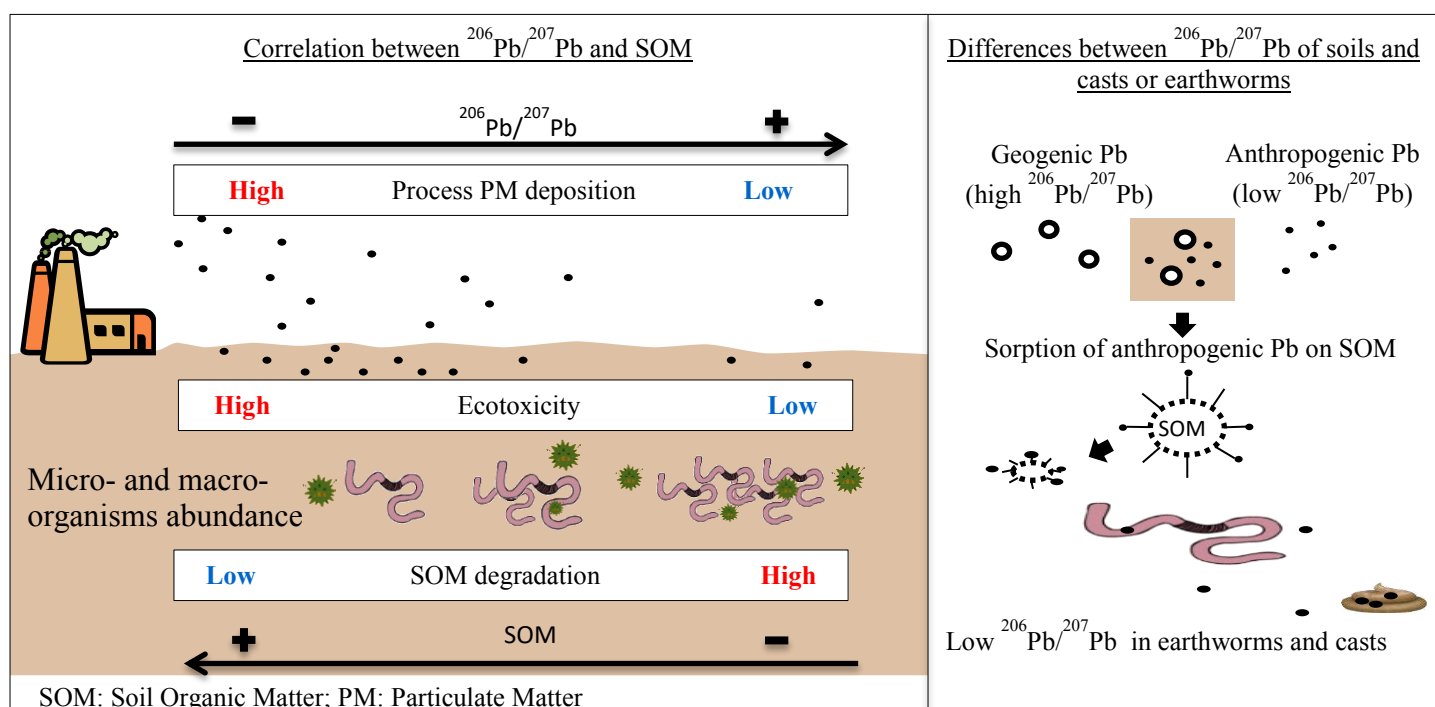


Figure 30 : Graphical abstract

3.1.7.1 Introduction

Naturally present in soils, lead (Pb) is also frequently released in the environment by various anthropic activities. Among them, metal recycling activities have been widely developed during last decades and emissions of Pb-enriched atmospheric fine particles have therefore increased (Cecchi et al., 2008; Uzu et al., 2009; Schreck et al., 2011; Kr̃ibek et al., 2014). But, Pb is classified by the Agency of Toxical Substances and Diseases Registry as the 2nd most hazardous substance on a list of 275 substances, and was also classified as a Substance of Very High Concern (SVHC) in the European REACH law (Regulation EC 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006). It's well known that metal bioavailability in soil depends on its compartmentalization and speciation in the matrix, often in relation with its origin (natural or anthropogenic) and ageing processes (Schreck et al., 2011). In order to improve risk assessment in the context of polluted soils, it's therefore of primary importance to develop efficient procedures to highlight metal origin and fate in the environment.

In polluted soils, metal(loid)s uptake by earthworms-which belong to the dominant macrofauna in soils (Brown et al., 2000; Nahmani et al., 2007) – have been largely studied (Leveque et al., 2013; Nahmani et al., 2007; Nannoni et al., 2014). Biomarkers in earthworms are then nowadays used for monitoring soil heavy metal pollution (Calisi et al., 2013). Furthermore, recent studies (Nahmani et al., 2007; Nannoni et al., 2014) showed that earthworm bioturbation activities (such as burrow creation, production of casts and litter mixing in soil) impact all the topsoil and can change metal partitioning in soils with consequences on soil-plant transfer (Ruiz et al., 2009; Leveque et al., 2014). Moreover, earthworms preferentially ingest soil organic matters (SOM) (Lee, 1985) and are thus responsible for indirect and feedback effects between metals, soil living organisms and SOM (Quenea et al., 2009). As a consequence, by their activities, earthworms could therefore modify metal speciation, mobility (Sizmur and Hodson, 2009) and bioavailability (Capowiez et al., 2011; Wen et al., 2006). However, supplementary data are needed in order to better understand and quantify the influence of earthworm's bioturbation on metal behavior in polluted soils, especially in field conditions.

According to Komarek et al. (2008), Pb isotopic composition is not significantly affected by physico-chemical fractionation processes in soil. Pb isotopes allow therefore to study and trace the sources (natural or anthropogenic) of Pb in different environmental compartments. Pb isotopes have been for instance widely used to trace Pb leaching along soil profiles (Baron et

al., 2006; Ettler et al., 2004; Klaminder et al., 2006). Other studies focused on Pb soil–plant transfer through isotopes analyses (Bi et al., 2009; Chenery et al., 2012; Hu et al., 2011). However, to our knowledge, apart from the study of isotopes in earthworms as a potential contamination sources for birds (Scheuhammer et al., 2003), these organisms and their casts were never analyzed for Pb isotopes in view of tracing metal fate in polluted terrestrial environment in relation with earthworm activities.

In that scientific context, isotopic ^{206}Pb , ^{207}Pb and ^{208}Pb compositions and total Pb concentrations were therefore analyzed in earthworms (*Aporrectodea longa* sp.), their casts and bulk soils sampled in the vicinity of a Pb recycling facility in function of the distance from the plant. The final aim of this study was to contribute of improving the knowledge of anthropogenic Pb biogeochemical cycle in polluted soils throughout a field study focused on earthworm bioturbation activities and soil organic matter-Pb interactions.

3.1.7.2 Materials and methods

3.1.7.2.1 Site description and sampling strategy

Soils, earthworms and casts were sampled in a fallow grassland adjoining a Pb recycling facility (Societe de Traitements Chimiques des Metaux, STCM) in Bazoches-les-Gallerandes, 80 km south of Paris (48_11016.3800N, 2_3033.0200E). The facility operates since 1967 and is currently in activity. Batteries recycling processes historically generated atmospheric fallouts of metal-enriched (As, Cu, Bi, Pb, Sb, Sn, and Zn) particulate matters (PM) responsible for soils and earthworms contamination (Schreck et al., 2011; Shahid et al., 2013).

Three linear transects with 5 sampling points on each transect were defined. All transects began from the facility wall and ended at the beginning of the nearest cultivated field, 140 m north from the facility. For each sampling point, a squared surface of 40- 40 cm was defined in which calcic cambisols were collected from the upper soil horizon (0–20 cm). Casts were hand sampled on soil surface and earthworms were hand-sorted to a depth of 30 cm. From all earthworms collected, the endo-aneic specie *Aporrectodea longa* sp. was chosen for isotopic study because of its tolerant character. Leveque indeed, this earthworm specie is Pb resistant and was previously shown to represent 80% of earthworm community in the 50 first meters

from the factory. This percentage decreases with the increasing distance from the factory courtyard to reach about 0% at 140 m from factory (Leveque et al., 2014, 2015).

3.1.7.2.2 *Chemical analysis*

Soil pH, organic carbon and total nitrogen were analyzed by the National Institute of Agronomic Research (INRA in Arras, France). Soil pH was measured with a pH-meter following ISO 10390 procedure by suspending in ultrapure water (1/5 v/v) about 10 mg of soil crushed at 2 mm. For organic carbon analysis, 25 mg of soil crushed at 250 μm were decarbonated with hydrochloric acid and then analyzed with a CHN analyzer according ISO 10694 procedure. Organic matter content was calculated by multiplying organic carbon concentration by 1.72. Total nitrogen was analyzed following ISO 13878 procedure with a CHN analyzer on a 50 mg sample crushed at 250 μm .

3.1.7.2.3 *Pb concentration and isotopic composition*

Lead concentrations in bulk soils, earthworms and their casts were analyzed using an inductively coupled plasma–mass spectrometry ICP-MS (X Series II, Thermo Electron). Acidic digestions were performed on heating plates in clean lab following the protocol described in Leveque et al. (2013, 2015). Each sample (0.5 g for soils and casts, one 5-days depurated individual for earthworms) was crushed ($< 250 \mu\text{m}$) and then mineralized with a mixture of 1 mL HNO_3 70% and 0.5 mL of HF 51% in Teflon bombs at 90 °C for 2 days. After evaporation at 50 °C, 1 mL H_2O_2 30% and 1 mL of HNO_3 70% were added and heated at 90 °C for 2 days. Samples were then evaporated at 50°C and diluted with HNO_3 2%. Each sample was then analyzed in triplicate and ten blanks were measured. Detection limit and quantification limit for Pb were respectively 0.3 and 0.4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Reference materials were analyzed to verify analytical procedures and acid digestion accuracy (soils SRM 2710 and 2711 from NIST and lobster CRM TORT-2). Pb recovery from the certified values was about 95–102%. Concentration factors (CF) are defined as Pb concentrations in earthworms normalized by Pb concentrations on feeding source as reported by Ernst and Frey (2007). Then, in this study, the CF were calculated as Pb concentrations in earthworms divided by Pb concentrations in soils of same sampling point.

Lead isotopic compositions (^{206}Pb , ^{207}Pb and ^{208}Pb) were measured for each sample using a quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometer (Q-ICP-MS) (7500ce, Agilent

Technologies) following a protocol adapted from (Bi et al., 2009). Solution samples (after mineralization) were diluted to a Pb concentration of 10 ng g⁻¹ in 0.37 N bi-distilled nitric acid to be in the linear range previously defined by the analysis of the Pb Isotopic Standard Reference Material (SRM) 981 from the National Institute of Standards and Technology (NIST). The Pb counts of the procedural blank were < 0.5% of the samples, and the analytical precision (% RSD) of Pb isotope ratios for 10 replicates of each sample solution were inferior to 0.3%. Average Pb ratios of ²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb and ²⁰⁸Pb/²⁰⁷Pb for SRM 981 (1s n = 10) were respectively 1.0983 ± 0.0008 and 2.3731 ± 0.0017 to be compared with the reference values of respectively 1.0933 ± 0.0007 and 2.3704 ± 0.0012. SRM 981 was periodically measured (every 5 samples) to systematically correct for mass bias and instrument drift with time on both isotope ratios.

3.1.7.3 Results and discussions

3.1.7.3.1 Total Pb concentrations

Lead concentrations in earthworms, their casts and bulk soils for each sample point are presented in Table 9. Average ± SD for soils, casts and earthworms are respectively 1824 ± 1189, 1757 ± 1285 and 1202 ± 1030 µg g⁻¹. Lead concentrations in earthworms are significantly lower than Pb concentrations in soils (p < 0.05, student t-test). Concentration factor (CF) values (reported in Table. 9) varied from 0.25 to 1.45 with an average of 0.7 ± 0.4. This is consistent with Pb CF of 0.7 ± 0.5 previously calculated on *Aporrectodea longa* sp. by Ernst et al. (2008) working with different ecophysiological groups of earthworms in forest soils. Surprisingly, bioconcentration is not correlated to distance from the factory, neither to total Pb concentration in soil or soil organic matter content.

Tableau 9 : Soil characteristics, Pb concentrations in casts, earthworms and soils, concentration factor (CF) and anthropogenic fraction of Pb in soils (X_{ant}) expressed for each sampling point, in function of the distance from the factory.

| | Soil characteristics | | Pb concentrations (µg g ⁻¹ DW) | | Soils | CF | X _{ant} (%) | |
|------------|-------------------------------|------|---|-------|-------|------|----------------------|------------|
| | Distance from the factory (m) | pH | OC (mg g ⁻¹) | Casts | | | | Earthworms |
| Transect 1 | 106 | 8.21 | 19.7 | 543 | 462 | 1030 | 0.45 | 90 |
| | 96 | 8.21 | 25.3 | 816 | 900 | 1290 | 0.70 | 90 |
| | 81 | 8.23 | 27.3 | 1111 | 521 | 1660 | 0.31 | 94 |
| | 64 | 8.34 | 20.1 | 1908 | 555 | 1590 | 0.35 | 84 |
| | 51 | 8.36 | 31.8 | 2856 | 1677 | 4530 | 0.37 | 100 |
| Transect 2 | 130 | 8.29 | 14.8 | 368 | 161 | 480 | 0.34 | 84 |
| | 106 | 8.12 | 27.7 | 903 | 273 | 1100 | 0.25 | 90 |
| | 96 | 8.17 | 17.2 | 1784 | 538 | 1030 | 0.52 | 87 |
| | 64 | 8.21 | 21.1 | 4310 | 2781 | 2050 | 1.36 | 89 |
| | 44 | 8.27 | 19.2 | 2587 | 3194 | 3140 | 1.02 | 85 |
| Transect 3 | 96 | 8.31 | 19.7 | 598 | 410 | 666 | 0.62 | 90 |
| | 81 | 8.28 | 22.2 | 809 | 1011 | 969 | 1.04 | 88 |
| | 51 | 8.31 | 23.9 | 1105 | 1155 | 1730 | 0.67 | 90 |
| | 44 | 8.23 | 33.6 | 2433 | 1287 | 3960 | 0.33 | 104 |
| | 30 | 8.26 | 19.2 | 4228 | 3098 | 2130 | 1.45 | 88 |

(Figure. 31) shows a significant linear relation between logarithmic concentration of Pb in the three matrices and the distance from the factory ($R^2 > 0.7$ for earthworms, casts and soils; $p < 0.0001$). As expected, Pb concentrations in soils, earthworms and their casts decrease with the distance to the factory. Figure. 31 shows the linear relation between Pb concentrations in earthworms and casts ($R^2 = 0.73$, $p < 0.0001$). Previous study already showed the relation between Pb concentrations in anecic species of earthworms and Pb total concentrations in soils and leaf litter (Ernst et al., 2008). In our study, when considering Pb concentrations in soils as a function of Pb concentrations in earthworms and casts, the correlation is low ($R^2 < 0.4$), but still significant ($p < 0.05$). This low correlation is due to two extreme high Pb concentrations in soils and the correlation increases when the linear regression is calculated without these two high values ($R^2 = 0.49$ ($p < 0.01$) for the correlation soils/- casts and $R^2 = 0.73$ ($p < 0.001$) for

soils/earthworms). Evidences for heterogeneity of Pb concentrations in bulk soils at high resolution scale has been previously observed in the case of anthropogenic Pb contaminations (Becker et al., 2006) and could explain these outliers in Pb soil concentrations. Actually, initially classified as a strict anecic specie, *Aporrectodea longa* sp. has been recently classified as an endo-anecic earthworm (Eisenhauer et al., 2008; Felten and Emmerling, 2009) implying high vertical mobility and also horizontal burrowing (up to 6–8 m/yr, (Emmerling and Strunk, 2012), with both litter and mineral soil feeding expected. Thus, earthworm mobility associated to soil heterogeneity could explain the weak correlation between Pb concentrations in bulk soils and earthworms or casts.

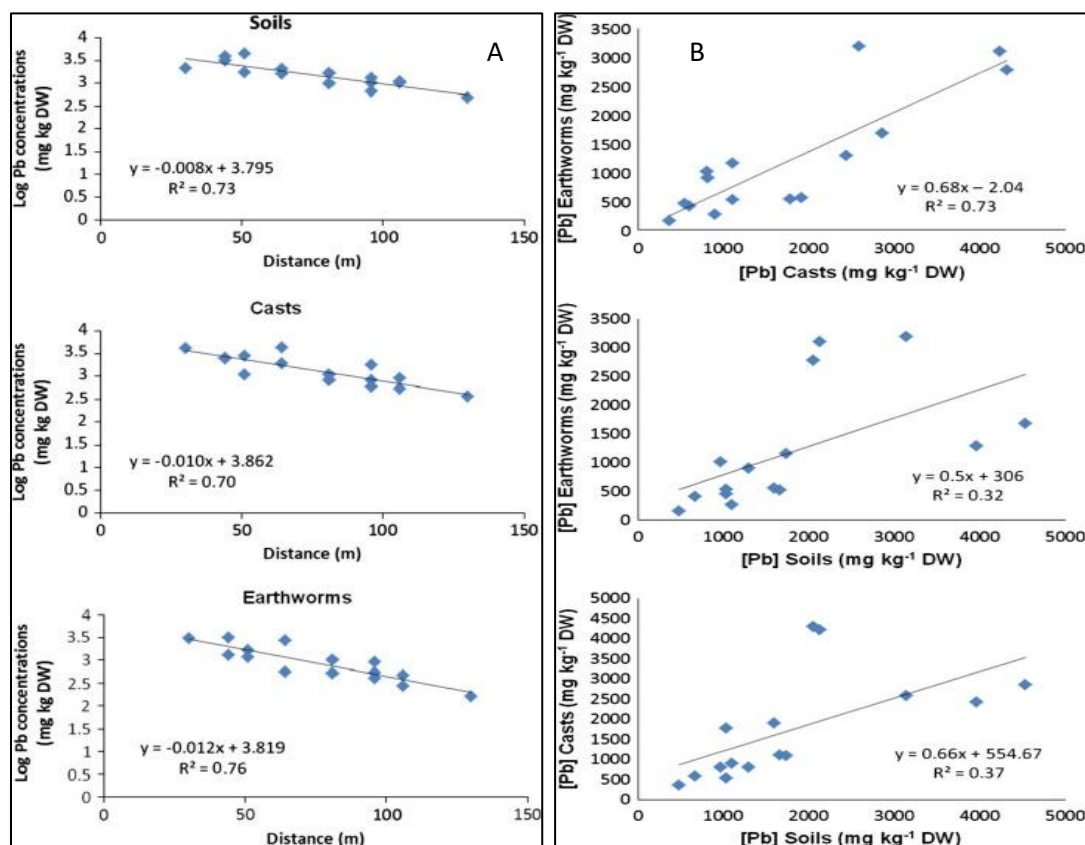


Figure 31 : A Logarithmic Pb concentrations as a function of the distance from the factory for bulk soils, casts and earthworms and B Charts of relation between Pb concentrations in earthworms and casts (upper chart), Pb concentrations in earthworms and bulk soils (middle chart) and Pb concentrations in casts and bulk soils (lower chart).

3.1.7.4 Pb isotopic composition

3.1.7.4.1 Pb origin and behavior in polluted soil

The bivariate plot $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ratios versus $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratios (Figure. 32) shows that all samples fall into a simple linear mixing. All earthworm, cast and soil isotopic signatures are in the field of French industrial emissions (Monna et al., 1997). $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ratios in all samples vary between 2.1059 and 2.1222 whereas $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratios vary between 1.1419 and 1.1521. Average $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ratios in soils, casts and earthworms are respectively 2.1119 ± 0.0033 , 2.1164 ± 0.0030 and 2.1153 ± 0.0026 . Average $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratios in soils, casts and earthworms are respectively 1.1489 ± 0.0028 , 1.1463 ± 0.0029 and 1.1452 ± 0.0019 .

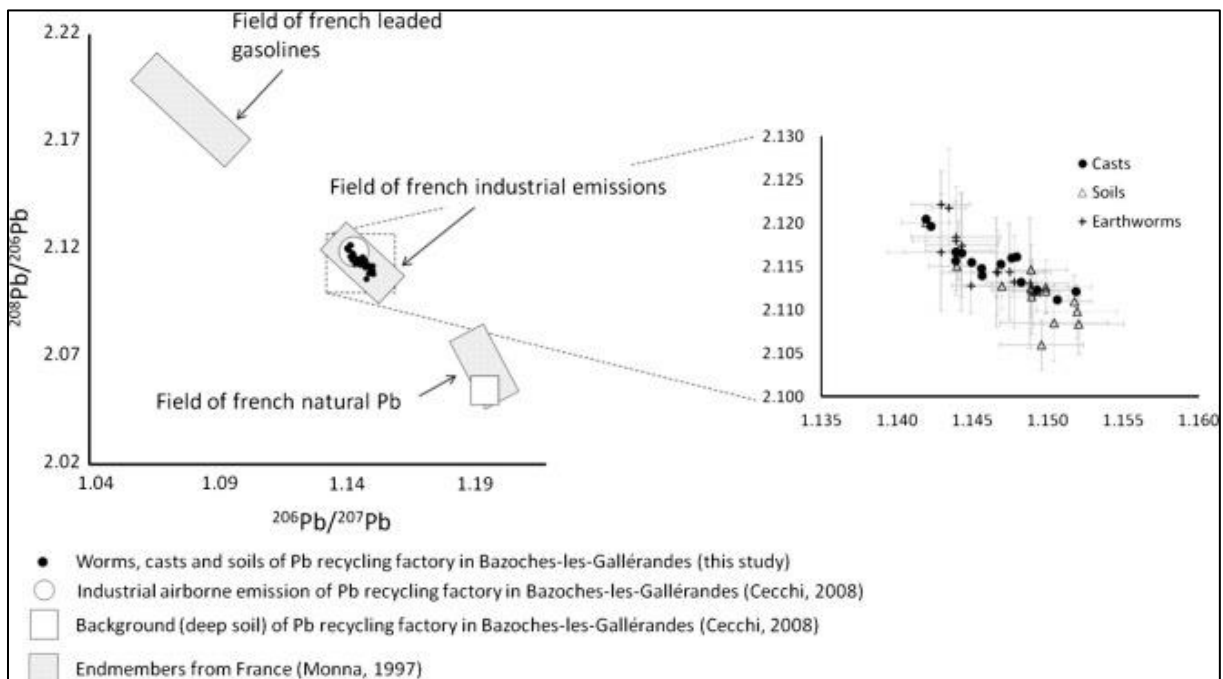


Figure 32 : Plot of $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ as a function of $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ for casts, soils and earthworms. French and local end members from literature data were added in the left chart. Error bars represent standard deviations

Highest $^{208}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ ratios of our samples match the Pb isotopic signature of local industrial airborne sources emissions (2.119 ± 0.005) previously determined by Cecchi (2008). Pb isotopic signatures of soils are significantly different from those of earthworms and casts, with an isotopic composition extending down the mixing line, towards the isotopic signature of French natural Pb. The factory isotopic background (R horizon from a calcic cambisol in the same sampling site, 120–130 cm from surface layer) was previously analyzed (Cecchi, 2008)

and showed an isotopic composition in the field of French natural Pb. [Cecchi et al. \(2008\)](#) showed that in the studied area, atmospheric Pb emitted by the factory was mainly accumulated in the surface soil horizon certainly because of its relatively low mobility in the alkaline calcareous soil and strong association to soil constituents. Indeed, anthropogenic Pb was shown to migrate in this site down to 60 cm maximum, at approximately 1.5 cm year⁻¹. Pb isotopic composition of deep horizons (120–130 cm) represents thus the isotopic composition of the natural geochemical background. We can estimate the amounts of natural and anthropogenic Pb in each soil samples using the following Eq. (1):

$$R_{\text{sample}} = R_{\text{industry}} \times X_{\text{industry}} + R_{\text{natural}} \times (1 - X_{\text{industry}})$$

where R_{Sample} is ²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb ratios measured in soil, earthworms and casts, R_{Natural} and R_{Industry} are, respectively, the literature data for ²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb ratios in geochemical natural background deep soil (1.195) and in industrial airborne emission from the factory of Bazoches-les-Gallérandes (1.144) ([Cecchi, 2008](#)).

In the polluted top soil, lead is therefore mainly from anthropogenic origin: between 84% and 100% (maximum 16% of lead coming from geochemical background). A linear relation is observed between anthropogenic fraction and total Pb concentration ($R^2 = 0.446$, $p < 0.01$) which significates that the more soil is concentrated in Pb, the more this Pb is from anthropogenic origin. However, when it moves away from the source of pollution, lead naturally occurring increases; the relation is therefore not significant between anthropogenic fraction and distance to the factory.

3.1.7.4.2 *Organic matter and Pb isotopic composition in soils*

Topsoil in the vicinity of the factory is enriched with soil organic matter (SOM): results reported about 5.8% of SOM in the first 10 cm depth: (Figure. 33). In our study, SOM was measured in the first 20 cm and vary spatially between 2.5% and 5.8% ([Table 1](#)), without any clear relation with the factory distance ($R^2 = 0.14$, $p > 0.05$). We observed a highest correlation between ²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb ratios and SOM ($R^2 = 0.78$, $p < 0.0001$) than between total Pb concentrations and SOM (Figure. 34) ($R^2 = 0.43$, $p < 0.01$).

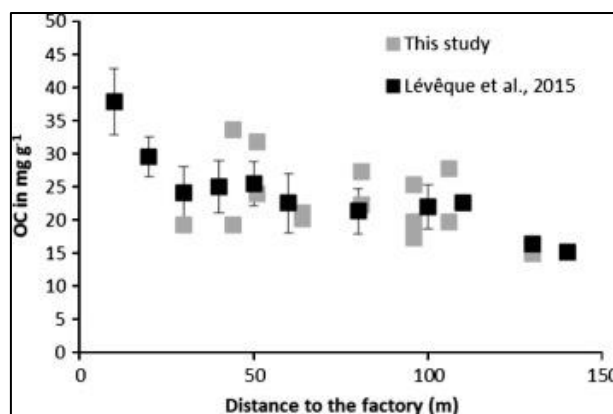


Figure 33 Organic carbon in soil (OC) in function of the distance from the factory

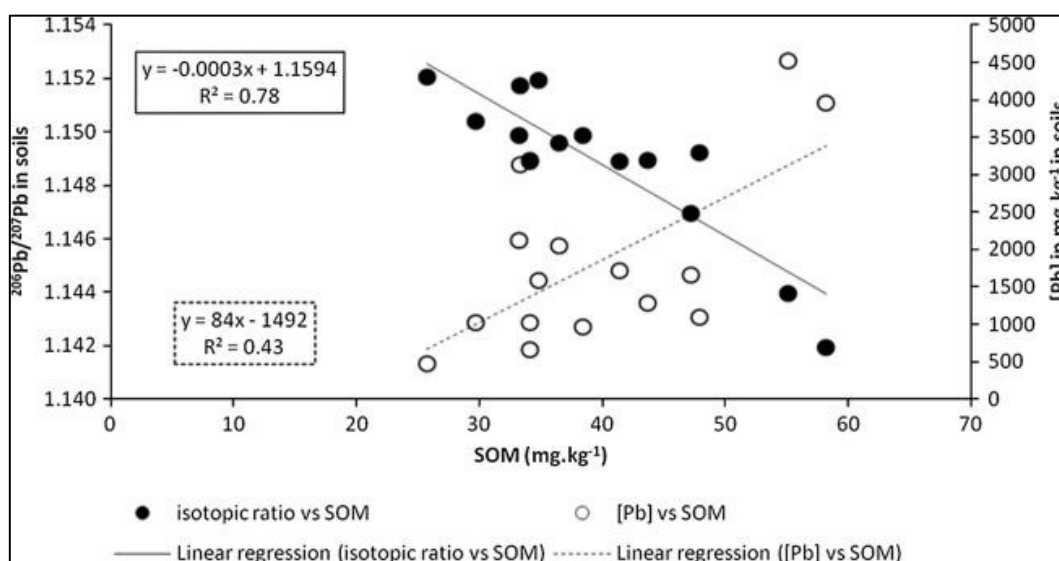


Figure 34 ²⁰⁶Pb/²⁰⁷Pb ratio and Pb concentrations in soils as a function of soil organic matters (SOM).

That slight relationship between total Pb concentration and SOM concentrations is not surprising in this studied calcareous soil. Actually, accordingly to [Cecchi et al. \(2008\)](#), Pb carriers were mainly carbonates (40–60%), then iron oxides (20–50%) and finally organic matter (<20%). [Teutsch et al. \(2001\)](#), working on the distribution of natural and anthropogenic Pb in Mediterranean soils, showed similar results: a minor fraction of Pb remained associated with organic matter when compared to the fraction bound with oxides or carbonates, despite a relatively high SOM content. Moreover, regarding earthworms soil–metal systems, data available in the literature can sometimes appear contradictory. For example, contrary to [Ruiz et al. \(2011\)](#), [Sizmur et al. \(2011\)](#) observed an increase in the fraction of water extractable lead in the casts of *L. terrestris* (compared to soils without earthworms) corresponding to a metal

speciation change induced by earthworm bioturbation. According to [Leveque et al. \(2014, 2015\)](#), earthworms have multiple impacts on biophysico-chemical soil characteristics and thus metal fate: macroporosity creation, metal mobility and transfer in soil, organic matter burial. Moreover, [Jusselme et al. \(2013\)](#) reported that in the drilosphere earthworm also promotes microorganism activity. Thus, by combining all the influential parameters of these complex ecosystems and the numerous possible interactions, each study can for a part appears therefore as one relatively specific situation.

The strong linear relationship between $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratios and SOM in our study ([Fig. 5](#)) was therefore attributed to the discrimination between Pb from anthropogenic and natural origins during the metal compartmentalization process in soil and its consequence on Pb ecotoxicity and SOM turnover. The lower the $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratio is, the higher is the part of anthropogenic Pb (from factory fallouts) in comparison with natural Pb (mainly present as carbonates). Micronic to submicronic particles with Pb oxides and sulfates are emitted by this Pb recycling factory ([Uzu et al., 2011, 2009](#)). These kind of metallic fine particles are highly ecotoxic for macro- and micro-organisms ([Foucault et al., 2013](#); [Goix et al., 2014](#); [Leveque et al., 2013](#)). We consequently hypothesized that the presence of Pb-enriched process particles (with low $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratios) could significantly inhibit the organic matter decomposition by reducing the biological soil activity (of earthworms and micro-organisms) as previously suggested by [Dumat et al. \(2006\)](#) using carbon isotopic measures and metal concentrations in soils polluted by metals near the Metaleurop smelter in north France. Inhibition of organic matter decomposition increases thus the SOM content in soils where low $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratios are related to the high proportion of anthropogenic ecotoxic Pb-bearing particles. As earthworm preferentially ingests the soil enriched with organic matters ([Leveque et al., 2014](#)) and that the anthropogenic lead fraction is mainly associated with the coarse soil organic matters, it can be finally concluded that soil fraction uptaken by earthworms is enriched with anthropogenic lead.

3.1.7.5 Pb isotopic compositions differences between casts/earthworms and bulk soils: biological or mechanical fractionation?

Lead isotopes have been widely used as source tracers because they are supposed to be preserved during biological processes due to their small fractional mass differences ([Cheng and Hu, 2010](#); [Spencer et al., 2000](#)). Isotopic signature in $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ is theoretically preserved during trophic transfer as it has been proved for phyton to nekton transfer ([Gelinas and Schmit, 1997](#)). But biological lead isotopes fractionation was recently observed on rat model ([Liu et al.,](#)

2014; Wu et al., 2012). After exposure by inhalation to lead acetate, rat's feces $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ signature showed significant differences with $^{207}\text{Pb}/^{206}\text{Pb}$ signature of test substance at high-dose exposure even if no differences were observed at neither low nor medium exposure (Wu et al., 2012). A unique previous study performed on Pb isotopic composition in earthworms and polluted soils (Scheuhammer et al., 2003) showed that earthworms had an isotopic signature closer from American gasoline than their associated soils. Then, mainly two hypotheses can be proposed: (i) isotopic fractionation occurs in the earthworm digestive tract due among others to microbial populations or, (ii) isotopic selection occurs during the ingestion step (metal uptake from polluted soil) with a selection of the kind of ingested soil fraction. Actually, as already suggested by Schreck et al. (2011), soil-PM interactions occurring during ageing processes had consequences on metal bioavailability and ecotoxicity: solubilization or stabilization processes with metal speciation and compartmentalization changes could be involved (Birkefeld et al., 2007).

Then, in our study, considering all sampling points, $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratio in soils are neither related to the same ratio in earthworms nor in casts ($R^2 < 0.05$), whereas a significant relation is found between earthworms and casts $^{206}\text{Pb}/^{207}\text{Pb}$ ratio ($R^2 = 0.49$, $p < 0.01$). Furthermore, Fig. 32 shows that isotopic ratios of soils are closer from isotopic ratio of geochemical background, whereas isotopic ratio of earthworms and casts are closer from isotopic ratio of local anthropogenic emissions, as previously reported by Scheuhammer et al. (2003). As casts and earthworms have identical Pb isotopes signature in each sampling points (slope close to 1), the hypothesis of biological fractionation can finally be excluded. Indeed, such process would have led to different isotopic ratio in tissues and dejections as shown for rat models in Wu et al. (2012). This means that there is no process of isotopic biological fractionation during the digestion step, but rather that earthworms preferentially ingest the more bioavailable anthropogenic Pb fraction originating from factory emissions in comparison with less available residual metal from natural origin.

The preferential ingestion of anthropogenic Pb (coming from atmospheric factory fallouts) could be explained by the feeding behavior of *Aporrectodea longa* sp.: this endo-aneic species has developed a high vertical mobility and preferentially ingest fresh organic matters, recently contaminated by Pb-enriched atmospheric fallouts, in the soil surface. According to Dumat et al. (2006) and Shahid et al. (2013), in a polluted soil, strong interactions exist between the biogeochemical cycles of metals and organic matter, with reciprocal effects both on organic matters and metals dynamics. Moreover, foliar uptake of lead from atmospheric particles by plants before their death could also increase this phenomenon. As previously highlighted by

Schon et al. (2014), the ecological category of studied earthworm has the ability to incorporate carbon from the surface to depth in the soil. Isotopic fractionation between bulk soils and earthworms/casts induced by earthworm bioturbation is therefore occurring at the soil ingestion step and not during the soil digestion by metabolic process in earthworms.

3.1.7.6 Conclusions and perspectives

Lead isotopes analysis in polluted topsoils allowed to quantify the anthropogenic Pb fraction coming from atmospheric process fallouts (between 84% and 100%) in the vicinity of a lead recycling factory. Inhibition of biological soil activities due to the metal ecotoxicity and the subsequent disturbance of SOM turnover (with increase of low mature SOM in the most contaminated studied areas) was illustrated by the linear relationship between increase of SOM amount and soil Pb isotopic signature (close to the signature of industrial emissions). Finally, the comparison of Pb isotopic signatures of the three studied compartments (earthworms, their casts and bulk topsoil) demonstrated that earthworm bioturbation induces a mechanical Pb isotopic fractionation between bulk soils and casts. The mechanism involved could be a preferentially ingestion by endo-anecic earthworms of superficial low mature SOM linked with anthropogenic Pb. Supplementary studies would be performed further in controlled conditions such as mesocosms with *Aporrectodea longa* sp. digestive tract dissection and organic matters analysis to better understand the involved mechanisms. Finally, more broadly, these results illustrate the complexity and the numerous interactions involved in ecosystems especially between pollutants, living organisms (earthworms, microorganisms, plant roots, . . .) and soil organic matters. How to reconcile scientific research thrust of the mechanisms involved in such complex systems and the emergence of practical solutions to improve the sustainable management of degraded soils and enhance ecosystem services? This is an important challenge of increasingly initiatives to bring science and society in this direction (such as research “Jassur” project, or participatory research-formation “Network-Agriville” innovation project with shared and free resources: <http://reseauagriville.com>) they help shape a favorable interface between knowledge and practice in the context of ecological transition at the global scale.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge ADEME, the French Agency of the Environment and Energy as well as the STCM Chemical Metal Treatment Company for their technical help in experimental set-up and for their financial support. This work was also supported by the INSU-EC2CO program (Biotuba Project) and National Research Agency of France under reference ANR-12-0011-VBDU. Finally, we want to thanks Jérôme Chmeleff for his help with quality insurance.

References

- Baron, S., Carignan, J., Ploquin, A., 2006. Dispersion of heavy metals (metalloids) in soils from 800-year-old pollution (Mont-Lozere, France). *Environ. Sci. Technol.* 40, 5319–5326. <http://dx.doi.org/10.1021/es0606430>.
- Becker, J.M., Parkin, T., Nakatsu, C.H., Wilbur, J.D., Konopka, A., 2006. Bacterial activity, community structure, and centimeter-scale spatial heterogeneity in contaminated soil. *Microbiol. Ecol.* 51, 220–231. <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-005-0002-9>.
- Bi, X., Feng, X., Yang, Y., Li, X., Shin, G.P.Y., Li, F., Qiu, G., Li, G., Liu, T., Fu, Z., 2009. Allocation and source attribution of lead and cadmium in maize (*Zea mays* L.) impacted by smelting emissions. *Environ. Pollut.* 157, 834–839. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2008.11.013>.
- Birkefeld, A., Schulin, R., Nowack, B., 2007. In situ transformations of fine lead oxide particles in different soils. *Environ. Pollut.* 145, 554–561.
- Brown, G.G., Barois, I., Lavelle, P., 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *Eur. J. Soil Biol.* 36, 177–198. [http://dx.doi.org/10.1016/S1164-5563\(00\)01062-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1164-5563(00)01062-1).
- Calisi, A., Zaccarelli, N., Lionetto, M.G., Schettino, T., 2013. Integrated biomarker analysis in the earthworm *Lumbricus terrestris*: application to the monitoring of soil heavy metal pollution. *Chemosphere* 90, 2637–2644. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.11.040>.
- Capowiez, Y., Sammartino, S., Michel, E., 2011. Using X-ray tomography to quantify earthworm bioturbation non-destructively in repacked soil cores. *Geoderma* 162, 124–131. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2011.01.011>.
- Cecchi, M., 2008. Devenir du plomb dans le système sol-plante: Cas d'un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate) (phd).
- Cecchi, M., Dumat, C., Alric, A., Felix-Faure, B., Pradere, P., Guisresse, M., 2008. Multimetal contamination of a calcic cambisol by fallout from a lead-recycling plant. *Geoderma* 144, 287–298. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.11.023>.

- Chenery, S.R., Izquierdo, M., Marzouk, E., Klinck, B., Palumbo-Roe, B., Tye, A.M., 2012. Soil–plant interactions and the uptake of Pb at abandoned mining sites in the Rookhope catchment of the N. Pennines, UK — A Pb isotope study. *Sci. Total Environ.* 433, 547–560. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.03.004>.
- Cheng, H., Hu, Y., 2010. Lead (Pb) isotopic fingerprinting and its applications in lead pollution studies in China: a review. *Environ. Pollut.* 158, 1134–1146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2009.12.028>.
- Dumat, C., Quenea, K., Bermond, A., Toïnen, S., Benedetti, M.F., 2006. Study of the trace metal ion influence on the turnover of soil organic matter in cultivated contaminated soils. *Environ. Pollut.* 142, 521–529. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2005.10.027>.
- Eisenhauer, N., Marhan, S., Scheu, S., 2008. Assessment of anecic behavior in selected earthworm species: effects on wheat seed burial, seedling establishment, wheat growth and litter incorporation. *Appl. Soil Ecol.* 38, 79–82. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.07.002>.
- Emmerling, C., Strunk, H., 2012. Active dispersal of the endo-anecic earthworm *Aporrectodea longa* (Ude) in an experimental box. *Soil Org.* 84, 491–498.
- Ernst, G., Frey, B., 2007. The effect of feeding behavior on Hg accumulation in the ecophysiologicaly different earthworms *Lumbricus terrestris* and *Octolaseon cyaneum*: a microcosm experiment. *Soil Biol. Biochem.* 39, 386–390. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.07.020>.
- Ernst, G., Zimmermann, S., Christie, P., Frey, B., 2008. Mercury, cadmium and lead concentrations in different ecophysiological groups of earthworms in forest soils. *Environ. Pollut.* 156, 1304–1313. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2008.03.002>.
- Ettler, V., Mihaljević, M., Komarek, M., 2004. ICP-MS measurements of lead isotopic ratios in soils heavily contaminated by lead smelting: tracing the sources of pollution. *Anal. Bioanal. Chem.* 378, 311–317. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-003-2229-y>. Felten, D., Emmerling, C., 2009. Earthworm burrowing behaviour in 2D terraria with single- and multi-species assemblages. *Biol. Fertil. Soils* 45, 789–797. <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-009-0393-8>.

- Foucault, Y., Durand, M.-J., Tack, K., Schreck, E., Geret, F., Leveque, T., Pradere, P., Goix, S., Dumat, C., 2013. Ecotoxicity test and ecoscores to improve polluted soils management: case of a secondary lead smelter plant. *J. Hazard. Mater.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.12.042>.
- Gelinas, Y., Schmit, J.-P., 1997. Extending the use of the stable lead isotope ratios as a tracer in bioavailability studies. *Environ. Sci. Technol.* 31, 1968–1972. <http://dx.doi.org/10.1021/es960791y>.
- Goix, S., Leveque, T., Xiong, T.-T., Schreck, E., Baeza-Squiban, A., Geret, F., Uzu, G., Austruy, A., Dumat, C., 2014. Environmental and health impacts of fine and ultrafine metallic particles: assessment of threat scores. *Environ. Res.* 133, 185–194. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2014.05.015>.
- Hu, X., Zhang, Y., Luo, J., Xie, M., Wang, T., Lian, H., 2011. Accumulation and quantitative estimates of airborne lead for a wild plant (*Aster subulatus*). *Chemosphere* 82, 1351–1357. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.079>.
- Jusselme, M.D., Miambi, E., Mora, P., Diouf, M., Rouland-Lefevre, C., 2013. Increased lead availability and enzyme activities in root-adhering soil of *Lantana camara* during phytoextraction in the presence of earthworms. *Sci. Total Environ.* 445–446, 101–109.
- Klaminder, J., Bindler, R., Laudon, H., Bishop, K., Emteryd, O., Renberg, I., 2006. Flux rates of atmospheric lead pollution within soils of a small catchment in northern Sweden and their implications for future stream water quality. *Environ. Sci. Technol.* 40, 4639–4645. <http://dx.doi.org/10.1021/es0520666>.
- Komarek, M., Ettler, V., Chrastný, V., Mihaljević, M., 2008. Lead isotopes in environmental sciences: a review. *Environ. Int.* 34, 562–577. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2007.10.005>.
- Kr̃ibek, B., Majer, V., Knesl, I., Nyambe, I., Mihaljević, M., Ettler, V., Sracek, O., 2014. Concentrations of arsenic, copper, cobalt, lead and zinc in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) growing on uncontaminated and contaminated soils of the Zambian Copperbelt. *J. Afr. Earth Sci.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2014.02.009>.

- Lee, K.E. et al., 1985. *Earthworms: Their Ecology and Relationships with Soils and Land Use*. Academic Press Inc.
- Leveque, T., Capowiez, Y., Schreck, E., Mazzia, C., Auffan, M., Foucault, Y., Austruy, A., Dumat, C., 2013. Assessing ecotoxicity and uptake of metals and metalloids in relation to two different earthworm species (*Eiseina hortensis* and *Lumbricus terrestris*). *Environ. Pollut.* 179, 232–241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2013.03.066>.
- Leveque, T., Capowiez, Y., Schreck, E., Xiong, T., Foucault, Y., Dumat, C., 2014. Earthworm bioturbation influences the phytoavailability of metals released by particles in cultivated soils. *Environ. Pollut.* 191, 199–206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2014.04.005>.
- Leveque, T., Capowiez, Y., Schreck, E., Mombo, S., Mazzia, C., Foucault, Y., Dumat, C., 2015. Effects of historic metal(loid) pollution on earthworm communities. *Sci. Total Environ.* 511, 738–746. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.101>.
- Liu, D., Wu, J., Ouyang, L., Wang, J., 2014. Variations in lead isotopic abundances in sprague-dawley rat tissues: possible reason of formation. *PLoS One* 9. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0089805>.
- Monna, F., Lancelot, J., Croudace, I.W., Cundy, A.B., Lewis, J.T., 1997. Pb isotopic composition of airborne particulate material from France and the southern United Kingdom: implications for Pb pollution sources in Urban Areas. *Environ. Sci. Technol.* 31, 2277–2286. <http://dx.doi.org/10.1021/es960870+>.
- Nahmani, J., Hodson, M.E., Black, S., 2007. A review of studies performed to assess metal uptake by earthworms. *Environ. Pollut.* 145, 402–424. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2006.04.009>.
- Nannoni, F., Rossi, S., Protano, G., 2014. Soil properties and metal accumulation by earthworms in the Siena urban area (Italy). *Appl. Soil Ecol.* 77, 9–17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2014.01.004>.

- Quenea, K., Lamy, I., Winterton, P., Bermond, A., Dumat, C., 2009. Interactions between metals and soil organic matter in various particle size fractions of soil contaminated with waste water. *Geoderma* 149, 217–223. <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2008.11.037>.
- Ruiz, E., Rodriguez, L., Alonso-Azcarate, J., 2009. Effects of earthworms on metal uptake of heavy metals from polluted mine soils by different crop plants. *Chemosphere* 75, 1035–1041. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.01.042>.
- Ruiz, E., Alonso-Azcarate, J., Rodriguez, L., 2011. *Lumbricus terrestris* L. activity increases the availability of metals and their accumulation in maize and barley. *Environ. Pollut.* 159, 722–728. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2010.11.032>.
- Scheuhammer, A.M., Bond, D.E., Burgess, N.M., Rodrigue, J., 2003. Lead and stable lead isotope ratios in soil, earthworms, and bones of American woodcock (*Scolopax minor*) from eastern Canada. *Environ. Toxicol. Chem. SETAC* 22, 2585–2591.
- Schreck, E., Foucault, Y., Geret, F., Pradere, P., Dumat, C., 2011. Influence of soil ageing on bioavailability and ecotoxicity of lead carried by process waste metallic ultrafine particles. *Chemosphere* 85, 1555–1562. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.07.059>.
- Schon, N.L., Mackay, A.D., Gray, R.A., Dodd, M.B., 2014. The action of an anecic earthworm (*Aporrectodea longa*) on vertical soil carbon distribution in New Zealand pastures several decades after their introduction. *Eur. J. Soil Biol.* 62, 101–104.
- Sizmur, T., Hodson, M.E., 2009. Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? – a review. *Environ. Pollut.* 157, 1981–1989. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2009.02.029>.
- Sizmur, T., Watts, M.J., Brown, G.D., Palumbo-Roe, B., Hodson, M.E., 2011. Impact of gut passage and mucus secretion by the earthworm *Lumbricus terrestris* on mobility and speciation of arsenic in contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 197, 169–175. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.09.071>.
- Shahid, M., Xiong, T., Masood, N., Leveque, T., Quenea, K., Austruy, A., Foucault, Y., Dumat, C., 2013. Influence of plant species and phosphorus amendments on metal speciation and

bioavailability in a smelter impacted soil: a case study of food-chain contamination. *J. Soils Sediments*.

Spencer, K., Shafer, D.J., Gauldie, R.W., DeCarlo, E.H., 2000. Stable lead isotope ratios from distinct anthropogenic sources in fish otoliths: a potential nursery ground stock marker. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 127, 273–284. [http://dx.doi.org/10.1016/S1095-6433\(00\)00260-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1095-6433(00)00260-9).

Teutsch, N., Erel, Y., Halicz, L., Banin, A., 2001. Distribution of natural and anthropogenic lead in mediterranean soils. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, 2853–2864. [http://dx.doi.org/10.1016/S0016-7037\(01\)00607-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00607-X).

Uzu, G., Sauvain, J.-J., Baeza-Squiban, A., Riediker, M., SaInchez Sandoval Hohl, M., Val, S., Tack, K., Denys, S., Pradere, P., Dumat, C., 2011. In vitro assessment of the pulmonary toxicity and gastric availability of lead-rich particles from a lead recycling plant. *Environ. Sci. Technol.* 45, 7888–7895.

Uzu, G., Sobanska, S., Aliouane, Y., Pradere, P., Dumat, C., 2009. Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation. *Environ. Pollut. Barking Essex* 1987 (157), 1178–1185. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2008.09.053>.

Wen, B., Liu, Y., Hu, X., Shan, X., 2006. Effect of earthworms (*Eisenia fetida*) on the fractionation and bioavailability of rare earth elements in nine Chinese soils. *Chemosphere* 63, 1179–1186. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.09.002>.

Wu, J., Liu, D., Xie, Q., Wang, J., 2012. Biological fractionation of lead isotopes in sprague-Dawley rats lead poisoned via the respiratory tract. *PLoS One* 7, e52462. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0052462>.

Conclusions et Perspectives.

Cette étude a montré que les vers de terre sont des organismes très robustes qui peuvent absorber des très grandes quantités de métaux en gardant une activité quasiment normale comme on a pu le constater à 30 et à 60 m où les concentrations sont nettement au-dessus des concentrations que l'on peut observer dans le milieu naturel. Elle a permis de mettre en évidence un phénomène nouveau qui est l'évitement qu'on observe chez l'espèce *A. caliginosa* qui à 10 m évite les zones où les concentrations sont les plus élevées, lui permettant de garder une activité contrairement à *L. terrestris*. Ce comportement d'évitement par l'espèce endogée des zones les plus polluées, réduit ainsi l'exposition. Il serait important de poursuivre les recherches dans ce domaine pour avoir plus d'information sur ce comportement pour d'autres espèces de vers de terre. Pour les sites hautement pollués ce comportement peut participer à la résilience plus rapide des sols et ainsi favoriser leur re-fonctionnalisation.

L'étude sur les isotopes du plomb nous a montré que les majeures parties des particules métalliques retrouvées dans les premiers centimètres du sol à proximité de l'usine de la STCM Bbazoches-Les-Gallerandes ont une origine anthropique. Les vers de terre absorbent majoritairement ces particules ayant une origine anthropique, que celles qui ont pour origine la roche mère moins présente à la surface. Les particules ayant une signature anthropique proviennent essentiellement des émissions diffuses et des retombés atmosphériques de l'usine située à proximité et s'accumulent sur le sol. Elles sont les plus biodisponibles du fait de leur affinité avec la matière organique qui est la principale nourriture des vers de terre. De plus, la roche mère étant calcaire, elle ne favorise pas la lixiviation des métaux vers les horizons inférieurs.

3.2 Phytoabsorption (racinaire et foliaire) des métaux et métalloïdes

Avant-propos.

Les légumes issus des jardins potagers situés à proximité de sites industriels ou routes peuvent accumuler des polluants. C'est pourquoi ce scénario d'exposition aux polluants inorganiques des populations qui pratiquent des activités de jardinage est pris en compte par l'Ademe ou l'Ineris en France. Renseigner les propriétaires de ces jardins sur la teneur en métaux des légumes produits afin de les rassurer ou de leur apporter des conseils permettant de réduire les risques sanitaire est un enjeu important.

Les plantes absorbent les éléments nutritifs dont elles ont besoin pour leurs croissances et leurs bons fonctionnements par les racines. C'est aussi par ce moyen que finalement les métaux et métalloïdes phyto-toxique peuvent se retrouver dans leurs différents organes (racines, tige, feuilles, graines, fruits, etc.). Le transfert sol-plante des métaux et métalloïdes par les racines est l'une des principales sources d'exposition pour les plantes ([Peralta-Videa et al. 2009](#) ; [Wang et al. 2006](#) ; [Waisberg et al. 2004](#) ; [Zhao et al. 2004](#)). Ce transfert racinaire des métaux et métalloïdes vers les plantes est souvent dépendant de la concentration totale de ces derniers dans le sol (et la solution du sol), mais aussi de la forme chimique de ces métaux. Une fois dans la plante, ces métaux et métalloïdes peuvent avoir des effets néfastes sur la croissance de la plante ou la biomasse de ces différents organes.

Une autre source de contamination pour les plantes, de plus en plus étudiée en milieu urbain, est la contamination atmosphérique ([Xiong et al, 2014](#) ; [Barima et al, 2014](#)). En effet, les métaux et métalloïdes sous forme de particules fines issues principalement des industries, de la circulation automobile ou de l'agriculture, sont très réactives ([Uzu et al, 2014](#)). Ces particules fines après leur émission restent dans l'air et sont transportées par le vent, puis déposées sur le sol, les feuilles des plantes, les fruits. Dans ce cas, le transfert vers la plante est direct (sans modification de la forme chimique de l'élément). Il se fait par l'intermédiaire des stomates : petits orifices se situant au niveau de l'épiderme des feuilles des plantes, lieux d'échanges gazeux. Des études ont montré que les particules très fines et riches en métaux lourds peuvent effectivement utiliser ces orifices pour se retrouver dans le végétale ([Xiong et al, 2014](#)).

Dans cette deuxième partie de résultats (3.2) ont été étudiés les transferts sol-plante et atmosphère-plante du cadmium et du plomb, pour lesquels aucun rôle biologique n'est connu, et ceci en fonction de différents types de culture dans la situation des jardins potagers urbains à proximité d'une usine de recyclage de batterie automobile (chapitre 3.2.1).

Dans le chapitre 3.2.2, a été étudiée en conditions contrôlées l'influence de la forme chimique du sélénium, oligoélément, sur le transfert racinaire pour le maïs.

La figure 35 ci-dessous résume les différentes parties de cette étude.

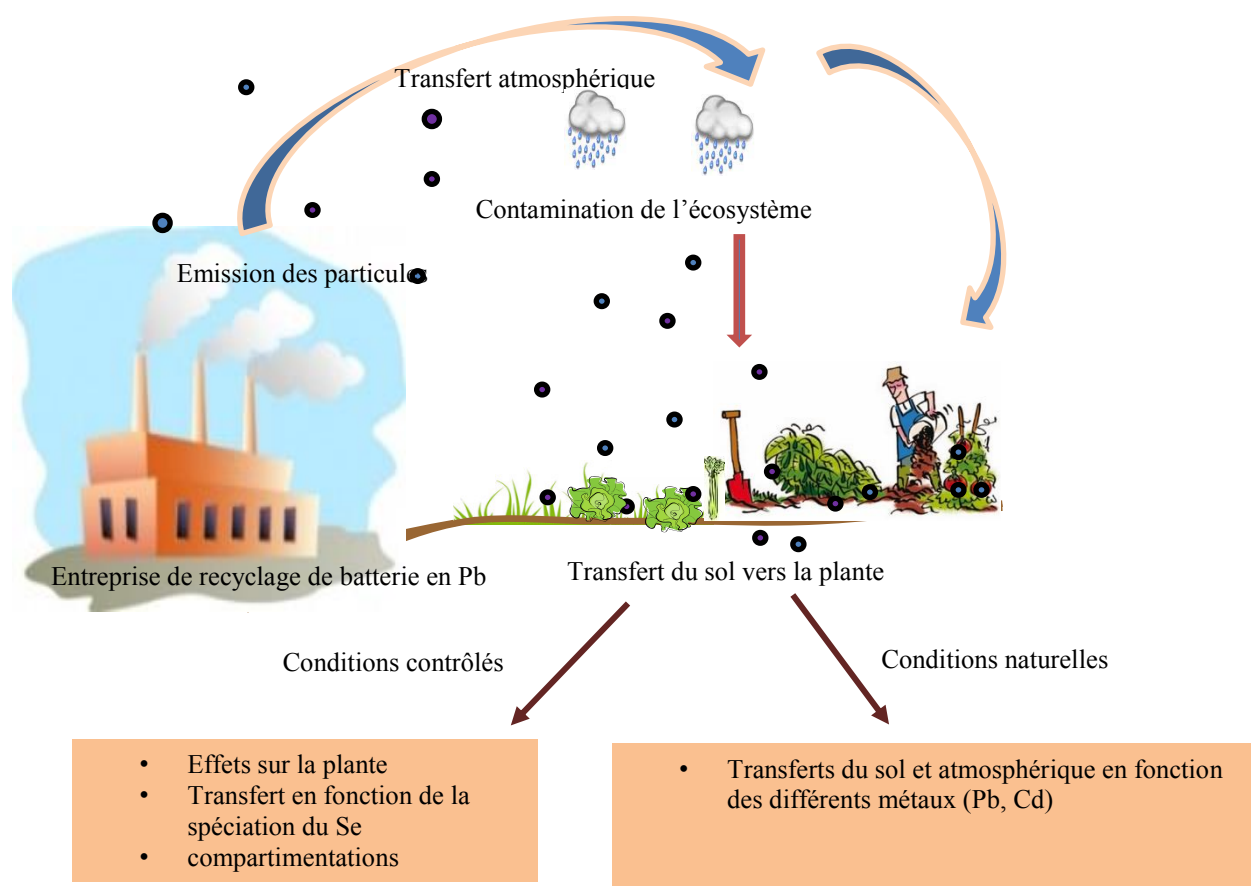


Figure 35 : Effets des retombés atmosphériques de particules riches en métaux (entreprise ICPE) sur le sol et les plantes potagères au voisinage d'une usine de industrielle.

Management of human health risk in the context of kitchen gardens polluted by lead and cadmium near a lead recycling company

Journal of Soils and Sediments, 16 (2015) 1214-1224

S. Mombo^{1,2}, Y. Foucault^{1,2,3}, F. Déola³, Goix⁴, M. Shahid⁵, I. Gaillard⁶, E. Schreck⁴, A. Pierart^{1,2} and C. Dumat^{1,6} *

¹ Université de Toulouse; INP-ENSAT, Av. de l'Agrobiopôle, 31326 Castanet-Tolosan, France.

² UMR 5245 CNRS-INP-UPS; EcoLab; 31326 Castanet-Tolosan, France.

³ STCM, 30 Avenue Fondevre, 31200 Toulouse, France.

⁴ Géosciences Environnement Toulouse, Observatoire Midi Pyrénées, Université de Toulouse, CNRS, IRD, 14 avenue E. Belin, F-31400 Toulouse, France.

⁵ Department of Environmental Sciences, COMSATS Institute of Information Technology, Vehari- 61100, Pakistan.

⁶ 14 Certop UMR5044-Centre d'Etude et de Recherche Travail Organisation Pouvoir.

*Corresponding author: PR Camille DUMAT Address: INP-ENSAT, Av. Agrobiopôle, BP 32607, Auzeville, 31326 Castanet-Tolosan, France.

Phone: +33 5 34 32 39 03, Fax: +33 5 34 32 39 01 e-mail: camille.dumat@ensat.fr

Abstract.

Purpose At the global scale, gardening activities are often performed in urban areas with a historical background of pollution. In this study, a participatory program was developed with citizens concerned by gardening activities near a 50-year-old regulated lead recycling company, with the aim of co-constructing the tools for the assessment and management of potential sanitary risks induced by historic pollution with persistent (eco) toxic metals: lead and cadmium. **Materials and methods** Soils and vegetables (lettuce, leek, celery, carrot, chard, pumpkin, and celeriac) samples were collected from four kitchen gardens neighboring a 50-year-old secondary lead smelter. Both total and in vitro human bioaccessible metal concentrations in the cultivated plants were measured in relation to soil characteristics. **Results and discussion** the results showed that the soils of these gardens were slightly contaminated by metals (Pb, 77 to 236 mg kg⁻¹; and Cd, 0.5 to 1 mg kg⁻¹) in comparison with the natural geologic background. However, significant pollution of vegetables can occur especially with lead (Pb up to 9.8 mg kg⁻¹ in lettuce) and certainly as a result of direct foliar transfer. The washing of plants before consumption is therefore recommended in the context of atmospheric fallout of ultrafine particles enriched with metals. **Conclusions** Metal bioaccessibility measure integrates the influence of metal type, plant type, and soil physico-chemical properties. Based on the results, it is proposed that human bioaccessible fraction of metals may also be currently taken into account as well as total metal quantities and bioaccumulation factors in risk assessment studies performed in gardens. Overall, this study has led to reflections and functional recommendations aimed at reducing human exposure and to finally developing sustainable gardening practices.

Keywords: metals, bioaccessibility, kitchen gardens, risk assessment, human health.

3.2.1 Introduction

A growing interest can be observed in gardening activities throughout the world (McBride et al. 2014) with the production of good-quality plants the main objective of many gardeners (Mitchell et al. 2014). Meanwhile, according to Francis and Lorimer (2011), reconciling human and nonhuman usage of urban regions to support biological conservation represents a major challenge in the twenty-first century. These gardening activities illustrate the tiered link between environment and health (Uzu et al. 2014). As such, the preservation of the environment becomes a major concern of gardeners (Schreck et al. 2012a, b) and these gardens represent biodiversity pools which permit gardeners to develop social values (Ives and Kendal 2014). However, according to Alloway (2004), in some areas of world the contamination of kitchen garden soils by heavy metals may engender hazardous effects. Not only can kitchen garden soils become polluted by the emissions from industrial activities such as smelters (Austruy et al. 2014; Shahid et al. 2014a) but they may also receive a substantial quantity of dust from road traffic and urban heating (Álvarez-Ayuso et al. 2012).

These factors can be dangerous not only for the environmental health (Leveque et al. 2014) but also for residents living near these polluted areas (Xiong et al. 2014a). In fact, food represents the main source of human exposure to environmental pollutants (Radwan and Salama 2006), given that vegetables and fruit represent the world population's major dietary components. Moreover, this exposure could (in contradiction) be exacerbated by the recommendations of the World Health Organization (1990), who advise the consumption of at least 400 g of fruit and vegetables per day (Oyebode et al. 2014). Stasinou et al. (2014) demonstrated a significantly higher metal content in carrots grown in gardens compared with cultures in farms, while Szolnoki et al. (2013) concluded that gardens are the leading recipients of metals, mainly from certain organic and inorganic amendments and irrigation waters.

In Europe, regulated factories such as lead recycling plants (Foucault et al. 2013) are required to both study and reduce their impact on the environment and health (Schreck et al. 2014). Since 2007, one of the tools implemented in France for quantitative assessments of health risks associated with contaminated soils is the conceptual framework for describing the different scenarios of population exposure to contaminants. Due to the consumption of contaminated vegetables, a Kitchen garden^ scenario is commonly considered by risk assessors from national agencies (Von Hoffen and Säumel 2014). The French Agency for Environment

and Energy Management (Ademe) has developed various tools to measure this, such as sampling guides and databases with metal concentrations in certain vegetables (Bappet 2014). Moreover, Broadway et al. (2010) and Xiong et al. (2014b) have recently developed bioaccessible measures of metals in vegetables in order to improve health risk assessment brought about by metal-polluted vegetable consumption. As a result, bioaccessibility measures could actually improve human exposure studies. However, only few available field Studies concern bioaccessibility measure for polluted vegetables.

A growing interest can be observed in gardening activities throughout the world (McBride et al. 2014) with the production of good-quality plants the main objective of many gardeners (Mitchell et al. 2014). Meanwhile, according to Francis and Lorimer (2011), reconciling human and non-human usage of urban regions to support biological conservation represents a major challenge in the twenty-first century. These gardening activities illustrate the tiered link between environment and health (Uzu et al. 2014). As such, the preservation of the environment becomes a major concern of gardeners (Schreck et al. 2012a, b) and these gardens represent biodiversity pools which permit gardeners to develop social values (Ives and Kendal 2014). However, according to Alloway (2004), in some areas of world the contamination of kitchen garden soils by heavy metals may engender hazardous effects. Not only can kitchen garden soils become polluted by the emissions from industrial activities such as smelters (Austruy et al. 2014; Shahid et al. 2014a) but they may also receive a substantial quantity of dust from road traffic and urban heating (Álvarez-Ayuso et al. 2012).

As a result, the questions surrounding vegetable quality, and more widely the elaboration of procedures for the sustainable management of the potential risks in polluted kitchen gardens, need to be investigated. It is well established that the production of scientific knowledge is not enough to efficiently control the risk (Flanquart et al. 2013). The analysis of the process of domestication of industrial risks through an analysis of reports by public experts following the AZF disaster (De Terssac and Gaillard 2009) showed that risk control resulted in five areas of ownership and associated actors.

The issue of gardens contaminated by their proximity to industrial sites depends on the general obligations of the industry with respect to residents and the environment. Today, the detection of significant pollution in consumable vegetables constitutes grounds for remobilization on these issues. The dangers are now better known and thus call for more modern

risk control in this area. This need is all the greater as gardens are subject to very little regulation, and public actors are therefore very poorly equipped.

Our main objective was therefore improving human health risk assessment and management in the context of kitchen garden pollution due to regulated company. A collective socio-scientific study based both on risk assessment data acquisition and agronomy measures was therefore conducted between gardeners, a regulated company, and laboratories. Soil characteristics and both total concentrations and bioaccessible fractions of metals in soils and vegetables were measured, and interviews dealing with gardener practices were performed. All these data acquired on the field were finally discussed in relation with environmental and sanitary risk assessment and management in these gardens.

3.2.2 Materials and methods

3.2.2.1 2.1 Establishment of a monitoring program to study the impacts of the factory

In collaboration with the Institute of Health Surveillance (INVS) and the regional health agency (ARS), a survey of the health impact of STCM activities (site B1) in Bazochesles-Gallerandes, Loiret (45) was conducted on local residents from September 2012 to March 2013. The objective was to study their exposure to lead and assess its impact on health. This study was based on a three-step methodology from July 2012 to January 2013:

1. Metal (loid) measurements of vegetables and garden soils bordering the plant were made, as these may be potentially impacted by the activities of the factory area.
2. A study of Pb impregnation for volunteer residents near the site (this involved a measurement of blood Pb levels in children and adults).
3. An investigation of their use of gardens, food consumption patterns, and concentrations of lead in some self-produced plants. The survey was conducted using either face-to-face or telephone questionnaires, depending on the availability of local residents.

An information meeting was held in September 2012 to inform residents about the different phases of the study, including screening of blood Pb levels. A newsletter with a response form was then placed in the mailboxes of local residents. Depending on their involvement, they could choose between a measurement of the soil in their gardens, a blood screening for Pb for the entire home, and a complete survey of their land use. The study area described in Figure 36 includes 53 households and 92 people (37 men, 34 women, and 21 children).

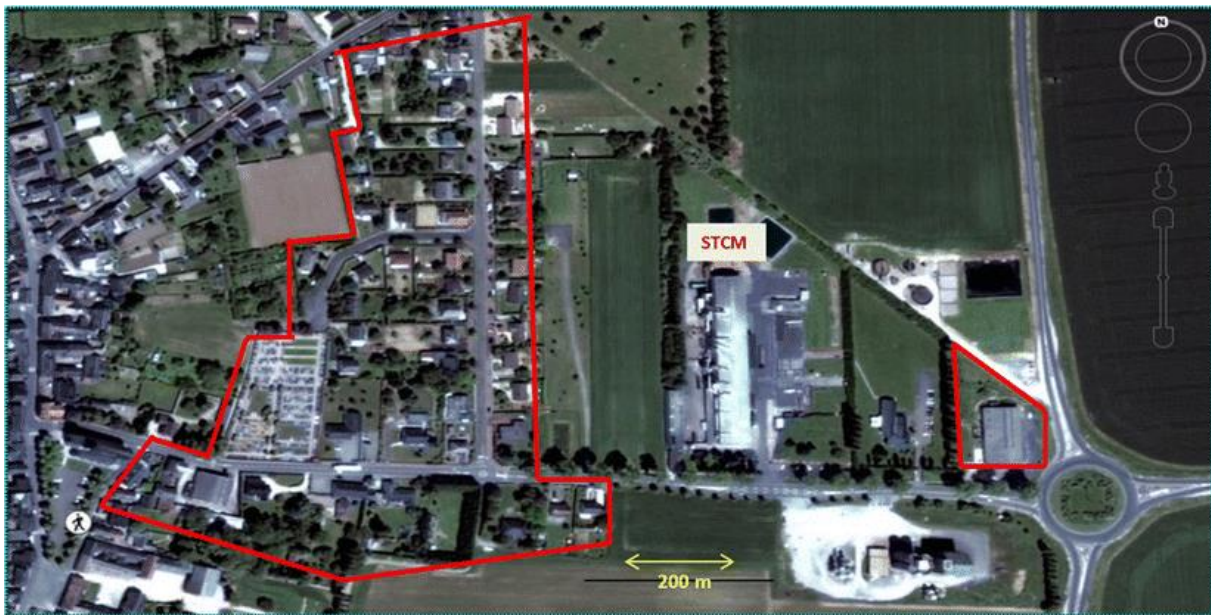


Figure 36 : Study area of the campaign to prevent exposure to pollutants at Bazoche-les-Gallerande, Loiret (source: Google map data 2015). STCM Société de Traitement Chimique des Métaux

3.2.2.2 Soil characterization, vegetable sampling, and measure of total metal concentrations

According to statistical methodology, 15 samples of 1 kg of soil from four gardens (G1, G2, G3, and G4) neighboring (100 m²) the 50-year-old secondary lead smelter were sampled in triplicate in order to ascertain the influence of particle fallout from the factory. They were dried and sieved to under 2 mm. Lead and total Cd concentrations were measured by ICP-OES (IRIS Intrepid II XXDL) after mineralization in aqua regia according to ISO 11466 (ISO 1995) (HNO₃ 65 %, HCl 37 %; ratio 1:3v/v). The detection limits of Pb and Cd were 0.3 and 0.2 µg L⁻¹, respectively, whereas the limits of quantification were 0.4 and 0.3 µg L⁻¹, respectively. The accuracy of the measurements was checked using a certified reference material 141R

(BCR, Brussels). The concentrations found were between 95 and 102 % of the certified values for all measured elements.

A standard ISO 10390 procedure was used to measure soil pH in water using a 1:2.5 soil/solution ratio. After the removal of organic soil matter using H₂O₂ and soil dispersion by sodium hexametaphosphate, granulometric analysis was carried out by sieving (for sand), and sedimentation and extraction with a Robinson pipette (for clay and silt). The size fractions obtained were then classified as clay (>2 µm), silt (2–50 µm), and sand (50–2000 µm). The Metson method (1 mol L⁻¹ ammonium acetate, pH 7 and 1 mol L⁻¹ NaCl) was used to measure cationic exchange capacity (CEC). A calcimeter was used to determine CaCO₃, while CO₂ released by addition of HCl was measured with a calcimeter. A wet oxidation method was used to measure organic carbon. Since clay influences the availability of metals, clay mineralogy was carried out after dispersion (successive washings), decarbonation with HCl and extraction after 4 h of sedimentation, and preparation of the sample on glass slides. The analysis was performed on (1) normal, (2) ethylene glycol saturated, and (3) oriented samples heated to 500 °C. X-ray analyses of these oriented samples were performed on a CPS 120 INEL.

Various kinds of vegetables frequently cultivated by gardeners in France were sampled in the four kitchen gardens, as it is well known that metal uptake varies significantly between different plant species (Alexander et al. 2006). These plant types were leaf (lettuce), root (carrot and celeriac), bulb (leek), and stem (celery and chard) vegetables. After peeling the carrot, leek, and celeriac, vegetable samples were washed with deionized water to remove potential surface contamination (Evangelou et al. 2007). A two-step washing method was used, with consumed plant parts being washed in running tap water for 30 s, followed by two baths in deionized water for 1 min (Birbaum et al. 2010; Uzu et al. 2010). The dry weight (oven-dried 48 h at 40 °C) was determined before the plant parts were grinded to homogenize particle size. They were then mineralized for 4 h in a 1:1 mixture of HNO₃ and H₂O₂ at 80 °C (Schreck et al. 2011). Metal (loid) concentrations in plant samples were finally measured by ICP-OES (IRIS Intrepid II XXDL). The accuracy of acidic digestion and analytical procedures was checked using Virginia tobacco leaves (CTA-VTL-2, ICHTJ) as reference. All analyses were performed in triplicate.

3.2.2.3 Bioaccessibility test

Human metal bioaccessibility measurements in vegetables were performed using the Unified Barge protocol (Cave et al. 2006). This in vitro test consists of two parallel three-step extraction procedures, which simulates the chemical processes occurring in the mouth, stomach, and intestine using synthetic digestive solutions, including both gastric and the gastrointestinal extractions according to physiological transit times (Denys et al. 2007). Temperature was maintained at 37 °C throughout the extraction procedure. In this work, only the gastric phase was carried out because it determines the solubilization of metal (loid) s and provides maximum Pb and Cd bioaccessibility in all soils (Caboche 2009). The composition of the solutions used is given in Table 10. Both soils and vegetable samples were studied using the procedure described by Foucault et al. (2013) and Xiong et al. (2014a). Metal bioaccessibility was finally expressed as the ratio between the extracted concentration in the gastric phase and the total concentration before digestion. Bioaccessibility results are expressed as the percentage of the total metal in vegetables. For each sample, tests were carried out on five replicates. The bioaccumulation factor (BF) was determined as a ratio of metal concentration in consumable plant parts and metal concentration in contaminated soil (Shahid et al. 2012b).

Tableau 10: Composition of the digestive solutions used for the bioaccessibility test

| | Saliva pH 6.5±0.5 | Gastric solution pH 1.0±0.2 | Intestinal solution pH 7.4±0.2 | Bile solution pH 8.0±0.2 |
|------------------|---|--|---------------------------------------|-----------------------------------|
| Inorganic | 448 mg KCl | 1376 mg NaCl | 3506 mg NaCl | 2630 mg NaCl |
| | 444 mg NaH ₂ PO ₄ | 133 mg Na ₂ PO ₄ | 2803 mg NaHCO ₃ | 2893 mg NaHCO ₃ |
| | 100 mg KSCN | 412 mg KCl | 40 mg KH ₂ PO ₄ | 188 mg KCl |
| | 285 mg Na ₂ SO ₄ | 200 mg CaCl ₂ | 282 mg KCl | 90 µl HCl (37 % g ⁻¹) |
| | 149 mg NaCl | 153 mg NH ₄ Cl | 25 mg MgCl ₂ | |
| | 0.9 ml NaOH 1 M | 4.15 ml HCl (37 % g ⁻¹) | 90 µl HCl (37 % g ⁻¹) | |
| Organic | 100 mg urea | 325 mg glucose | 50 mg urea | 125 mg urea |
| | | 10 mg glucuronic acid | | |
| | | 42.5 mg urea | | |
| | | 165 mg glucosamine hydrochloride | | |

| | | | | |
|------------------------|---------------------------|-----------------------|--------------------------|--------------------------|
| Added compounds | 72.5 mg α -amylase | 500 mg bovine albumin | 100 mg CaCl ₂ | 111 mg CaCl ₂ |
| | 25 mg mucin | 1500 mg mucin | 500 mg bovine albumin | 900 mg bovine albumin |
| | 7.5 mg uric acid | 500 mg pepsin | 1500 mg pancreatin | 3000 mg porcine bile |
| | | | 250 mg lipase | |

3.2.2.4 Statistical analysis

The data obtained were analyzed for differences between treatments using one-way analysis of variance (ANOVA). Statistical analysis was carried out using the software Statistical, Edition'98 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). A Fisher's LSD test was used to determine the level of significance (p value <0.05) against the control.

3.2.3 Results

Soils: physico-chemical properties and total and bioaccessible metal concentrations

Table 11 shows the physico-chemical properties of soils sampled from four selected kitchen gardens. All the soils were alkaline, with pH levels ranging between 8.0 and 8.4. The organic matter (OM) content of the G4 soil was twice as high as those in G1 and G2 in relation to compost inputs. All four soils have almost the same carbonate contents (2.5 to 3 %) due to the geology of the bedrock. However, the clay contents of the four soils differ considerably (in ascending order—G₂<G₁ <G₃<G₄).

Tableau 11 : Soil physico-chemical parameters of four gardens

| Garden reference | pH water | OM (g kg ⁻¹) | Carbonates (%) | Clay (g kg ⁻¹) |
|------------------|----------|--------------------------|----------------|----------------------------|
| G ₁ | 8.3±0.1 | 18.4±0.5 | 3±0.1 | 84±6 |
| G ₂ | 8.4±0.1 | 18.5±0.5 | 3±0.1 | 70±3 |
| G ₃ | 8.2±0.1 | 28±1 | 2.8±0.05 | 204±15 |
| G ₄ | 8±0.05 | 36.6±2 | 2.5±0.05 | 288±18 |

The results of total metal concentrations in the soils of the four kitchen gardens are given in Figure 37. The Pb concentration was highest in G4 (236 mg kg⁻¹) followed by G1, G2, and G3. The trend was almost similar for Cd, with maximum Cd concentration in G4 and G1, followed by G2 and G3. Forty-one households (77 % of households in the study area) participated in the analysis of soils in their gardens, and 60 soil analyses were performed on 50 different plots. The lead levels in the garden soils ranged from 28 to 1522 mg Pb kg⁻¹ soil. The average lead level in garden soil is 164 mg Pb kg⁻¹ soil (geometric mean = 120 mg Pb kg⁻¹ soil; median = 110 mg Pb kg⁻¹ soil). The value of 1522 mg Pb kg⁻¹ is anomalous and comes from the analysis of a single garden in which the contributions of the contaminated soil were made in the past. All the analyzed garden soils have concentrations above the reference threshold (natural background, NGB) for Pb in the region (55 mg kg⁻¹), but lower than the currently used limit of 1000 mg Pb kg⁻¹ dry soil used in France for remediation. Therefore, all these soils present a moderate level of contamination. In terms of Pb and Cd, the bioaccessibility values are 64 and 70 % (G1), 60 and 75 % (G2), 65 and 85 % (G3), and 70 and 90 % (G4).

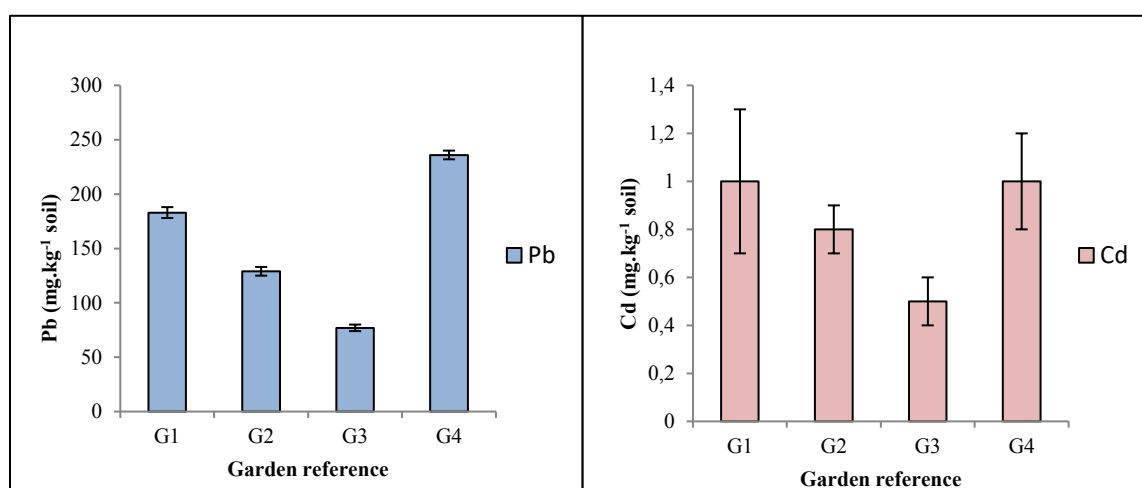


Figure 37 : Lead and cadmium concentrations in the four garden soils

3.2.3.1 Vegetables: total metal concentration and bioaccumulation factors (BF)

Table 12 presents the metal concentration (mg kg^{-1}) in the sampled vegetables based on fresh matter (FM) and dry matter (DM).

Tableau 12 : Pb and Cd concentrations in vegetables (dry and fresh matters)

| Garden reference | Vegetable | DM (mg kg^{-1}) | | FM (mg kg^{-1}) | | %DM |
|----------------------|-----------|----------------------------|-----------|----------------------------|------------|------|
| | | Pb | Cd | Pb | Cd | |
| G₁ | Leek | 4.7±0.4 | 0.12±0.05 | 0.41±0.05 | 0.01±0.005 | 8.6 |
| | Lettuce | 9.8±0.4 | 0.29±0.05 | 0.38±0.05 | 0.01±0.005 | 3.8 |
| G₂ | Leek | 4.5±0.2 | 0.12±0.05 | 0.44±0.05 | 0.01±0.005 | 9.7 |
| | Lettuce | 5.4±0.4 | 0.73±0.05 | 0.24±0.04 | 0.03±0.005 | 4.5 |
| | Celery | 4.3±0.2 | 0.4±0.03 | 0.4±0.03 | 0.04±0.005 | 9.2 |
| | Carrot | 1.3±0.05 | 0.29±0.05 | 0.14±0.03 | 0.03±0.005 | 10.7 |
| | Celeriac | 1.3±0.05 | 0.7±0.05 | 0.14±0.03 | 0.07±0.005 | 10.8 |
| G₃ | Leek | 1.2±0.05 | 0.12±0.03 | 0.1±0.03 | 0.01±0.005 | 8.2 |
| | Chard | 1.8±0.05 | 0.4±0.03 | 0.13±0.03 | 0.03±0.005 | 7.3 |
| | Pumpkin | 0.9±0.05 | 0.2±0.03 | <0.05 | 0.01±0.005 | 5.6 |
| G₄ | Lettuce | 3.8±0.2 | 0.26±0.03 | 0.14±0.03 | 0.01±0.005 | 3.8 |
| | Carrott | 0.4±0.03 | 0.2±0.02 | <0.05 | 0.02±0.005 | 11.7 |

3.2.3.2 3.2.1 Metal content on dry matter basis

In the G1 kitchen garden, lettuce accumulated more Pb and Cd than leek. In G2, the Pb and Cd accumulation trend was different for different vegetables. In the case of Pb, maximum uptake was by lettuce, followed by leek, celery, carrot, and celeriac, whereas for Cd, the accumulation trend was lettuce > celeriac > celery > carrot > leek. In kitchen garden G3, chard accumulated more Pb and Cd than leek and pumpkin. In the case of G4, Pb and Cd accumulation was higher for lettuce than carrot.

3.2.3.3 Metal content on fresh matter basis

The trend of metal concentration in selected vegetables was not the same when compared on an FM and DM basis. In G1, leeks accumulated more Pb than lettuce, whereas the Cd contents were same in both vegetables on an FM basis. In G2, Pb accumulation in vegetables followed the following trend: leek>celery>lettuce>carrot=celeriac. For Cd, maximum accumulation was in celeriac, followed by celery, lettuce, carrot, and leek. In G3, chard accumulated more Pb and Cd than leek and pumpkin. In G4, Pb accumulation was more for lettuce than carrot. For Cd, carrot accumulated more Cd than Pb. In the case of lead, several vegetables' measured concentrations were above the maximum regulated European limits (EC 466/ 2001), which means between 0.1 and 0.3 mg Pb kg⁻¹ FM in function of concerned plant species

3.2.3.4 Metal bioaccumulation factors (BF)

The metal BF based on dry and fresh matter are illustrated in Table 13. Metal BF is high when calculated using dry matter compared to fresh matter. In both cases (i.e., dry and fresh matter), BF is higher for Cd than Pb for all the vegetables and all the kitchen gardens. Bioaccumulation factors (based on dry matter calculation) ranges between 0.002 and 0.054 and between 0.12 and 0.913, respectively, for Pb and Cd. In the case of fresh matter calculations, BF ranges from <0.001 to 0.003 for Pb and from <0.02 to 0.088 for Cd. Not all the vegetables were available for sampling in all four gardens; therefore, it is not possible to compare all vegetables with respect to BF. Based on available vegetables in the different kitchen gardens, lettuce has more BF for Pb and Cd than other vegetables (dry matter basis). On a fresh matter basis, celery and leek showed more BF for Pb, whereas celeriac showed maximum BF for Cd.

Tableau 13 : Metal bioaccumulation factors of vegetables dry and fresh matters

| Garden reference | Vegetables | DM | | FM | |
|----------------------|------------|-------|-------|--------|-------|
| | | Pb | Cd | Pb | Cd |
| G₁ | Leek | 0.026 | 0.120 | 0.002 | 0.010 |
| | Lettuce | 0.054 | 0.290 | 0.002 | 0.010 |
| G₂ | Leek | 0.035 | 0.150 | 0.003 | 0.013 |
| | Lettuce | 0.042 | 0.913 | 0.002 | 0.038 |
| | Celery | 0.033 | 0.500 | 0.003 | 0.050 |
| | Carrot | 0.010 | 0.363 | 0.001 | 0.038 |
| | Celeriac | 0.010 | 0.875 | 0.001 | 0.088 |
| G₃ | Leek | 0.016 | 0.240 | 0.001 | 0.020 |
| | Chard | 0.023 | 0.800 | 0.002 | 0.060 |
| | Pumpkin | 0.012 | 0.400 | <0.001 | <0.02 |
| G₄ | Lettuce | 0.016 | 0.260 | 0.001 | 0.010 |
| | Carrot | 0.002 | 0.200 | ND | 0.020 |

3.2.3.5 3.3 Bioaccessible metal concentrations in vegetables

The bioaccessible metal (Pb and Cd) fractions were measured for all vegetables (Table. 14). Cadmium bioaccessibility was higher in comparison to Pb for all the vegetables. However, garden type has no clear effect on human bioaccessibility to Pb and Cd. The results also showed that the bioaccessibility of Pb and Cd varies considerably with the type of vegetable. For example, Cd bioaccessibility is higher for leeks than lettuce in G1 and G2, but the trend is opposite for Pb. Similarly, Cd bioaccessibility in leeks was higher than in chard in G3, but Pb bioaccessibility was lower in leek than chard in G3. The human metal bioaccessibility trend in G2 was as follows: celery, celeriac, carrot, lettuce, and leek. The trend of Pb and Cd bioavailability in soils of four kitchen gardens was different when calculated based on fresh matter metal contents.

Tableau 14 : Bioaccessibility of Pb and Cd concentrations in vegetables

| Garden reference | Vegetable | Cd (%) | Pb (%) |
|------------------|-----------|--------|----------|
| G ₁ | Leek | 81 ± 3 | 18 ± 1 |
| | Lettuce | 80 ± 2 | 27 ± 1 |
| G ₂ | Leek | 85 ± 2 | 17 ± 1 |
| | Lettuce | 76 ± 2 | 26 ± 1 |
| | Celery | 74 ± 2 | 50 ± 1.5 |
| | Carrot | 80 ± 2 | 42 ± 1.5 |
| | Celeriac | 80 ± 2 | 45 ± 1.5 |
| G ₃ | Leek | 80 ± 2 | 19 ± 1 |
| | Chard | 66 ± 2 | 54 ± 1.5 |
| | Pumpkin | 80 ± 2 | 36 ± 1.5 |
| G ₄ | Lettuce | 80 ± 2 | 26 ± 1 |
| | Carrot | 80 ± 3 | 36 ± 1.5 |

3.2.3.6 3.4 Human metal exposure study conducted by the regulated factory

Screening people living near the factory for high blood Pb levels was performed by a national health agency. Thirty-nine people from 18 households (42 % of the study area) volunteered to participate in the screening. The measured blood Pb levels are reassuring and show no over-impregnation of the population living near the factory compared to the general population in France, even in children. Moreover, there is no correlation between blood Pb levels and Pb concentrations in soil gardens ($r^2 = 0.06$ and $p = 0.14$). Of the 39 people tested, 27 responded to the questionnaire on food consumption habits. Furthermore, there is no difference in blood Pb levels in relation to the consumption of vegetable productions. No over-impregnation of people consuming their garden produce in comparison to the general population was concluded from these data.

3.2.4 Discussion

3.2.4.1 4.1 Mechanisms involved in metal soil-plant atmosphere systems and the consequences for human exposure to the pollutants

Although the metal concentration levels in the garden soils do not seem worrying, these total measures indicate anthropogenic inputs of lead. Due to the absence of other issuers of lead in the area sites, this can be put down to the actions of local enterprises. Metal soil-plant transfer and bioaccessibility in these moderately contaminated kitchen garden soils varied greatly in terms of soil and vegetable type. Previous studies also showed that pollutant bioavailability in soil is strongly influenced by the soil's physico-chemical properties.

[Birkefeld et al. \(2007\)](#) studied in situ transformation of lead particles from a smelter into several soils and reported that soil-plant transfer of metals is strongly dependent on soil characteristics. Differences observed in the function of heavy metal soil-plant transfer can be explained by different OM or clay soil contents. Areas used for gardening activities are also sites of soil biodiversity usually enhanced by sustainable cultural practices based on organic matter inputs ([Doan et al. 2014](#)). Soil pH and CaCO₃ levels have already been described as influent parameters of element retention and mobility in soils. [Singh et al. \(2010\)](#) reported that organic matter contents had an impact on metal phytoavailability and transfer. [Shahid et al. \(2012b\)](#) reported that humic substances greatly influence metal bioavailability to *Vicia faba*. In our experimental conditions, the organic matter and clay contents of G1 and G2's soils were significantly lower (almost half) than G3 and G4's soils. These variations in soil characteristics can be responsible for the variations in the metal bioaccessibility of the four kitchen garden soils. Despite low levels of lead in the contents for G1 and G2's soil, higher Pb bioaccessibility in these soils than in G4 may be due to their low organic matter and carbonate contents. Finally, as the garden type has no significant effect on metal human bioaccessibility, this phenomenon could be explained by the foliar transfer of metals. Actually, in the case of foliar transfer, it is direct interaction with atmosphere particles that induces metal uptake independently of soil characteristics.

In our experimental conditions, Cd was more bioavailable than Pb. Lead is generally considered less soluble and available for plant uptake due to its strong complexation with different soil components, e.g., organic and/or colloidal materials ([Shahid et al. 2011](#)). Cadmium is available for plant uptake ([Vig 2003](#)) because it is predominantly found in soil

solution (Cd^{2+} ion, inorganic or organic complexes) or slightly bound to the solid phase (Verbruggen et al. 2009).

In the present study, different kinds of vegetables showed different abilities to accumulate metals in moderately contaminated kitchen garden soil (Pb 77– 236 mg kg^{-1} and Cd 0.5 to 1.0 mg kg^{-1} in soil). The Pb and Cd accumulation was higher for lettuce than for other vegetables. The shoot Pb and Cd bioaccumulation factor calculated for all vegetables was also higher for lettuce than other vegetables. As previously observed (Liu et al. 2012), this phenomenon highlights the importance of choosing adapted plant species cultivated in gardens characterized by polluted soils or atmosphere fallouts. Several previous studies reported the difference in metal bioaccumulation by plants due to differences in the extent and composition of root exudates (Shahid et al. 2014b). Indeed, these compounds can form soluble complexes with metal cations, allowing further dissolution of metals from soil organic matter, oxides, and clays, thereby enhancing their release (Marchand et al. 2010).

Finally, foliar metal uptake, previously observed for leaf vegetables (Uzu et al. 2010), could explain the special compartment (higher metal uptake) of lettuce. According to Schreck et al. (2012a), foliar Pb uptake due to fine particulate matter depositions can strongly increase metal concentrations in plants, especially when kitchen gardens or farms are near recycling factories. Leafy vegetables are supposed to trap more heavy metals from atmospheric deposition due to more leaf surface area. In such cases, the risk for human and animal health regarding the ingestion of polluted plants should be considered (Perrone et al. 2010). As such, a higher uptake of Pb and Cd by lettuce can be due to both root and foliar uptake.

At present, there are little data regarding human metal bioaccessibility in polluted vegetables. According to Xiong et al. (2014a, 2014b), in addition to the total metal quantities and bioaccumulation factors measured in vegetables, the determination of bioaccessible fractions using the barge procedure (Foucault et al. 2013) could improve health risk assessments linked to the ingestion of polluted vegetables. Actually, in the present study, lettuce showed the maximum level of Pb and Cd accumulation and translocation. However, the human metal bioaccessible fraction was twice as large for celery as it was for lettuce. The human bioaccessible fraction of metals may therefore be measured in addition to total metal quantities and bioaccumulation factors in risk assessment studies.

3.2.4.2 What kind of management should be used for kitchen gardens near regulated companies?

3.2.4.3 Management from environmental and agronomical points of view

Several recommendations can be given to citizens who practice gardening activities in areas subject to moderate pollution. Soil and crop management methods can help in preventing the uptake of pollutants by plants. Heavy metal bioavailability in soil greatly depends on soil pH. Generally, heavy metal immobilization increases at high pH levels: Cd is highly mobile in acid soils (pH 4.2–6.6), while Pb is immobile and neutral to alkaline (pH 6.7–7.8). Several previous studies reported negative correlation between soil pH and Cd and Pb mobility in relation to soil and the availability to plants (Du Laing et al. 2007). Therefore, soil amendments resulting in decreased soil pH may be used for moderately heavy metal polluted soils to reduce their uptake by plants (Austruy et al. 2014). Heavy metal soil chemical speciation (the relative distribution of different metal species in soil) is a key factor in controlling metal bioavailability and toxicity (Landrot et al. 2012). Currently, it is well known that total soil-metal concentration is usually not a good proxy to predict metal levels (Udovic and McBride 2012), mobility, solubility, extractability, bioavailability, bioaccumulation, and toxicity (Cui et al. 2011). This is because not all chemical forms of metals are equally bioavailable (Shahid et al. 2014c, d). Therefore, metal speciation in soil could also be used as a tool for the management of moderately heavy metal contaminated soil by converting its bioavailable metal form to immobile form via organic or inorganic amendments. Obviously, inputs whose efficiency has been previously tested should be provided to gardeners. Indeed, numerous studies of metal speciation are available in the research, but the operational transfer of these researches to the scale of industrial or agricultural sites is still rare.

The type of vegetables cultivated in kitchen gardens should also be managed: vegetables with low metal accumulating ability and human bioaccessible fractions may be preferentially cultivated on low or moderately contaminated soils. Thorough washing of plants before consumption will also remove some of the metal deposited on leaves in the case of air pollution, sometimes by up to 30 % (Schreck et al. 2012). When metals are poorly phytoavailable (e.g., less soluble metals in relation to a high soil pH), gardening activities will not cause a significant impregnation of the population.

3.2.4.4 Socio-scientific approach of management

Due to the metal concentrations measured in certain vegetables, it was recommended to the gardeners to seriously apply hygiene standard measures in the studied site. A public letter was sent to residents affected by this study (about 50 households), which summarizes the main findings and recommendations made by the agencies. That letter is summarized just after. The ARS offered you a chance to participate in this assessment, including (1) the extent of lead contamination levels in the soil of your garden, (2) questions concerning your food consumption habits around vegetable produce to characterize possible contamination by food, and (3) the measurement of lead in your body by performing a blood Pb level for you and/or, given that they are more susceptible to Pb poisoning, your children.

Concentrations in garden soils are moderate. The blood lead levels measured are reassuring and show no over impregnation of the population living near the industrial site in relation to the general population in France, even in children. The results of this study do not appear to show that the current level of consumption from the garden leads to increased lead impregnation. ARS does not recommend restrictions to maintain consumer products gardens. However, it is recommended to strictly apply the following hygiene measures to prevent ingestion of soil moderately contaminated by Pb: (1) be sure to thoroughly wash fruits and vegetables that are eaten raw or cooked; (2) do not let your children play on the bare soil in your garden or disturb the earth; and (3) regularly and thoroughly wash your hands, and those of your children, especially before eating, after playing in the garden (particularly if you have handled the earth), and after gardening work.

A sustainable management of polluted kitchen gardens implicates therefore an interdisciplinary approach between environmental, agronomical, human health studies, and social sciences. In recent decades, concerns about the link between the environment and the population's health have been reinforced in Europe, and regulations have been refined and strengthened, for instance, in the regulation of classified installations for environmental protection, or policies for polluted sites and soil management (updating French tools in 2007). The existence of pollution in gardens is not usually a major concern for gardeners when an industrial plant has been established for decades. She even can be occulted by their involvement in outdoor activities for them with all the advantages of a quality production.

Thus, managers (politicians, engineers, etc.) face several challenges: firstly, in controlling risk through providing information on the risks that farming practices create; and

secondly, communication of those risks to the public ([Suraud et al. 2009](#)). Policy makers have to act on issues where knowledge of the danger is sometimes fuzzy and closely linked to the specific ground, as shown by the data presented. Leaders of regulated plants have a regulatory duty to inform and must overcome the challenges of risk communication to the public. In gardens, it appears there is a need to develop a culture of safety on the part of users. This safety culture is based on the recognition that there is no zero risk, but that gardening activity can overcome these risks with some precautions.

3.2.5 Conclusions and perspectives

Even when the soil has metal concentrations comparable to the reference values of the geochemical backgrounds, vegetables can be significantly contaminated by atmospheric fine particles fallouts on their leaves. This result is particularly important in the context of urban agriculture development at the global scale.

The thorough washing of plants before consumption is therefore recommended in such context. It is proposed that bioaccessible fraction of metals may also be currently taken into account, as well as total metal quantities and bioaccumulation factors in risk assessment studies performed in gardens. Actually, metal bioaccessibility measure integrates the influence of metal type, plant type, and soil physicochemical properties and allows calculating the human bioavailability of metals ingested through consumption of contaminated vegetables. Phytoavailability and bioaccessibility of lead and cadmium can vary with soil physico-chemical properties and plant type.

The issue of heavy metal food chain contamination by lead recycling companies via kitchen gardens can be managed through particular soil amendments undertaken, plant species chosen, and vegetable preparation (e.g., peeling and washing before consumption).

However, the scientific knowledge of the gardener is the most important factor concerning food chain contamination. Participative socio-scientific projects that bring together gardeners, politicians, and scientists—such as the BJassur[^] project (<http://www6.inra.fr/jassur>) have been developed on a global scale in order to improve the population's rational knowledge on the influence of the environment on vegetable quality in order to develop sustainable gardening practices. Pedagogic, participative open access informations are also developed by universities (Agriville[^] project, for instance) in order to increase the global knowledge of citizens on sustainable urban agriculture. These aimed to highlight public policies, with a particular focus on soil and atmosphere regulation, as well raise discussion on the nature of pollutants. Yet the problem of pollution is inconsistently perceived by gardeners, while exchanges with them have highlighted the relatively poor understanding of mechanisms involved in pollutant transfers towards plants. To conclude, our socio-scientific study is useful to improve the further management of pollutants in gardens in various pollution contexts (urban areas, proximity of highways...). However, further details are needed to promote sustainable gardening practices, especially those based on a better knowledge for gardeners of both nutrients and pollutants during inorganic element transfers in soil-plant-atmosphere systems.

Acknowledgments ANRT (National Agency for Research and Technology) and STCM (Société de Traitement Chimique des Métaux) are acknowledged for their financial support and technical help. This work has received support from the National Research Agency under ANR-12-0011-VBDU.

References

- Alexander PD, Alloway BJ, Dourado AM (2006) Genotypic variations in the accumulation of Cd, Cu, Pb and Zn exhibited by six commonly grown vegetables. *Environmental Pollution* 144(3): 736–745.
- Alloway BJ (2004) Contamination of soils in domestic gardens and allotments: a brief overview. *Land Contam. Reclam* 3: 179–187.
- Álvarez-Ayuso E, Otones V, Murciego A, García-Sánchez A, Regina IS (2012) Antimony, arsenic and lead distribution in soils and plants of an agricultural area impacted by former mining activities. *Sci. Total Environ* 439: 35–43.
- Austruy A, Shahid M, Xiong T, Castrec M, Payre V, Niazi NK, Sabir M, Dumat C (2014) Mechanisms of metal-phosphates formation in the rhizosphere soils of pea and tomato: environmental and sanitary consequences. *J Soils Sediments* 14(4): 666–678.
- Bappet (2014), Database for metal elements contents in vegetables. <http://www.developpement-durable.gouv.fr/BAPPET-BAs-e-de-donnees-sur-les.html>
- Birbaum K, Brogiolo R, Schellenberg M, Martinoia E, Stark WJ, Günther D (2010) No evidence for cerium dioxide nanoparticle translocation in maize plants. *Environ Sci Technol* 44: 8718–23.
- Birkefeld A, Schulin R, Nowack B (2007) In situ transformations of fine lead oxide particles in different soils. *Environmental Pollution* 145(2): 554–561.
- Broadway A, Cave MR, Wragg J, Fordyce FM, Bewley R JF, Graham MC, Farmer JG (2010) Determination of the bioaccessibility of chromium in Glasgow soil and the implications for human health risk assessment. *The Science of the Total Environment* 409(2): 267–277.
- Caboche J (2009) Validation d'un test de mesure de bioaccessibilité – Application à 4 éléments traces métalliques dans les sols: As, Cd, Pb et Sb. Ph.D thesis, Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy.
- Cave M, Wragg J, Klinck B, Grön C, Oomen T, Van de Wiele T, Ollson I, Koch K, Reimer N, Basta N, Tack K, Casteel S (2006) Preliminary assessment of a unified bioaccessibility method for Arsenic in soils. *International Conference in Epidemiology and Environmental Exposure*, Paris.
- Chenot E, Dumat C, Douay F, Pernin C, Pourrut B, Schwartz C (2013) Gardens: unknown lands? EDP Sciences, 164 pages
- Cui L, Lianqing L, Afeng Z, Genxing P, Dandan B, Andrew C (2011) Biochar amendment greatly reduces rice Cd uptake in a contaminated paddy soil: a two-year field experiment. *Bioresources* 6(3): 2605–2618.

- De Santiago-Martín A, Valverde-Asenjo I, Quintana JR, Vázquez A, Lafuente AL, González-Huecas C (2014) Carbonate, organic and clay fractions determine metal bioavailability in periurban calcareous agricultural soils in the Mediterranean area. *Geoderma*: 103–112.
- De Terssac, G, Gaillard I (2009) “La catastrophe d’AZF dans les rapports d’expertise non juridiques : vers une domestication des risques industriels.” In *Risques industriels: quelle ouverture publique? Octares – Le travail en débat*: Toulouse, France, 41–58.
- Degryse F, Afsaneh S, Liesbeth V, Erik S (2012) Diffusion limitations in root uptake of cadmium and zinc, but not nickel, and resulting bias in the Michaelis Constant. *Plant Physiology* 160(2): 1097–1109.
- Denys S, Caboche J, Tack K, Delalain P (2007) Bioaccessibility of lead in high carbonate soils. *J Environ. Sci. Heal. A* 42: 1331–1339.
- Doan TT, Bouvier C, Bettarel Y, Bouvier T, Henry-des-Tureaux T, Janeau JL, Lamballe P, Nguyen BV, Jouquet P (2014) Influence of buffalo manure, compost, vermicompost and biochar amendments on bacterial and viral communities in soil and adjacent aquatic systems. *Appl. Soil Ecol* 73: 78–86.
- Du Laing G, Vanthuyne D, Tack FMG, Verloo MG (2007) Factors affecting metal mobility and bioavailability in the superficial intertidal sediment layer of the Scheldt estuary. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 10(1): 33–40.
- Dumat C (2006) Transfert des éléments traces métalliques dans le système sol-plante. Influence de la spéciation. HDR de l’INPT.
- Dumat C, Larbaigt J, Leveque T, Foucault Y, Xiong T, Alletto L, Barbaste M, Sejalon N, Gaillard I. (2013) Environmental and sanitary risk assessment and management in associative gardens: vegetable quality in relation with practices and context. *International Conference Environmental Geochemistry and Health*, July, Toulouse, France.
- Dumat C, Quenea K, Bermond A, Toinen S, Benedetti M (2006) Study of the trace metal ion influence on the turnover of soil organic matter in cultivated contaminated soils. *Environ. Pollut* 142(3): 521–529.
- Evangelou MWH, Kutschinski-Klöss S, Ebel M, Schaeffer A (2007) Potential of *Borago officinalis*, *Sinapis alba* L. and *Phacelia boratus* for phytoextraction of Cd and Pb from soil. *Water Air Soil Poll* 182: 407–416.
- Foucault Y, Lévêque T, Xiong T, Schreck E, Austruy A, Shahid M, Dumat C (2013) Green manure plants for remediation of soils polluted by metals and metalloids: ecotoxicity and human bioavailability assessment. *Chemosphere* 93(7): 1430–1435.
- Francis RA, Lorimer J. (2011) Urban reconciliation ecology: the potential of living roofs and walls. *Journal of Environmental Management* 92: 1429–1437.
- Fries GF (1995) Transport of organic environmental contaminants to animal products. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 141: 71–109.
- Gaillard I, Chauvier E, Garrigou A (2009) “Le droit de savoir” Du public au regard de ceux qui savent-faire. In *Risques Industriels : Quelle Ouverture Publique? Octares – Le travail en débats*: Toulouse, France, 197–207.
- Galluzzi G, Eyzaguirre P, Negri V (2010) Home gardens: neglected hotspots of agrobiodiversity and cultural diversity. *Biodiversity and Conservation*: 3635–3654
- Galt RE, Gray LC, Hurley P (2014) Subversive and interstitial food spaces: transforming selves,

- societies, and society–environment relations through urban agriculture and foraging. *Local Environ* 19: 133–146.
- Gojard S, Weber F (1995) Jardins et autoconsommation alimentaire. *Inra Sci. Soc. Rech. En Économie Sociol. Rural*: 4.
- ISO 11466, 1995. Soil quality – Extraction of trace elements soluble in aqua regia Lindemann P., Bose E. (2007), Species richness, structural diversity and species composition in meadows created by visitors of a botanical garden in Switzerland. *Landscape Urban Plan.* Vol. 79, 298-307
- Ives CD, Kendal D (2014) The role of social values in the management of ecological systems. *Journal of Environmental Management* 144, 67-72
- Kaewsringam T, Wongchawalit J, Panich-Pat (2014) Accumulation of lead in maize (*Zea Mays L*) growth on lead contaminated soil at Klity village, Kanchanaburi province. *Journal of Applied Phytotechnology in Environmental Sanitation* 3, 93–100.
- Landrot G, Tappero R, Webb SM, Sparks DL (2012) Arsenic and chromium speciation in an urban contaminated soil. *Chemosphere* 88(10): 1196–201.
- Leveque T, Capowiez Y, Schreck E, Xiong T, Foucault Y, Dumat C (2014) Earthworm bioturbation influences the phytoavailability of metals released by particles in cultivated soils. *Environmental pollution* 191(C): 199–206.
- Liu L, Hu L, Tang J, Li Y, Zhang Q, Chen X (2012) Food safety assessment of planting patterns of four vegetable-type crops grown in soil contaminated by electronic waste activities. *Journal of Environmental Management* 93: 22–30.
- Mansour SA, Belal MH, Abou-Arab AAK, Ashour HM, Gad MF (2009) Evaluation of some pollutant levels in conventionally and organically farmed potato tubers and their risks to human health. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 47: 615–624.
- Marchand L, M Mench DLJ, Otte M L (2010) Metal and metalloid removal in constructed wetlands, with emphasis on the importance of plants and standardized measurements: a review. *Environmental pollution* 158(12): 3447–3461.
- McBride MB, Shayler HA, Spliethoff HM, Mitchell RG, Marquez-Bravo LG, Ferenz GS, Russell-Anelli JM, Casey L, Bachman S (2014) Concentrations of lead, cadmium and barium in urban garden-grown vegetables: the impact of soil variables. *Environmental Pollution* 194: 254–261.
- Mitchell RG, Spliethoff HM, Ribaud LN, Lopp DM, Shayler HA, Marquez-Bravo LG, McBride MB (2014) Lead (Pb) and other metals in New York City community garden soils: factors influencing contaminant distributions. *Environmental Pollution* 187:162–169.
- Nolan AL, Enzo L, Mike JM (2003) Metal bioaccumulation and toxicity in soils—why bother with speciation? *Australian Journal of Chemistry* 56(3): 77.
- Ondo J, Prudent P, Massiani C, Höhener P, Renault P (2014) Effects of agricultural practices on properties and metal content in urban garden soils in a tropical metropolitan area. *Journal of the Serbian Chemical Society* 79(1): 101–112.
- Oyebode O, Gordon-Dseagu V, Walker A, Mindell JS (2014) Fruit and vegetable consumption and all-cause, cancer and CVD mortality: analysis of Health Survey for England data. *Journal of Epidemiology and Community Health*: 1–7.
- Papritz A, Reichard PU (2009) Modelling the risk of Pb and PAH intervention value exceedance in allotment soils by robust logistic regression. *Environmental Pollution* 157(7): 2019–2022.

- Perrone MG, Maurizio G, Luca F, Claudia LP, Roberto U, Ezio B, Marina C (2010) Seasonal Variations in Chemical Composition and in Vitro Biological Effects of Fine PM from Milan. *Chemosphere* 78(11): 1368–1377.
- Punamiya P, Datta R, Sarkar D, Barber S, Patel M, Das P (2010) Symbiotic role of *Glomus mosseae* in phytoextraction of lead in vetiver grass [*Chrysopogon zizanioides* (L.)]. *Journal of Hazardous Materials* 177 (1–3): 465–474
- Radwan MA, Salama AK (2006) Market basket survey for some heavy metals in Egyptian fruits and vegetables. *Food Chem. Toxicol* 44: 1273–1278.
- Rahman MA, Rahman MM, Reichman SM, Lim RP, Naidu R (2014) Heavy metals in Australian grown and imported rice and vegetables on sale in Australia: health hazard. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 100: 53–60.
- Reis AP, Patinha C, Wragg J, Dias AC, Cave M, Sousa AJ, Rocha F (2014) Urban geochemistry of lead in gardens, playgrounds and schoolyards of Lisbon, Portugal: assessing exposure and risk to human health. *Applied Geochemistry* 44: 45–53.
- Romero-Freire A, Sierra-Aragón M, Ortiz-Bernad I, Martín-Peinado FJ (2014) Toxicity of arsenic in relation to soil properties: implications to regulatory purposes. *Journal of Soils and Sediments* 14: 968–979.
- Sammut ML, Noack Y, Rose J, Hazemann JL, Proux O, Depoux M, Ziebel A, Fiani E (2010) Speciation of Cd and Pb in dust emitted from sinter plant. *Chemosphere* 78(4): 445–450.
- Schreck E, Bonnard R, Laplanche C, Lévêque T, Foucault Y, Dumat C (2012b) DECA: A new model for assessing the foliar uptake of atmospheric lead by vegetation, using *Lactuca sativa* as an exemple. *Journal of Environmental Management* 112: 233–239.
- Schreck E, Dappe V, Sarret G, Sobanska S, Nowak D, Nowak J, Stefaniak EA, Magnin V, Ranieri V, Camille Dumat (2014) Foliar or Root Exposures to Smelter Particles: Consequences for Lead Compartmentalization and Speciation in Plant Leaves. *The Science of the total environment* 476–477: 667–676.
- Schreck E, Foucault Y, Geret F, Pradère P, Dumat C (2011) Influence of soil ageing on bioavailability and ecotoxicity of lead carried by process waste metallic ultrafine particles. *Chemosphere* 85:1555–1562
- Schreck E, Foucault Y, Sarret G, Sobanska S, Cécillon L, Castrec-Rouelle M, Uzu G, Dumat C (2012b) Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: Mechanisms involved for lead. *Science of the Total Environment* 427 – 428: 253–262.
- Shahid M, Arshad M, Kaemmerer M, Pinelli E, Probst A, Baque D, Pradere P, Dumat C (2012b) Long-term field metal extraction by *Pelargonium*: phytoextraction efficiency in relation to plant maturity. *Int J Phytoremediation* 14(5): 493–505.
- Shahid M, Dumat C, Pourrut B, Sabir M, Pinelli E. (2014b) Assessing the effect of metal speciation on lead toxicity to *Vicia faba* pigment contents. *J Geochem Explor*. doi: 10.1016/j.gexplo.2014.01.003.
- Shahid M, Dumat C, Silvestre J, Pinelli E (2012c) Effect of fulvic acids on lead-induced oxidative stress to metal sensitive *Vicia faba* L. plant. *Biol Fertil Soils* 48(6):689–697
- Shahid M, Ferrand E, Schreck E, Dumat C (2013a) Behavior and impact of zirconium in the soil-plant system: plant uptake and phytotoxicity. *Rev Environ Contam Toxicol* 221: 107–127.

- Shahid M, Pinelli E, Dumat C (2012a) Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation; role of synthetic and natural organic ligands. *J Hazard Mater* 219–220: 1–12.
- Shahid M, Pinelli E, Pourrut B, Silvestre J, Dumat C (2011) Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. *Ecotoxicol Environ Saf* 74(1): 78–84.
- Shahid M, Xiong T, Castrec-Rouelle M, Leveque T, Dumat C (2013b) Water extraction kinetics of metals, arsenic and dissolved organic carbon from industrial contaminated poplar leaves. *J Environ Sci* 25(12): 2451–2459.
- Shahid M, Xiong T, Masood N, Leveque T, Quenea K, Austruy A, Foucault Y, Dumat C (2014a) Influence of plant species and phosphorus amendments on metal speciation and bioavailability in a smelter impacted soil: a case study of food-chain contamination. *J Soils Sediments* 14(4): 655–665.
- Singh B, Singh BP, Cowie AL (2010) Characterisation and evaluation of biochars for their application as a soil amendment. *Australian Journal of Soil Research* 48: 516–525.
- Sjahrul M (2012) Phytoremediation of Cd²⁺ by marine phytoplanktons, *tetrahymena chuii* and *chaetoceros calcitrans*. *International Journal of Chemistry* 4(1): 69–74.
- Stasinou S, Nasopoulou C, Tsirikas C, Zabetakis I (2014). The bioaccumulation and physiological effects of heavy metals in carrots, onions, and potatoes and dietary implications for Cr and Ni: a review. *Journal of Food Science*, 79(5): R765–R780.
- Stritsis C, Steingrobe B, Claassen N (2012) Shoot cadmium concentration of soil-grown plants as related to their root properties. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 175(3): 456–465.
- Surand, M.-G., Blin-Francomme, M.-P., Terssac, G. de. (2009). *Risques industriels quelle ouverture publique?* Octares: ToulouseFrance.
- Szolnoki Z, Farsang A, Puskás, I (2013) Cumulative impacts of human activities on urban garden soils: origin and accumulation of metals. *Environmental Pollution* 177: 106–115.
- Udovic M, McBride MB (2012) Influence of compost addition on lead and arsenic bioavailability in reclaimed orchard soil assessed using *Porcellio scaber* bioaccumulation test. *Journal of Hazardous Materials* 206: 144–149.
- Uzu G, Sobanska S, Sarret G, Muñoz M, Dumat C (2010) Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts. *Environmental Science & Technology* 44(3): 1036–1042.
- Uzu G, Sobanska, S, Aliouane Y, Pradère P, Dumat C (2009) Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation. *Environ Pollut* 157: 1178–1185.
- Verbruggen N, Hermans C, Schat H (2009) Molecular mechanisms of metal hyperaccumulation in plants. *The New Phytologist* 181(4): 759–776.
- Vig K (2003) Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review. *Advances in Environmental Research* 8(1): 121–135.
- Von Hoffen LP, Sämel I (2014) Orchards for edible cities: cadmium and lead content in nuts, berries, pome and stone fruits harvested within the inner city neighbourhoods in Berlin, Germany. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 101: 233–239.
- Xiong T, Leveque T, Austruy A, Goix S, Schreck E, Dappe V, Sobanska S, Foucault Y Dumat C (2014b) Foliar uptake and bioaccessibility of metal (loid) s in vegetables exposed to particulate matters. *Environmental Geochemistry & Health* 10.1007/s10653-014-

9607-6.

Xiong T, Leveque T, Shahid M, Foucault Y, Mombo S, Dumat C (2014a). Lead and cadmium phytoavailability and human bioaccessibility for vegetables exposed to soil or atmospheric pollution by process ultrafine particles. *J. Environ Qual.* 10.2134/jeq2013.11.0469.

Bioaccessibility of selenium after human ingestion in relation to its chemical species and compartmentalization in maize.

Environmental geochemistry and health, 38 (2016) 869-883

Stéphane Mombo^{1,2}, Eva Schreck³, Camille Dumat⁵, Christophe Laplanche^{1,2}, Antoine Pierart^{1,2}, Mélanie Longchamp, Philippe Besson³, Maryse Castrec-Rouelle⁴

¹Université de Toulouse; Institut National Polytechnique de Toulouse-Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse (INP-ENSAT), Avenue de l'Agrobiopole, 31326 Castanet Tolosan, France.

²Centre national de la recherche scientifique (CNRS); EcoLab; 31326 Castanet Tolosan, France

³Géosciences Environnement Toulouse (GET), Observatoire Midi Pyrénées, Université de Toulouse, CNRS, IRD, 14 avenue E. Belin, F-31400 Toulouse, France.

⁴UPMC, CNRS, EPHE, UMR 7619 Metis, Sorbonne Universités, 4 Place Jussieu, 75005 Paris, France

⁵Centre d'Etude et de Recherche Travail Organisation Pouvoir (CERTOP), UMR5044, Université Toulouse Jean Jaurès - TOULOUSE II, 5 allée Antonio Machado, 31058 Toulouse Cedex 9, France.

Abstract

Selenium is a micronutrient needed by all living organisms including humans, but often present in low concentration in food with possible deficiency. From another side, at higher concentrations in soils as observed in seleniferous regions of the world, and in function of its chemical species, Se can also induce (eco)toxicity. Root Se uptake was therefore studied in function of its initial form for maize (*Zea mays* L.), a plant widely cultivated for human and animal food over the world. Se phytotoxicity and compartmentalization were studied in different aerial plant tissues. For the first time, Se oral human bioaccessibility after ingestion was assessed for the main Se species (Se^{IV} and Se^{VI}) with the BARGE *ex vivo* test in maize seeds (consumed by humans), and in stems and leaves consumed by animals. Corn seedlings were cultivated in hydroponic conditions supplemented with 1 mg L^{-1} of selenium (Se^{IV} , Se^{VI} , and Control) for 4 months. Biomass, Se concentration, and bioaccessibility were measured on harvested plants. A reduction in plant biomass was observed under Se treatments compared to control, suggesting its phytotoxicity. This plant biomass reduction was higher for selenite species than selenate, and seed was the main affected compartment compared to control. Selenium compartmentalization study showed that for selenate species, a preferential accumulation was observed in leaves, whereas selenite translocation was very limited toward maize aerial parts, except in the seeds where selenite concentrations are generally high. Selenium oral bioaccessibility after ingestion fluctuated from 49 to 89 % according to the considered plant tissue and Se species. Whatever the tissue, selenate appeared as the most human bioaccessible form. A potential Se toxicity was highlighted for people living in seleniferous regions, this risk being enhanced by the high Se bioaccessibility.

Keywords: Se; Oral bioaccessibility; Health risks; Maize (*Zea mays* L.); Chemical species; Compartmentalization

3.2.6 Introduction

Selenium (Se) is first an essential micronutrient for microorganisms, animals, and humans. Actually, several studies have shown the benefits of selenium for human health (Kiremidjian-Schumacher et al. 1994; Rayman 2000; Navarro-Alarcón and López-Martínez 2000; Kolmogorov et al. 2000; Zhao et al. 2000; Irons et al. 2006). For instance, according to Eckel et al. (2010), Se is reported as a protective factor against cardiovascular diseases or a promoter of good mood for people (Benton and Cook 1990). The World Health Organization (1996) recommended therefore a dietary allowance for human adults between 40 and 200 µg Se per day (Zhang et al. 2014). Se mainly enters human food chains through plants consumption (Mayland et al. 1989), such as maize (*Zea mays* L.), widely cultivated around the world (824 million tons in 2010/2011 according to the Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAOSTAT) and largely consumed by humans and animals such as poultry, cattle, and pigs (Le Stum 2011). Mexico has one of the highest consumptions per capita of maize in the world, with a total production of 0.8 million tons in 2011 (FAOSTAT 2004). According to Food and Agriculture Organization data for the year 2005, per capita maize consumptions were 70, 104, and 120 kg in the USA, South Africa, and Mexico, respectively (FAO 2005). Additionally, this plant can account for nearly 50 % of the humans feed in some countries such as Malawi in Africa (Chilimba et al. 2011). In Asian countries such as China, wheat, rice, and also maize (*Zea mays* L.) are the main staple grain crops grown (Ma et al. 2008). These crops accounted for 49 % of the total planted area and 86 % of the total grain production in 2004. Mean annual consumptions of rice and wheat flour by rural population in China were, respectively, 248 and 141 g per person and per day, and the maize consumption is just below (Zhai and Yang 2006). Actually, the production of wheat and maize exponentially grows in China and India (Cui et al. 2010), and their consumption still remains high in Asian regions (Qian et al. 2010). Moreover, maize also has high water requirements and therefore a high impact on the cycling and flux of inorganic elements as selenium within the agricultural system and the food chain (Longchamp et al. 2013).

Selenium is naturally found in soils and its concentration strongly depends on geographical region (Hintze et al. 2001). As shown in Figure. 38 and Table 15, at the global scale, both Se-enriched regions and poor areas can be observed on the earth surface. These Se concentration variations in the soils of the different regions may have direct consequences on Se absorption by plants. In several countries, Se intake by humans is deficient (i.e., <40 µg Se/person/day) because the soils are naturally poor in this element, and amendments enriched with Se are

therefore added to the soils in order to enrich cultures as reported in Finland (Bañuelos et al. 2015; Larsen et al. 2006; Euroola et al. 1990; Carter and Brown 1968). It has been estimated that between 0.5 and 1 billion people globally may have inadequate intakes of Se, and these include populations in developed countries such as western Europe (Combs 2000). However, at the reverse side, in seleniferous regions or areas polluted by anthropogenic Se sources (Qin et al. 2013), high selenium concentrations in soils can induce chronic toxicity linked to Se ingestion throughout food web (Efsa 2008) and then diseases such as Keshan selenosis. Actually, in these areas, high selenium amounts are ingested from 3200 to 6990 $\mu\text{g Se day}^{-1}$ (Efsa 2008; Qin et al. 2013; Zhang et al. 2014). Thus, research on the health effects due to high dietary intakes of selenium in populations living in seleniferous areas of South Dakota, Venezuela, and China has concluded that the maximum daily intake without any toxicity is 800 $\mu\text{g day}^{-1}$ (Yang and Zhou 1994; Longnecker et al. 1991).

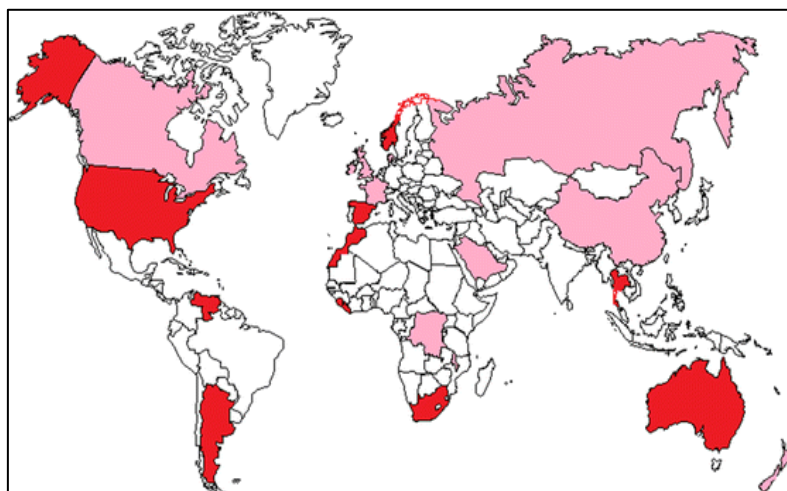


Figure 38 Selenium distribution at the global scale. World regions naturally enriched in Selenium appear in red (filled square), whereas pink areas correspond to regions with naturally low Se concentration (filled square) and white areas correspond to regions with unknown concentration (opened square). This spatial distribution figure was built according to the information provided by the World Health Organization (1996) concerning Se contents recorded in various regions worldwide. Areas are qualified of “enriched in Se” when their topsoil Se content exceeds 1.0 mg kg⁻¹ according to Zhang et al. (2014)

Tableau 15 Variations of Se rates by country

| | |
|--------------------------------------|---|
| High rates (>40 µg Se/person/d) | |
| USA (plains, western Dakota) (Nd) | Hintze et al. (2001), Zhang et al. (2014) |
| China (Hubei) (Nd) | Reilly (1998), Zhang et al. (2014) |
| Japan (Nd) | Lintschinger et al. (2000) |
| Ireland (Nd) | Zhang et al. (2014) |
| Low rates (<40 µg Se/person/d) | |
| New Zealand (Nd) | Gissel-Nielsen et al. (1984) |
| Burundi (Nd) | Chilimba et al. (2011) |
| Malawi (Nd) | Chilimba et al. (2011) |
| Denmark (Nd) | Nielsen (1968) |
| Russia (Central and Eastern Siberia) | Combs (2001) |
| Saudi Arabia (15 µg Se/person/d) | Rayman (2008) |
| Brazil (33 µg Se/person/d) | Rayman (2008) |
| France (36 µg Se/person/d) | Lonchamp et al. (2012), Rayman (2008) |
| UK (34 µg Se/person/d) | Rayman (2000, 2008) |
| Finland (Nd) | Eurola et al. (1990), Koivistoinen (1980), Koivistoinen and Huttunen (1986) |
| China (Nd) | Gissel-Nielsen et al. (1984), Reilly (1998), Li et al. (2007) |

The criteria of high and low rates of Se were determined to 40 µg Se/person/d as defined by Zhang et al. (2014) day, Nd unknown concentration

In addition to the total inorganic element concentration in soil, it is well known that the chemical species and compartmentalization can modify the soil–plant transfer, translocation (Ferrand et al. 2006; Shahid et al. 2014; Mombo et al. 2015), and localization in the plant (Austruy et al. 2014; Pierart et al. 2015). Actually, few studies have demonstrated that selenium plant uptake efficiency, allocation, and metabolism in *Zea mays* are function of Se species (Li et al. 2008; Yu et al. 2011; Wang et al. 2012; Longchamp et al. 2013). The naturally occurring in soils trace element Se, chemically similar to sulfur (Läuchli 1993), has two inorganic oxidized forms, namely selenite (Se^{IV}) and selenate (Se^{VI}), which are the two main phytoavailable forms in aerobic soils (Avoscan2007). Several studies concluded that plants accumulate more Se from selenate than selenite (De Souza et al. 1998; Zhang et al. 2003).

According to Ximenez-Embun et al. (2004), after Se plant uptake, biotransformations can occur in the plants: Selenoamino acid is generally produced (about 40 % of the total Se in the plant). These speciation changes in the plants could modify its bioavailability for humans and animals. Actually, organic Se forms are generally more efficiently assimilated by animals and humans than inorganic forms (Rayman 2008). In the context of European Reach regulation (CE 1907/2006), *in vitro* tests are promoted in order to limit animal's experimentation. Recently, Xiong et al. (2014a, b) measured metal (loid) bioaccessible fractions in consumed vegetables, using the BARGE *ex vivo* test procedure (Foucault et al. 2013), in addition to total metal (loid) quantities. Actually, these bioaccessibility measurements are nowadays reported to largely improve the sanitary risk assessment linked to the ingestion of vegetables (Mombo et al. 2015). Total concentrations of pollutants may overestimate the amount absorbed through ingestion (Cave et al. 2006; Denys et al. 2009; Uzu et al. 2011), and thus, the gastric bioavailable fraction of metal(loid)s may be important for global risk evaluation and health impact. The oral bioaccessibility of a metal is operationally defined as the maximum amount of metal solubilized by sequential extraction with synthetic digestive fluids (Oomen et al. 2002) and can be assessed by *ex vivo* tests. Then, even if only maize seeds are consumed by humans over the world, maize stems and leaves are consumed by animals such as cattle, pigs, and poultry. The assessment of the Se bioaccessible fractions in stems and leaves could give interesting data for their impact on animal health after ingestion and then consequences for terrestrial trophic chains. Even if their

digestive system is not really the same as humans, animals can be integrated in a global study of Se uptake and bioaccessibility to better estimate the risks or benefits involved for organisms after consumption.

Finally, the influence of Se chemical species on uptake and compartmentalization in plant tissues has only been little studied, and above all, oral Se bioaccessibility after ingestion according to the considered chemical form has not yet been studied. Thus, this study proposes to explore for the first time the influence of Se chemical species (two main inorganic forms currently observed in the environment were studied: selenite or selenate) on Se human bioaccessibility after ingestion of maize and to link it to its compartmentalization in plant tissues: seeds, stems, and leaves. The experiment was performed for relatively high Se concentrations in nutritive solutions (1 mg L^{-1}) in order to assess the risks involved in Se-enriched regions at the global scale. Actually, in these seleniferous regions, Se concentrations in edible parts of plants can reach values between 150 and 950 mg kg^{-1} in stems and leaves (Eiche et al. 2015). In addition, biomass measurements were taken to determine the potential impact of Se on plant growth and organs development.

Our study finds application for both nutrition and exposure to excessive selenium quantities. Finally, an assessment of health risks (or maybe benefits) due to maize ingestion after Se uptake was proposed by usual sanitary calculations in order to better understand the requirements linked to the population.

3.2.7 Materials and methods

3.2.7.1 Experimental setup for maize grown and exposure to the two main inorganic Se chemical forms

Seed germination and maize growth under Se treatments were performed in controlled conditions. First, dried *Zea mays* subsp. *mays* (L.) seeds were germinated on glass balls (Longchamp et al. 2013, 2015). Two weeks after germination, *Zea mays* supsp. *mays* (L.) corn seedlings were grown in hydroponic conditions for 4 months in 20 L plastic tanks filled with a modified Hoagland nutrient solution consisting of KNO_3 (3 mM), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (2.72 mM), NH_4NO_3 (2 mM), NaCl (0.2 mM), KH_2PO_4 (0.98 mM), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.70 mM), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0.04 μM), H_3BO_3 (24 μM), MnSO_4 (13 μM), ZnSO_4 (6 μM), CuSO_4 (1.5 μM), and FeEDDHA (6 %) (4 μM). Two nutrient solutions were,

respectively, supplemented with 12 μM selenium (i.e., 1 mg L^{-1} of selenium) either as two species: Na_2SeO_4 or Na_2SeO_3 (solutions $\text{Se}^{\text{VI-T}}$ and $\text{Se}^{\text{IV-T}}$), in order to reach realistic quantities of Se in plant tissues after Se uptake and translocation. In the control treatment condition (C-T), no selenium was added. Tanks were placed into a 9- m^3 sealed RUBIC5 (Reactor Used for Continental Isotopic Biogeochemistry) plant growth chamber (Servathin, France) as described by [Longchamp et al. \(2013, 2015\)](#). Figure 39 gives an overall picture of the general experimental design with the main measures performed in controlled conditions. Aerial organs (stems, leaves, and seeds) of grown plants were separated and weighted to determine their fresh and dried biomasses (g). Plant samples were then dried and crushed, and then powders were used for both total Se concentrations (see “Total selenium contents in maize tissues” section) and gastric bioaccessibility measurements (“Ex vivo bioaccessibility of Se after plant ingestion by humans” section). Aliquots of the same powder samples were used for Se concentrations on one hand and gastric bioaccessibility measurements on the other hand. A preliminary analysis ([Longchamp et al. 2013](#)) directed the experimental design to five replicates per treatment and the use of a single 20-L plastic tank per treatment.

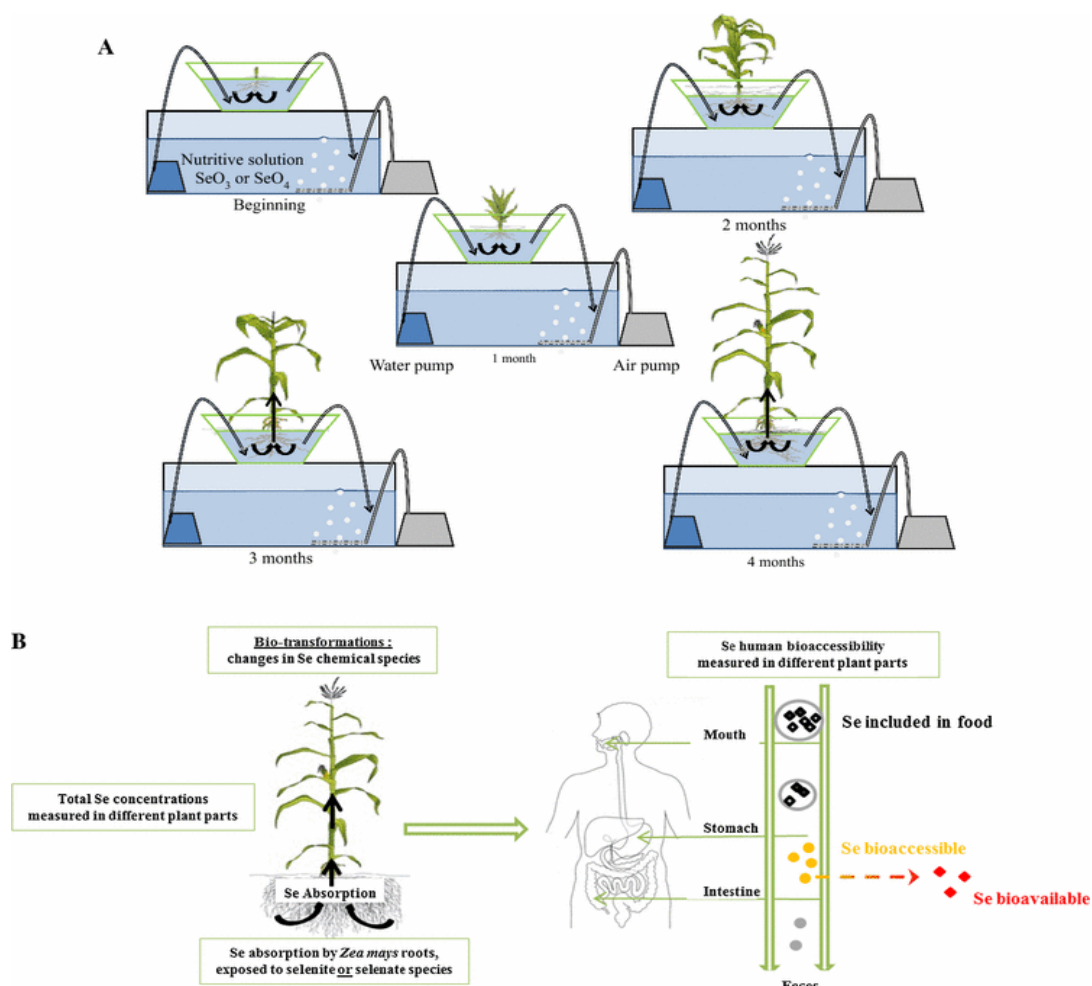


Figure 39 A Experimental design of plant cultures. **B** General experimental design with the main measures performed in controlled

3.2.7.2 Total selenium contents in maize tissues

A suitable amount of powdered plant tissue (125 mg of dry weight DW) was digested in 5 mL of HNO₃ (70 %) and 5 mL H₂O₂ (30 %) with a Digiprep instrument from SCP Science producer, which is a block digestion system allowing fast and uniform plant sample digestion. Selenium concentrations in the different digested tissues (stems, leaves, and seeds) were obtained by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES, Horiba Jobin–Yvon Ultima2), and blank and reference material (White clover, BCR402) were included in each batch of samples. Limit of detection (LOD) for Se in ICP-OES is about 20 µg L⁻¹ in solution. LOD for Se in plant tissues is 3.2 mg kg⁻¹ of plant DW. In the C-T

plants, the median value of Se concentrations is about 3.5 mg kg⁻¹ which remains closer to the LOD and very much lower for all Se concentrations in treated plants.

Selenium translocation from roots to shoots was measured by the translocation factor (TF) expressed as the ratio between Se total concentrations in the considered aerial parts (mg kg⁻¹) compared to Se total concentrations in roots (mg kg⁻¹).

3.2.7.3 Ex vivo bioaccessibility of Se after plant ingestion by humans

Gastric bioaccessibility (GB) was measured for the different parts of maize plants, using the adapted BARGE unified protocol (Cave et al. 2006; Foucault et al. 2013; Mombo et al. 2015). The BARGE test consists in a three-step extraction procedure to simulate the chemical processes occurring in the mouth, stomach, and intestine compartments using synthetic digestive solutions. The temperature was maintained at 37 °C throughout the extraction procedure. The chemical composition of each digestive fluid was the same as these previously reported by Denys et al. (2009), working on oral bioaccessibility of Sb investigated with the BARGE protocol. The extraction test procedure was also previously described by Wragg et al. (2011). Dried and sieved vegetable samples (0.6 g) were mixed with 9 mL of saliva (pH 6.5) and shaken for 5 min. Then 13.5 mL of gastric solution (pH 1.0) was added to the suspension. The pH of the solution was reduced to 1.2 using HCl if necessary. The suspension was mixed using an end-over-end rotation agitator at 37 °C for 1 h. The pH of the suspension was checked to be in the range of 1.2–1.6. The stomach phase was extracted by centrifuging the suspension at 3000×g for 5 min with Heraeus Megafuge 1.0 R apparatus (Wragg et al. 2011). Se concentrations in the gastric phase solution were measured by ICP-OES, and results are expressed in milligrams of bioaccessible Se per kg of solid matrix (vegetable). The percentage of bioaccessible Se was compared with the total Se concentrations measured in the edible plant parts. Bioaccessibility results were expressed as the percentage of the initial total Se content in plant tissue dissolved during the bioaccessibility assay, as expressed in Eq. (1):

Gastric Bioaccessibility of Se (%)

$$= (\text{Bioaccessible Se concentration (mg kg}^{-1}\text{)} / \text{Total Se concentration (mg kg}^{-1}\text{)}) * 100 \quad (1)$$

Tableau 16 : Translocation factors (TF) calculated for leaves, stems, and seeds for each Se species exposure

| | Selenate exposure (1 mg L ⁻¹) | Selenite exposure (1 mg L ⁻¹) |
|----------------------|---|---|
| TF for seeds | 0.85 | 0.19 |
| TF for leaves | 2.49 | 0.09 |
| TF for stems | 1.08 | 0.13 |

3.2.7.4 Statistical analyses

The significance of differences of tissue dry weights, Se concentrations, and Se bioaccessible fractions between treatments (Control, Se^{VI}-T, or Se^{IV}-T) and between plants compartments (stems, leaves, or seeds) were evaluated by performing analyses of variances (ANOVAs). Prospective differences in treatment effects between plant compartments are investigated via the "treatment: compartment" interaction term. An additional factor—"plant"—was considered in the analysis in order to account for stem, leaf, and seed material originating from same plants and detect prospective differences of dry weights, Se concentrations, and Se bioaccessible fractions between plants.

As a summary, three 3-way ANOVA were performed (factors: treatment, compartment, treatment: compartment, and plant; dependent variables: dry weight, Se concentration, and Se bioaccessible fraction). Normality and homoscedasticity of ANOVA residuals were checked with Shapiro–Wilk (SW) and Brown–Forsythe (BF) tests. Significance of pairwise differences was determined using Fisher’s least significant difference (LSD) test with a type I error of 5 %. Group mean and within-group variability are expressed as mean ± standard error of the mean (SEM). Statistical analyses were performed with R version 3.1.2 (Killick et al. 2014).

3.2.8 Results and discussion

Differences of plant biomass, Se total concentration, and bioaccessible fraction between treatments and compartments are illustrated in Figures. 40, 41, and 42, respectively. Results (*p*values) of the ANOVAs are summarized in figure captions (Figures. 40, 41, and 42). Results of LSD tests are superimposed to the plots. Results show (with the exception of "plant" and "treatment: compartment" factors with respect to the bioaccessible fraction) significant differences of biomass, total concentration, and bioaccessible fraction across treatments, compartments, and plants. Results are presented in more detail and discussed below.

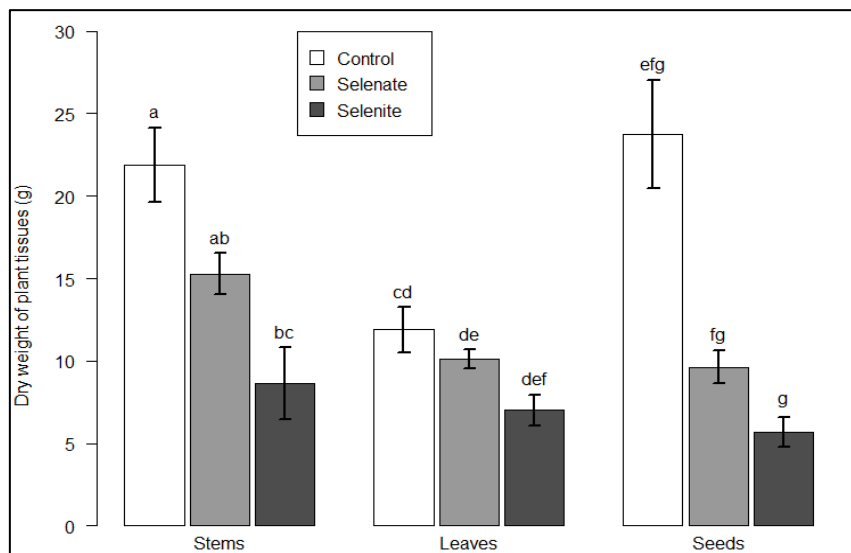


Figure 40 : Plant biomass (g DW) measured in different aerial maize compartments (stems, leaves, and seeds) for two speciations: selenite and selenate added in the hydroponic solution at 1 mg L⁻¹ and controls, three conditions and five plants for each condition. Results are illustrated as the mean ± SEM (n=5). ANOVA (SW: 0.615; BF: 0.466; biomass was log transformed to satisfy ANOVA assumptions) shows significant differences of biomass across treatments (p=5.399e-14 *), compartments (p=3.399e-06 ***), plants (p=5.942e-07 ***), and a significant treatment: compartment interaction (p=2.847e-05 ***). Levels of significance are: *** (p<0.001), ** (p<0.01), * (p<0.05). Different letters indicate significant pairwise differences across treatments and plant compartments (LSD; p<0.05).**

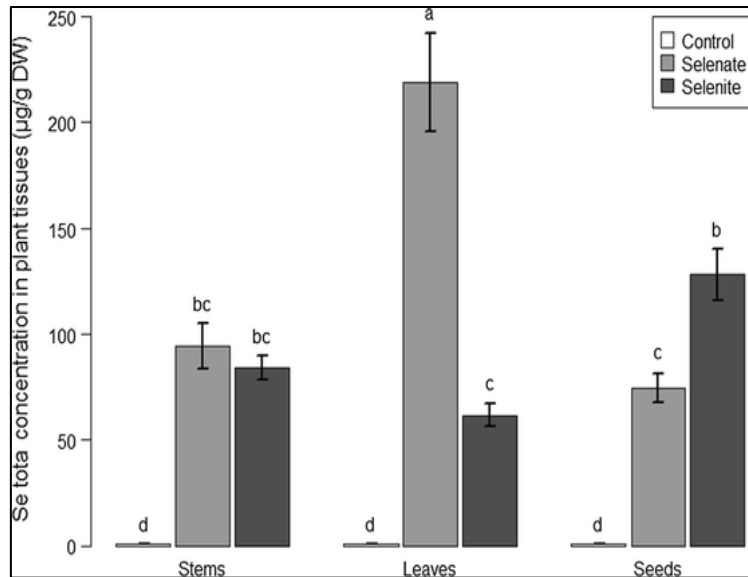


Figure 41 : Se total concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$ DW) measured in different aerial maize compartments (stems, leaves, and seeds) for two speciations: selenite and selenate added in the hydroponic solution at 1 mg L^{-1} and controls. ANOVA (SW: 0.6719; BF: 0.1481; controls were excluded to satisfy ANOVA assumptions) shows significant differences of Se concentration across treatments ($p=4.948\text{e-}4$ ***), compartments ($p=5.515\text{e-}4$ ***), plants ($p=0.0403$ *), and a significant treatment: compartment interaction ($p=1.163\text{e-}07$ ***). See legend of Figure-3 for the interpretation of confidence intervals, significance levels, and grouping letters.

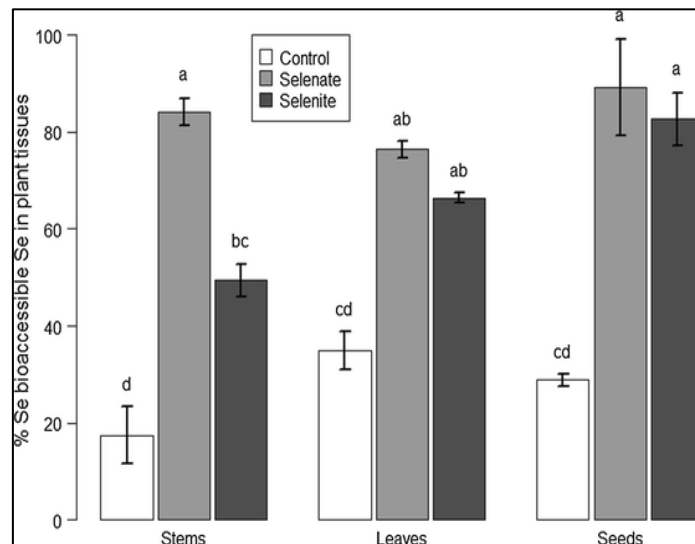


Figure 42 : Se bioaccessible fractions estimated in different maize compartments (stems, leaves, and seeds) for two speciations of complemented Se: selenite and selenate added in the hydroponic solution at 1 mg L^{-1} and control. ANOVA (SW: 0.666; BF: 0.207) shows significant differences of bioaccessible fraction across treatments ($p=1.715\text{e-}10$ ***), compartments ($p=0.007375$ **) without differences between plants ($p=0.904$) and without treatment: compartment interaction ($p=0.0701$). See legend of Figure-3 for the interpretation of confidence intervals, significance levels, and grouping letters.

3.2.8.1 Plant tissue biomasses and Se phytotoxicity assessment

Results show that significant growth retardation occurs on aerial parts of plants exposed to Se at a concentration of 1 mg L^{-1} , for both $\text{Se}^{\text{VI-T}}$ and $\text{Se}^{\text{IV-T}}$ (Figure. 40). A significant decrease in dry weight of the maize seeds and stems exposed to Se was observed, compared to the controls. The loss of weight was higher in our study for selenite species than selenate, suggesting a higher impact of the Se^{IV} form on phytotoxicity, as already observed by [Ximenez-Emun et al. \(2004\)](#). As suggested by Figure 40, the main organ affected by phytotoxicity symptoms is the seed with the most significant decrease in tissue biomass. Previous studies, done in the same experimental context but with maize plants exposed to low Se concentrations (between 10 and $50 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, as reported in Hubei region), have shown that whatever the chemical form applied (selenite or selenate), no significant change was observed in shoot biomasses ([Longchamp et al. 2013](#)). Then, for low Se concentrations, phytotoxicity did not occur.

Working on perennial ryegrass and strawberry clover, [Hopper and Parker \(1999\)](#) already reported that selenite was more phytotoxic than selenate, especially for shoot growth. They underlined that selenate preferentially inhibits root growth and had less effects on aerial parts. Moreover, [Lonso et al. \(2004\)](#) working on indian mustard (*Brassica juncea*), sunflower (*Helianthus annuus*), and white lupine (*Lupinus albus*) growing on 1 mg L^{-1} of Se as Na_2SeO_4 showed an accumulation of Se in plant leaves and a decrease in plant biomass.

3.2.8.2 Total Se concentrations measured in maize compartments

The values of selenium concentrations in the different plant aerial parts (Figure. 41) are in accordance with the measured values obtained in plants grown in seleniferous regions. For example, [Eiche et al. \(2015\)](#) working on Se distribution of plant biomass wheat (*Triticum aestivum*) and Indian mustard (*Brassica juncea*) from a seleniferous area of Punjab, India, reported that Se concentrations reached, respectively, 387 and 191 mg kg^{-1} of DW in wheat leaves and stems, and, respectively, 931 and 133 mg kg^{-1} of DW in mustard leaves and stems. By contrast, for control plants, no significant variations were observed and Se accumulation is very low whatever the considered plant tissue.

Selenium concentrations measured in maize strongly depend of the considered plant tissue: Actually, a significant compartmentalization appears in our results (Figure. 41). For selenate species, a preferential accumulation was observed in leaves (219 mg kg^{-1}), in comparison with stems (95 mg kg^{-1}) and seeds (74 mg kg^{-1}). This accumulation in leaves after selenate form uptake from roots was already observed by several authors on different plants: They noticed that selenate accumulation was three to four times higher in the leaves compared to selenite, particularly for broccoli, sugar beets, white lupine, and sunflowers (De Souza et al. 1998; Ximenez-Emun et al. 2004; Zayed et al. 1998). Similarly, Zayed et al. (1998) or Li et al. (2008) found a high selenate accumulation in rice and wheat leaves.

For selenite species, the concentrations observed in the different aerial plant tissues differ; however, the seeds appear as the most concentrated organ in Se (p value <0.05). This high accumulation of selenite in maize seeds could be linked to its phytotoxicity observed in terms of aerial parts biomasses: Actually, a higher decrease in dry weight of the maize seeds was observed for selenite species than selenate, suggesting a higher phytotoxic impact of the Se^{IV} form, as already observed by Ximenez-Emun et al. (2004). Concerning the stems, no significant differences were observed according to the Se species considered.

Concerning the speciation of the different accumulated forms, Asher et al. (1977) analyzed Se concentrations and chemical forms in the sap of tomato (*Lycopersicon esculentum*) treated with selenate or selenite, as well as in our experiment. They reported that selenate was entirely transported unchanged, while very little selenite could be detected in the xylem of treated plants.

We hypothesize that the differences of Se concentrations in plant tissues could be induced by their chemical species in the nutritive solution, and maybe explained by the concentrations of the various chemical elements that enter in the constitution of the nutrient solution. Indeed, Li et al. (2008) explain that such a difference in Se concentrations according to the tissues and the considered species is mainly due to phosphate in the nutrient solution: Phosphate inhibits the absorption of selenite, thus promoting the uptake of selenate. The presence of KH_2PO_4 (0.98 mM) in the Hoagland nutrient solution of this study can explain the higher concentrations of Se accumulated in maize leaves and stems after selenate exposure. Also, structural similarity between the selenate form Se^{VI} and the sulfate ion (SO_4^{-2}) allows the selenate to pass through the sulfates channels by different pathways,

being then transported without modifying its chemical structure through the xylem to the leaves, which allows finding it in large quantities in the different compartments of the plant, and especially in the leaves. This hypothesis is directly in accordance with our findings highlighting a higher accumulation of Se in the leaves of the plants exposed to selenate than those exposed to selenite. Moreover, sulfate ions are involved in plant transpiration (Marschner 1995) which could explain the high concentration in the leaves of the plant exposed to selenate species. Lintschinger et al. (2000) found that for sunflower plants grown in a solution concentrated in selenate, no chemical species change was observed in the xylem, suggesting an accumulation of Se^{VI} form in aerial parts. Finally, according to (Ximenez-Emun et al.2004), selenite is more easily metabolisable. An increase in the number of chemical species was observed in the different compartments of the plants that were grown in the selenite, while metabolism of selenate is much slower. Then, considering all these statements, a significant compartmentalization seems to appear in the exposed plants, depending on the Se chemical form of exposure.

Translocation factor (TF) was calculated as expressed in the “Total selenium contents in maize tissues” section, and results are given in Table 2. This factor gives relevant information on the compartmentalization process due to the species form in nutritive solution.

Total Se concentrations in roots were particularly high in case of selenite exposure (it raised $686 \pm 15 \text{ mg kg}^{-1}$; results not shown). It was approximatively ten times superior compared to selenate exposure ($88 \pm 2 \text{ mg kg}^{-1}$). In our study, the high translocation factor of selenate (especially in the leaves: TF = 2.49 for selenate exposure) is not only explained by its low concentration in roots but also by its high accumulation in leaf organ. Similarly, it has been shown that Indian mustard grown in soils enriched with selenate accumulates more Se in their shoots than plants grown on selenite-enriched soils (Banuelos et al. 1995). Working on perennial ryegrass and strawberry clover, Hopper and Parker (1999) have also already reported that translocation percentages were much higher with selenate ($\geq 84 \%$) than with selenite ($\leq 47 \%$). This observation was also made by De Souza et al. (1998) for Indian mustard: They reported that selenate was rapidly translocated to the shoot, away from the root, the site of volatilization into dimethyl selenide, whereas only approximately 10 % of the selenite was translocated. Our observations are thus in line with the results of various previous studies, which have shown that selenite is mainly retained within the roots and quickly transformed to organic forms like SeCys or SeMet (De Souza et al. 1998; Zayed et al. 1998; Li et al. 2008; Kikkert and Berkelaar 2013; Wang et al. 2013; Eiche et al. 2015). According

to [Li et al. \(2008\)](#) and [Kikkert and Berkelaar \(2013\)](#), only a small fraction (<12 %) of selenite migrates to the aerial parts. Selenium species by X-ray absorption spectroscopy revealed that selenite-supplied plants accumulated organic Se, most likely selenomethionine, whereas selenate-supplied plants accumulated selenate ([De Souza et al. 1998](#)).

3.2.8.3 Selenium gastric bioaccessibility (GB) in maize

Selenium bioaccessibility (Fig. 42) values ranged from 17.5 to 35 % in control plants in mean of five samples, according to the considered compartment, with a trend of higher bioaccessibility of Se in maize leaves. As explained in “Statistical analyses” section, we included the "plant" factor in the ANOVAs in order to account for the grouping structure of stem, leaf, and seed data samples originating from the same plants in view of detecting differences of dry weights, Se concentrations, and Se bioaccessible fractions between plants. Results show that the bioaccessible fraction is not plant dependent ($p = 0.904$; Fig. 5), highlighting the interest of using this fraction to overcome the biological material chosen. Concerning supplemented Se in hydroponic solutions, results showed that bioaccessibility percents fluctuate between 49 and 89 % according to the considered plant tissue and the chemical form of Se applied in the nutrient solution. Actually, even if biotransformations and species changes can occur in the plant system ([Ximenez-Embun et al. 2004](#)), the chemical form of Se of which plants are exposed can induce variations in Se oral bioaccessibility according to the plant edible parts. Similar results concerning Se bioaccessibility were observed in the case of fishes consumption by [Cabañero et al. \(2004\)](#) working on fishes enriches with Se consumed by people (Se bioaccessibility between 42 and 83 %) and [Bhatia et al. \(2013\)](#) working on *Pleurotus* mushrooms. [Cabañero et al. \(2004\)](#) reported that selenium bioaccessibility varied depending on the type of fish analyzed, suggesting a role of the involved accumulation tissues and biotransformation throughout the living organisms.

Whatever the tissue, selenate appears as the most bioaccessible form for humans, with significant higher values reported for stems and leaves. Selenate is the highly bioavailable form of soluble Se that is most commonly found in soils and subsurface drainage waters ([Terry and Banuelos 2012](#)). The same trend is observed for seeds, usually consumed by human organisms, but results are here not significant. By contrast, working on Se oral bioaccessibility in leek (*Allium ampeloprasum*), [Lavu et al. \(2012\)](#) highlighted that in the gastric phase, Se bioaccessibility was slightly higher when the leek was grown on selenite-

enriched soil (63 %), as compared to selenate-enriched soil (56 %), although this difference is not significant. In our study, there is no significant difference in selenate bioaccessible fraction in function of the maize tissue, i.e., stems, leaves, or seeds. However, selenate human bioaccessibility after ingestion follows the sequence: seeds > stems > leaves, suggesting a potential impact on human health due to seeds consumption.

Microbiota living in human intestine can be responsible of these chemical form changes and can direct metal uptake according to the species and then influence bioaccessibility values and fluctuations. Actually, working on Se bioaccessibility in the human intestine, [Lavu et al. \(2013\)](#) reported that Se bioaccessibility decreases to below 40 and 70 % after 48 h of colon incubation for SeMet and selenate, respectively. This phenomenon was attributed to bacteria cell fractions of gut contents and feces that uptake actively Se as a micronutrient for their metabolic processes. The different decrease in percentages is explained by the preferential species of Se uptaken by microbiota in human guts: Selenate is not the preferred form, compared to SeMet.

3.2.8.4 Human exposure to Se and assessment of health benefits or risks

In order to assess the impact of Se on human health after ingestion of exposed maize via root transfer, daily intake (DI, $\mu\text{g day}^{-1}$) can be estimated from the measured Se concentrations in plant seeds ($\mu\text{g kg}^{-1}$) for high Se-enriched regions in the world and daily maize consumption rates (kg day^{-1}), for highly exposed people too.

The average daily consumption of maize seeds per person (body weight of an average adult: 65 kg) can be variable according to the considered country around the world. But, in Africa, the mean daily intake of maize is about 102 g per capita per day (as a mean of 45 countries) as reported by [Nuss and Tanumihardjo \(2011\)](#). [Mekonen et al. \(2015\)](#) reported a daily value of approximately 6 g of maize consumed per kg of body weight and per day in Ethiopia, Africa. In Mexico, those values reach the level of 315 g per capita per day ([CNMI2001; Rosas-Castor et al. 2014](#)).

The following equation (Eq. 2) is generally used to calculate the daily intake of metal ([Cui et al. 2004; Sharma et al. 2009; Swartjes 2011; Okorie et al. 2012](#)):

Daily intake of metal (DI, $\mu\text{g d}^{-1}$)

= vegetable metal concentration (mg kg^{-1} of FW) x daily vegetable consumption (g per day)/
Bodyweight (kg; 65kg for an average adult)

In our study, the average measured concentrations in maize seeds due to root uptake of Se was 76.2 and 128.4 mg kg^{-1} of DW for, respectively, selenate and selenite. Vegetable metal concentrations of DW were then converted into concentrations of fresh weight (FW) by multiplying by the percent of dry matter in the sampled seed, averaged at 67 % for our maize seeds. The determined DI values are then compared to tolerable daily intake (TDI, $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) expressed as the quantity of metal ingested each day (μg) as a function of kg body weight. This TDI was established by the Food Safety Commission of Japan at 4 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ for Se (FSCJ 2012), as an essential element.

The maximum daily quantities of vegetables consumed from high exposed areas to reach the TDI can therefore be calculated using Eq. 3:

$$\text{Daily vegetable consumption (kg plant per kg body weight and per day)} = \frac{\text{TDI } (\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1})}{\text{vegetable metal concentration } (\mu\text{g kg}^{-1})}$$

The maximum daily quantity of vegetables exposed to Se that can be consumed without exceeding the TDI was therefore calculated using the concentration values measured for the exposed maize seeds and 65 kg for the body weight of an average adult. These values are given in Table 3 for the two different Se species. The results showed a risk for very low quantities of maize seeds consumed, suggesting a toxic exposure of people living in the seleniferous regions taken as examples. Actually, the maximum daily quantity of vegetable that can be consumed by an adult of 65 kg is, respectively, 5.1 and 3.0 g day^{-1} of maize seeds exposed to selenate and selenite (Table. 17). Moreover, due to the high GB of Se in maize, there is finally a low decrease in the Se DI if the bioaccessible fraction is taken into consideration instead of total Se concentrations. Finally, the root Se transfer can therefore lead to significant health risks when high Se amounts are measured in soils and irrigation waters in seleniferous regions.

Tableau 17 : Calculated maximum daily quantities of maize seeds (g d^{-1}) exposed to Se in seleniferous regions that can be consumed without exceeding the TDI.

| Se speciation exposure | Daily intake of Se (DI, $\mu\text{g d}^{-1}$) | Tolerable daily intake (TDI, $\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$) | Maximum daily quantity of maize seeds exposed to Se for an adult of 65 kg (g d^{-1}) | Conclusions: risks for human health? |
|------------------------------------|--|--|---|---|
| Selenate (1 mg L^{-1}) | 247.5 | 4 | 5.1 | <i>Risks involved for people living in seleniferous areas</i> |
| Selenite (1 mg L^{-1}) | 417.1 | 4 | 3.0 | |

Conclusion

Focusing on an experiment performed on maize crops grown on hydroponic solutions supplemented in Se with two different chemical forms (Se^{IV} and Se^{VI}), this study reported the bioaccessibility of selenium after human ingestion in relation to its compartmentalization in maize. Selenium compartmentalization in plant tissues depends on its chemical species uptaken by the maize plants. Selenium accumulated concentrations in maize vary according to the considered plant tissue and its chemical species in the nutritive solution.

For the first time, Se oral human bioaccessibility after ingestion was assessed for these two different Se species forms with the BARGE *ex vivo* test in maize crops. Selenium oral bioaccessibility after ingestion showed high values from 49 to 89 % according to the considered plant tissue and the chemical form. Whatever the tissue, selenate appears as the most bioaccessible form for humans, with significant high values reported for stems and leaves. Moreover, the maximum daily quantity of maize seeds exposed to Se that can be consumed without exceeding the tolerable daily intake had highlighted a toxic exposure of people living in widely exposed areas, especially as Se is highly gastric bioaccessible in maize seeds. Then, Se oral bioaccessibility is highly linked to its chemical species and compartmentalization in consumed maize. Our study has therefore consequences for the assessment of Se absorption by humans with both toxicity and alimentation considerations. Actually, plant quality is a crucial subject for human health and participative socio-scientific projects such as “Réseau-Agriville” are developed to widely educate citizens about the various parameters that influence the quality of the consumed cultivated plants.

Acknowledgments

This work has received support from Gabon through A.N.B.G for the Ph.D. of Mombo S. Biron P and Bariac T. from iEES-UPMC are thanked for RUBIC5 access. This work has received financial supports from National Research Agency under reference ANR-12-0011-VBDU and the National Polytechnic Institute in Toulouse (INPT). The authors thank to Leigh Gebbie for English review.

References

- Asher, C. J., Butler, G. W., & Peterson, P. J. (1977). Selenium transport in root systems of tomato. *Journal of Experimental Botany*, 28(103), 279–291.
- Austruy, A., Shahid, M., Xiong, T., Castrec, M., Payre, V., Niazi, N. K., & Dumat, C. (2014). Mechanisms of metal-phosphates formation in the rhizosphere soils of pea and tomato: Environmental and sanitary consequences. *Journal of Soils and Sediments*, 14, 666–678.
- Avoscan, L. (2007). Etude de la résistance de *Cupriavidus metallidurans* CH34 aux oxyanions sélénite et séléniate: Accumulation, localisation et transformation du sélénium. Thèse de doctorat d'université. Joseph Fourier: Université Grenoble 1, 244 p.
- Bañuelos, G. S., Arroyo, I., Pickering, I. J., In, S., & Freeman, J. L. (2015). Selenium biofortification of broccoli and carrots grown in soil amended with Se-enriched hyperaccumulator *Stanleya pinnata*. *Food Chemistry*, 166, 603–608.
- Bañuelos, G. S., Terry, N., Zayed, A., & Wu, L. (1995). Managing high soil Se with phytoremediation. In G. E. Schuman & G. F. Vance (Eds.), *Selenium, mining, reclamation, and environmental impact. Proceedings of the 12th Annual Meeting of the American Society for Surface Mining and Reclamation*. American Society for Surface Mining and Reclamation, pp. 394–405.
- Benton, D., & Cook, R. (1990). Selenium supplementation improves mood in a double-blind crossover trial. *Psychopharmacology*, 102(4), 549–550.
- Bhatia, P., Aureli, F., D'Amato, M., Prakash, R., Cameotra, S. S., Nagaraja, T. P., & Cubadda, F. (2013). Selenium bioaccessibility and speciation in biofortified *Pleurotus* mushrooms grown on selenium-rich agricultural residues. *Food Chemistry*, 140(1–2), 225–230.
- Cabañero, A. I., Madrid, Y., & Cámara, C. (2004). Selenium and mercury bioaccessibility in fish samples: An in vitro digestion method. *Analytica Chimica Acta*, 526(1), 51–61.

- Carter, D. L., & Brown, M. J. (1968). Selenium concentrations in forage on some high northwestern range. *Journal of Range Management*, 23, 234–238.
- Cave, M., Wragg, J., Klinck, B., Grön, C., Oomen, T., Van de Wiele, T., et al. (2006). Preliminary assessment of a unified bioaccessibility method for Arsenic in soils. International conference in Epidemiology and Environmental Exposure. Paris, 2–6 September 2006.
- Chilimba, A. D. C., Young, S. D., Black, C. R., Rogerson, K. B., Ander, E. L., Watts, M. J., et al. (2011). Maize grain and soil surveys reveal suboptimal dietary selenium intake is widespread in Malawi. *Scientific Reports*, 72, 1–9.
- CNMI (Cámara Nacional del Maíz Industrializado). (2001). Retrieved 16 de octubre, 2012, from <http://www.cnmaiz.org.mx/camara.html>.
- Combs, G. F. (2000). Food system-based approaches to improving micronutrient nutrition: The case for selenium. *Biofactors*, 12, 39–43.
- Combs, G. F. (2001). Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*, 85, 517–547.
- Cui, Z., Chen, X., & Zhang, F. (2010). Current nitrogen management status and measures to improve the intensive wheat–maize system in China. *Ambio*, 39(6), 376–384.
- Cui, Y. J., Zhu, Y. G., Zhai, R. H., Chen, D. Y., Huang, Y. Z., Qiu, Y., et al. (2004). Transfer of metals from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning, China. *Environment International*, 30(6), 785–791.
- De Souza, M. P., Pilon-Smits, E. A. H., Lytle, C. M., Hwang, S., Tai, J., Honma, T. S. U., et al. (1998). Rate-limiting steps in selenium assimilation and volatilization by Indian Mustard. *Plant Physiology*, 117, 1487–1494.
- Denys, S., Tack, K., Caboche, J., & Delalain, P. (2009). Bioaccessibility, solid phase distribution, and speciation of Sb in soils and in digestive fluids. *Chemosphere*, 74(5), 711–716.

- Eckel, R. H., Alberti, K. G. M. M., Grundy, S. M., & Zimmet, P. Z. (2010). The metabolic syndrome. *Lancet*, 375(9710), 181–183.
- Efsa, Q. (2008). La levure enrichie en sélénium ajoutée à des fins nutritionnelles en tant que source de sélénium à des aliments destinés à des usages nutritionnels particuliers et à des aliments (y compris des compléments alimentaires) destinés à la population générale.
- Eiche, E., Bardelli, F., Nothstein, A. K., Charlet, L., Göttlicher, J., Steininger, R., et al. (2015). Selenium distribution and speciation in plant parts of wheat (*Triticum aestivum*) and Indian mustard (*Brassica juncea*) from a seleniferous area of Punjab, India. *Science of the Total Environment*, 505, 952–961.
- Euroala, M., Ekholm, P., Ylinen, M., Koivistoinen, P., & Varo, P. (1990). Effects of selenium fertilization on the selenium content of cereal grains, flour and bread produced in Finland. *Cereal Chemistry*, 67, 2–5.
- FAO. (2005). Food and Agriculture Organization of United Nations. Retrieved 23 March, 2012, from www.fao.org/home/en/.
- FAOSTAT. (2004). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Retrieved 13 de mayo <http://faostat.fao.org/site/613/DesktopDefault.aspx?PageID=613#ancor>.
- Ferrand, E., Dumat, C., Leclerc-Cessac, E., & Benedetti, M. F. (2006). Phytoavailability of zirconium in relation to its initial added form and soil characteristics. *Plant and Soil*, 287(1–2), 313–325.
- Foucault, Y., Lévêque, T., Xiong, T., Schreck, E., Austruy, A., Shahid, M., et al. (2013). Green manure plants for remediation of soils polluted by metals and metalloids: Ecotoxicity and human bioavailability assessment. *Chemosphere*, 93(7), 1430–1435.
- FSCJ: Food Safety Commission of Japan. (2012). Risk assessment report—chemicals and contaminants FS/946/2012.

- Gissel-Nielsen, G., Gupta, U. C., Lamand, M., & Westermarck, T. (1984). Selenium in soils and plants and its importance in livestock and human nutrition. *Advances in Agronomy*, 37, 397–460.
- Hintze, K. J., Lardy, G. P., Marchello, M. J., & Finley, J. W. (2001). Areas with high concentrations of selenium in the soil and forage produce beef with enhanced concentrations of selenium. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 1062–1067.
- Hopper, J. L., & Parker, D. R. (1999). Plant availability of selenite and selenate as influenced by the competing ions phosphate and sulfate. *Plant and Soil*, 1937, 199–207.
- Irons, R., Carlson, B. A., Hatfield, D. L., & Davis, C. D. (2006). Both selenoproteins and low molecular weight selenocompounds reduce colon cancer risk in mice with genetically impaired selenoprotein expression. *The Journal of Nutrition*, 136, 1311–1317.
- Kikkert, J., & Berkelaar, E. (2013). Plant uptake and translocation of inorganic and organic forms of selenium. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 65(2013), 458–465.
- Killick, R., Eckley, I., & Haynes, K. (2014). Changepoint: An R package for changepoint analysis. R package version 1.1.5. <http://CRAN.R-project.org/package=changepoint>.
- Kiremidjian-Schumacher, L., Roy, M., Wishe, H. I., Cohen, M. W., & Stotzky, G. (1994). Supplementation with selenium and human immune cell functions. *Biological Trace Element Research*, 41(1–2), 115–127.
- Koivistoinen, P. (1980). Mineral element composition of Finnish foods: N, K, Ca, Mg, P, S, Fe, Cu, Mn, Zn, Mo, Co, Ni, Cr, F, Se, Si, Rb, Al, B, Br, Hg, As, Cd, Pb and ash. *Acta Agriculturae Scandinavica*, 22, 15–25.
- Koivistoinen, P., & Huttunen, J. K. (1986). Selenium in food and nutrition in Finland. An overview on research and action. *Annals of Clinical Research*, 18(1), 13–17.

- Kolmogorov, Y., Kovaleva, V., & Gonchar, A. (2000). Analysis of trace elements in scalp hair of healthy people, hyperplasia and breast cancer patients with XRF method. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research, Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors, and Associated Equipment*, 448, 457–460.
- Larsen, E. H., Lobinski, R., Burger-Meÿer, K., Hansen, M., Ruzik, R., Mazurowska, L., & Kik, C. (2006). Uptake and speciation of selenium in garlic cultivated in soil amended with symbiotic fungi (mycorrhiza) and selenate. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385, 1098–1108.
- Läuchli, A. (1993). Selenium in plants: Uptake, functions, and environmental toxicity. *Botanica Acta*, 106, 455–468.
- Lavu, R. V., Du Laing, G., Van de Wiele, T., Pratti, V. L., Willekens, K., Vandecasteele, B., & Tack, F. (2012). Fertilizing soil with selenium fertilizers: Impact on concentration, speciation, and bioaccessibility of selenium in leek (*Allium ampeloprasum*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 60, 10930–10935.
- Lavu, R. V., Van de Wiele, T., Pratti, V. L., Tack, F., & Du Laing, G. (2013). Bioaccessibility and transformations of selenium in the human intestine: Selenium-enriched crops versus food supplements. In G. S. Bañuelos, Z. Q. Lin, & X. Yin (Eds.), *Selenium in the environment and human health* (pp. 44–47). CRC Press.
- Le Stum, H. (2011). Association Générale des Producteurs de Blé et autres céréales. IOP Publishing AGPB. http://www.agpb.fr/fr/chiffre/recolte_monde.asp. Accessed December 13, 2011.
- Li, N., Gao, Z. D., Luo, D. G., Tang, X., Chen, D. F., & Hu, Y. H. (2007). Selenium level in the environment and the population of Zhoukoudian area, Beijing, China. *Science of the Total Environment*, 381, 105e111.
- Li, H. F., McGrath, S. P., & Zhao, F. J. (2008). Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 178, 92–102.

- Lintschinger, J., Fuchs, N., Moser, J., Kuehnelt, D., & Goessler, W. (2000). Selenium-enriched sprouts. A raw material for fortified cereal-based diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5362–5368.
- Longchamp, M., Angeli, N., & Castrec-Rouelle, M. (2013). Selenium uptake in *Zea mays* supplied with selenate or selenite under hydroponic conditions. *Plant and Soil*, 362(1–2), 107–117.
- Longchamp, M., Castrec-Rouelle, M., Biron, P., & Bariac, T. (2015). Variations in the accumulation, localization and rate of metabolization of selenium in mature *Zea mays* 2 plants supplied with selenite or selenate. *Food Chemistry*, 182, 128–135.
- Longnecker, M. P., Taylor, P. R., Levander, O. A., Howe, S. M., Veillon, C., McAdam, P. A., et al. (1991). Selenium in diet, blood, and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53(5), 1288–1294.
- Lonso, I. N. A., Mara, Ä., & Lbarra, Y. O. M. A. (2004). Establishment of selenium uptake and species distribution in lupine, indian mustard, and sunflower plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(4), 832–838.
- Ma, W., Li, J., Ma, L., Wang, F., Sisák, I., Cushman, G., & Zhang, F. (2008). Nitrogen flow and use efficiency in production and utilization of wheat, rice, and maize in China. *Agricultural Systems*, 99(1), 53–63.
- Marschner, H. (1995). *Mineral nutrition of higher plants* (2nd ed., pp. 89–95). London: Academic Press.
- Mayland, H. F., James, L. F., Panter, K. E., & Sonderegger, J. L. (1989). Selenium in seleniferous environments. *Environmental Science Society*, 23, 15–50.
- Mekonen, S., Lachat, C., Ambelu, A., Steurbaut, W., Kolsteren, P., Jacxsens, L., et al. (2015). Risk of DDT residue in maize consumed by infants as complementary diet in southwest Ethiopia. *Science of the Total Environment*, 511, 454–460.

- Mombo, S., Foucault, Y., Deola, F., Gaillard, I., Goix, S., Shahid, M., et al. (2015). Management of human health risk in the context of kitchen gardens polluted by lead and cadmium near a lead recycling company. *Journal of Soils and Sediments*.
- Navarro-Alarcón, M., & López-Martínez, M. C. (2000). Essentiality of selenium in the human body: Relationship with different diseases. *Science of the Total Environment*, 249, 347–371.
- Nielsen, G. G. (1968). Loss of selenium in drying and storage of agronomic plant species - DTU Orbit. *Plant and Soil*, 32, 242–245.
- Nuss, E. T., & Tanumihardjo, S. A. (2011). Quality protein maize for Africa: Closing the protein inadequacy gap in vulnerable populations. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 2(3), 217–224.
- Okorie, A., Entwistle, J., & Dean, J. R. (2012). Estimation of daily intake of potentially toxic elements from urban street dust and the role of oral bioaccessibility testing. *Chemosphere*, 86(5), 460–467.
- Oomen, A. G., Hack, A., Minekus, M., Zeijdner, E., Cornelis, C., Schoeters, G., et al. (2002). Comparison of five in vitro digestion models to study the bioaccessibility of soil contaminants. *Environmental Science and Technology*, 36(15), 3326–3334.
- Pierart, A., Shahid, M., Séjalon-Delmas, N., & Dumat, C. (2015). Antimony bioavailability: Knowledge and research perspectives for sustainable agricultures. *Journal of Hazardous Materials* (in press).
- Qian, Y., Chen, C., Zhang, Q., Li, Y., Chen, Z., & Li, M. (2010). Concentrations of cadmium, lead, mercury and arsenic in Chinese market milled rice and associated population health risk. *Food Control*, 21(Suppl. 12), 1757–1763.
- Qin, H., Zhu, J., Liang, L., Wang, M., & Su, H. (2013). The bioavailability of selenium and risk assessment for human selenium poisoning in high-Se areas, China. *Environment International*, 52, 66–74.

- Rayman, M. P. (2000). The importance of selenium to human health. *Lancet*, 356(9225), 233–241.
- Rayman, M. P. (2008). Food-chain selenium and human health: Emphasis on intake. *The British Journal of Nutrition*, 100, 254–268.
- Reilly, C. (1998). Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 114–118.
- Rosas-Castor, J. M., Guzmán-Mar, J. L., Hernández-Ramírez, A., Garza-González, M. T., & Hinojosa-Reyes, L. (2014). Arsenic accumulation in maize crop (*Zea mays*): A review. *Science of the Total Environment*, 488–489, 176–187.
- Shahid, M., Xiong, T., Masood, N., Leveque, T., Quenea, K., Austruy, A., & Dumat, C. (2014). Influence of plant species and phosphorus amendments on metal speciation and bioavailability in a smelter impacted soil: A case study of food-chain contamination. *Journal of Soils and Sediments*, 14, 655–665.
- Sharma, R. K., Agrawal, M., & Marshall, F. M. (2009). Heavy metals in vegetables collected from production and market sites of a tropical urban area of India. *Food and Chemical Toxicology*, 47(3), 583–591.
- Swartjes, F. A. (2011). *Dealing with contaminated sites: From theory towards practical application* (1st ed., p. 264).
- Terry, N., & Banuelos, G. S. (2012). *Phytoremediation of contaminated soil and water* (p. 408). Boca Raton: CRC Press.
- Uzu, G., Sauvain, J. J., Baeza-Squiban, A., Riediker, M., Sánchez Sandoval, H. M., Val, S., et al. (2011). *In vitro* assessment of the pulmonary toxicity and gastric availability of lead-rich particles from a recycling plant. *Environmental Science and Technology*, 45(18), 7888–7895.

- Wang, S., Liang, D., Wang, D., Wei, W., Fu, D., & Lin, Z. (2012). Selenium fractionation and speciation in agriculture soils and accumulation in corn (*Zea mays* L.) under field conditions in Shaanxi Province, China. *Science of the Total Environment*, 427, 159–164.
- Wang, D., Williams, B. A., Ferruzzi, M. G., & D'Arcy, B. R. (2013). Microbial metabolites, but not other phenolics derived from grape seed phenolic extract, are transported through differentiated Caco-2 cell monolayers. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1564–1573.
- World Health Organization, Food and Agriculture Organisation and International Atomic Energy Agency expert group. (1996). Selenium. In: WHO (Ed.), *Trace elements in human nutrition and health* (pp 105–122). Geneva: WHO.
- Wragg, J., Cave, M., Basta, N., Brandon, E., Casteel, S., Denys, S., & Van de Wiele, T. (2011). An inter-laboratory trial of the unified BARGE bioaccessibility method for arsenic, cadmium and lead in soil. *Science of the Total Environment*, 409(19), 4016–4030.
- Ximénez-Embún, P., Alonso, I., Madrid-Albarrán, Y., & Cámara, C. (2004). Establishment of selenium uptake and species distribution in lupine, indian mustard, and sunflower plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 832–838.
- Xiong, T., Leveque, T., Austruy, A., Goix, S., Schreck, E., Dappe, V., et al. (2014a). Foliar uptake and metal(loid) bioaccessibility in vegetables exposed to particulate matter. *Environmental Geochemistry and Health*, 36, 897–909.
- Xiong, T., Leveque, T., Shahid, M., Foucault, Y., Mombo, S., & Dumat, C. (2014b). Lead and cadmium phytoavailability and human bioaccessibility for vegetables exposed to soil or atmospheric pollution by process ultrafine particles. *American Society of Agronomy*. 43, 1593–1600.
- Yang, G., & Zhou, R. (1994). Further observations on the human maximum safe dietary selenium intake in a seleniferous area of China. *Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease*, 8(3–4), 159–165.

- Yu, Y., Luo, L., Yang, K., & Zhang, S. (2011). Influence of mycorrhizal inoculation on the accumulation and speciation of selenium in maize growing in selenite and selenate spiked soils. *Pedobiologia*, 54(5), 267–272.
- Zayed, A., Lytle, C. M., & Terry, N. (1998). Accumulation and volatilization of different chemical species of selenium by plants. *Planta*, 206(2), 284–292.
- Zhai, F. Y., & Yang, X. G. (2006). *Report on the situation of nutrition and health of Chinese residents: II. The status of diet and nutrient uptake in 2002*. Beijing: People's Medical Publishing House (in Chinese).
- Zhang, H., Feng, X., Jiang, C., Li, Q., Liu, Y., & Gu, C. (2014). Understanding the paradox of selenium contamination in mercury mining areas: High soil content and low accumulation in rice. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 188, 27–36
- Zhang, Y., Pan, G., Chen, J., & Hu, Q. (2003). Uptake and transport of selenite and selenate by soybean seedlings of two genotypes. *Plant and Soil*, 253, 437–443.
- Zhao, L., Cox, A. G., Ruzicka, J. A., Bhat, A. A., Zhang, W., & Taylor, E. W. (2000). Molecular modeling and in vitro activity of an HIV-1-encoded glutathione peroxidase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(12), 6356–636

Conclusions et Perspectives

Pour cette partie, les principales observations suivantes sont été faites :

- le transfert des ETM du sol vers la plante est conditionné par plusieurs facteurs tels que les caractéristiques des plantes cultivées, les caractéristiques du sol (pH, teneur en de matière organique, ions carbonates et métaux en présences). Certaines plantes (comme la laitue) accumulent plus de métaux que d'autres sur un même sol. En fonction de l'abondance de la matière organique, les ETM auront tendance à se complexer avec les particules du sol et ainsi être moins disponible pour la plante et donc in fine pour les hommes qui consommeront ces dernières.
- La forme chimique des métaux va jouer un rôle essentiel dans le transfert des métaux. Le séléniate se retrouve principalement dans les différents organes aériens du maïs (feuilles, tige, graine), tandis que le sélénite va plutôt se retrouver en forte proportion dans les racines. Le sélénite va avoir des effets plus importants sur la biomasse des différents organes du maïs.

3.3 Scénarios d'exposition Bioaccessibilité, biodisponibilité des ETM de particules dans l'organisme, conséquences sanitaires.

Avant-propos

Dans le chapitre précédent, l'étude a porté sur le transfert des métaux lourds vers les différents organes des plantes (feuilles, graines, tiges, fruits etc..) cultivées à proximité des zones émettrices de métaux lourds. La consommation des aliments pollués a été identifiée comme l'une des principales voies d'exposition humaine aux métaux lourds. En fonction de la concentration en métaux des aliments consommés, ces derniers peuvent impacter la santé des populations (Zheng et al, 2007; Krishna et al, 2014). La mesure de la bioaccessibilité des polluants inorganiques présents dans différentes matrices (sols, végétaux, poussières...) permet d'estimer la biodisponibilité pour l'homme des éléments inorganiques (Pb, Cd, etc.) ou nutriments (comme le Se).

Cette mesure de bioaccessibilité a l'intérêt d'intégrer les différents paramètres (voie d'exposition ex sol-plante ou atmosphère plante, spéciation chimique des polluants, etc.). Cette mesure in vitro avec le protocole normalisé BARGE permet également comme cela est préconisé dans le règlement européen REACH (visant à réduire l'impact (éco)toxiques des substances chimiques) de ne pas effectuer de tests sur animaux. C'est pourquoi des mesures de bioaccessibilité ont été réalisées pour différents éléments inorganiques toxiques (Pb, Cd) ou dans le cas d'un oligoélément (Se), et ceci pour différents contextes de pollutions. Ces résultats participent à promouvoir une alimentation durable en lien avec la qualité de l'environnement et en particulier la gestion des risques liés aux sites et sols pollués ou aux anomalies géochimiques positives.

Une des étapes pour assurer la sécurité alimentaire est le contrôle des teneurs en métaux lourds des aliments d'origine végétale ou animal que nous consommons. Pour assurer de ce point de vue la qualité des denrées alimentaires, il est nécessaire de connaître certains facteurs qui régissent le transfert des métaux lourds vers les plantes. Un autre point important à connaître est la quantité consommée journalière par les populations à comparer à la valeur maximale recommandée par les autorités sanitaires sans effet sur l'organisme. Le but est en effet de limiter au maximum les risques d'exposition des populations grâce à des actions préventives et des préconisations. Dans la cadre de la gestion des risques d'exposition aux métaux lourds des

populations par l'alimentation, les mesures de bioaccessibilité sont importantes pour évaluer les quantités de métaux qui sont susceptibles de se retrouver dans l'organisme. Afin de pouvoir évaluer de manière concrète les risques qui sont associés à l'exposition des populations par voie orale à des contaminants environnementaux, les mesures de bioaccessibilité intègrent l'ensemble des paramètres (Guerin et al, 2015).

Dans ce chapitre ont été étudiés et mis en évidence les risques sanitaires associés à la consommation d'aliments contaminés par les métaux lourds. Le cas du Pb et du Cd, pour des plantes potagères issues des jardins à proximité d'une usine de recyclage de batterie a été traité. Dans un second temps, le cas du Se en conditions contrôlées pour ses deux formes chimiques les plus prépondérantes dans l'environnement a été étudié. Pour cela, la quantification des proportions de métaux lourds qui sont susceptibles de se retrouver dans l'organisme après la consommation d'aliments contaminés a été effectuée. Les résultats ont été comparés aux doses journalières admissibles afin d'évaluer les risques sanitaires associés dans un souci de prévention du risques.

Ce chapitre va donc présenter et discuter les résultats concernant les mesures de bioaccessibilité du Pb et Cd contenus dans les légumes issues des jardins potagers situés à proximité d'une usine de recyclage de batterie.

La bioaccessibilité du sélénium contenu dans le maïs en fonction de sa spéciation chimique est également traitée.

Puis des données de concentrations en métaux dans le manioc, provenant d'une review bibliographique ont été utilisées pour évaluer la bioaccessibilité des polluants et discuter des risques liées à la culture et la consommation du manioc dans le monde.

La figure 43 ci-dessous résume les différentes parties de cette dernière étude.

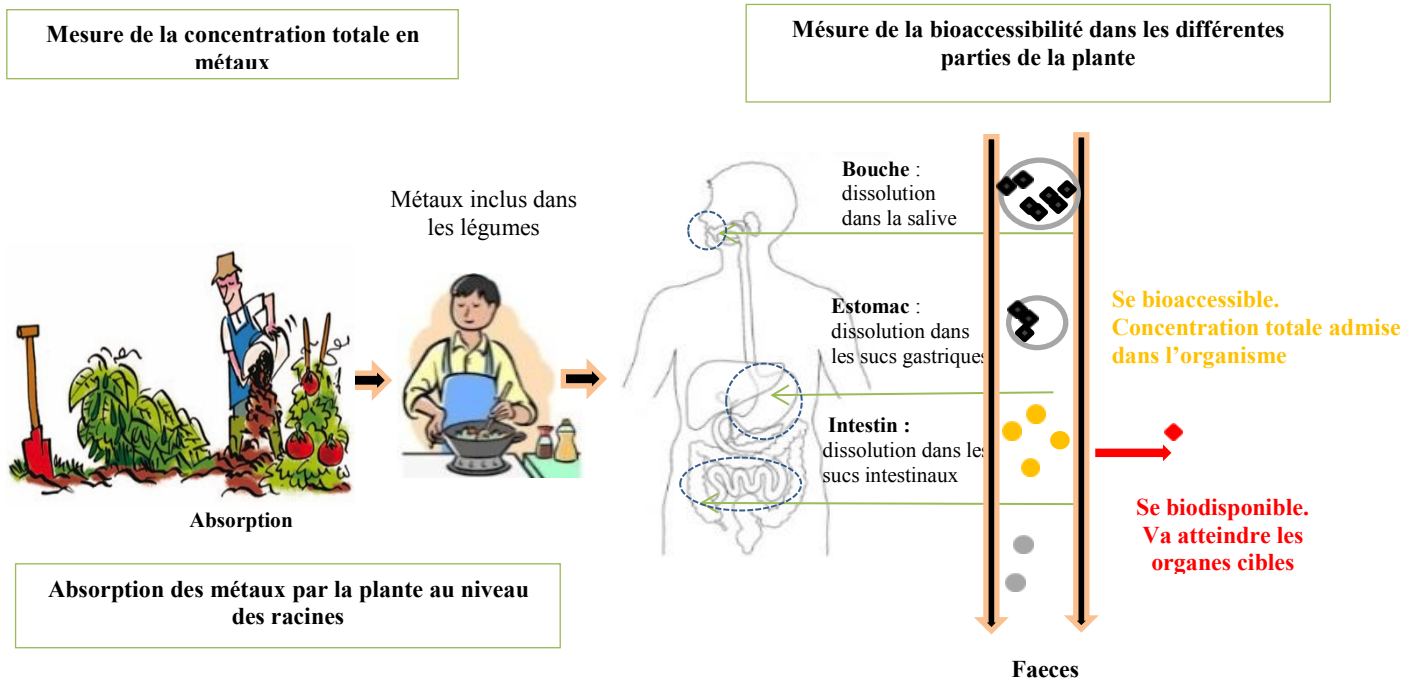


Figure 43 : schéma récapitulatif des étapes de la bioaccessibilité depuis le transfert des éléments vers la plante.

3.3.1 Bioaccessibilité du cadmium et du plomb issus des jardins potagers situé à proximité d'une usine recyclage de batterie

Dans cette première partie, nous allons discuter des quantités de différents métaux qui vont pouvoir traverser les différentes barrières de l'organisme pour se retrouver dans la circulation sanguine et donc être bioaccessible et ensuite être susceptible de causer des dommages sur les organes cibles et dégrader la santé.

Dans cette étude sur les jardins potagers situés à proximité d'une usine de recyclage de batterie, on peut constater sur le tableau 18 que le pourcentage de bioaccessibilité va être dépendant du métal. Ici on observe clairement que la proportion de cadmium bioaccessible est nettement supérieure à celle du plomb et ceci quelles que soient les parcelles étudiées. Cette observation est importante à signaler car on peut voir qu'on a pour la parcelle G2 jusqu'à 85 % de la quantité de cadmium contenue dans le poireau qui va se retrouver dans la circulation sanguine, qui est va être susceptible de s'accumuler dans les organes cibles de l'organisme. Le cadmium étant plus mobile dans le sol que le plomb, va donc plus facilement se retrouver à proximité des racines dans la solution du sol où il va être transféré dans la plante en plus grande quantité et ainsi avoir une probabilité plus importante de se retrouver dans les organismes (McBride, 2014).

Selon (US EPA 2007), la dose journalière admise pour le cadmium est $1 \mu\text{g kg}^{-1} \text{j}^{-1}$. La norme internationale pour l'eau de boisson est fixée à $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Le cadmium s'accumule dans le foie ou sa demi vie varie en 4 et 19 ans, puis passe dans les reins ou sa demi vie varie entre 6 et 38 ans (Solenkova et al. 2014). Lorsqu'il atteint 200 mg kg^{-1} d'organe frais (FAO 1972), il peut entraîner des lésions, qui vont évoluer vers une néphropathie irréversible et finir par une insuffisance rénale. De plus les mécanismes d'excrétion du cadmium sont mal connu ou inefficaces ce qui implique une accumulation continue dans l'organisme. Depuis 1993 le cadmium est classé par le Centre International de Recherche sur le cancer (CIRC) dans le groupe numéro 1 appelé aussi (groupe des cancérigènes avéré ou cancérigène certain). Le CIRC comprend 4 groupes qui correspondent à des indications de cancérigénicité décroissant pour les êtres humains et le groupe 1 est celui ayant la plus forte certitude à être cancérigène. La liste complète des éléments cancérigènes du CIRC se trouve en annexe 2

Le plomb a une bioaccessibilité moins importante que le cadmium mais reste un élément très toxique pour les organismes. Le pourcentage de bioaccessibilité de ce métal 54 % atteint dans la parcelle G4, ce qui peut être considéré comme un taux non négligeable en fonction de la concentration totale en plomb dans l'aliment consommé, vu la toxicité connue de cet élément pour l'homme même à très faible concentration (Anon, 2015; Uzu, 2010). La quantité journalière tolérable de plomb en $\mu\text{gkg}^{-1}\text{j}^{-1}$ dans l'organisme est en effet fixée à $100 \mu\text{gkg}^{-1}\text{j}^{-1}$ par the Canada Health Report (2012). Une fois dans l'organisme, sa demi-vie varie selon la compartimentation, dans le sang et les tissus mous elle d'environ 36 jours, (le plomb sanguin représente entre 1 et 2 % du plomb total de l'organisme) et dans les os par contre la demi-vie du plomb est plus longue et varie entre 20 et 30 ans (Solénkova et al, 2014). La toxicité causée à long terme par ce métal est appelée **saturnisme**, lorsque la plombémie (concentration en plomb dans le sang) est supérieure ou égale à $100 \mu\text{g/L}$ chez les enfants et les adultes. Récemment des travaux focalisés sur la plombémie chez l'enfant réalisée par le Haut Conseil de la Santé Publique, a observé pour des concentrations inférieurs à $100 \mu\text{g/L}$ des effets nocifs du plomb sur la santé des jeunes enfants des adolescents, des adultes et femmes enceintes (HCSP 2014).

Dans le cadre de l'évaluation du risque un calcul a été effectué pour évaluer le risque associé à la consommation des aliments issus des jardins par les personnes habitant à proximité de cette usine.

Tableau 18 : pourcentage de bioaccessibilité des légumes dans quatre parcelles situés à proximité d'une usine de recyclage de batterie

| Référence jardins | Légumes | Cd (%) | Pb (%) |
|-------------------|------------|--------|----------|
| G ₁ | Poireau | 81 ± 3 | 18 ± 1 |
| | Salade | 80 ± 2 | 27 ± 1 |
| G ₂ | Poireau | 85 ± 2 | 17 ± 1 |
| | Salade | 76 ± 2 | 26 ± 1 |
| | Céleri | 74 ± 2 | 50 ± 1.5 |
| | Carotte | 80 ± 2 | 42 ± 1.5 |
| | Celeriac | 80 ± 2 | 45 ± 1.5 |
| G ₃ | Poireau | 80 ± 2 | 19 ± 1 |
| | Bette | 66 ± 2 | 54 ± 1.5 |
| | Citrouille | 80 ± 2 | 36 ± 1.5 |
| G ₄ | Salade | 80 ± 2 | 26 ± 1 |
| | Carotte | 80 ± 3 | 36 ± 1.5 |

3.3.2 Bioaccessibilité du sélénium

Le pourcentage de bioaccessibilité du sélénium sous ses deux différentes formes sélénite et séléniate est aussi élevé que celui du cadmium dans le cas précédant. Ce pourcentage est aussi légèrement dépendant de la forme chimique de l'élément (Figure. 44). En effet on peut voir sur la figure 36, qu'en fonction de la spéciation on peut atteindre jusqu'à 89,26 % de la fraction de l'aliment qui est consommé qui va finalement être bioaccessible pour le séléniate contre 82,68 %. A la différence du cadmium et plomb le sélénium est un oligoélément ce peu certainement expliquer la forte fraction bioaccessible de cet élément. Le problème avec le sélénium est que sa concentration qui est bénéfique pour l'organisme est proche de celle qui est nuisible pour ce dernier d'où la nécessité de faire attention à l'ingestion excessif de cet élément surtout dans les zones dites sélénifères (ou la concentration dans le sol est élevée). **En effet la commission la sécurité alimentaire du japon de 2012 indique qu'il faut consommer quotidiennement $4 \mu\text{g kg}^{-1}\text{j}^{-1}$ de sélénium pour ne pas être en carence de cet élément.** Au-dessus de cette quantité on peut se retrouver avec un taux de sélénium trop important dans l'organisme qui devient alors toxique. Lorsque le taux de sélénium est insuffisant dans notre organisme, on peut être atteint de **la maladie de kashin-beck** qui est une maladie grave qui atteint les articulations. C'est une forme d'arthrite qui se manifeste par l'atrophie des membres, cette maladie dégrade progressivement le cartilage. Elle atteint habituellement plus les enfants ayant un âge compris entre 5 et 16 ans.

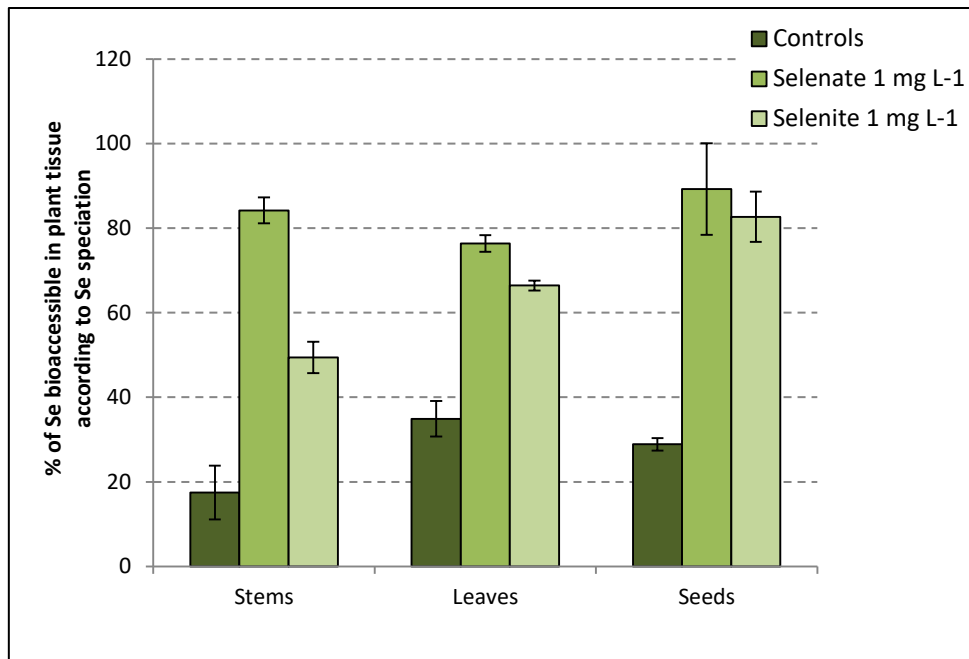


Figure 44 : bioaccessibilité du sélénium après ingestion (Mombo et al 2016)

Dans le cadre de l'évaluation du risque un calcul a été effectué pour évaluer le risque associé à la consommation des aliments issus des zones sélénifères par les personnes habitant à proximité.

L'ingestion journalière de sélénium qui a un effet bénéfique pour l'organise varie entre 40 et 200 $\mu\text{g j}^{-1}$ (Zhang et al. 2014). Dans les zones sélénifères, il est souvent retrouvé de très fortes concentrations en sélénium dans le sol, dans ce cas de très fortes concentrations sont susceptibles de se retrouver dans les plantes qui poussent dans ces zones. Il est possible de calculer les quantités journalières limites d'exposition. Dans l'exemple qui suit, le calcul des quantités journalières limites d'exposition s'est effectué avec une concentration en sélénium égale à 1 mg L^{-1} . Ce calcul est réalisé pour évaluer le risque lié à la bioaccessibilité du Se pour une personne de 65 kg. Le Brésil à la plus forte consommation de maïs au monde par habitant par jour. En effet la consommation journalière de maïs est de 315 g j^{-1} , le cas du Brésil est un bon exemple vu la forte consommation du maïs pour calculer le risque d'exposition au sélénium s'ils cultivaient le maïs qu'ils consomment dans une zone sélénifères ayant une concentration de 1 mg L^{-1} .

Pour cela nous allons utiliser les deux équations ci-dessous

L'équation 1 qui est généralement utilisée pour calculer la quantité journalière en métaux absorbé (Cui et al.2004; Sharma et al. 2009; Swartjes 2011; Okorie et al. 2012). L'équation 2 quant à elle est utilisée pour évaluer la quantité journalière maximale d'aliment pour être exposé ou pas en fonction de la concentration en métal dans le sol.

Équation 1

$$[Element\ journalière] = \frac{[végétal] \times consommation\ journalière}{masse\ kg}$$

Avec :

[Concentration Journalière] : Concentration en sélénium journalière absorbable ($\mu\text{g j}^{-1}$)

[Végétal] : concentration en métaux dans le végétal (mg kg^{-1})

Équation 2

La quantité maximale journalière absorbable pour une exposition réalisée grâce à l'équation suivante

$$[consommation\ journalière] = \frac{[quantité\ acceptable\ journalière]}{[végétal]}$$

Avec :

[quantité acceptable journalière] : Concentration totale de métal journalière acceptable en $\mu\text{g kg}^{-1}\text{j}^{-1}$

[Végétal] : concentration en métaux dans le végétal ($\mu\text{g kg}^{-1}$)

De ces deux équations on obtient le tableau

Tableau 19 : évaluation du risque lié à la bioaccessibilité du sélénium dans une zone avec une concentration de 1 g L⁻¹ pour une personne de 65 kg.

| Spéciation du sélénium | Quantité journalière de sélénium absorbé (µg j ⁻¹) | Quantité journalière tolérable (µg kg ⁻¹ j ⁻¹) | Quantité journalière maximal contenu dans le maïs exposé pour une personne de 65 kg (g j ⁻¹) | Conclusion sur le risque pour la santé humaine |
|----------------------------------|--|---|--|--|
| Séléniate (1mg L ⁻¹) | 247.5 | 4 | 5,1 | Risque pour la santé de personnes vivantes dans cette zone |
| Sélénite (1mg L ⁻¹) | 417.1 | 4 | 3,0 | |

On peut constater que le risque sanitaire calculé est élevé car la personne absorbe par jour une quantité qui est largement au-dessus de la quantité tolérable qui est de 4 µg kg j⁻¹. Ce calcul peut s'effectuer pour plusieurs autres aliments comme, pour le manioc dans la, partie 3.3.3. Ces résultats sont importants car ils permettent de prendre conscience des risques liés à l'absorption d'aliments situés dans des zones à risques (sites et sols pollués ou ayant des anomalies géochimiques positives) et donc de sensibiliser de façon pédagogique les populations au lien entre santé et qualité de l'environnement à travers la qualité des cultures.

A socio-scientific analysis of the environmental and health benefits and potential risks of cassava crops production and consumption in the world

Publication acceptée avec modifications à Environmental Science and Pollution Research

(S-16-01670-1-Mombo 2016)

S. Mombo^{1,2}, C. Dumat^{1,3*}, M. Shahid⁴, E. Schreck⁵

¹Université de Toulouse ; INP, ENSAT, Av. Agrobiopole, 31326 Castanet-Tolosan, France.

²Université de Toulouse ; INP, UPS ; EcoLab; ENSAT, Avenue de l'Agrobiopole, 31326 Castanet Tolosan, France.

³CERTOP, UMR5044, Université Toulouse Jean Jaurès, Maison de la Recherche, 5 allée Antonio Machado, 31058 Toulouse Cedex 9, France.

⁴Department of Environmental Sciences, COMSATS Institute of Information Technology, Vehari-61100, Pakistan.

⁵Géosciences Environnement Toulouse (GET), Observatoire Midi Pyrénées, Université de Toulouse, CNRS, IRD, 14 avenue E. Belin, F-31400 Toulouse, France.

*Corresponding author: PR Camille DUMAT

- UMR5044 – CERTOP, Centre d'Etude et de Recherche Travail Organisation Pouvoir

Address: Université de Toulouse - Jean Jaurès / Maison de la Recherche / 5, allées Antonio-Machado, 31058 TOULOUSE Cedex 9.

- INP-ENSAT, Avenue de l'Agrobiopole, 31326 - CASTANET-TOLOSAN Cédex, France.

Abstract

Due to its high adaptability, cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is one of the world's most cultivated and consumed plants after maize and rice. However, there are relatively few scientific studies on this important crop. The objective of this review was to therefore summarize and discuss the information on cassava cropping in order to promote sustainable practices in terms of production and consumption. Cassava cultivation has been expanding recently at the global scale and is widely consumed in most regions of South America, Africa and Asia. However it is also characterized by the presence in its tubers of potentially toxic hydrocyanic acid. Cassava could also absorb pollutants as it is currently cultivated near roads or factories, and generally without consideration for potential sources of soil, water or atmospheric pollution. Careful washing, peeling and adequate preparation before eating are therefore crucial steps for reducing human exposure to both environmental pollutants and natural hydrocyanic acid. At present there is not enough precise data available on this staple food crop. To improve our knowledge on the nutritive benefits versus health risks associated with cassava consumption, further research is necessary to compare cassava cultivars and precisely study the influence of preparation methods.

Key-words: Cassava crops, sustainable food, pollution, human health, metal (loid) s transfer.

3.3.3 Introduction

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz), a member of the Euphorbiaceae plant family native to South America (Blagbrough et al. 2010), is widely consumed in most African countries for the high starch content of tubers (Srinivas 2007; Addo 2010; Zhu et al. 2015). It is also found in Asia and Australia (Burns et al. 2012). Cassava is highly drought resistant and adapts to different environmental conditions even in poor soils and therefore does not require substantial maintenance for optimal growth (Yaninek and Schulthess 1993; Montagnac et al. 2009; Voko and Zeze 2013). As well as being a staple food, cassava is also used in various industrial applications including biofuels, textiles, paper, adhesives, sweeteners, glues, plywood and many others (Srinivas 2007; Yu and Tao 2009; Li et al. 2015). Its cultivation is increasing worldwide mainly for human consumption: cassava production increased from 230 million tons in 2010 (Zhu et al. 2015) to 277 million tons in 2013 (Latif and Müller 2015) and it is now one of the most cultivated plants in the world (after wheat, rice and maize).

Like other plants, cassava can be exposed to different organic and inorganic pollutants through the soil, atmosphere or water. Persistent trace metals elements (TME) are frequently observed in anthropogenic areas with concentrations above the natural background (González et al. 2015; Mombo et al. 2015b). The fate of these TME in terms of mobility, bioavailability, phyto-uptake and compartmentation in different parts of the plant depends on both their chemical forms (chemical speciation) and compartmentalization (Shahid et al. 2011; Xiong et al. 2014b; Mombo et al. 2015a). Furthermore, in African countries (south of the Sahara), farmers still widely use pesticides and herbicides (Ntow et al. 2006) with little consideration for the environment and health concerns developed by Reach regulation (EC 1907/2006) and food regulations in Europe (Onyedika and Nwosu 2008).

Despite its expansion throughout the world for its crucial role as food, scientific studies on cassava, “the orphaned plant” are scarce. Knowledge regarding the nutritive and health benefits of cassava associated with agronomical practices, environmental pressure and plant cultivars is therefore necessary to develop sustainable cassava crops. Cassava plant characteristics such as the size and shape of the webbed cassava leaves, soil-plant and atmosphere-plant transfer of nutrients and pollutants, and its natural toxicity vary considerably according to the plant cultivar (Xiong et al. 2014a). Increased awareness at the global scale of

farmers and citizens of the factors that affect the quality of consumed crops, and more precisely cassava, is therefore a crucial health and environment issue (Lichtfouse et al. 2009; Huang et al. 2015; Mombo et al. 2015b). Food intake is actually one of the primary routes of human exposure to pollutants (Xiong et al. 2014a; Mombo et al. 2015b) and agriculture is an important vector for sustainable development (Ntow et al. 2006).

The objective of this review focused on cassava is to provide information on the plant quality and its uses in the world in order to highlight the opportunities and gaps of its cultivation and to promote its sustainable development. This review highlights (i) the global characteristics of cassava cultivars, (ii) its interests for human nutrition, and (iii) its potential health risks due to its chemical composition.

3.3.4 Part I: Global characteristics of cassava and its interest for human nutrition

3.3.4.1 Characteristics, origins and production areas in the world

Cassava is a perennial woody shrub of the Euphorbiaceae family with enlarged tuberous roots (Addo 2010). This annual plant multiplies by woody cuttings and its growing cycle varies from six to 24 months or more depending on weather conditions, altitude and soil characteristics (Bellotti and Arias 2001). It varies in size between 1 and 2 m high (Figure. 45) with opposed and large webbed leaves containing three to seven lobes hung on a spotty stem (Figure. 45). Cassava roots or tubers vary in number, in an oblique direction in the soil and are 40 cm to 2 m in length (Figure. 45 & 47). According to Dórea (2004), more than 5000 varieties of cassava are registered in the world. This is why differences in cassava quality in terms of nutrient and pollutant contents can occur depending on the cultivar considered. Thus the name of the studied cultivar should always be included in scientific publications.

Cassava is native to South America and according to Soccol (1996), it already existed for over 2700 years before Jesus Christ. It was domesticated by the people living along the borders of the Amazon, where it was widely cultivated for over 3000 years (Olsen and Schaal 1999). The Aruak people whose name in their native language means 'people who eat the tubers' cultivated cassava many centuries before the arrival of Christopher Columbus (Schmidt 1951). The most important reason for which they migrated was to search for the best soils for growing cassava (Nassar, 1978).

There are 98 wild species of cassava, 38 of which are found in Brazil (Nassar 1978). Wild strains of cassava have several geographical origins in the vast region of South America (Sauer 1952). Cassava was introduced to Africa in the 16th century, and from Africa to Asia in the 17th or 18th century (Pandey et al. 2000). Currently, it is cultivated in tropical and subtropical countries of America, Africa and Asia. In Africa, it is now cultivated across an extensive area, referred to as the “cassava belt” (Bellotti and Arias 2001). Particularly, in Africa and South America, the area allocated to cassava culture is increasing rapidly. Over the last thirty years, the area for cassava crops doubled and is expected to increase (Burns et al. 2010), it was already cultivated over an area of more than 19 million hectares in 2010 (Zhu et al. 2015). Depending on the country and language, it has many different names: cassava (in English-speaking countries in Africa), Timba (Gabon), Bankye (Ghana), Agbeli (Togo), Mandioka (Gambia), Tapioca (Malaysia, Indonesia, India, Pacific countries) (Pandey et al. 2000), Manihot or Mandioca (Latin America), Mafilinapaka (Malagasy Republic).

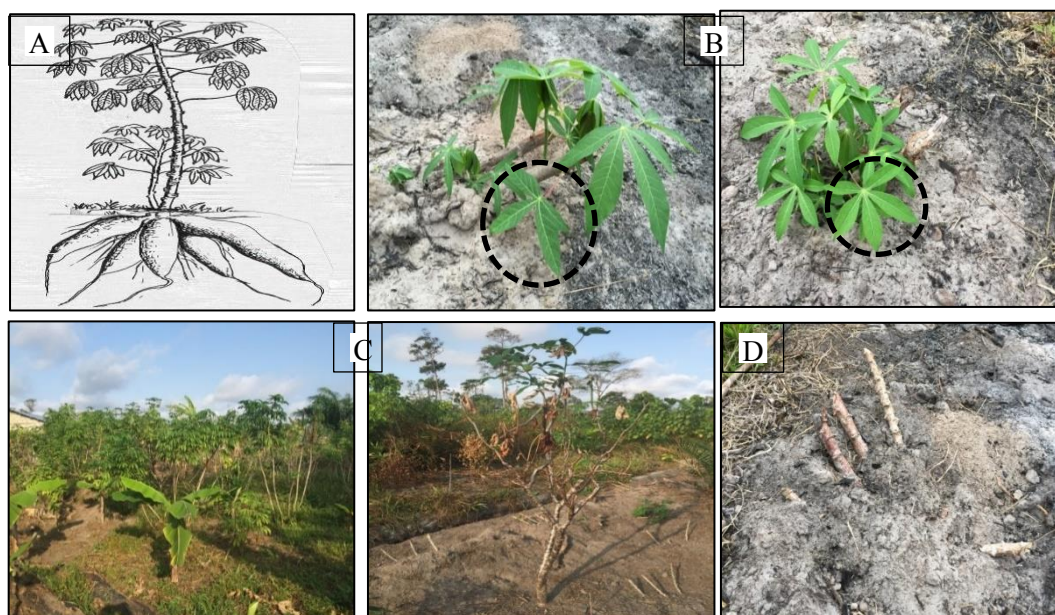


Figure 45 :

- (A)** Overview cassava, Overview cassava,
- (B)** webbed leaves with four lobes and with five lobed webbed leaves,
- (C)** Overview of cassava cultivated in the field; different sizes for cuttings planted at the same time,
- (D)** Cassava cuttings stored in the ground after two weeks of growth. Credit photo from S.MOMBO (Libreville-Gabon, 2015).

Global cassava production increased to around 230 million tons per year in 2009-2010 (Zhu et al. 2015). Its production reached 276.7 million tons in 2013 (Latif and Müller 2015). It is expected that the annual production of cassava may increase to 291 million tons by 2020 (Scott et al. 2000). Currently, more than 105 countries in the world are cultivating and producing cassava (Figure. 48). Of the total cassava production, Africa accounts for 51.3%; Asia 29.4%; and Latin America 19.3% (Bellotti et al. 1999). Thailand is the main cassava-producing country (in terms of quantity) with approximately 40 million tons per year and 60 to 70% is generally for own consumption. Nearly, 50% of annual production of cassava roots is used to extract millions of tons of starch. Nigeria is the largest producer of cassava in terms of crop area, and areas used for growing cassava tripled from 1960 to 1999 (IFAD;FAO 2005). In India, the deficit area to meet the demand is estimated at over 750 000 ha (Kolind-Hansen and Brimer 2010). Nigeria produces more than one third of Brazil and almost double the capacity of Thailand and Indonesia (Oduwaye et al. 2014), this figure is expected to double in 2020. Other central African countries such as Gabon, Cameroon, and Congo are also showing increasing interest in the production and processing of cassava tuber starch. But, despite its immense importance in the developing world, cassava has always received less attention from researchers compared with other crops, which has earned for it the status of orphan crop (Olsen and Schaal 1999).

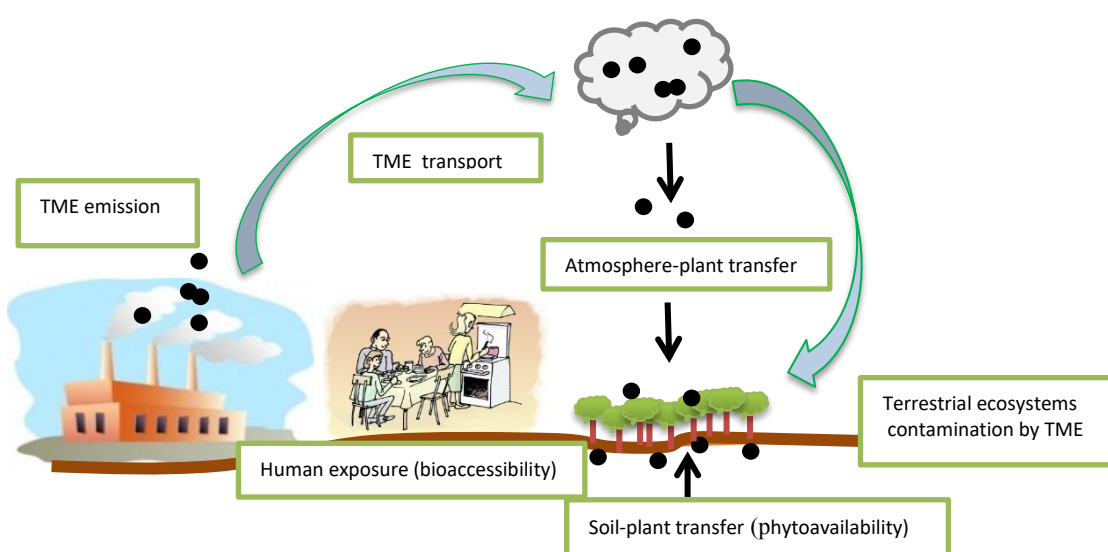


Figure 46 : General pathways for pollutant transfer in soil-plant-atmosphere systems

Cassava tubers are consumed by over 500 million people living in the tropics and below the Sahara (Best and Henry 1992; Ano et al. 2013), and nearly one billion people in the world (Sajid and Joachim 2014). Approximately, 57% of cassava tubers are used for human consumption, 32% for animal feed and industrial purposes, and 11% is waste (Bellotti et al. 1999). The cassava tuber is part of the main staple foods in Sub-Saharan Africa (Tsegai and Kormawa 2002). In some rural areas in Ghana, the annual cassava consumption is estimated at 153 kg per year (Adjei-Nsiah and Owuraku 2012), which shows the importance of this food for populations in some parts of the world. In Malawi, cassava consumption increased from 22 g per capita per day in 1990 to 282 g per capita per day in 2005 (Table. 20), while maize consumption decreased over the same period from 345 to 316 g per capita per day (Cañigüeral and Vanaclocha 2010).

Tableau 20 Daily per capita consumption in 2005 of fresh and dried cassava. Countries are classified from the highest to the lowest quantities consumed. (Cañigüeral and Vanaclocha 2010)

| Country | Consumption (g) |
|------------------------------|------------------------|
| Angola | 787 |
| Mozambique | 680 |
| Democratic Republic of Congo | 653 |
| Congo | 637 |
| Ghana | 546 |
| Liberia | 390 |
| Thailand | 383 |
| Tanzania | 373 |
| Guinea | 352 |
| Central African Republic | 347 |
| Uganda | 328 |
| Benin | 323 |
| Nigeria | 294 |
| Malawi | 282 |
| Togo | 274 |
| Madagascar | 252 |
| Cote d'Ivoire | 237 |
| Cameroon | 233 |
| Indonesia | 146 |
| Brazil | 105 |

3.3.4.2 Consumption modes, advantages and natural risks for human nutrition around the world

According to [Cock \(1985\)](#), cassava is one of the main sources of carbohydrates around the world, after having been converted into Gari, Garri kpokpo, flour, Foofo or Miondo (Figure. 38): different names given to cassava flour in various areas of the world ([Horsfall et al. 2006](#)). Cassava tuber is the fourth most important source of sugar from carbohydrates in the tropics after rice, corn and sugar cane ([Blagbrough et al. 2010](#)). Indeed, cassava tubers are an excellent source of cheap calories for many countries: they represent 50 to 80 % of all calories consumed in some African countries ([Nassar and Dorea 1982](#)). The tubers of fresh cassava mainly consist of carbohydrates (85-90 %), suggesting a high calorific content and provide about 125 to 140 Kcal per 100 g of fresh cassava. Table 21 shows daily energy intake from cassava consumption in three countries: Angola, Tanzania and Brazil. Cassava contributes approximately 1039 calories per day which is a significant proportion of energy for the proper functioning of the body and health. Daily energy intake in different countries is closely correlated to the amount of cassava consumed per day as shown in (Table. 21). Daily energy intake in Brazil is almost nine times lower than in Angola and four times less than in Tanzania. This finding confirms that cassava is an important source of carbohydrate intake for low-income countries and for people lacking in resources ([Nassar and Dorea 1982](#)). Cassava crops contain more calories per hectare than rice and sorghum. A study by ([Fao and Ifad 2005](#)) showed that in several African countries cassava provides 600 kcal per person per day. In the Congo, in the late 1990s, many families ate cassava for breakfast, lunch and dinner. Cassava contributed more than 1000 calories per person per day ([Fao and Ifad 2005](#)). It is a staple food for many countries in Africa, south and central west America, south-east Asia and India ([Zhu et al. 2015](#)). Moreover, even if the cassava stems are not currently used for cooking, ([Zhu et al. 2015](#)) showed that cassava stems contain a large amount of starch that can be extracted and used. They observed that 87% of industrial starch used from cassava roots could come from the stem that is not consumable.

Table 21 : Energetic contribution of cassava

| Countries | Daily intake of cassava (g d ⁻¹) | Carbohydrate content in cassava (%) | Maximum daily carbohydrate intake of cassava tubers for an adult (g d ⁻¹) | Daily calorie intake (cal d ⁻¹) |
|-----------|--|-------------------------------------|---|---|
| Angola | 787 | 33 | 259.71 | 1038.84 |
| Tanzania | 373 | 33 | 123.09 | 492.36 |
| Brazil | 105 | 33 | 34.65 | 138.6 |

Cassava products (for example chikwang, gari or flour) (Figure. 47) are long-lasting, so they are naturally available throughout the year. The prices of these cassava foods are lower than those of other basic foodstuffs such as rice, maize, sorghum and millet which makes it an important food for the lowest social classes (Zhu et al. 2015). In addition, some studies carried out on the nutritional values (especially proteins) of cassava products showed that transformation into flour or by incorporating some fungus in the transformation process, may increase the protein amount due to the action of fungi (Table. 22) or microorganisms (Oboh and Akindahunsi 2003). For these reasons, the demand for cassava products continues to increase regularly at the global scale. Additionally, the demand from Europe for starch, cassava chips and cassava flour is still growing. In Brazil, 70 to 80 % of cassava production is devoted to the manufacture of flour. Once harvested, cassava deteriorates quickly (one or two days), so it must be quickly eaten or treated (Ceballos et al. 2004).



Different cassava products (gari, tuberous roots and chikwang).

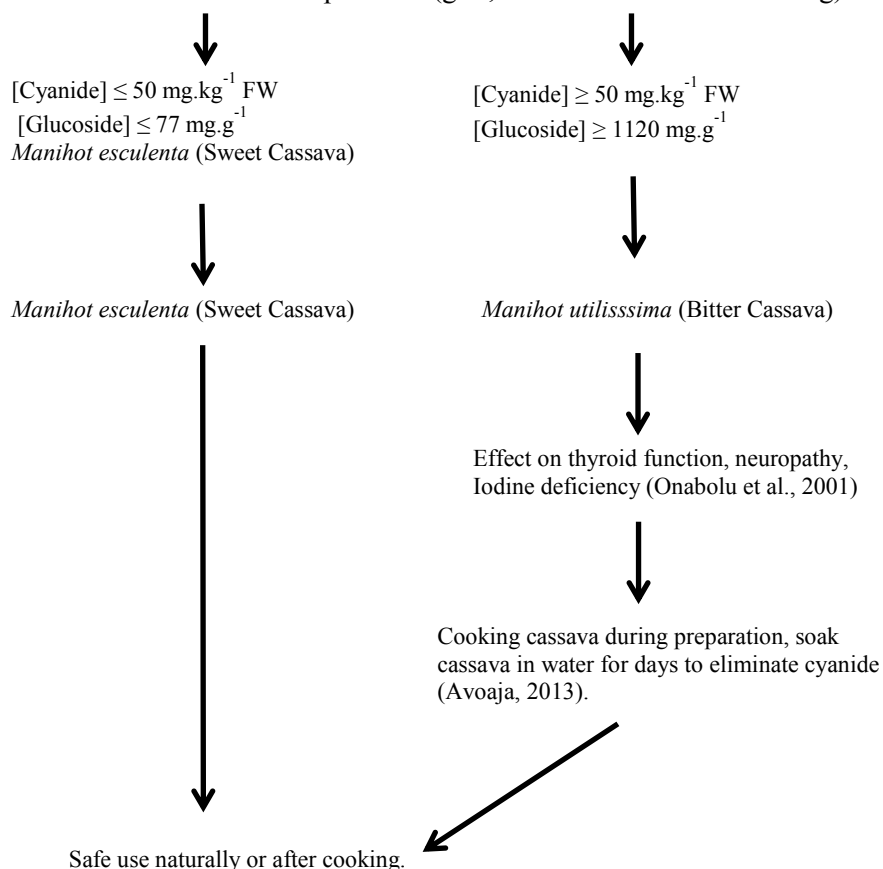


Figure 47 : Cassava preparation before consumption to avoid the risk of exposure to cyanide

Cassava tubers are high in carbohydrates, but contain only low amounts of lipids and proteins (Avoaja 2013; Nassar and Dorea 1982; Ngudi et al. 2002). Thus, consumption of cassava tubers must be associated with other food enriched in proteins and fat to provide a balanced diet. Cassava leaves, however, do contain high amounts of proteins and are an important part of the diet available throughout the year in several countries of the world (Moyo et al. 1998). Crude protein content in cassava leaves typically ranges from 20 % to 30 % dry weight (Gomez and Valdivieso 1984; Montagnac et al. 2009). In central Africa, and specifically in Congo and Gabon, cassava is therefore considered a complete diet because the tubers are used for “bread” as an important source of glucose, and protein-rich leaves are considered “meat” (Achidi et al. 2005). Combined consumption of both tubers and leaves is therefore a sustainable balanced diet that could be further widely developed in other countries of world.

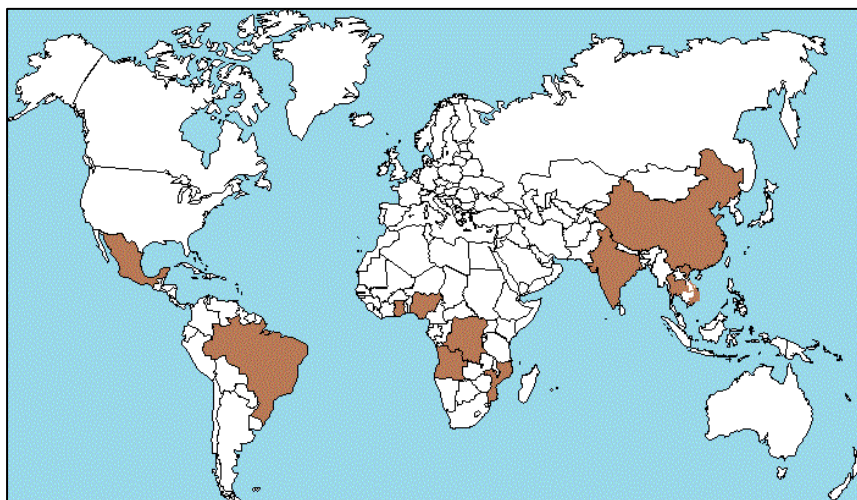


Figure 48 : Cassava producer countries around the world in 2015. Countries that produce cassava are in brown

Another important characteristic of cassava plants is the presence of potentially toxic hydrocyanic acid in its tubers depending on the cultivar. Cyanogenic glycoside toxin is naturally found in cassava roots (and also in fresh bamboo shoots), making it essential to cook them prior to canning or consumption. There are two main types of cassava: (i) sweet cassava (*Manihot esculenta*) with a cyanide content of less than 50 mg per kilogram fresh weight and (ii) bitter cassava (*Manihot utilissima*) with greater than 50 mg of cyanide per kilogram (Figure. 47).

According to [Dórea \(2004\)](#), the bitter cassava variety has a much higher concentration of glucosides (between 320 and 1120 mg.g⁻¹) than the sweet variety (range 27 to 77 mg.g⁻¹) (Figure. 47), it's why the two types of cassava are currently consumed by the populations. But, due to toxicity of cyanide, several cases of irreversible leg paralysis especially in children have been observed in Mozambique, Tanzania, Congo and Cameroon and possibly other countries of tropical Africa. In addition to a bitter taste, cyanogenic glucosides such as lotaustralin and linamarin can be toxic. The linamarin glucoside, 2- (β-D-glucopyranosyloxy) isobutyro nitrile, can be broken down by microbial flora in human intestines and can promote the release of hydrogen cyanide ([Kamalu 1995](#); [Carlsson et al. 1999](#)). Few cases of acute intoxication leading to death were also observed ([Cañigueral and Vanaclocha 2010](#)).

Tableau 22: Percentage of protein in Flour and Gari after transformation of cassava and Mineral composition of fermented cassava products (ppm dry weight). (Oboh and Akindahunsi, 2003)

| Sample | Flour | | Gari | |
|---------------------|-------------|-----------|-------------|-----------|
| | Unfermented | Fermented | Unfermented | Fermented |
| Protein | 14.4±0.1 | 10.9±0.1 | 3.6±0.1 | 4.8±0.1 |
| Fat | 3.6±0.1 | 4.5±0.2 | 2.6±0.2 | 34.1±0.3 |
| Crude fibre | 3.8±0.1 | 3.2±0.1 | 4.3±0.4 | 2.8±0.1 |
| Carbohydrate | 85.7±0.1 | 77.9±0.3 | 87.2±0.2 | 13.8±0.1 |
| Ash | 2.1±0.1 | 3.5±0.1 | 1.9±0.2 | 30.8±0.1 |
| | | | | |
| Zn | 13.1±0.1 | 4.9±0.2 | 5.8±0.1 | 4.8±0.1 |
| Mg | 43.4±0.2 | 32.4±0.2 | 27.7±0.5 | 34.1±0.3 |
| Fe | 26±0.4 | 2.2±0.1 | 2.3±0.1 | 2.8±0.1 |
| Ca | 61.6±0.7 | 11±0.1 | 16.7±0.2 | 13.8±0.1 |
| Na | 43.8±0.3 | 29.6±0.2 | 51.4±0.3 | 30.8±0.1 |
| K | 49.8±0.4 | 38.4±0.3 | 55.6±0.4 | 36.9±0.1 |

According to [Dórea \(2004\)](#), amazonian indigenous people have developed appropriate technologies that allow them to consume large quantities of these cassava tubers throughout their lives without ever having any discernible adverse effects. However, studies in Africa have shown that high consumption of cassava in poor areas was strongly associated with endemic neuropathy, and also an increase in iodine deficiency disorders ([Onabolu et al. 2001](#)). Hydrocyanic acid can be removed by baking or by fermentation in water for a certain period before processing ([Avoaja et al. 2013](#)). Baking sweet cassava reduces the cyanide content to non-toxic levels. However, bitter cassava contains more toxins and should be prepared and cooked properly before being consumed. Soaking grated cassava roots in water for a prolonged

period leaches cyanide and reduces toxin levels. Cooking further detoxifies the roots before consumption.

3.3.4.3 Cropping practices

Cassava crops provide good yields even on poor lands (Voko and Zeze 2013). It can also be cultivated in extreme weather conditions such as high rainfall, or extreme drought (Voko and Zeze 2013). In Africa, it is mainly cultivated in forest and savanna areas, using indigenous agricultural methods. The soil receives little preparation and sometimes it is just cleared by burning. Cassava can withstand important temperature variations between 16 and 38 °C allowing its culture in a wide diversity of ecosystems (Keating and Evenson 1979; Cock 1985). However the ideal annual temperature for growth and optimal production was reported to be between 25 and 29° C (Conceicao 1979), between latitudes 30° N and 30° S and levels up to 1800 m above sea level (Ceballos et al. 2004) and germination and yield decrease below 20°C (Keating and Evenson 1979). Cassava can also withstand wide pH variations between 4.5 and 8 as observed by Islam et al. (1980). Although it has few water requirements for optimum production, rainfall should generally be above 700 mm per year (El-Sharkawy et al. 1992).

Cassava crops are easy to maintain and requires only two to three weedings per year. Cassava requires very little or no fertilizer. During its early stage of growth, it can be associated with other crops such as corn, peanut, sesame, millet or beans (Isabirye et al. 2007). Cassava is an annual plant but cassava tubers can remain in soil for several months after ripening without degradation. The tubers can be stored in the ground for several additional months making it an accessible food almost throughout the year. Some cassava varieties can mature after six months and few varieties can mature after a year for cuttings planted at the same time (Isabirye et al. 2007). All these characteristics of cassava explain its increased expansion at the expense of other crops such as maize, yam or taro that require much more work and nutrients in the soil (Zhang et al. 2003). However, the fact that cassava can be grown even on poor soils will tend to favor its expansion reducing plant biodiversity in these areas (Oshunsanya 2016). Finally, from a global food sustainable point of view, it appears optimal for poor populations to produce a part of their food just near the areas where they live. Cultivation of cassava can be an important and sustainable practice in this regard.

3.3.4.4 Other uses

Cassava is also now used for ethanol production. Approximately 280 liters of 96% pure ethanol can be produced from one ton of cassava, with a starch content of 30 %. Several studies have shown the superiority of cassava over maize for biofuel production (Zhang et al. 2003; Dai et al. 2006). Other studies have concluded that ethanol from cassava was significantly better in terms of energy efficiency than that produced from maize (Jakrawatana et al. 2015). Ethanol production from cassava is about 6717 L ha⁻¹ compared to 3880 L ha⁻¹ for corn (Ziska et al. 2009). Cassava also needs much less inputs and water than maize (Dai et al. 2006). There are also several other useful cassava products such as confectionery, sweeteners, glues, plywood, textiles, paper, biodegradable products, monosodium glutamate and drugs (Braide and Adetoro 2013; Igbiosa 2015; Tonukari et al. 2015). In the textile industry, starch is used for sizing cotton yarn before weaving. Maize starch is the major competitor of cassava starch during sizing (Srinivas 2007). Because of its good adhesive properties, cassava starch has become an important raw material in the adhesives sector.

3.3.5 Part II: Cassava contamination, phytotoxicity and consequences on human health.

3.3.5.1 II-1. Plant contamination by metallic trace elements and phytotoxicity

3.3.5.1.1 II-1-a) General information on cassava plant contamination

Even though cassava is a staple food crop in many countries, very few studies have investigated cassava contamination and the impacts on plants and consumers. The majority of cassava is directly consumed or sold by small producers in countries where environmental-health regulations are much less well developed than in Europe. Although, soil or atmospheric pollution and transfer to ecosystems have been well documented for numerous commercialized plants, cassava crops are not extensively studied. In this section, we will describe how pollution can affect cassava crops and the potential risks using information from available publications.

Several sources of pollution such as cement factories, battery recycling factories, industries, agriculture and road traffic can be major causes of environmental contamination by TME in the areas where large cassava crops are grown (Kalafatoğlu et al. 2001; El-Abssay and Hassanien 2011; Schreck et al. 2011; Goix et al. 2015; Austruy et al. 2016). Lead, cadmium, mercury, arsenic and antimony are (eco) toxic TME currently observed in the environment

worldwide (Shahid et al. 2015a). Several TME such as Al, Be, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb and Zn, among others, have been identified in fallouts from cement plants in several African countries located near cassava fields (Schuhmacher et al. 2002). Figure 19 illustrates the general pathway of pollution transfer from atmospheric fallouts and the facts discussed in this review: contamination of cassava, phytotoxicity and human bioaccessibility. Actually, when TME polluted cassava is eaten by animals or humans, it may cause severe health problems (Demir et al. 2005). Serious systemic health problems can result from excessive dietary accumulation of heavy metals such as Cd and Pb in the human body (Oliver 2008).

3.3.5.1.2 II-1-b) Soil-cassava transfer of metal (loid) s and consequences on pollutant accumulation in the plant.

Kalagbor and Opusunju (2015) reported high levels of heavy metals (Ni, Zn, Cu, Pb and Fe) in cassava and plantain compared with FAO/WHO recommended values from farmlands in Kaani and Kpean, Nigeria. Hart et al. (2005), also found higher concentrations of Pb, iron (Fe), Cu and Zn in five crops (Cassava, Cocoyam, Okro, Pumpkin and Water Leaf) harvested from areas with high industrial activity compared to the non-industrialized area of Port Harcourt city in Nigeria. Similar studies carried out by (Nkwocha et al. (2011) revealed heavy metal concentrations higher than the permissible WHO value in tuber crops (cassava, plantain and cocoyam) cultivated in farmland around the Elelebu Oil flow station in Bayelsa state, Nigeria.

Idodo-Umech and Ogbeibu (2010) also reported that heavy metal concentrations in cassava tubers grown in petroleum impacted soil Olomoro (south local Government Area, delta State Nigeria) were significantly higher than in those grown in reference non impacted soils. In addition, few publications examined the use of cassava as bio accumulator and their results are quite contrasting. For example, the study from Idodo-Umech and Ogbeibu (2010) concluded that cassava could be considered as bioaccumulator for some metals such as Fe, Zn, Pb and Mn. They reported that the concentrations of these metals in cassava tubers grown in petroleum impacted soil were significantly higher than those in the soil, that the metal concentrations in the cassava strongly depended on the concentration in the soil and that the concentrations varied between the different parts of the plant as observed by (Mombo et al. 2015a). Similarly Křibek et al. (2014) also reported higher concentrations of various metals (Cu, Co, Zn, As and Pb) in cassava leaves than in stems and tubers. Concentration of these metals in leaves was also higher than their concentrations in the soil.

In contrast (Adjei-Nsiah and Owuraku 2012) concluded that metal concentrations in cassava leaves were lower than in the soil. They suggested that cassava leaves falling on the soil enrich the soil with nitrogen, phosphorus and metals during their biodegradation by microorganisms.

3.3.5.1.3 II-1-c) Atmosphere-cassava transfer of metal (loid) s and consequences in terms of pollutant accumulation in the plant.

Another, sometimes very significant, way for plant contamination is the atmosphere-plant transfer of metals (Mombo et al. 2015b). Actually, atmospheric transfer is very important for phyto-accumulation of metals when plants are exposed to fallout such as fine particles enriched with metals. Indeed, Xiong et al. (2014a) measured 310 mgPb.kg⁻¹ (dry weight) in parsley which had only been exposed to a contaminated atmosphere.

Considering that that in many countries cassava leaves are consumed for their protein content, and that these are also frequently exposed to aerial metal contamination (factories, roads...), it is important to increase our knowledge on cassava quality in relation to environmental characteristics. This means studying both the soil and atmosphere quality. High concentrations of metals in cassava leaves consumed in several parts of Africa and Asia (Achidi et al. 2005) can be due to high atmospheric pollution in these areas. Studies in this area also showed that metal concentrations in the leaves were decreasing in the rainy season and increasing in the dry season (Chukwuma 1995). The problem of air pollution by particulate matter containing heavy metals (anthropogenic: motor vehicles, biomass, fossil fuel burning and natural sources: windblown soils and sea spray) has become a threat to plant quality (Bilen 2010; Xiong et al. 2014a; Leveque et al. 2014). Atmosphere-plant transfer depends on the plant species and leaf area; this should be of major concern because of the potential risks to local inhabitant health (Adriano 2001). The main source of environmental contamination in regards to cement production is related to the emission of dust and gas (Bilen 2010; Hindy et al., 1990). Several recent studies concerning TME transfer in plants and their human bioaccessibility have revealed serious risks associated with growing food crops in areas of high atmospheric micronic and sub-micronic particle pollution (Uzu et al. 2009; Mombo et al. 2015a). Edori et al. (2015) reported that automobile exhaust emissions and roadside sediments (due to high heavy metal contents in soil) are the most likely sources of heavy metals in gari.

3.3.5.1.4 II-1-d) Phytotoxicity

Excessive accumulation of heavy metals in plants via root (soil-plant) or foliar (atmosphere-plant) uptake was reported to induce a range of toxic effects which can be biochemical, physiological or morphological (Shahid et al. 2015b). These effects include reduced seed germination, root elongation, biomass, and inhibition of chlorophyll biosynthesis (Pourrut et al. 2011; Austruy et al. 2014). Heavy metals phytotoxicity in plants depends on numerous physiological and molecular functions of the metal and crop, such as: (i) uptake and binding to root exudates and cell wall constituents (ii) chelation and complexation of metal ions by various substances such as phytochelatins, glutathiones, metallothioneins, amino acids and organic acids, and (iii) activation of plant defense systems for proper functioning of metabolic pathways (Shahid et al. 2013). Actually, very little data are available regarding the effect of heavy metals on cassava.

As many high yielding, disease-resistant varieties of cassava have been developed in Africa, Ano et al. (2013) evaluated the effect of three heavy metals (Ni, Pb and Cd) applied at four rates (0, 100, 200 and 300 mg kg⁻¹) on five improved cassava varieties (TMS 97/2205, TMS 98/0510, TME 419, TMS 98/0505 and TMS 98/0581) (Table. 23). They observed that heavy metals significantly reduced sprouting, root weight, root length, stem girth, and dry matter yield of the cassava. They concluded that the reduced germination and growth of cassava exposed to the metals was related to reduction of water absorption by the roots (Table. 24). Indeed, metals are well known to physiologically block the absorption of water during seed germination and plant growth (Azmat et al. 2006). They also reported that the effect and extent of the influence of the heavy metals varied with cassava variety and metal type. A steady reduction in the number of cassava leaves on the four varieties exposed to Cd and Ni at 100 and 300 mg respectively was also observed. Whereas, Pb exposure had no effect on the number of cassava leaves at these same concentrations (Table. 24). Similarly, Ryser and Sauder (2006) observed a delay in the growth of *Hieracium pilosella* L, decreased leaf numbers, and also a decrease in life duration after exposure to the TME.

Tableau 23 : Effect of TME (Cd, Ni and Pb) on percentage sprouting of cassava on five different cassava varieties (TME 419, TMS 98/0505, TMS 98/0510, TMS 98/0581 and TMS 97/2205). (Ano et al. 2013)

| Percentage sprouting of cassava (%) | | | | | | | | |
|-------------------------------------|---|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------|-------|
| Metal | Rate of application (mgkg ⁻¹ soil) | Cassava variety | | | | | Mean (%) | SE |
| | | TME 419 | TMS 98/0505 | TMS 98/0510 | TMS 98/0581 | TMS 97/2205 | | |
| Cd | 100 | 100 | 66.7 | 100 | 66.7 | 66.7 | 80 | 8.6 |
| | 200 | 66.7 | 100 | 100 | 100 | 100 | 3.4 | 20.36 |
| | 300 | 66.7 | 100 | 66.7 | 100 | 66.7 | 2.4 | 40.82 |
| Ni | 100 | 100 | 33.3 | 33.3 | 100 | 66.7 | 66.7 | 14.66 |
| | 200 | 100 | 100 | 0 | 100 | 66.7 | 2 | 28.93 |
| | 300 | 100 | 100 | 33.3 | 100 | 0 | 1 | 46.59 |
| Pb | 100 | 66.7 | 100 | 33.3 | 100 | 33.3 | 3.8 | 14.66 |
| | 200 | 100 | 100 | 66.7 | 100 | 0 | 4 | 28.93 |
| | 300 | 100 | 66.7 | 33.3 | 100 | 33.3 | 66.7 | 44.64 |

Tableau 24 : Effect of TME (Cd, Ni and Pb) on number of cassava leaves per plant. (Ano et al. 2013)

| Number of cassava leaves plant | | | | | | | | |
|--------------------------------|---|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|-------|
| Heavy metal | Rate of application (mgkg ⁻¹ soil) | Cassava variety | | | | | Mean | SE |
| | | TME 419 | TMS 98/0505 | TMS 98/0510 | TMS 98/0581 | TMS 97/2205 | | |
| Cd | 100 | 1 | 7 | 3 | 5 | 0 | 3.2 | 17.71 |
| | 200 | 1 | 5 | 3 | 6 | 2 | 3.4 | 35.9 |
| | 300 | 3 | 3 | 2 | 4 | 0 | 2.4 | 54.34 |
| Ni | 100 | 3 | 6 | 2 | 4 | 5 | 4 | 17.54 |
| | 200 | 4 | 2 | 0 | 3 | 1 | 2 | 36.15 |
| | 300 | 1 | 3 | 0 | 2 | 0 | 1 | 54.55 |
| Pb | 100 | 4 | 5 | 3 | 5 | 1 | 3.8 | 17.58 |
| | 200 | 4 | 4 | 4 | 1 | 2 | 4 | 35.79 |
| | 300 | 2 | 6 | 2 | 0 | 4 | 4 | 55.98 |

3.3.6 II-2. Risks of consuming cassava grown in polluted areas and natural cassava toxicity.

3.3.6.1 II-2-a Risks of consuming cassava grown in polluted areas

In a recent study carried out in the Nigerian city of Port Harcourt, [Edori et al. \(2015\)](#) reported that in gari (cassava powder) sold on the roadside concentrations of Fe, Zn, Cd and Cr were higher than the daily doses of trace metals allowed in food by the Food and Agriculture Organization (FAO). For example, the Fe concentration (39.8 mg kg^{-1}) was more than twice the daily allowable dose of the FAO (15 mg d^{-1}). The concentrations of Cd and Cr (respectively 0.04 and 0.14 mg kg^{-1}) were also higher than the FAO recommended daily concentrations for these two elements (1.5 mg d^{-1}). Cd and Cr also showed high bioaccumulation factors (respectively 26 and 93), certainly responsible for significant damage to human health ([Edori et al. 2015](#)).

Human exposure to heavy metals can occur through several pathways ([Uzu et al. 2014](#)), but the main way remains food consumption ([Xiong et al. 2014](#)). Human exposure and the health impacts of cassava ingestion may essentially depend on the mode (tuber, powder, etc.) of cassava consumption, the quantities consumed, and the considered geographic zone, that is to say the local context of culture contamination. Cassava consumption largely differs worldwide, especially depending on the considered countries and regions. In the present review, we have focused on cassava consumption as tubers in Africa (Nigeria), as the main way of potential human exposure to TME. Most of the studies on cassava contamination by TME reported an accumulation of Cd, Pb and Zn, therefore we have chosen Pb, Zn, and Cd as examples for exposure calculations and a risk assessment.

In order to assess the impact of metal pollutants on human health after cassava ingestion, **daily intake (DI, $\mu\text{g d}^{-1}$)** can be estimated from the measured TME concentrations in plant tissues. The following equation (Eq. 1) is generally used to calculate the daily intake of metal ([Cui et al. 2004](#); [Sharma et al. 2009](#); [Okorie et al. 2012](#)):

Daily intake of metal (DI, $\mu\text{g kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$) = cassava metal concentration ($\mu\text{g g}^{-1}$ of FW) \times daily cassava consumption (g per day) / body weight (kg) (Eq. 1)

In order to calculate a possible DI of Pb, Cd and Zn in cassava, we considered the concentrations of these metals reported by [Onyedika and Nwosu \(2008\)](#) in Amaonye, Nigeria (0.08 , 1.890 and

1.070 $\mu\text{g g}^{-1}$ of DW respectively for Pb, Zn and Cd). Heavy metal concentrations per DW were converted into concentrations per Fresh Weight (FW): (percentage of dry matter in the sampled plant tissue) \times (average water content at 25 % for cassava tubers) (Hoover 2001). The average daily consumption of cassava per person may vary depending on the considered country (Table 1). Generally, in Africa, the mean daily intake of cassava is approximately 294 g per capita per day as for example in Nigeria (Cañigüeral and Vanaclocha 2010). However, those values decrease highly in Europe as flour and chips consumption (Kolind-Hansen and Brimer 2010). Average body weights in Nigeria are estimated as 64 kg for women and 72 kg for men (Ehimwenma and Tagbo 2011). So, an average of 68 kg of body weight for an adult in Nigeria was then chosen for risk assessment.

The determined DI values were then compared to Tolerable Daily Intake (TDI, $\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$) expressed as the quantity of metal ingested each day (μg) as a function of kg body weight. The TDI values were established by the Canada Health Report (2012) at 100, 15000 and 0.5 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ respectively for Pb, Zn and Cd.

The maximum daily quantities of cassava consumed in Africa to reach the TDI for each TME can therefore be calculated with Eq. 2:

Daily cassava consumption (kg plant per kg body weight and per day) = TDI ($\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$) / cassava metal concentration ($\mu\text{g kg}^{-1}$) (Eq. 2)

The maximum quantity of cassava contaminated by TME (i.e. Pb, Zn and Cd in Nigeria) that can be consumed daily without exceeding the TDI is given in (Table. 25). The results showed that there is no risk associated with cassava consumption for Pb and Zn in this area. However, the consumption of 294 g d^{-1} of cassava contaminated with Cd could be responsible for health damages in this area. This is because the maximum quantity of Cd-exposed cassava tubers which can be safely consumed by an adult of 68 kg is less than 1.9 g d^{-1} . Cadmium is classified as a type I carcinogen species by the International Agency for Cancer Research (Souza-Arroyo et al. 2012) especially because of its high bioaccumulation (Xiong et al. 2014a; Mombo et al. 2015b). Another study reported increasing mortality of populations living in Cd-polluted areas (Iwata et al. 1992). This shows that high care should be taken in case of Cd due to its high bioavailability and toxicity (Valko et al. 2015). Thus, these results suggest possible exposure and toxicity for people who consume cassava grown in the vicinity of mining areas, recycling factories or also roads (Xiong et al. 2016).

Tableau 25 : Calculated maximum daily quantities of cassava tuber exposed to metals (g d⁻¹, dry weight) that can be consumed without exceeding the TDI.

| Metal | Daily intake of cassava (g d ⁻¹) | Daily intake of metals (DI, µg kg ⁻¹ d ⁻¹) | Tolerable daily intake (TDI, µg kg ⁻¹ d ⁻¹) | Maximum daily quantity of cassava tubers exposed to metal for an adult of 68 kg (g d ⁻¹) | Conclusions: risks for human health? |
|-----------|--|---|--|--|--------------------------------------|
| Pb | 294 | 0.09 | 100 | 5000 | None |
| Zn | 294 | 2.04 | 15000 | 31746 | None |
| Cd | 294 | 1.16 | 0.5 | 1.9 | Yes, high risk |

3.3.6.2 II-2-b natural cassava toxicity

Although cassava is a food with many nutritional benefits, it can also be detrimental to human health as explained by [Onabolu et al. \(2001\)](#): out of 1272 individuals living in different parts of Nigeria where the staple food is cassava, more than 60% had high thiocyanate concentrations (certainly originated from cyanide in bitter cassava). Cyanide is a highly effective poison for animals, insects and plants. More than 2000 plants use cyanide to protect against marauding animals and insects ([Jones 1998](#)). These plants, such as cassava produce a glucoside then cyanogen, enzyme catalyzed hydrolysis hydrocyanic acid which is then hydrolyzed in a second reaction of HCN ([White 1998](#)). The lethal oral dose for a 60 kg adult is 30 - 210 mg of HCN. According to [Nhassico et al. \(2008\)](#), cyanogen glucoside content in the roots and cassava leaves is very dangerous to human health and can in extreme situations produce acute intoxication that can lead to death. It is responsible for the “Kenzo anomaly” that leads to neuropathy and delay in growth of some children in several African countries including tropical Mozambique, Tanzania, Democratic Republic of Congo, Cameroon and Central African Republic. “Kenzo anomaly” is responsible for irreversible paralysis of the legs for children with thousands of cases in the above mentioned countries ([Nhassico et al. 2008](#)). A study conducted by ([Dhas et al. 2011](#)) on people who have worked in a cassava processing plant for five years has allowed to disorder thyroid gland characterized by an insufficient uptake of

iodine, and malfunction of the kidneys and liver. Nevertheless soaking the cassava in water for several days before consumption can reduce the total cyanide concentration by more than six times (Nhassico et al. 2008), which is a simple and highly recommended procedure for safe consumption.

3.3.7 Part III: Environmental benefits of cassava cropping

3.3.7.1 III-1. Biological agriculture and citizen information

Cassava is a robust plant, able to achieve optimal average production in diverse land types without agricultural inputs (fertilizers or pesticides). Other significant strengths of cassava are its low water requirements and ability to resist against pests (Bellotti and Arias 2001). Thus cassava has many real benefits over more demanding (expensive to culture) crops that are less tolerant to different soil types, latitudes and environments and it is also environmental friendly. Given its reliability and productivity, cassava possesses an important unique position as a food security crop for smallholder farmers especially in tropical regions where climate, soil or societal constraints limit crop production and do not often allow cultivation of a large variety of crops.

Currently, the pressure on food production and supply is becoming increasingly important with the increase in the global population. Rapid increases in population sizes, urbanization and industrialization are leading to a decrease in available agricultural land and enhanced energy demand. The world's population is expected to increase between now and 2050 by more than two billion (Zhu et al. 2015), and it is becoming increasingly difficult to sustain the whole population. Sustainable crop production with food crops that can be grown on marginal land with low requirements, such as nutritive cassava, is therefore crucial and the goal of modern agricultural systems to support the increasing population pressures.

In urban areas, however, atmospheric and soil pollution are often observed, mainly due to the proximity of roads, agricultural and industrial activities which are have been going on for centuries (Shahid et al. 2012; Mitchell et al. 2014). Indeed, many pollutants can flow or accumulate in the atmosphere, water, soil and finally vegetables (Uzu et al. 2014; Pierart et al. 2015; Clinard et al. 2015). Marketed plants are regulated in Europe with respect to some targeted inorganic pollutants such as Pb, Cd and Hg (EC, n°466/2001) (Mortureux 2012). In France, for example, the potentially most polluting anthropogenic activities are managed by a

specific regulation to protect the environment and human health: “ICPE” regulation (<http://www.installationsclassees.developpement-durable.gouv.fr/accueil.php>). The ICPE regulations particularly impose participation in the “BASIAS” (<http://basias.brgm.fr/>) and “BASOL” (<http://basol.developpement-durable.gouv.fr/>) databases, which record the kind of activities performed by regulated plants (classified ICPE in France) and on soil remediation actions performed, respectively. A challenge for several countries in the world is therefore to develop regulations to reduce the emissions in the environment.

Due to the complexity of the bio-physicochemical mechanisms involved in the transfer of substances in terrestrial ecosystems and the numerous occurring interactions, scientists can rarely inform citizens on the quality of their cultivated plants with simple explanations (Dumat et al., 2015). They need first to carry out surveys, preliminary observations and dedicate time and money to analysis and recommendations. They often have only a partial view of the ecosystem and it is therefore difficult to simply answer with certainty a simple question from a citizen on the impact of pollution. The researcher will often answer: "it depends" on soil characteristics (texture, pH, soil organic matter amount...), crop variety and practices (Dumat et al., 2015). Promoting operational collaboration between researchers and citizens is therefore a crucial environmental health issue as millions of citizens cultivate and consume vegetables in the world. How to reconcile scientific research thrusts on the mechanisms involved and practical solutions to improve ecosystem services while increasing initiatives to bring science and society in this direction is an important challenge. This is the case of the participatory research-formation network “Reseau-Agriville” (<http://reseau-agriville.com/>) which is an innovative project with shared and free resources concerning urban agriculture. They help to shape a favorable interface between knowledge and practice in the context of ecological transition at the global scale.

3.3.7.2 III-2. New value-adding cassava by-products: the peel

Studies on polluted soils showed that cassava peel was enriched with metals (Padmavathiamma and Li, 2007). In order to reduce human exposure, it's therefore important to remove the skin. However on the other hand, interestingly, cassava peel is showing potential as an efficient material for the remediation of waste waters. Indeed, Bassey et al. (2013) found that soils near artisanal cassava processing plants, and more specifically around areas where

cassava peelings were deposited, were generally acidic. This acidity is due to hydrogen cyanide in the cassava peel and is responsible for effluents that are pollution sources (Cock 1985), and factors promoting the mobility of metals. Indeed the cassava peelings possess sulfhydryl functional groups that will promote thiolating process and immobilize the metal ions (Simate and Ndlovu 2014). This study shows that these functional groups immobilized metal ions before their biosorption. Cassava peelings could thus be used as agents for metal complexation in the context of remediation of polluted soils or waste waters.

3.3.8 Conclusions and perspectives

Cassava is a promising food crop because of its multiple advantages (growth on low fertility lands, no fertilizer requirements for optimum production), it has low water requirements, and can withstand large temperature variations. Indeed, it grows well at 30 N and 30 S latitude and at altitudes ranging from 0-1800 m above sea level in a range of humidity. Its high starch content and production per hectare (in comparison with other plants), makes it a very important product in diverse fields including biofuels, textiles, cosmetics, stationery, sweeteners, confectionery, plywood and many others.

However, the following advice can be given to avoid significant health risks associated with cassava consumption:

- (i) Sweet cassava should be preferably cultivated or the methods for preparing bitter cassava should be carefully followed.
- (ii) To vary the diet as soon as possible or accompany it with meat or other foods high in protein.
- (iii) Although it is an annual plant, annual harvesting is not mandatory, and the tubers can be stored in the ground for several additional months making it an accessible food throughout the whole year.
- (iv) The transformation of cassava into some derivative products could therefore limit or reduce human exposure from ingestion of metal contaminated tubers and significantly lower the metal concentrations compared with fresh cassava.

In order to widely diffuse to the general public these information on sustainable practices for culture and consumption of cassava, a learning resource is online on the network “Réseau-Agriville” (<http://reseau-agriville.com/>).

Acknowledgments

This work has received support from Gabon through “Agence Nationale des Bourses du Gabon” (A.N.B.G) for PhD of Stéphane Mombo. STCM Company is acknowledged for its financial and technical support to the thesis of Stéphane Mombo. The authors thanks to Leigh Gebbie for English revision.

References

- Achidi AU, Ajayi O a, Maziya-dixon B, Bokanga M (2005) The effect of processing on the nutrient content of cassava (*Manihot Esculenta Crantz*) Leaves. *J Food Process Preserv* 32:486–502.
- Addo MA (2010) Heavy metal contaminations in soil and cassava harvested near a cement processing facility in the Volta Region , Ghana: Implications of health risk for the population living in the vicinity. 71–83.
- Adjei-Nsiah S, Owuraku S-D (2012) Promoting cassava as an industrial crop in ghana: Effects on soil fertility and farming system sustainability. *Appl Environ Soil Sci*.
- Adriano DC (2001) Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risk of metals. Springer-Verlag
- Ano O, Eke-Okoro N, Egesi N (2013) Heavy metals (Cd, Ni and Pb) pollution effects on cassava (*Manihot esculenta Crantz*). *Int. J. Biodivers. Conserv.* 5:640–646.
- Austruy A, Laplanche C, Mombo S, et al (2016) Ecological changes in historically polluted soils: Metal(loid) bioaccumulation in microarthropods and their impact on community structure. *Geoderma* 271:181–190.
- Austruy A, Shahid M, Xiong T, et al (2014) Mechanisms of metal-phosphates formation in the rhizosphere soils of pea and tomato: Environmental and sanitary consequences. *J Soils Sediments* 14:666–678.
- Avoaja D, Eze V, Owunna N (2013) Microbiological and Physicochemical Characteristics of Soil Receiving Palm Oil Mill Effluent in Umuahia , Abia State , Nigeria. *J Nat Sci Res* 3:163–170.
- Azmat R, Saba H, Shabana A (2006) Phytotoxicity of Pb: I Effect of Pb on Germination, Growth, Morphology and Histomorphology of *Phaseolus mungo* and *Lens culinaris*. *Pakistan J Biol Sci* 9:979–984.
- Bassey FI, Tesi GO, Nwajei GE, Tsafe a I (2013) Assessment of Heavy Metal Contamination in Soils around Cassava Processing Mills in Sub- Urban Areas of Delta State , Southern Nigeria C . M . A . *Niger J Basic Appl Sci* 21:96–104.
- Bellotti A, Smith L, Lapointe SL (1999) Recent advances in cassava pest management. *Annu Rev Entomol* 44:343–70.
- Bellotti AC, Arias B (2001) Host plant resistance to whiteflies with emphasis on cassava as a case study.pdf. *Crop Prot* 20:813–823.
- Best R, Henry G (1992) Cassava: towards the year 2000. In: International network for cassava genetic resources. In: Report of the First Meeting of the International Network for Cassava Genetics Resources, CIAT, Cali, Colombia. IPGRI, Rome, International Crop Network Series, pp 3–11.
- Bilen S (2010) Effect of cement dust pollution on microbial properties and enzyme activities in cultivated and no-till soils. *African J. Microbiol. Res.* 4:2418–2425.
- Blagbrough IS, Bayoumi SAL, Rowan MG, Beeching JR (2010) Cassava: An appraisal of its phytochemistry and its biotechnological prospects. *Phytochemistry* 71:1940–1951.
- Braide O, Adetoro S (2013) Cassava Flour as a resin printting paste for textile patterns , abeokuta , Nigeria. *Transnatl J Sci Technol* 3:15–29.

- Burns A, Gleadow R, Cliff J, et al (2010) Cassava: The drought, war and famine crop in a changing world. *Sustainability* 2:3572–3607.
- Burns AE, Bradbury JH, Cavagnaro TR, Gleadow RM (2012) Total cyanide content of cassava food products in Australia. *J Food Compos Anal* 25:79–82. doi: 10.1016/j.jfca.2011.06.005
- Cañigueral S, Vanaclocha B (2010) *Revista de Fitoterapia: Editorial. Rev Fitoter* 10:103.
- Carlsson L, Mlingi N, Juma a., et al (1999) Metabolic fates in humans of linamarin in cassava flour ingested as stiff porridge. *Food Chem Toxicol* 37:307–312.
- Ceballos H, Iglesias C a., Pérez JC, Dixon a. GO (2004) Cassava breeding: Opportunities and challenges. *Plant Mol Biol* 56:503–516.
- Chukwuma C (1995) A comparative study of cadmium, lead, zinc, pH, and bulk density from the Enyigba lead and zinc mine in two different seasons. *Ecotoxicol Environ Saf* 31:246–9.
- Clinard F, Delefortrie A, Bellec S, et al (2015) Enquête de pratiques agricoles et de consommation alimentaire dans les jardins ouvriers de l'agglomération de Belfort (Franche-Comté). *Environnement, Risques & Santé* 14:56–71.
- Cock JH (1985) *Cassava: new potential for a neglected crop.*, IADS devel. Westview Press
- Conceicao AJ da. (1979) *A mandioca.*, 3rd edn. EMBRAPA/BNB/BRASCAN NORDESTE, Texas
- Cui YJ, Zhu YG, Zhai RH, et al (2004) Transfer of metals from soil to vegetables in an area near a smelter in Nanning, China. *Environ Int* 30:785–791.
- Dai D, Hu Z, Pu G, et al (2006) Energy efficiency and potentials of cassava fuel ethanol in Guangxi region of China. *Energy Convers Manag* 47:1686–1699.
- Demir TA, Işikli B, Urer SM, et al (2005) Nickel exposure and its effects. *Biometals* 18:7–13. doi: 10.1007/s10534-004-1209-9
- Dhas PK, Chitra P, Jayakumar S, Mary AR (2011) Study of the effects of hydrogen cyanide exposure in Cassava workers. *Indian J Occup Environ Med* 15:133–6.
- Dórea JG (2004) Cassava cyanogens and fish mercury are high but safely consumed in the diet of native Amazonians. *Ecotoxicol Environ Saf* 57:248–256.
- Edori OS, Ajuru I, Harcourt P (2015) Analysis of some heavy metals (Pb , Cd , Cr , Fe , Zn) in processed cassava flour (garri) sold along the road side of a busy highway. 7:15–19.
- Ehimwenma O, Tagbo MT (2011) Determination of normal dimension of the spleen by ultrasound in an endemic tropical environment. *Niger Med J* 52:198–203.
- El-Absay A, Hassanien M (2011) Health risk assessment of workers exposed to heavy metals in Cement Kiln Dust (CDK).
- El-Sharkawy MA, Hernández ADP, Hershey C (1992) Yield Stability of Cassava During Prolonged Mid-Season Water Stress. *Exp Agric* 28:165–174.
- Fao, Ifad (2005) A review of cassava in Africa with country case studies on Nigeria , Ghana , the United. A Rev cassava Africa with Ctry case Stud Niger , Ghana , United Repub Tanzania, Uganda Benin Proc Valid FORUM Glob CASSAVA Dev Strateg Vol 2 357.
- Goix S, Mombo S, Schreck E, et al (2015) Field isotopic study of lead fate and

- compartmentalization in earthworm–soil–metal particle systems for highly polluted soil near Pb recycling factory. *Chemosphere* 138:10–17.
- Gomez G, Valdivieso M (1984) Cassava for animal feeding: Effect of variety and plant age on production of leaves and roots. *Anim Feed Sci Technol* 11:49–55.
- González AG, Mombo S, Leflaive J, et al (2015) Silver nanoparticles impact phototrophic biofilm communities to a considerably higher degree than ionic silver. *Environ Sci Pollut Res Int* 22:8412–8424.
- Hindy KT, Abdel Shafy HI, Farag SA (1990) The role of the cement industry in the contamination of air, water, soil and plant with vanadium in Cairo. *Environ Pollut* 66:195–205.
- Hoover R (2001) Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. *Carbohydr Polym* 45:253–267.
- Horsfall M, Abia a. a., Spiff a. I (2006) Kinetic studies on the adsorption of Cd²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ ions from aqueous solutions by cassava (*Manihot sculenta* Cranz) tuber bark waste. *Bioresour Technol* 97:283–291.
- Huang J, Tichit M, Poulot M, et al (2015) Comparative review of multifunctionality and ecosystem services in sustainable agriculture. *J Environ Manage* 149:138–147.
- Idodo-Umech G, Ogbeibu A. (2010) Bioaccumulation of the Heavy Metals in Cassava Tubers and Plantain Fruits Grown in Soils Impacted with Petroleum and Non-Petroleum Activities. *Res J Environ Sci* 4:33.
- IFAD;FAO (2005) A review of cassava in Africa with country case studies on Nigeria , Ghana , the United. *Agric Consum Prot* 357.
- Igbiosa EO (2015) Effect of cassava mill effluent on biological activity of soil microbial community. *Environ Monit Assess* 187:418.
- Isabirye M, Ruyschaert G, Van linden L, et al (2007) Soil losses due to cassava and sweet potato harvesting: A case study from low input traditional agriculture. *Soil Tillage Res* 92:96–103.
- Islam AKMS, Edwards DG, Asher CJ (1980) pH optima for crop growth. *Plant Soil* 54:339–357.
- Iwata K, Saito H, Moriyama M, Nakano A (1992) Follow up study of renal tubular dysfunction and mortality in residents of an area polluted with cadmium. *Br J Ind Med* 49:736–737.
- Jakrawatana N, Pingmuangleka P, Gheewala SH (2015) Material flow management and cleaner production of cassava processing for future food, feed and fuel in Thailand. *J Clean Prod* 1–9.
- Jones DA (1998) Why are so many food plants cyanogenic *Phytochemistry* 47:155–162.
- Kalafatoğlu E, Örs N, Özdemir SS, Munlafalioğlu I (2001) Trace Element Emissions from some Cement Plants in Turkey. *Water Air Soil Pollut* 129:91–100. doi: 10.1023/A:1010371019712
- Kalagbor IA, Opusunju K (2015) A comparison study of dry and wet ashing methods used for the assessment of concentration of five heavy metals in three vegetables from Rivers State , Nigeria. *Int Res J Public Environ Heal* 2:16–22.
- Kamalu BP (1995) The adverse effects of long-term cassava (*Manihot esculenta* Crantz)

- consumption. *Int J Food Sci Nutr* 46:65–93.
- Keating BA, Evenson JP (1979) Effect of soil temperature on sprouting and sprout elongation of stem cuttings of cassava (*Manihot esculenta* crantz.). *F Crop Res* 2:241–251.
- Kolind-Hansen L, Brimer L (2010) The retail market for fresh cassava root tubers in the European Union (EU): the case of Copenhagen, Denmark €” a chemical food safety *J Sci Food Agric* 90:252–256.
- Křibek B, Majer V, Knésl I, et al (2014) Concentrations of arsenic, copper, cobalt, lead and zinc in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) growing on uncontaminated and contaminated soils of the Zambian Copperbelt. *J African Earth Sci* 99 :713-723.
- Latif S, Müller J (2015) Potential of cassava leaves in human nutrition: a review. *Trends Food Sci Technol*.
- Leveque T, Capowiez Y, Schreck E, et al (2014) Earthworm bioturbation influences the phytoavailability of metals released by particles in cultivated soils. *Environ Pollut* 191:199–206.
- Li H, Liu Y, Gao X, Li X (2015) Preparation and characterization of cassava starch-based adsorbents for separating of azeotropic ethanol-water in biofuels ethanol production. *J Chem Technol Biotechnol n/a–n/a*.
- Lichtfouse E, Navarrete M, Debaeke P, et al (2009) *Sustainable Agriculture*. Springer Netherlands, Dordrecht
- Mitchell RG, Spliethoff HM, Ribaud LN, et al (2014) Lead (Pb) and other metals in New York City community garden soils: factors influencing contaminant distributions. *Environ Pollut* 187:162–9.
- Mombo S, Eva S, Camille D, et al (2015a) Bioaccessibility of selenium after human ingestion in relation to its chemical species and compartmentalization in maize. *Environ Geochem Health* 1–15.
- Mombo S, Foucault Y, Deola F, et al (2015b) Management of human health risk in the context of kitchen gardens polluted by lead and cadmium near a lead recycling company. *J Soils Sediments* 1–11.
- Montagnac JA, Davis CR, Tanumihardjo SA (2009) Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 8:181–194.
- Mortureux M (2012) Avis de l' Agence nationale de sécurité sanitaire de l' alimentation, de l' environnement et du travail. In: Maisons-Alfort (ed) Maisons-Alfort. 25/06/2012, France, pp 1–17
- Moyo C, Benesi I, Sandifolo V, Teri J (1998) Current status of cassava and sweetpotato production and utilization in Malawi.
- Nassar N, Dorea JG (1982) Protein Content of Cassava Cultivars and its Hybrid with Wild *Manihot* species *By*. 32:6–8.
- Nassar NMA (1978) Conservation of the genetic resources of cassava (*Manihot Esculenta*) Determination of wild species localities with emphasis on probable origin. *Econ Bot* 32:311–320.
- Ngudi DD, Kuo YH, Lambein F (2002) Food safety and amino acid balance in processed

- cassava “Cossettes.” *J Agric Food Chem* 50:3042–3049.
- Nhassico D, Muquingue H, Cliff J, et al (2008) Rising African cassava production, diseases due to high cyanide intake and control measures. *J Sci Food Agric* 88:2043–2049.
- Nkwocha EE, Pat-Mbano E, Tony-Njoku N (2011) Assessment of Heavy Metal Concentration in Food Crops Grown Around Etelebou Oil Flow Station in Bayelsa. *Int J Sci Nat* 2:665–670.
- Ntow WJ, Gijzen HJ, Kelderman P, Drechsel P (2006) Farmer perceptions and pesticide use practices in vegetable production in Ghana. *Pest Manag Sci* 62:356–365.
- Oboh G, Akindahunsi a. a. (2003) Biochemical changes in cassava products (flour & gari) subjected to *Saccharomyces cerevisiae* solid media fermentation. *Food Chem* 82:599–602.
- Oduwaye O a., Ojo DK, Mkumbira J, et al (2014) Genetic Assessment of 23 Cassava, *Manihot Esculenta* Crantz, Genotypes at Two Agro-Climatic Zones in Nigeria. *Plant Breed Seed Sci*.
- Okorie A, Entwistle J, Dean JR (2012) Estimation of daily intake of potentially toxic elements from urban street dust and the role of oral bioaccessibility testing. *Chemosphere* 86:460–7.
- Oliver MA (2008) Soil and human health: a review. *Eur J Soil Sci* 48:573–592.
- Olsen KM, Schaal B a (1999) Evidence on the origin of cassava: phylogeography of *Manihot esculenta*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:5586–5591. doi: 10.1073/pnas.96.10.5586
- Onabolu a O, Oluwole OS, Bokanga M, Rosling H (2001) Ecological variation of intake of cassava food and dietary cyanide load in Nigerian communities. *Public Health Nutr* 4:871–876.
- Onyedika GO, Nwosu GU (2008) Lead, zinc and cadmium in root crops from mineralized galena-sphalerite mining areas and environment. *Pakistan J Nutr* 7:418–420.
- Oshunsanya SO (2016) Alternative method of reducing soil loss due to harvesting of sweet potato: A case study of low input agriculture in Nigeria. *Soil Tillage Res* 158:49–56.
- Padmavathamma PK, Li LY (2007) Phytoremediation technology: Hyper-accumulation metals in plants. *Water Air Soil Pollut* 184:105–126. doi: 10.1007/s11270-007-9401-5
- Pandey A, Soccol CR, Nigam P, et al (2000) Biotechnological potential of agro- -industrial residues: II Cassava bagasse. *Bioresour Technol* 74:81–87.
- Pierart A, Shahid M, Séjalon-Delmas N, Dumat C (2015) Antimony bioavailability: Knowledge and research perspectives for sustainable agricultures. *J Hazard Mater* 289:219–234.
- Pourrut B, Shahid M, Dumat C, et al (2011) Lead uptake, toxicity, and detoxification in plants. *Rev Environ Contam Toxicol* 213:113–36.
- Ryser P, Sauder WR (2006) Effects of heavy-metal-contaminated soil on growth, phenology and biomass turnover of *Hieracium piloselloides*. *Environ Pollut* 140:52–61.
- Sajid L, Joachim M (2014) Cassava – how to explore the “all-sufficient.” In: the international Journal for Rural Development. pp 30–31
- Sauer CO (1952) *Agricultural Origins And Dispersals*, American G. American Geographical Society., New York
- Schmidt C (1951) *A mandioca, contribuição para o conhecimento de sua origem.*

- Schreck E, Foucault Y, Geret F, et al (2011) Influence of soil ageing on bioavailability and ecotoxicity of lead carried by process waste metallic ultrafine particles. *Chemosphere* 85:1555–1562.
- Schuhmacher M, Bocio a., Agramunt MC, et al (2002) PCDD/F and metal concentrations in soil and herbage samples collected in the vicinity of a cement plant. *Chemosphere* 48:209–217.
- Scott GJ, Rosegrant MW, Ringler C (2000) Roots and tubers for the 21st century (brief). The 2020 Vision, International Food Policy Research Institute (IFPRI), 2033 K Street, N.W., Washington, DC 20006-1002, USA / ifpri-info@cgiar.org; Centro Internacional de la Papa (CIP), Apartado 1558, Lima 12, Peru
- Shahid M, Dumat C, Pourrut B, et al (2015a) Role of metal speciation in lead-induced oxidative stress to *Vicia faba* roots. *Russ J Plant Physiol* 62:448–454.
- Shahid M, Ferrand E, Schreck E, Dumat C (2013) Behavior and impact of zirconium in the soil-plant system: plant uptake and phytotoxicity. *Rev Environ Contam Toxicol* 221:107–27.
- Shahid M, Khalid S, Abbas G (2015b) Heavy Metal Stress and Crop Productivity. *Crop Production and Global Environmental Issues*. 1–25.
- Shahid M, Pinelli E, Dumat C (2012) Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation; role of synthetic and natural organic ligands. *J. Hazard. Mater.* 219-220:
- Shahid M, Pinelli E, Pourrut B, et al (2011) Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. *Ecotoxicol Environ Saf* 74:78–84.
- Sharma RK, Agrawal M, Marshall FM (2009) Heavy metals in vegetables collected from production and market sites of a tropical urban area of India. *Food Chem Toxicol* 47:583–91.
- Simate GS, Ndlovu S (2014) The removal of heavy metals in a packed bed column using immobilized cassava peel waste biomass. *J Ind Eng Chem* 21:635–643.
- Soccol CR (1996) Biotechnology Products From Cassava Root By Solid State Fermentation. *J Sci Ind Res* 55:358–364.
- Souza-Arroyo V, Martínez-Flores K, Bucio-Ortiz L, et al (2012) Liver and cadmium toxicity. *Drug Metab Toxicol* S5:001.
- Srinivas T (2007) Industrial Demand for Cassava Starch in India. *Sect Soc Sci Cent Tuber Crop Res Inst* 59:477–481.
- Tonukari NJ, Ezedom T, Enuma CC, et al (2015) White Gold : Cassava as an Industrial Base. *Am J Plant Sci* 972–979.
- Tsegai D, Kormawa P (2002) – Witzenhausen , 9-11 October 2002 Conference on International Agricultural Research for Development Determinants of urban households ' demand for cassava and cassava products in Kaduna , northern Nigeria : The application of AIDS model. 9–11.
- Uzu G, Schreck E, Xiong T, et al (2014) Urban Market Gardening in Africa : Foliar Uptake of Metal (loid) s and Their Bioaccessibility in Vegetables ; Implications in Terms of Health Risks. 225:21-85.

- Uzu G, Sobanska S, Aliouane Y, et al (2009) Study of lead phytoavailability for atmospheric industrial micronic and sub-micronic particles in relation with lead speciation. *Environ Pollut* 157:1178–85.
- Valko M, Jomova K, Rhodes CJ, et al (2015) Redox- and non-redox-metal-induced formation of free radicals and their role in human disease.
- Voko DRBI, Zeze a (2013) Impact Des Proprietes Physicochimiques Des Sols De Culture Du Manioc Sur L ' Abondance Et La Diversite Des Communautés De Champignons Mycorrhiziens À Arbuscules Dans La Zone Agroecologique D ' Azaguie , Sud-Est De La Côte D ' Ivoire. 25:251–264.
- White WLB (1998) Cyanogenesis in Cassava. The Role of Hydroxynitrile Lyase in Root Cyanide Production. *PLANT Physiol* 116:1219–1225.
- Xiong T, Dumat C, Pierart A, et al (2016) Measurement of metal bioaccessibility in vegetables to improve human exposure assessments: field study of soil–plant–atmosphere transfers in urban areas, South China. *Environ Geochem Health*. 1-19.
- Xiong T, Leveque T, Austruy A, et al (2014a) Foliar uptake and metal(loid) bioaccessibility in vegetables exposed to particulate matter. *Environ Geochem Health* 897–909.
- Xiong T, Leveque T, Shahid M, et al (2014b) Lead and cadmium phytoavailability and human bioaccessibility for vegetables exposed to soil or atmospheric pollution by process ultrafine particles. *J Environ Qual* 43:1593–600.
- Xiong T-T, Leveque T, Austruy A, et al (2014c) Foliar uptake and metal(loid) bioaccessibility in vegetables exposed to particulate matter. *Environ Geochem Health* 36:897–909.
- Yaninek JS, Schulthess F (1993) Developing an environmentally sound plant protection for cassava in Africa. *Agric Ecosyst Environ* 46:305–324.
- Yu S, Tao J (2009) Simulation based life cycle assessment of airborne emissions of biomass-based ethanol products from different feedstock planting areas in China. *J Clean Prod* 17:501–506.
- Zhang C, Han W, Jing X, et al (2003) Life cycle economic analysis of fuel ethanol derived from cassava in southwest China. *Renew Sustain Energy Rev* 7:353–366.
- Zhu W, Lestander TA, Orberg H, et al (2015) Cassava stems: A new resource to increase food and fuel production. *GCB Bioenergy* 7:72–83.
- Ziska LH, Runion GB, Tomecek M, et al (2009) An evaluation of cassava, sweet potato and field corn as potential carbohydrate sources for bioethanol production in Alabama and Maryland. *Biomass and Bioenergy* 33:1503–1508.

Conclusion générale et perspectives.

Depuis la révolution industrielle en Europe (XIX^e siècle), les activités anthropiques ont provoqué des changements environnementaux considérables avec en particulier des modifications significatives des cycles biogéochimiques de plusieurs éléments (P, C, N, Pb, Cd, etc.). Les concentrations en éléments dans les sols de certaines zones ont été fortement modifiées par l'émission des métaux lourds et métalloïdes dues à différentes sources émettrices dans l'atmosphère en particulier. Ces métaux et métalloïdes ont des effets directs sur la qualité du sol et des organismes qui y vivent. En effet, des nombreuses études dont cette thèse ont montré les effets de ces particules riches en métaux sur le sol, les organismes qui y vivent et sur les transferts de ces métaux vers les plantes. L'homme étant un maillon de cette vaste chaîne alimentaire, il est aussi susceptible d'être exposé à ces particules de manière directe ou indirecte. La santé des sols et de l'environnement en termes de pollution par les métaux lourds est donc très importante, car de cette santé va dépendre, la santé des plantes potagères qui y poussent, des animaux et in fine des Hommes. Cela du fait du fort lien qui uni les êtres humains au sol et à l'environnement.

L'augmentation mondiale des populations a pour effet direct une augmentation des surfaces de sol artificialisées et donc une diminution des surfaces cultivables. Cette diminution va engendrer automatiquement une forte pression sur l'usage des sols et ceci en particulier en zone urbaine, ce qui risque de réduire les espaces cultivables si des décisions politiques claires en faveur de la protection des sols ne sont pas prises. Dans le monde, en raison de l'augmentation de la densité de population en zone urbaine, des populations construisent de plus en plus leurs habitations à proximité de sites potentiellement à risque exemple à proximité d'anciennes usines ou d'usines toujours en activité, des autoroutes qui sont des sources non négligeables d'émission de métaux lourds. Dans un souci de consommer une nourriture saine, de plus en plus de personnes cultivent leurs légumes dans leurs jardins ou dans le cadre des jardins partagés. Ces jardins se situent malheureusement encore trop souvent à proximité des d'anciennes zones industrielles ou routes, sans parfois envisager les multiples risques liés à l'exposition aux métaux et métalloïdes auxquels ils peuvent être exposés.

Cette thèse pluridisciplinaire avait pour objectif d'étudier de façon intégrée la qualité du sol, des cultures et de mieux comprendre les risques pour les populations afin de les gérer durablement. Finalement cette thèse a permis de répondre à plusieurs questions sur (i) Les

risques liés au bon fonctionnement des sols pollués par les métaux et métalloïdes. Leurs effets sur les organismes ingénieurs qui y vivent cas des vers de terre. (ii) Les risques, et effets liés aux transferts des métaux (toxiques et non toxique) vers les plantes potagères. (iii) Ceux liés à l'exposition des Hommes qui consomment les légumes cultivés à proximité des zones émettrices des métaux ou ayant un sol avec une forte concentration naturelle en métaux.

Concernant les sols pollués aux alentours de la Société de Traitements Chimiques des Métaux, les analyses physico-chimiques ont permis de constater que ces sols sont calcaires avec un pH élevé supérieur à 7,5. Le fait que le pH soit élevé avec une texture fine réduit la lixiviation des métaux qui restent principalement dans les horizons de surfaces. En effet à 10, 30 et 60 m de l'usine sur l'horizon 0 - 17 cm on observe des concentrations qui sont quasiment le double de celles observées à l'horizon 17 – 30 cm. Cette observation est la quasiment identique pour les six métaux (Pb, As, Cd, Cu, Sb, Zn) étudié dans cette zone et dont le plomb est l'élément majeur avec une concentration dans le sol qui dépasse largement celle des autres métaux. L'accumulation des métaux dans le sol peut provoquer la perturbation des organismes qui y vivent comme les vers de terre.

En ce qui concerne l'exposition des vers de terre dans les microcosmes (à 10, 30 et 60 m de l'usine), on a pu observer une corrélation entre les concentrations en métaux dans le sol et celles observées dans les vers de terre. Celle-ci se caractérise par des fortes concentrations dans les vers de terre et dans les turricules avec la distance à l'usine. Cette étude sur l'exposition des vers de terre à des concentrations multi-métalliques très élevées a fait ressortir un comportement parfois inattendu des vers de terre. En effet, pour de très fortes concentrations en métaux dans le sol à 10 m, l'espèce endogée (*A. caliginosa*) a adopté un comportement d'évitement des zones hautement polluées qui se caractérise par une réduction de sa mobilité. *A. caliginosa* limite ses déplacements dans les horizons inférieurs où les concentrations sont les plus faibles. Ce comportement limite ainsi son exposition aux métaux, lui permettant de toujours rester en activité. L'effet de cette forte exposition multi-métallique se caractérise par une perte de biomasse des deux espèces de vers de terre à 10 m de l'usine où les concentrations sont les plus élevées. Connaissant l'importance des vers de terre pour le sol et les avantages liés à leurs activités cette observation est très importante. Par contre l'espèce anécique (*L. terrestris*), très perturbée par les fortes concentrations en métaux à 10 m cesse toute activité. Pour cette dernière espèce l'exposition à long terme aux métaux pourrait conduire à une dégradation progressive du sol et de l'écosystème.

Cette étude a aussi montré que les vers de terre pouvaient absorber de grande quantité de métaux sans être significativement affectés. En effet, à 30 et 60 m où les concentrations multi-métalliques sont largement au-dessus de celles que l'on retrouve dans l'environnement, on observe une augmentation de la biomasse des deux espèces de vers de terre par rapport à leur biomasse de départ. Ces Observations sont plutôt intéressantes, car pour la gestion des sols pollués par phytoremédiation la présence des vers de terre augmente le transfert des métaux vers les plantes. De même, en gardant leurs activités de bioturbation, les vers de terre contribuent de manière efficace au bon fonctionnement du sol et la vie sur ce support très important.

L'analyse des isotopes du plomb du sol à proximité de la Société de Traitements Chimiques des Métaux a permis de quantifier la fraction anthropique provenant de retombées atmosphérique et diffus qui se situent entre 84 % et 100 %. Ces fortes concentrations en plomb provenant de l'usine ont pour effet une diminution de l'activité microbienne qui se caractérise par une lente évolution du processus de dégradation de la matière organique au voisinage le plus proche de la STCM. Les observations faites sur ce site ont permis de constater une absence totale de vers de terre les trente premiers mètres proche de l'usine à partir du mur de cette dernière. Les vers de terre étant un maillon important de dégradation de la matière organique il est donc important de préserver leur activité sur les sites industriels, par exemple grâce à des associations d'espèces plus ou moins sensibles aux polluants et actifs dans différentes zones du sol. Finalement, les vers de terre peuvent par leurs activités bioturbation favoriser la migration du plomb dans les différentes strates sol, mais aussi modifier la forme chimique du plomb lors de la traversé de ce dernier du tractus intestinal.

Transfert sol plante des métaux et sélénium

Dans un souci de consommation de produits sains d'une part et avec la pression urbaine due à l'augmentation des populations, l'agriculture urbaine est en plein essor dans les villes et agglomérations du monde. L'un des problèmes liés à cette situation est souvent la proximité des zones cultivées par des professionnels ou des particuliers (jardins) avec les zones sources de pollution. Cette proximité n'est encore pas assez souvent prise en compte et elle peut donc engendrer l'exposition des populations aux métaux. Le manque d'information et de

connaissance des populations vis-à-vis des risques liés à cette proximité, est une situation qui doit faire l'objet de campagnes de vulgarisation scientifique sur les différents résultats permettant de limiter au maximum l'exposition des aliments. C'est l'un des objectifs du Réseau-Agriville auquel je participe à travers la réalisation de plusieurs ressources pédagogiques accessibles gratuitement à tous sur le site : « <http://reseau-agriville.com/>. ».

Un des objectifs de cette thèse était d'évaluer le transfert des polluants (Pb et Cd) dans divers plantes potagères issu des jardins des personnes vivants à proximité des de la Société de Traitement Chimique des Métaux. Cette étude a montré que les concentrations en Pb et Cd dans le sol n'étaient pas particulièrement élevées, et ceci quelle que soit la parcelle étudiée. Les concentrations en plomb sont plus élevées que celle du cadmium, par contre, le cadmium est plus phytodisponible que le plomb quelle que soit la parcelle et la plante potagère étudiée. Enfin, il a été observé que la phytodisponibilité du plomb et du cadmium peuvent varier en fonction du type de sol : elle est dépendante des propriétés physico-chimiques de ce dernier et du type de plante. L'apport de matière organique sur les parcelles de culture limite significativement le transfert des métaux du sol vers la plantes potagères. La marinière organique va créer différentes liaisons avec les métaux qui vont finalement être moins disponible pour les plantes. La teneur en argile aussi joue un rôle important dans la mobilité et le transfert des métaux vers les plantes, les parcelles avec les plus grandes teneurs en argile vont avoir les plus faibles transferts.

Cette étude socio-scientifique est utile pour améliorer la poursuite de la gestion des polluants dans les jardins potagers et dans divers contextes de pollution (zones urbaines, la proximité des zones sources.).

L'étude en condition contrôlée du transfert du sélénium des racines du maïs vers ces différents organes (tige, feuilles, et graines) en fonction de ses deux formes chimiques (séléniate et sélénite), a permis de mieux comprendre l'influence de la spéciation du sélénium sur le transfert. En effet, le séléniate va se retrouver en plus grande portion dans les différents organes de plante (tige feuilles et les graine), alors que le sélénite va se retrouver principalement dans les racines. Les plantes exposées au sélérites ont montré un retarde de croissance par rapport à celles exposées au séléniate et aux témoins. Les organes (racines, tige, feuilles, et graines) des pieds de maïs exposés au sélénite avaient une biomasse inférieure à celles des plantes exposées au séléniate et significativement inférieure à celle du les témoins.

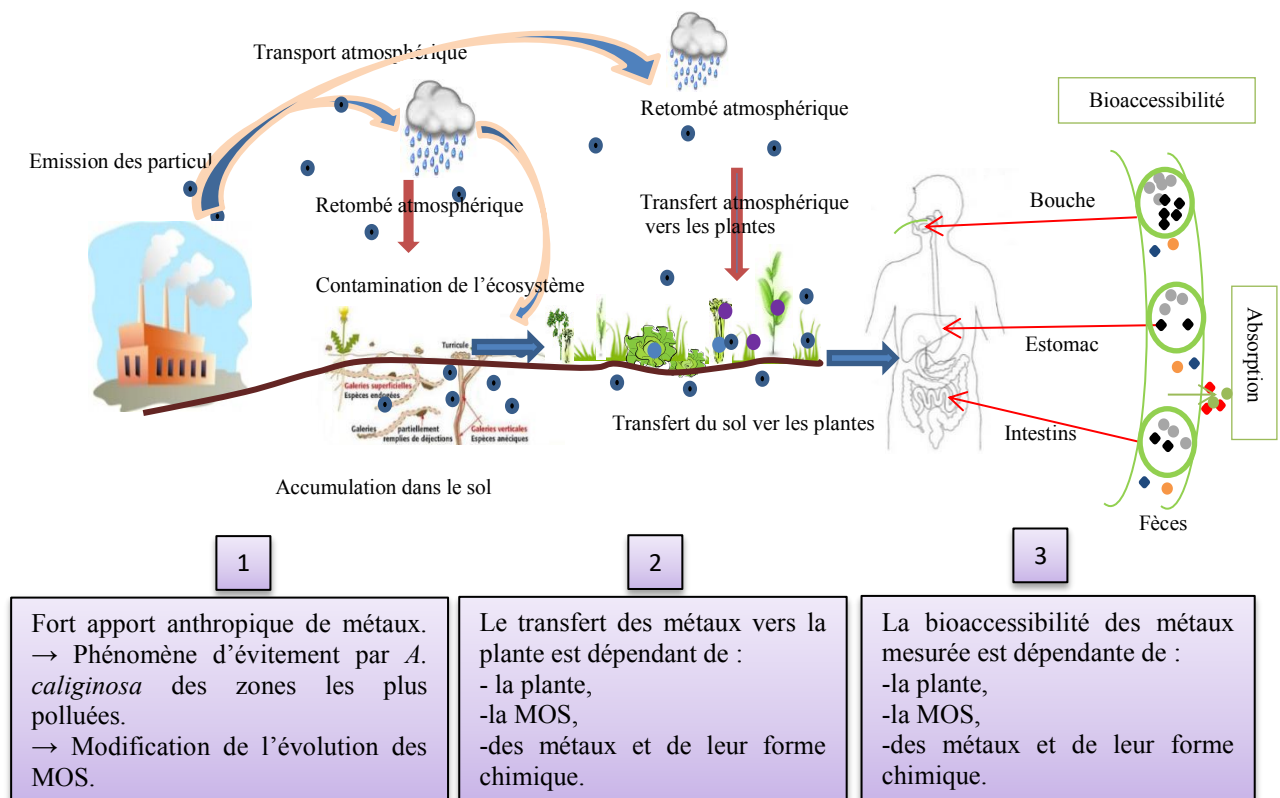
Ces observations sont importantes dans le cadre de la gestion du risque. En fonction des conditions réelles sur le terrain, et des concentrations en élément dans le sol (très fortes concentrations ou au contraire très faibles). En fonction de la forme chimique, peuvent-être envisagées des mesures qui permettraient de limiter le transfert et ainsi de limiter l'exposition des métaux aux populations vivant dans des zones sélénifères ou au contraire dans des zones dans le sol est très pauvre en sélénium.

Il est proposé que la fraction bioaccessible des métaux puisse également être prise en compte en complément des quantités totales de métaux et des facteurs de bioaccumulation dans les études d'évaluation des risques effectuées dans les jardins. En fait, la mesure de la bioaccessibilité des métaux intègre l'influence du type de métal, du type de plante et des propriétés physico-chimiques du sol. Elle permet d'évaluer la proportion du métal qui va être biodisponible après l'ingestion par l'Homme d'un aliment contaminé.

Dans cette thèse, l'évaluation de la bioaccessibilité du plomb et du cadmium a permis de constater que celle-ci varie en fonction du métal et de la parcelle. Pour quatre parcelles qui ont permis l'étude, la bioaccessibilité du cadmium était toujours supérieur ou égale à 66 %, pour le plomb par contre toujours supérieur ou égale à 17 %. La bioaccessibilité du cadmium a donc été toujours été supérieure à celle du plomb sur toutes les parcelles et pour tous les légumes. Par contre en ce qui concerne les légumes, il y'a une variabilité en fonction de ces derniers. La structure, la texture, la quantité de matière organique et la composition physico-chimique vont jouer un rôle important sur la bioaccessibilité. L'amendement des sols des jardins potagers dans ce cas peut permettre de limiter le transfert des métaux vers la plante. Même lorsque le sol a des concentrations en métaux comparables aux valeurs de référence des fonds géochimiques, les légumes peuvent être contaminés de manière significative par les fines particules atmosphériques qui vont se déposer sur les feuilles. A l'issue de cette étude des recommandations ont été données aux riverains afin qu'ils limitent au mieux l'exposition des produits de leurs potagers aux métaux dans l'objectif de consommer des produits issus de leurs jardins les plus sains possible. Le lavage soigneux des végétaux cultivés dans les zones industrielles et/ou urbaines permet de réduire l'exposition des populations.

En condition contrôlée et avec cette fois, la bioaccessibilité du sélénium sur le maïs en fonction de ces deux formes chimiques les plus rencontrées dans l'environnement, la proportion bioaccessible varie entre 49 et 89 %. Le pourcentage du séléniate est toujours supérieur à celui du sélénite sur les différents organes (tige, feuilles et graine). En consommant du maïs exposé à des fortes concentrations en sélénium, la proportion du sélénium dans l'organisme ne va pas dépendre de la forme chimique. Par contre pour la tige et les feuilles, la bioaccessibilité va dépendre de la forme chimique. Le sélénite quant à lui va en grande partie rester piégé dans les racines de la plante alors que le séléniate va plutôt se retrouver dans les organes supérieurs du maïs.

Le schéma suivant regroupe de manière succincte l'ensemble des réponses apportées par ma thèse aux questions scientifiques qui étaient initialement posées en 2013.....



Ce travail de thèse basé sur une approche intégrative transdisciplinaire de la gestion des risques environnement-santé a donc permis d'apporter plusieurs réponses sur la gestion du risque concernant les sites et sols pollués, le transfert des métaux du sol vers les plantes et des

plantes vers les êtres humains. Il a aussi généré plusieurs autres questions scientifiques et dont les perspectives sont présentées ensuite :

Sol vers de terre

- 1) On a observé l'effet d'un ensemble de métaux sur le comportement des vers de terre on peut se demander cependant quelles interactions existent entre les divers polluants qui peuvent ensuite induire des synergies ou des antagonismes en termes de toxicité.
- 2) La matière organique étant une composante très importante pour les sols et les vers de terre constituent le premier maillon de la dégradation de cette dernière on pourrait voir à partir de quelle concentration en métaux dans le sol, les vers de terre (anéciques) n'arrivent plus à dégrader cette dernière. Des cinétiques pourraient être réalisées et ceci dans différentes conditions représentatives des sols urbains où la gestion des déchets organiques rend très importante le compostage pour les années à venir.
- 3) Une des pistes concernant le transfert des métaux du sol vers la plante est finalement aussi de comprendre plus précisément les mécanismes en jeu lors de l'influence des vers de terre sur l'absorption des métaux par les plantes.

Transfert sol plante

- 1) Il a été montré l'influence du ver de terre sur l'augmentation de la phytodisponibilité des ETM. Cet organisme jouant un rôle majeur dans les écosystèmes terrestres pourraient-ils être associés à des plantes phyto-extractrices afin d'améliorer leurs capacités de phyto-remédiation des sols ? Ainsi, il est possible d'imaginer des inséminations de vers de terre à grande échelle dans les protocoles de phyto-remédiation de sites contaminés.
- 2) Dans la logique démarrée avec le Réseau-Agriville, je souhaite continuer des actions de vulgarisation des résultats et explications aux jardiniers et populations en Afrique sur les risques des transferts d'éléments inorganiques dans les systèmes sol-plante-atmosphère.

Bioaccessibilité

- 1) Dans l'optique d'utiliser la notion de bioaccessibilité dans les évaluations de risques sanitaires, une étape importante serait d'améliorer encore le protocole et de le normaliser puis d'inciter davantage d'organismes à réaliser ce type d'analyse et de continuer à renseigner les bases de données avec des mesures faites dans différents contextes : spéciation, cultivar de plante, type de transfert, etc...

- 2) Il serait envisageable de créer une base de donnée avec différents résultats concernant les principaux aliments consommés et leurs bioaccessibilité potentiels en fonction des zones de culture à risque et des différents métaux et métal (loids).

3.4 References.

- Arshad M, Silvestre J, Pinelli E, Kellerhoff J, Kaemmerer M, Tarigo A, Shahid M, Guiresse M, Pradère P, Dumat C. A field study of lead phytoextraction by various scented *Pelargonium* cultivars. *Chemosphere* 2008; 71:2187–2192.
- Bacigalupo C, Hale B. Human health risks of Pb and As exposure via consumption of home garden vegetables and incidental soil and dust ingestion: A probabilistic screening tool. *Sci Total Environ* 2012;432:27–38.
- Bonde, J. P., Joffe, M., Apostoli, P., Dale, a, Kiss, P., Spano, M., Zschiesche, W. (2002). Sperm count and chromatin structure in men exposed to inorganic lead: lowest adverse effect levels. *Occupational and Environmental Medicine*. 59(4): 234–42.
- Butcher DJ. Phytoremediation of lead in soil: recent applications and future prospects. *Appl Spectrosc Rev* 2009; 44:123–139.
- Carmen Donisa, Raluca Mocanu, Eiliv Steinnes, Alexandra Vasu. (1999). Heavy metal pollution by atmospheric transport in natural soils from the northern part of eastern carpathians, 347–358.
- Cecchi M, Dumat C, Alric A, Felix-Faure B, Pradere P, Guiresse M. Multi-metal contamination of a calcic cambisol by fallout from a lead-recycling plant. *Geoderma* 2008; 144:287-298.
- Denys S, Tack K, Caboche J, Delalain P. Bioaccessibility, solid phase distribution, and speciation of Sb in soils and digestive fluids. *Chemosphere* 2009;74:711–716.
- Desroches A. et al. *L'analyse des risques, principes et pratiques*. Ed Hermès Lavoisier, 2009.
- Evangelou MWH, Kutschinski-Klöss S, Ebel M, Schaeffer A. Potential of *Borago officinalis*, *Sinapis Alba L.* and *Phacelia boratus* for phytoextraction of Cd and Pb from soil. *Water Air Soil Poll* 2007; 182:407–416.
- Foucault Y, Durand MJ, Tack K, Schreck E, Geret F, Leveque T, Pradere P, Goix S, Dumat C. Use of ecotoxicity tests and ecoscores to improve the management of polluted soils: case of a secondary lead smelter plant. *J Hazard Mater* 2013; 246–247:291–299.
- Foucault Y, Schreck E, Levêque T, Pradère P, Dumat C. Toward rational management of excavated soil contaminated by metal trace elements, *Environ Risk Heal* 2012;11:61–66.
- Glorennec P, Bemrah N, Tard A, Robin A, Le Bot B, Bard D. Probabilistic modeling of young children's overall lead exposure in France: Integrated approach for various exposure media. *Environ Int* 2007;33:937–945.
- Gojard S, Weber F. *Jardin et autoconsommation alimentaire*. INRA, Sciences Sociales n°2 1995.
- Gwozd EA, Kopyra M. Plant cell responses to heavy metals – Biotechnological aspects. *Biotechnol* 2003, 3:107–123.

- Hernández-Ochoa, I., García-Vargas, G., López-Carrillo, L., Rubio-Andrade, M., Morán-Martínez, J., Cebrián, M. E., & Quintanilla-Vega, B. (2005). Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. *Reproductive Toxicology*. 20(2): 221–8.
- Kidd P, Barceló J, Bernal MP, Navari-Izzo F, Poschenrieder C, Shilev S, Clemente R, Monterroso C. Trace elements behaviour at the root-soil interface: Implications in phytoremediation. *Environ Exp Bot* 2009; 67:243–259.
- Kim KR, Owens G, Kwon SI. Influence of Indian mustard (*Brassica juncea*) on rhizosphere soil solution chemistry in long-term contaminated soils: a rhizobox study. *J Environ Sci* 2010; 22(1):98–105.
- Meyers DER, Auchterlonie GJ, Webb RI, Wood B. Uptake and localisation of lead in the root system of *Brassica juncea*. *Environ Pollut* 2008; 153:323–332.
- Plaza GA, Nalęcz-Jawecki G, Pinyakong O, Margesin R. Ecotoxicological and microbiological characterization of soils from heavy-metal- and hydrocarbon-contaminated sites. *Environ Monit Assess* 2010; 163:477–488.
- Schreck E, Foucault Y, Geret F, Pradère P, Dumat C. Influence of soil ageing on bioavailability and ecotoxicity of lead carried by process waste metallic ultrafine particles. *Chemosphere* 2011; 85(10):1555–1562.
- Shahid M, Pinelli E, Dumat C. Review of Pb availability and toxicity to plants in relation with metal speciation: role of synthetic and natural organic ligands. *J Hazard Mater* 2012, 219–220:1–12.
- Shahid M, Pinelli E, Pourrut B, Silvestre J, Dumat C. Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. *Ecotox Environ Safe* 2011; 74(1):78–84.
- Uzu G, Sobanska S, Sarret G, Munoz M, Dumat C. Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts. *Environ Sci Technol* 2010, 44:1036-1042.
- Vadrot CM. *La France au jardin: histoire et renouveau des potagers*. Delachaux & Niesté, Paris, 2009.
- Vamerali T, Banderia M, Mosca G. Field crops for phytoremediation of metal-contaminated land. *Environ Chem Lett* 2010; 8:1–17.
- Wong CSC, Li X, Thornton I. Urban environmental geochemistry of trace metals. *Environ Pollut* 2006; 142:1–16.
- Zotarelli L, Zatorre NP, Boddey RM, Urquiaga S, Jantalia CP, Franchini JC, Alves BJR. Influence of no-tillage and frequency of a green manure legume in crop rotations for balancing N outputs and preserving soil organic C stocks. *Field Crop Res* 2012;132:185–195.

3.5 Valorisation des travaux

Publications de rang A

| Auteurs | Titres | Revue, année, IF |
|---|---|---|
| <u>Stéphane Mombo</u> , Yann Foucault, Frédéric Deola, Irène Gaillard, Sylvaine Goix, Muhammad Shahid, Eva Schreck, Antoine Pierart, Camille Dumat | Management of human health risk in the context of kitchen gardens polluted by lead and cadmium near a lead recycling company. | -JSS, -2015 -2.06 |
| <u>Stéphane Mombo</u> , Eva Schreck, Camille Dumat, Christophe Laplanche, Antoine Pierart, Mélanie Longchamp, Philippe Besson, Maryse Castrec-Rouelle | Bioaccessibility of selenium after human ingestion in relation to its chemical species and compartmentalization in maize. | -EGH -2016 -2.079 |
| Annabelle. Austruy, Christophe Laplanche, <u>Stéphane Mombo</u> , Camille Dumat, Frédéric Deola, Charles Gers | Ecological changes in historically polluted soils: Metal (loid) bioaccumulation in microarthropods and their impact on community structure. | -Geoderma, -2016 -3.78 |
| TianTian Xiong, Annabelle Austruy, Antoine Pierart, Muhammad Shahid, Eva Schreck, <u>Stéphane Mombo</u> , Camille Dumat | Kinetic study of phytotoxicity induced by foliar lead uptake for vegetables exposed to fine particles and implications for sustainable urban agriculture. | -JES -2016 -2.69 |
| Annette Bérard, Line Capowiez, <u>Stéphane Mombo</u> , Eva Schreck Camille Dumat, Frédéric Deola, Yvan Capowiez | Soil microbial respiration and PICT responses to an industrial and historic lead pollution: a field study. | -ESPR -2016 -2.97 |
| Thibaut Lévêque, Yvan Capowiez, Eva Schreck, Stéphane Mombo, Christophe Mazzia, Yann Foucault, Camille Dumat | Effects of historic metal (loid) pollution on earthworm communities. | -STE -2015 -3.06 |
| Sylvaine Goix, <u>Stéphane Mombo</u> , Eva Schreck, Antoine Pierart, Thibaut Lévêque, Frederic Deola, Camille Dumat | Field isotopic study of lead fate and compartmentalization in earthworm–soil–metal particle systems for highly polluted soil near Pb recycling factory. | -Chemosphere -2015 -3.69 |
| TianTian Xiong, Thibault Leveque, Muhammad Shahid, Yann Foucault <u>Stéphane Mombo</u> , and Camille Dumat | Lead and Cadmium Phytoavailability and Human Bioaccessibility for Vegetables Exposed to Soil or Atmospheric Pollution by Process Ultrafine Particles. | -HME -2014 -3.13 |
| <u>Stéphane Mombo</u> , Camille Dumat, Muhammad Shahid, Eva Schreck | A socio-scientific analysis of the environmental and health benefits and potential risks of cassava crops production and consumption in the world. | -ESPR Accepted with modifications -2.97 |

Communications en colloques internationaux et nationaux, exposés (E) et posters (P).

- Stéphane Mombo, Eva Schreck, Laura Lagier, Thibaut Lévêque, Yvan Capowiez and Camille Dumat. **Study of turricules to highlight the influence of earthworm bioturbation on lead phytoavailability and human bioaccessibility.** *24^e Réunion des Sciences de la Terre. 24 au 31 Octobre 2014 (E).*
- Stéphane Mombo Yvan Capowiez, Eva. Schreck, Christophe Laplanche, Frédéric Deola, et Camille Dumat. **Effect of historical soil pollution by metal (loid) s on earthworm bioturbation activity: consequences in terms of ecosystem services and pollutants fate.** *Intersol 2015. 24 au 26 Mars 2015(E).*
- Stéphane Mombo, Yvan Capowiez, Eva Schreck, Christophe Laplanche, Thibaut Lévêque and Camille Dumat. **Effect of persistent historical soil pollution on biological activity: consequences on ecosystem-services.** *Workshop Environmental impacts of mining and smelting. 8 au 9 Janvier 2015(E).*
- Stéphane Mombo, Eva Schreck, Mélanie Longchamp, Antoine Pierart, Camille Dumat Maryse Castrec-Rouelle. **Influence of selenium chemical speciation on its compartmentalization in maize tissues and risks involved by oral bioaccessibility after ingestion.** *The 8 international Workshop on Contaminant Bioavailability in terrestrial Environment 18 au 21 Octobre 2015 (E).*
- Stéphane Mombo, Camille Dumat, Muhammad Shahid Eva Schreck. **Analyse socio-scientifique des opportunités environnementales de la culture du manioc dans le monde pour promouvoir la transition écologique.** *Intensification écologique des sols et agroécologie en Afrique de l'Ouest. Conception, pratiques, résultats, diffusion 31 au 02 Mars 2016 (E).*

- Stéphane Mombo, Yan Foucault, F. Déola, I. Gaillard, Goix, Muhammad Shahid, Eva Schreck, Antoine Pierart and Camille Dumat. **Metal bioaccessibility to refine human health risk assessment: case of Pb and Cd pollution in kitchen gardens.** : 24^e Réunion des Sciences de la Terre. 24 au 31 Octobre 2014 (P).
- Antoine Pierart, Stéphane Mombo, Camille Dumat, Nathalie Séjalon-Delmas. **Antimony in urban gardens: mycorrhizal symbiosis and organic matter influence on vegetables accumulation and human bioaccessibility.** *Intersol 2015. 24 au 26 Mars 2015 (P).*
- Annabelle Austruy, C. Laplanche, Stéphane Mombo, C. Dumat, Frédéric Deola, C. Gers. **Effet d'une pollution historique des sols en métaux et métalloïdes : bioaccumulation et structure des communautés de microarthropodes :** *Colloque 2015 de la Société Française d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée à Bordeaux, 30 juin-1 juillet 2015 (P).*

Création de ressources pédagogiques.

Production de 3 ressources pédagogiques pour le Réseau-Agriville, qui est un Réseau international d'innovations pédagogiques et de recherches participatives pour les agricultures urbaines.

- **Gestion des risques Environnement-Santé dans le contexte de jardins potagers aux abords d'une usine de recyclage des métaux** « <http://reseau-agriville.com/cours/course/view.php?id=23> »
- **Biodisponibilité pour l'homme du sélénium après ingestion de maïs:** <http://reseau-agriville.com/cours/course/view.php?id=66>
- **Culture du manioc dans le monde: Analyse socioscientifique des opportunités environnementales et des risques, pour promouvoir la transition écologique.** «<http://reseau-agriville.com/cours/course/view.php?id=64> ».

Enseignements.

- Pendant deux années académiques 2015 et 2016, j'ai assuré des travaux pratiques et travaux dirigés en 1ère année

| Année | TP | TD |
|-------|--|--|
| 2015 | Caractéristiques des sols Mesure pH, (eau et KCL), CaCO ₃ , CEC -Phosphore | -Sols Acides (Problèmes et remèdes) -Qualité des sols -Valeur fertilisante de la matière organique et calcul de la fertilisation N.P.K |
| 2016 | -Calcium, -Conductivité | |
| | Formation des agents de la société Total sur la chimie des sols et la nutrition des plantes. | |

Annexe 1 :

Cette partie porte sur une étude statistique réalisée pendant la thèse sur les données de plombémie des employés de de l'Affinerie de de Pont Sainte Maxence (APSM), une des usines du groupe STCM. Cette étude rentre dans le cadre d'un accord réciproque et individuel entre les employés et la direction de la société.

L'objectif pour l'entreprise STCM était d'avoir les résultats des tests statistiques réalisés sur des données d'exposition des employés en fonction entre autres de leurs postes d'affectation en vue d'une meilleure pris en compte et prévention des risques d'exposition.

Etant donné la confidentialité et la sensibilité de ces informations, l'étude complète ne peut être reproduite dans son intégralité. Le document reprend la présentation du contexte, la méthodologie appliquée et les principales conclusions. **L'intégralité du rapport remis à la société STCM est classé confidentiel.**



**Analyse statistique des facteurs potentiellement influant de la plombémie
des employés
de l’Affinerie de Pont Sainte Maxence (APSM).**



Stéphane Mombo, Christophe Laplanche, Frédéric Deola et Camille Dumat



Introduction

Dans le contexte d'une collaboration de recherche entre le groupe STCM et les laboratoires EcoLab (UMR 5245 CNRS-UPS-INPT) et Certop, (Centre d'Etude et de Recherche Travail Organisation Pouvoir, UMR 5044), et plus précisément dans le cadre de la thèse de S. Mombo, une étude statistique des potentielles corrélations entre la plombémie des salariés et certaines informations contextuelles les caractérisant (comme l'âge, le poste de travail ou l'ancienneté) a été réalisée. L'ensemble de ces informations ont été renseignées depuis plusieurs années et organisées sous la forme d'une base de données. Dans cette annexe, une courte synthèse bibliographique est présentée, puis une synthèse des méthodes utilisées et des résultats obtenus lors des analyses statistiques réalisées par S. Mombo et fournies en 2015 à l'entreprise avec une clause de confidentialité.

Comme décrit de façon détaillée dans les chapitres en début du manuscrit, le plomb (Pb) est un élément chimique de la famille des cristallogènes, de numéro atomique 82. C'est un métal gris-bleu dense, très malléable, d'où son usage dans plusieurs domaines. Il est couramment retrouvé comme contaminant des écosystèmes ([Shahid et al. 2011](#) ; [Andrade Lima & Bernardez, 2011](#)). **Très persistant, il est toxique même à faible concentration** ([Anon. 2015](#); [Uzu. 2010](#)), la toxicité et la phytotoxicité des particules microniques de plomb même à faible concentration pour les êtres humains, les végétaux, mais aussi pour l'environnement ont déjà été démontrées par plusieurs auteurs ([Zhang et al. 2015](#); [Sammut et al. 2009](#) ; [Hernández et al. 2005](#); [Jarup, 2003](#)).

Le Pb peut causer plusieurs anomalies chez l'Homme et affecter différents organes cibles comme le cerveau, les reins, le foie etc., mais aussi différents systèmes telles que : le système nerveux, cardiovasculaire, reproducteur ([Apostoli et al. 1998](#)). [Gallenberg et al, \(2010\)](#) a constaté une perturbation des hormones reproductrices chez des jeunes filles impubères, suivi d'une réduction de la fertilité après avoir atteint l'âge favorable à la reproduction ([Chang et al. 2006](#)), caractérisée par des anomalies menstruelles ([Tang et Zhu 2003](#)). Une étude réalisée par [Eum et al. \(2014\)](#) sur les concentrations en plomb osseux sur 621 femmes a démontré que le Pb pouvait contribuer à de nombreux problèmes de santé ultérieurement dont une ménopause précoce. Des mesures préventives ont donc été prises par les pouvoirs législatifs afin de réduire l'exposition professionnelle au plomb dans les usines industrielles. La France est l'un des premiers pays à imposer des mesures de réduction des niveaux d'exposition au Pb depuis les années 1940 par principe de précaution selon un rapport de l'INRS du 15/06/2010 (Plomb au

travail), les premiers tableaux sur les maladies professionnelles liées au plomb réalisée par le régime de sécurité sociale date de 1919. En ce qui concerne la plombémie (c'est-à-dire la concentration en plomb dans le sang humain), la législation européenne autorise un taux de plomb sanguin de 70 µg/dL. Tandis que la législation française, plus sévère impose actuellement un taux en plombémie maximal de 40 µg/dL. Dans le sang et les tissus mous la demi-vie du plomb est d'environ 30 jours, le plomb sanguin représentant 1 à 2 % de la quantité de plomb présent dans l'organisme. Mais, plus de 80 % de plomb contenu dans l'organisme est osseux dans ce cas, la demi-vie est plus longue 10 à 30 ans seul le plomb présent dans la moelle est susceptible d'être toxique ([Direction régionale des affaires sanitaires et sociales Rhône-Alpes 1999](#)). Dans l'organisme, le plomb agit en fonction de sa concentration de différentes manières selon l'organe cible.

Les concentrations en plomb pouvant être nuisibles pour l'organisme chez un adulte sont très variables et controversées, sans doute en lien avec la forme chimique (spéciation du plomb) souvent mal renseignée et les différences physiologiques des individus étudiés généralement peu pris en compte. On peut néanmoins situer une large gamme de concentrations pouvant varier entre 15 µg/dl pour la plus basse et 1500 µg/L et au-delà ([Direction régionale des affaires sanitaires et sociales Rhône-Alpes 1999](#) ; [Balbus-Kornfeld et al. 1995](#)). En effet, [Ekong et al, \(2006\)](#) a observé chez les adultes, les effets néfastes du plomb sur la santé pour des plombémies basses d'environ 15 µg/L, en particulier sur les reins, suivis par les effets cardiovasculaires pour des plombémies de 36 µg/L. Le rapport du haut conseil de la santé publique ([Exposition au plomb : détermination des nouveaux objectifs de gestion, 2014](#)) affirme que à ce niveau correspond une augmentation de 1,2 mm de Hg de la pression artérielle systolique. Les effets sur la reproduction apparaissent à des plombémies supérieures à 50 µg/L ([NTP, 2011](#)). La toxicité rénale liée à l'exposition au plomb se caractérise par une atteinte progressive de la fonction rénale (protéinurie, diminution du taux de filtration glomérulaire et de clairance de la créatinine et augmentation des niveaux de créatinine), elle est souvent accompagnée d'une augmentation de la pression artérielle. Une étude réalisée par le ministère de la santé public français en 1993 montre que les personnes ayant une plombémie aux alentours de 70 µg/L présentent une augmentation de la pression artérielle ([Vyskocil et al. 1992](#)). Une exposition chronique professionnelle à 400 µg/L peut entraîner une diminution de la production des spermatozoïdes ou une dénaturation de ces derniers ([Bonde et al. 2005](#)), il a constaté une diminution du ratio de fécondité chez les hommes exposés en comparaison aux non exposés passant respectivement de 0,4 à 0,9 pour des plombémies comprises entre 40 µg/dL et 20 µg/dL. Pour des personnes exposées à des concentrations supérieures à 1500 µg/L on observe

généralement une insuffisance rénale accompagnée d'une encéphalopathie aiguë, somnolence, des troubles de l'équilibre suivies des convulsions. Dans l'organisme, le plomb agit en mimant différents cations (Ca^{2+} et Fe^{2+}) et en passant par les canaux calciques ou du fer, il réduit ainsi la durée de vie des globules rouges (Landrigan, 2000). Un suivi sanitaire particulier est donc mis en place en France pour les personnels travaillant dans les secteurs où le risque d'exposition est plus élevé, notamment dans la métallurgie, la fabrication des céramiques, les fonderies d'alliage non ferreux ou les usines de recyclage des batteries. En effet, la consommation française de plomb s'élevait en 1997 entre 250 et 300 000 tonnes, avec un taux de recyclage d'environ 70 % (Vincent & Jeandel, 2002). L'essentiel du plomb consommé en France (70 %) est aujourd'hui consacré à la fabrication des batteries d'accumulateurs électriques pour l'automobile.

La plombémie est suivie régulièrement pour le personnel des usines encore en activité de la Société de Traitements Chimiques des Métaux, entreprise de recyclage de batteries plomb / acide. La STCM appartient au groupe ECO-BAT Technologies qui a une capacité de production de plus de 700 000 tonnes par an. En France, la STCM exploitait 3 usines jusqu'en septembre 2016: à Pont Ste-Maxence (Oise) rachetée en 2001, à Bazoches-les-Gallerandes (Loiret) où elle s'est établie en 1967 et à Toulouse son lieu de naissance en 1952. La STCM est spécialisée dans le recyclage des batteries plomb / acide et sa production annuelle est estimée à 65.000 tonnes de plomb.

Des facteurs physiologiques et comportementaux peuvent être à l'origine de différences de plombémie observées entre les individus soumis à une même exposition. La plombémie est par exemple nettement plus élevée chez les hommes que chez les femmes. Selon une étude réalisée par la Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales (DRASS, 2001) intitulée « Dépistage du saturnisme infantile autour des sources industrielles de plomb », en dehors d'une exposition environnementale particulière, une décroissance est observée jusqu'à l'adolescence puis une croissance est observée qui tend à se ralentir vers l'âge de 60 ans. Par ailleurs, plusieurs études mettent en évidence l'effet négatif de certains gestes qui favorisent l'ingestion de plomb sous forme particulaire comme le fait de fumer. Par ailleurs, pour le plomb comme pour d'autres polluants environnementaux, il est toujours complexe de fixer des valeurs de référence ou de trouver des sites témoins non impactés par la pollution. Pour le plomb, une source d'exposition majeure dans le passé a été les carburants d'automobiles, la plombémie moyenne de la population française évolue donc à la baisse.

II Principales sources et voies d'exposition au plomb

1-Les sources de plomb dans l'environnement sont multiples :

a-Sources anthropiques

- Le plomb contenu dans la peinture qui était utilisée autrefois, mais qui reste toujours une source non négligeable d'exposition dans les habitats anciens et peu entretenus.
- L'interdiction du 01 Janvier 2000 de la distribution de l'essence plombée a conduit à une baisse considérable des émissions de plomb dans l'atmosphère, toutefois comme ce polluant est persistant, on retrouve toujours dans les sols du plomb en provenance des essences. Au Etats Unis ([Goyer, 1990](#)) a observé une diminution de près de 50 % de la plombémie des citoyens après l'adoption de cette mesure.
- Le plomb provenant de la combustion des cigarettes est aussi une source non négligeable de l'exposition au plomb des fumeurs actifs, mais aussi des passifs ([Taylor et al. 2013](#) ; [Chelchowska et al. 2012](#)).
- La présence de plomb dans les eaux de distribution publique provient assez rarement de la ressource. Selon leur qualité physico-chimique, les eaux distribuées peuvent se charger en plomb, par dissolution des tuyauteries en plomb, publiques ou privées, encore très largement répandues.
- Selon la direction générale de la santé publique française, 2013, 250 millions de cartouches d'armes divers contenant du plomb sont tirées chaque année, ce qui représente 8.000 tonnes de plomb qui se retrouvent ainsi dans l'environnement.
- Les industries (raffinage recyclage métallurgie des métaux non ferreux etc.), sont des sources non négligeables, mais qui émettent de moins en moins dans l'environnement du fait de la réglementation les concernant.

b-Sources naturelles

Le plomb est aussi présent en petite quantité dans la croûte terrestre (16 ppm environ) et les sols (12 à 14 mg Pb/kg= de sol ([Palmer et al. 2015](#); [Rose et al. 1979](#)) avec des variations selon les régions. Il est surtout présent sous forme de minerai et n'existe presque pas à l'état

élémentaire (métal seul). On le retrouve dans les zones minières le plus souvent combiné à d'autres éléments comme le zinc (Wu. 2008 ; Zhang et al. 2012). En effet, Le plomb est souvent associé au zinc dans les minéraux type galène ou sphalérite (Zhang et al. 2011). Ces minerais de base sont similaires en termes de composition minérale, comportement géochimique et configuration d'électrons externes et ils ont une forte affinité pour le soufre.

Le plomb et de zinc sont extraits ensemble des minerais pendant la production industrielle. Environ 250 types de minerais de plomb / zinc ont été découverts dans la croûte terrestre, dont un tiers sont des sulfures ou sulfates. Galène et de sphalérites naturelles sont les principales sources utilisées (Zhi-you et al. 2008).

2-Les principales voies d'exposition au plomb pour l'homme :

Les peintures contenant du plomb ont été fortement utilisées dans l'habitat avant 1948 pour leurs caractéristiques : résistance à l'humidité et aux moisissures etc. Aujourd'hui encore il existe des habitations présentant des peintures contenant du plomb ; lorsqu'elles se dégradent, elles libèrent des poussières qui sont susceptibles d'être inhalées et surtout ingérées. Il existe aussi toujours en France et dans le monde, des tuyauteries en plomb qui peuvent favoriser la présence de plomb dans l'eau de distribution publique.

La pollution des sols par le plomb est une préoccupation majeure, selon (Nriagu et Pacyna 1988) il est estimé entre 357 et 857×10^6 kg de plomb/an qui sont relâchés dans l'environnement par l'activité minière et industrielle (Mombo et al. 2015). Zhang et al. (2012) estiment globalement à environ 300 millions de tonne de plomb rejetées dans l'environnement depuis plus de cinq millénaires et dont la plus grande partie correspond au 500 dernières années. L'alimentation et en particulier la consommation de végétaux contaminés est une voie importante d'exposition humaine au plomb (Xiong et al. 2014; Alexander et al. 2006; Khan et al. 2008). Xiong et al. (2014) a montré que les végétaux pouvaient être contaminés à la fois par transfert sol-plante et atmosphère-plante lorsque de fines particules sont présentes dans l'atmosphère. En l'absence de valeurs réglementaires ciblant le sol, le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF) a émis des recommandations sur la contamination des aliments par le plomb, ainsi que sur la limite de contamination acceptable des sols agricoles par les éléments traces métalliques. Des valeurs limites de concentrations en plomb dans différents substrats et compartiments (e = salade, céleri, épinards), utilisées par la cellule inter-régionale

d'épidémiologie d'intervention Rhône-Alpes-Auvergne Novembre (1999) sont présentées dans le tableau 26 ci-dessous.

Tableau 26 : Valeurs limites de concentrations en plomb dans différents substrats et compartiments (e = salade, céleri, épinards), utilisées par la cellule inter-régionale d'épidémiologie d'intervention Rhône-Alpes-Auvergne Novembre 1999)

| Valeur limite | le sol (mg/kg MS) | Eau (µg/m ³) | Air (µg/m ³) | Fruits (mg/kg poids frais) | Légumes (mg/kg poids frais) |
|---------------|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| Plomb | 100 | 0,1-1,0 | 0,1-1,0 | 0.3 | 0.5 |

De fortes pollutions historiques des sols, sédiments de rivières ont été induites en France par les usines de traitement et transformation des métaux comme l'entreprise MétalEurop dans le Nord de la France qui est désormais fermée. Le renforcement de la réglementation environnement-santé accompagné de progrès technologiques en particulier pour les filtres des cheminées ont permis des réductions drastiques de ces émissions.

Cependant, comme le plomb est un métal (éco) toxique même à faible concentration (Uzu, 2010 ; Ysart et al. 2000). Les émissions particulaires fines et ultrafines (PUF) riches en plomb sont contrôlées et étudiées de façon très stricte en raison de leurs interactions avérées avec les écosystèmes et l'homme : en milieu professionnel ou non.

Globalement en France selon un rapport de l'INRS sur le plomb au travail, on peut constater une baisse globale et significative des maladies liées à l'exposition au plomb pour les salariés travaillant dans des usines de métallurgie, comme l'indique la figure-49 représentant le nombre de cas de saturnisme reconnus depuis 1988. Cette dégressivité s'est poursuivie depuis comme cela est expliqué dans une étude récente de l'INSERM (2015) : « Le saturnisme ou intoxication au plomb » <http://www.inserm.fr/thematiques/sante-publique/dossiers-d-information/le-saturnisme-ou-intoxication-au-plomb>. Selon cette étude, les causes de la baisse de plombémie observée seraient directement liées à : (i) la réhabilitation de l'habitat ancien, (ii) la suppression des carburants plombés, (iii) le traitement des eaux de distribution publique et la diminution des concentrations en plomb des aliments. Néanmoins, des sources d'intoxication sont encore présentes dans l'environnement. Les peintures au plomb de l'habitat ancien restent la première

source de contamination des cas signalés, mais la plupart des enfants sont aussi exposés par l'alimentation et l'ingestion involontaire de particules du sol ou de poussières. Pour tenir compte des effets sans seuil du plomb sur la santé, le Haut Conseil de la santé publique préconise **une politique de réduction des expositions au plus bas niveau possible**. Il a fixé deux objectifs à atteindre d'ici 2017 : (i) une plombémie moyenne de $12\mu\text{g/L}$ pour l'ensemble de la population et (ii) 98% de la population avec une plombémie inférieure à $40\mu\text{g/L}$. Il a aussi fixé deux niveaux de plombémie permettant d'**organiser la prévention du saturnisme infantile** : (i) un niveau d'intervention rapide, à partir de $50\mu\text{g/L}$, impliquant une déclaration obligatoire du cas et déclenchant une enquête environnementale et des mesures de protection, (ii) un niveau de vigilance, à partir de $25\mu\text{g/L}$. Son dépassement indique l'existence probable d'au moins une source d'exposition dans l'environnement, nécessite d'informer les familles sur les sources usuelles d'imprégnation et les risques du plomb, et d'effectuer un suivi biologique trimestriel de la plombémie tant qu'elle n'a pas baissé.

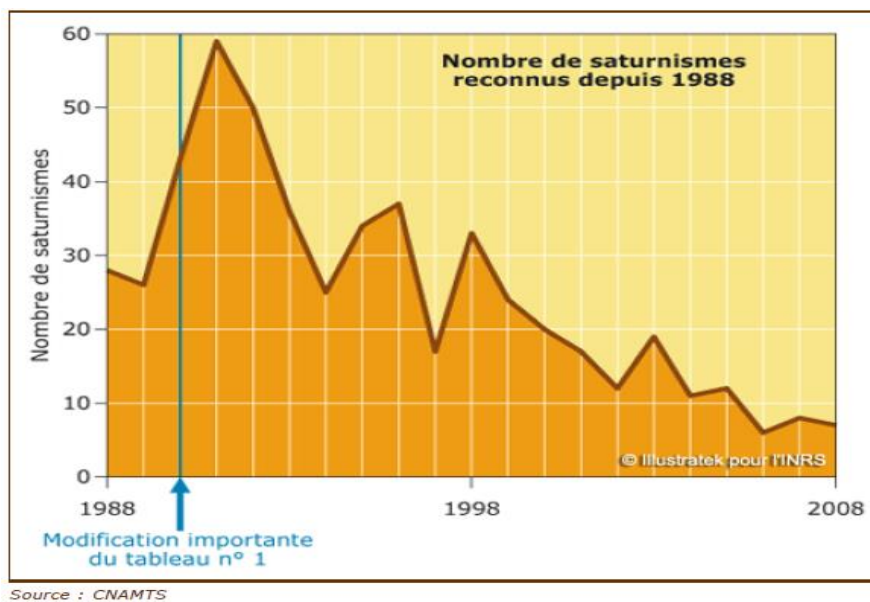


Figure 49 : évolution du nombre de de saturnisme reconnus depuis 1988.

Pour les travailleurs exposés à des PUF riches en plomb, des mesures particulières sont prise en France pour réduire l'exposition. Elles sont imposées par l'Inspection du Travail et la Direction Régionale de l'Environnement, de l'Aménagement et du Logement (DREAL) et aussi volontairement organisées par les directions d'entreprises engagées dans une politique de développement durable. **C'est dans ce cadre que le groupe STCM entreprise de recyclage**

de batteries plomb/acide, dont les usines sont classée pour la protection de l'environnement (ICPE) s'est fixée l'objectif de maintenir la plombémie de ses agents en dessous de 20 µg/dL pour les plus anciens salariés et de 10 µg/dL pour les nouveaux entrants.

Considérant les recrutements, des mesures allant dans le même sens sont prises. En effet, tout nouvel entrant doit impérativement avoir moins de 10 µg/dl. En effet, il est possible que des postulants provenant d'une autre entreprise présentent une plombémie très élevée initialement.

Dans le but d'avoir des niveaux plus sécuritaires que la réglementation française en cours (40 µg/L), **la STCM est signataire d'un engagement européen visant à avoir la plombémie de l'ensemble de ses anciens salariés en dessous de 30 µg/dL.** En parallèle, en accord avec les directives du groupe ECO-BAT Technologies, il y a une volonté d'atteindre en 2016 l'objectif d'aucun salarié ayant une plombémie supérieure à 20 µg/dl.

Pour réaliser cet objectif, plusieurs mesures et investissements ont été réalisés au fil des années conformément aux démarches de prévention de l'Institut National de la Recherche et de la Sécurité (INRS) et aux meilleures pratiques :

- Port obligatoire des masques ventilés.
- Contrôles réguliers des niveaux de plomb dans les cabines de contrôle, les lieux de repos, les bureaux, les vestiaires, les sanitaires et les lieux de production.
- Mesures d'hygiène renforcées : douches, nettoyage des vêtements, sols, etc.
- Amélioration des systèmes d'extraction d'air dans les ateliers les cabines de contrôle et les salles de repos.
- Systèmes de brumisation pour rabattre les poussières.
- Limitation de l'ingestion de plomb par le port de gants, le port des masques, nettoyage systématique des mains, restriction des zones de consommation de nourriture...
- Installation de portes coulissantes à fermeture rapide pour réduire les émissions fugitives entre les zones de génération et les zones passives, et de douche à air pour protéger les cabines de contrôle.
- Mesures trimestrielle de plombémie des agents

- Gestion « optimisé » des vestiaires avec des zones dites « sales » et d'autre dites propres avec une séparation entre les deux par les douches.

► **A la suite de ces diverses actions, le groupe STCM souhaite tester l'hypothèse suivante : lorsque les travailleurs sont individuellement équipés de masques ventilés (EPI), la voie principale d'exposition au plomb est-elle l'ingestion (main-bouche, nez, oreilles...) ?**

L'hygiène corporelle serait alors un point crucial pour réduire l'exposition (douches, changement et lavage des tenues de travail, hygiène corporelle, etc.). C'est pourquoi, les professionnels du secteur s'attendent a priori à une faible relation entre la plombémie mesurée, l'exposition et l'ambiance au poste de travail (mesure des concentrations en plomb dans l'air). Pour explorer cette hypothèse, le groupe STCM a donc confié aux chercheurs du Certop et EcoLab une base de données anonymisée de plombémie des salariés avec l'objectif de réaliser des analyses statistiques.

Il s'agit de vérifier quels sont les facteurs explicatifs des niveaux de plombémie et de vérifier si effectivement, certains facteurs à l'échelle individuel (comportementaux, ex. gestes main-bouche ; physiologiques, ex. corpulence, sudation...) seraient ou non prépondérants par rapport à des facteurs à l'échelle du poste de travail.

III) Bases de données plombémie de la STCM et de l'APSM.

1-Description de la base de données de l'APSM :

La mesure trimestrielle de la plombémie du personnel de l'usine de l'Affinerie de Pont Saint Maxence (APSM) a été effectuée de 2008 à 2013 sur la base d'une démarche de prévention active. Ces mesures ont été regroupées dans une base de données qui contient les mesures de **plombémie** accompagnées de leur **date de prélèvement** (4 mesures par an par salarié, pour un total de 53 salariés). Ces mesures sont complétées par des caractéristiques du personnel (**identifiant** anonyme de l'employé, **date de naissance**, **date d'entrée**, **poste d'affectation**). Des analyses statistiques seront effectuées sur ces mesures afin d'étudier les évolutions de plombémie des employés de l'usine sur la période de 2008-13.

2- Déroulement des analyses statistiques et questions associées :

Les anciennetés et âges des employés ont été calculés pour chaque date de prélèvement. On dispose donc associée à chaque mesure de plombémie (qui sera ici la variable expliquée des analyses statistiques) la date de prélèvement, l'identifiant anonyme de l'employé ainsi que son ancienneté, son âge et le poste qu'il occupe lors du prélèvement (qui seront les variables explicatives).

Dans un premier temps, une analyse descriptive des données a été effectuée pour pouvoir ensuite réaliser des graphiques pertinents de l'évolution de la plombémie des salariés en fonction des différentes variables explicatives. Dans un second temps, des tests statistiques (analyses de la variance et régressions) ont été effectués sur la base des observations précédentes afin de confirmer ou infirmer les différentes hypothèses émises au cours de la phase précédente. Ces analyses avaient pour but de partitionner plus finement les valeurs de plombémie observées en différentes composantes associées au poste, à la date de prélèvement, à l'ancienneté et à l'âge du salarié. Les questions suivantes ont été étudiées :

- 1) La plombémie est-elle différente entre les postes de travail ?**
- 2) La plombémie est-elle influencée par l'ancienneté/l'âge du salarié ?**
- 3) Une baisse significative de la plombémie de 2008 à 2013 est-elle observée ?**

IV-Résultats et discussions.

1) La plombémie est-elle différente entre les postes de travail ?

Pour répondre à cette question, un test statistique a été effectué pour observer la plombémie des employés en fonction de leurs différents postes d'affectation. Les données ont été regroupées dans une figure qui représente la variation de la plombémie des employés en fonction des différents postes d'affectations. A la demande de l'industriel cette figure ne peut être publiée dans le présent document. Les postes d'affectation sont les suivantes

- Affinage (AF)
- Affinage weekend (AFW)
- Cour (équipe logistique de gestion d'entrées / sorties des flux de matière (C))

- Direction (Dir)
- Four Semaine (Fs)
- Hygiène Sécurité Environnement (HSE)
- Maintenance (M)
- Four Weekend (FW)
- Qualité (personnel affecté au contrôle des matières) (QHSE)

Pour savoir si la plombémie des salariés était influencée par les différents postes d'affectation, nous avons dans un premier temps calculé les plombémies moyennes et effectué un test statistique (ANOVA) sur ces dernières. Dans le document présenté à l'industriel, la figure présente des « boîtes à moustache » avec les médianes de plombémie des employés de l'APSM en fonction des postes d'affectation. La largeur des différentes boîtes est proportionnelle au nombre de mesures échantillonnées par poste d'affectation, autrement dit, plus la boîte est large plus on retrouve d'individu ayant participé pour ce poste à la campagne de prévention active. Il est constaté que les moyennes des différents postes d'affectation se situent approximativement au même niveau pour les différentes activités liées directement à la production. Les postes pour lesquels les séjours dans les bureaux sont plus prolongés (Dir et QHSE) présentent une moyenne de plombémie plus basse.

Les résultats de l'ANOVA suggèrent néanmoins que la plombémie varie suivant l'activité de production (affinage, broyage...) (p-value = 2,2 e -16 *).**

Pour interpréter les résultats de cette analyse, des caractéristiques individuelles des employés ont été étudiées. En effet, la figure mentionnée précédemment présente les boîtes par poste d'affectation pour tous les employés. Ici nous avons donc une variabilité globale intra poste d'affectation d'une part et pour tous les postes d'affectations d'autre part. Ce graphique nous donne donc de manière générale la tendance plombémique des salariés en fonction de leurs postes d'affectation.

Pour avoir une idée de la plombémie individuelle cette fois ci, mais toujours par poste d'affectation il a été nécessaire de décomposer les données au niveau individuel. Une analyse assortie d'un graphique a été réalisée.

Il a alors été constaté que la plombémie individuelle des salariés de l'usine de l'APSM, est très variable d'une part au sein d'un même poste d'affectation et d'autre part pour un même individu

Parmi la variabilité plombémique des employés, deux individus se distinguent avec une concentration en plomb dans le sang significativement plus élevée que les autres. L'un travaille au sein de l'atelier d'affinage et l'autre est affecté aux fours en semaine.

. L'évolution de la plombémie dans le temps pour ces individus a été étudiée. Il a été démontré que ces deux individus ont une plombémie très élevée au cours des premières prises de sang donc au début de la campagne de prévention et ensuite, la plombémie baisse progressivement au cours des différents prélèvements tout au long de la campagne de prévention active.

Cette baisse similaire de la plombémie pourrait être due aux différentes mesures prises par la société dans le cadre la campagne de prévention active pour la protection de ses employés, mais aussi aux campagnes de sensibilisation

Un autre constat est la grande variabilité de la plombémie des individus au début de la campagne de prévention, on peut voir en effet que certains individus commencent la campagne avec des plombémies hautes, supérieur à 30 $\mu\text{g/L}$, alors que d'autres au contraire commencent avec des plombémies très basse : inférieur 10 $\mu\text{g/L}$. Ceci nous amène à nous interroger sur les activités extra-professionnelles de ces différents individus (bricolage par exemple avec ponçage de peintures) mais aussi sur leurs comportements en termes de protection (port des EPI et respect des règles de sécurité). Des facteurs physiologiques aussi ne sont pas à écarter car certains employés peuvent avoir une sensibilité plus importante que d'autres favorisant ainsi une variation plus moins importante par rapport aux autres. Néanmoins, au regard de ce qui précède et à l'allure de la baisse globale de la plombémie des employés tout au long de la campagne de prévention, on peut penser que, les consignes et les nouvelles mesures semblent être respectées par ces derniers.

Le fait que le poste d'affectation en production soit un facteur qui a une influence sur la concentration en plomb dans le sang des salariés, mais que par contre, au sein d'un poste d'affectation il y'ait une grande variabilité individuelle alimente l'hypothèse des facteurs physiologiques et d'hygiène globale au travail.

2) La plombémie est-elle influencée par l'ancienneté/l'âge du salarié ? Y a-t-il une évolution de la plombémie suite aux mesures prises par la STCM pour réduire l'exposition des salariés ?

Nous avons ensuite exploré si l'ancienneté a une influence sur la plombémie des salariés. Pour ce faire, nous avons réalisé un graphique qui présente la plombémie des salariés en fonction de leur ancienneté et de leurs postes d'affectations. Plusieurs constats ont été réalisés : les salariés le plus anciens ne sont pas ceux qui a le taux de plombémie le plus élevé. En fonction de l'ancienneté, des activités aux postes de l'entreprise et aussi du comportement à l'intérieur et à l'extérieur de l'usine, on peut donc avoir une plombémie plus ou moins élevée. En effet, habiter dans une maison procédant des tuyauteries en plomb ou ayant une peinture ancienne contenant du plomb, peut favoriser une augmentation de la plombémie d'une part ou le ralentissement anormale de la baisse de la plombémie engendré par les mesures prises par les responsables de la société d'autre part.

Il a pu être distingué, trois grands groupes, un premier groupe dont l'ancienneté est comprise entre 0 et 10 ans, un second dont avec une ancienneté comprise entre 10 et 15 ans et enfin une troisième groupe avec une ancienneté de 15 à 23 ans. Nous pouvons observer que de ces trois groupes celui qui a la plus forte plombémie est le groupe ayant l'ancienneté la plus élevée (15 et plus). Néanmoins l'individu qui est le plus ancien ne présente pas la plombémie la plus élevée.

Ces trois grands groupes d'individus représente en effet différentes générations d'individus au sein de l'entreprise. Celle-ci a aussi subit différentes politiques de restructuration et organisationnelles. L'entreprise APSM, a été créé en 1989 à cette époque, tous les différentes mesures prises actuellement n'existaient pas on peut donc penser que les individus les plus anciens ont finalement acquit des habitudes et des comportements qui font que leur plombémie soit plus élevé que celle des deux autres groupes. En 2001 APSM est racheté par le groupe STCM, s'en ai suivi une vague de recrutement et de restructuration de l'entreprise, cette année correspondant à la deuxième génération d'individus. Enfin, une dernière vague de recrutement avec les individus ayant les la plus basse plombémie.

Les résultats des tests statistiques (ANOVA) montrent en effet que la plombémie des salariés est légèrement influencée par l'ancienneté de ces derniers p-value = 0,0266. Pourtant l'exemple du salarié le plus ancien nous montre le contraire. De ces observations, nous pouvons dire que le comportement et l'hygiène personnelle des salariés et le poste dans l'entreprise jouent un rôle important dans l'évolution de la plombémie individuelle de ces derniers

La moyenne de la plombémie du « groupe 1 » est légèrement supérieur à celle du « groupe 2 » et « 3 » tandis que, le groupe 1 est celui qui représente des employés ayant une ancienneté la plus petite. Selon les analyses, le groupe ayant les plus grandes concentrations en plomb dans le sang est le groupe des plus anciens. Les plus anciens sont ceux qui ont subi toutes les restructurations de la société, mais aussi ceux qui ont potentiellement des habitudes bien ancrées et qui ont eu l'exposition la plus importante dans le temps. Les habitudes peuvent favoriser une augmentation de la plombémie et pourraient expliquer pourquoi ce groupe a la plombémie la plus élevée. Cela reste à pondérer par une exposition plus importante vis-à-vis des autres groupes.

Comme pour le poste de travail (à l'exclusion des postes plus administratifs), l'ancienneté dans l'entreprise influence légèrement la plombémie. Les comportements individuels des salariés (comme la cigarette, le téléphone portable, le respect plus ou moins poussé des consignes d'hygiène sécurité, etc.) et des facteurs physiologiques auraient une influence prépondérante sur la plombémie dans un contexte où des moyens de protection collectifs et EPI adéquates sont mis en œuvre.

► Pour conclure, au regard des différentes analyses déjà réalisées, nous avons donc constaté que pour le cas spécifique des employés d'APSM la plombémie avait une tendance globale à la baisse significative. Comme de nombreuses mesures ont été prises par la direction de la société pour réduire l'exposition au plomb des salariés, on peut raisonnablement conclure

que ces mesures ont globalement porté leurs fruits. Le poste d'affectation (excepté pour les postes les plus administratifs), pas plus que l'ancienneté des salariés ou leur âge sont des facteurs qui influencent fortement et directement la plombémie des travailleurs. La piste des facteurs physiologiques et comportementaux est donc à privilégier pour rechercher de nouveaux moyens de réduire encore d'avantage la plombémie des travailleurs. Le respect encore plus rigoureux des précautions d'hygiène par l'ensemble des salariés avec un accent particulier sur les plus anciens pourrait apporter des améliorations profitables à tous.

Enfin, une étude plus approfondie permettant d'intégrer la dimension temporelle et la variabilité individuelle dans les analyses statistiques puis dans le processus de décision pourrait être réalisée. Les analyses statistiques réalisées jusqu'alors (ANOVA) considèrent les mesures trimestrielles de plombémie comme indépendantes (en terme statistique) ce qui n'est pas le cas en vue de la hiérarchisation des mesures par employé et de la dimension temporelle inhérente au suivi des employés. La variation (décroissance) et la variabilité (hétérogénéité) de plombémie pour les employés de l'entreprise est la conséquence d'une baisse générale de plombémie au cours du temps conséquence de la politique de l'entreprise et d'une variabilité des niveaux moyens de plombémie entre employés) conséquence d'une hétérogénéité dans le comportement individuel et la physiologie. Une étude statistique plus approfondie permettra de décomposer de manière quantitative la variabilité totale de plombémie en différentes composantes (individuelle, temporelle, poste). Cette approche permettrait d'apporter des éléments d'information afin d'affiner les actions de protection des salariés dans une optique globale d'amélioration de l'efficacité des mesures normalisées prises pour les sociétés de deuxième fusion en général et en particulier par la STCM.

Ces nouvelles normes favorisent en effet la réduction de l'exposition des travailleurs dans leur environnement de travail. Elles doivent toutefois être accompagnées d'une gestion humaine de proximité permettant de faire évoluer sur le terrain certaines habitudes comportementales et d'hygiène des salariés (grattage du visage par exemple ou changement systématique des tenus) qui restent encore des sources significatives d'exposition au plomb pour les travailleurs sur lesquelles il est possible d'agir.

References

- Alexander, P. D., Alloway, B. J., Dourado, A. M. (2006). Genotypic variations in the accumulation of Cd, Cu, Pb and Zn exhibited by six commonly grown vegetables. *Environmental Pollution*. 144(3), 736–45.
- Andrade, L. L. R., Bernardez L. A. (2011). Characterization of the lead smelter slag in Santo Amaro, Bahia, Brazil. *J. Hazard. Mater.* 189:692-699.
- Anon. (2015). News Science Selections Seeds of Toxicity 123(2):2015.
- Apostoli, P., Kiss, P., Porru, S., Bonde, J. P., Vanhoorne, M. (1998). Male reproductive toxicity of lead in animals and humans. 364–374.
- Balbus-Kornfeld, J. M., Stewart, W., Bolla, K. I., Schwartz, B. S. (1995). Cumulative exposure to inorganic lead and neurobehavioural test performance in adults: an epidemiological review. *Occupational and Environmental Medicine*. 52, 2–12.
- Bonde, J. P., & Apostoli, P. (2005). Any need to revisit the male reproductive toxicity of lead? *Occupational and Environmental Medicine*. 62(1), 2–3.
- Chang, S. H., Cheng, B. H., Lee, S. L., Chuang, H. Y., Yang, C. Y., Sung, F. C., & Wu, T. N. (2006). Low blood lead concentration in association with infertility in women. *Environmental Research*. 101, 380–386.
- Chelchowska M, Jablonka-Salach K, Ambroszkiewicz J, Maciejewski T, Gajewska J, Bulska E. (2012). Effect of cigarette smoking on blood lead levels in pregnant women. *Medycyna Wieku Rozwoj*. 16:196–204.
- Direction régionale des affaires sanitaires et sociales Rhône-Alpes. (1999). Evaluation de l'exposition des enfants au plomb émis par l'usine Metaleurop à Arnas (Rhône).
- Ekong, E. B., Jaar, B. G., & Weaver, V. M. (2006). Lead-related nephrotoxicity: a review of the epidemiologic evidence. *Kidney International*. 70, 2074–2084.
- Eum, K. D., Weisskopf, M. G., Nie, L. H., Hu, H., Korrick, S. A. (2014). Cumulative lead exposure and age at menopause in the Nurses' Health Study cohort. *Environmental Health Perspectives*. 122(3), 229–34.
- FU Zhi-you, YANG Yuan-gen, WU Feng-chang, BI Xiang-yang, JIN Zhi-sheng.(2008). Advances of the research on temporal and special dynamic variation and the bioavailability of heavy metals in the surface environments of lead/zinc mines [J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*. 27(1): 89–97.
- Gallagher, J. C. (2007). Effect of early menopause on bone mineral density and fractures. *Menopause*. 14:567–571.

- Gollenberg, A. L., Hediger, M. L., Lee, P. A., Himes, J. H., Louis, G. M. (2010). Association between lead and cadmium and reproductive hormones in U.S. girls. *Environ Health Perspect* 118:1782–1787.
- Goyer, R. A. (1990). Lead toxicity: from overt to subclinical to subtle health effects. *Environmental Health Perspectives*. 86(1), 177–81.
- Hernández-Ochoa, I., García-Vargas, G., López-Carrillo, L., Rubio-Andrade, M., Morán-Martínez, J., Cebrián, M. E., & Quintanilla-Vega, B. (2005). Low lead environmental exposure alters semen quality and sperm chromatin condensation in northern Mexico. *Reproductive Toxicology*. 20(2), 221–8.
- Jarup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*. 68(1), 167–182.
- Khan, S., Aijun, L., Zhang, S., Hu, Q., Zhu, Y. G. (2008). Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in lettuce grown in the soils contaminated with long-term wastewater irrigation. *Journal of Hazardous Materials*. 152, 506–515.
- Landrigan, P. J., Boffetta, P., Apostoli, P. (2000). The reproductive toxicity and carcinogenicity of lead: A critical review. *American Journal of Industrial Medicine*. 38, 231–243.
- National Toxicology Program; NTP Monograph on Health Effects of Low-Level Lead - October 14, 2011.
- Nriagu, J. O., Pacyna, J. M. (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*. 333, 134–139.
- Palmer, S., McIlwaine, R., Ofterdinger, U., Cox, S. F., McKinley, J. M., Doherty, R., Cave, M. (2015). The effects of lead sources on oral bioaccessibility in soil and implications for contaminated land risk management. *Environmental Pollution*. 198, 161–171.
- Rose, A.W., Hawkes, H. E., Webb, J. S. (1979). *Geochemistry in Mineral Exploration*, second Ed. Academic Press, London.
- Smut, M. L., Nyack, Y., Rose, J., Hageman, J. L., Proud, O., Depoe, M., Fiona, E. (2009). Speciation of Cd and Pb in dust emitted from sinter plant. *Thermosphere*, 78(4), 445–50.
- Shahid, M., Pirelli, E., Pourrat, B., Silvestre, J., Dumat, C. (2011). Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L. roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74(1), 78–84.
- Tang, N., & Zhu, Z. Q. (2003). Adverse reproductive effects in female workers of lead battery plants. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 16(4), 359–361.
- Taylor, C. M., Golding, J., Hebbel, J., Alan M. Emend. (2013). Environmental factors predicting blood lead levels in pregnant women in the UK: The ALSPAC Study. *Palos one*. 8(9):1–8.

- Uzu, G., Sobinka, S., Sarre, G., Munoz, M., Dumat, C. (2010). Foliar lead uptake by lettuce exposed to atmospheric fallouts. *Environmental Science & Technology*, 44(3), 1036–42.
- Vincent, R., Jeandel, B. (2002). “Exposition professionnelle au plomb : Analyse des résultats archivés dans la base de données COLCHIC.” *Cahiers de notes documentaires - Hygiène et sécurité du travail*, 63–72.
- Vyskocil, A., Viau, C., Brodeur, J. « Recherche, validation et mesure de certains indicateurs pouvant permettre l’amélioration du projet de règlement pour le retrait préventif des travailleurs exposés au plomb », Rapport présenté à la Commission de la santé et de la sécurité du travail (CSST) et déposé le 2 septembre 1992.
- Wu, Q. R. (2008). Characteristic and comprehensive utilization of lead/zinc mineral resources in China. *China Metal Bulletin*, 9, 32–33.
- Xiong, T. T., Leveque, T., Austruy, A., Goix, S., Schreck, E., Dappe, V., Dumat, C. (2014). Foliar uptake and metal (loid) bioaccessibility in vegetables exposed to particulate matter. *Environmental Geochemistry and Health*, 897–909.
- Ysart, G., Miller, P., Croasdale, M., Crews, H., Robb, P., Baxter, M., Harrison, N. (2000). 1997 UK Total Diet Study dietary exposures to aluminium, arsenic, cadmium, chromium, copper, lead, mercury, nickel, selenium, tin and zinc. *Food Additives and Contaminants*. 775–786.
- Zhang, W., Chen, L., Zhang, R., & Lin, K. (2015). Effects of decabromodiphenyl ether on lead mobility and microbial toxicity in soil. *Chemosphere*. 122, 99–104.
- Zhang, X. W., Yang, L. S., Li, Y. H., Li, H. R., Wang, W. Y., & Ge, Q. S. (2011). Estimation of lead and zinc emissions from mineral exploitation based on characteristics of lead/zinc deposits in China. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*. 21(11), 2513–2519.
- Zhang, X., Linsheng, Y., Yonghua, L., Hairong, L., Wuyi, W., Bixiong, Y. (2012). Impacts of Lead/zinc Mining and Smelting on the Environment and Human Health in China. *Environmental Monitoring and Assessment*. 184: 2261–2273.

Effet du plomb sur l'organisme

| Enfants | Plombémie (µg/l) | Adultes |
|---------------------------------------|------------------|--|
| | 1500 | |
| | 1000 | ← Encéphalopathie |
| Encéphalopathie → | | ← Anémie |
| Néphropathie → | | ← Longévité diminuée |
| Anémie → | | |
| Douleurs abdominales → | 500 | ← Altération de la synthèse d'hémoglobine |
| | 400 | ← Neuropathie périphérique |
| ↘ Synthèse de l'hémoglobine → | | ← Infertilité masculine |
| | 300 | ← Néphropathie |
| ↘ Métabolisme de la vitamine D → | | ← Pression artérielle systolique ↗ (hommes) |
| | | ← Acuité auditive ↘ |
| | | ← Proto porphyrines érythrocytaires ↗ (hommes) |
| ↘ Vitesse de conduction nerveuse → | 200 | ← Proto porphyrines érythrocytaires ↗ (femmes) |
| ↗ Proto porphyrines érythrocytaires → | | |
| ↘ (?) Métabolisme de la vitamine D → | | |
| ↘ Toxicité neurologique → | | |
| ↘ QI → | 100 | ← Hypertension ↗ (?) |
| ↘ Audition → | | |
| ↘ Croissance → | | |
| Passage placentaire → | | |

Source : d'après Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1990 ; cité dans l'expertise opérationnelle /InVS de 2008 [5]