

## SYNTHESE ATELIER n°2

### **Outils d'évaluation de la biodisponibilité des contaminants dans les sols et apport en éRé**

**version DEF longue 12.09.2011**

Annette de Vaufleury, Matthieu Bravin,

<p>Annette de Vaufleury (Enseignant-chercheur) et collaborateurs (F Gimbert, B Pauget, C Fritsch, R Scheifler, M Coeurdassier), Laboratoire Chrono-environnement UMR UFC/CNRS 6249 USC INRA et IUT Besançon-Vesoul, Université de Franche-Comté Place Leclerc, 25030 Besançon cedex, France</p> <p>Téléphone 33 (0) 381 665 788, Télécopieur 33 (0) 381 665 797 annette.devaufleury@univ-fcomte.fr <a href="http://chrono-environnement.univ-fcomte.fr/">http://chrono-environnement.univ-fcomte.fr/</a></p>	<p>Matthieu Bravin (Chercheur)</p> <p>CIRAD, UPR Recyclage et risque, F-97408 Saint- Denis, La Réunion, France</p> <p>Téléphone 262 (0) 262 52 80 30 Télécopieur 262 (0) 262 52 80 21 matthieu.bravin@cirad.fr <a href="http://www.cirad.fr/ur/recyclage_risque">http://www.cirad.fr/ur/recyclage_risque</a></p>
--	--

## Résumé :

La biodisponibilité est la part des contaminants du milieu disponible pour l'absorption par les organismes chez qui elle peut occasionner des effets toxiques et/ou de la bioaccumulation. Effets toxiques et concentrations internes sont des informations importantes qui doivent être les plus fiables possible car elles sont utilisées pour estimer le risque environnemental des contaminants (cf atelier n°3 : PNEC<sup>1</sup> sol, valeurs toxiques de référence). On se focalisera dans cette présentation sur les métaux dans les sols.

La biodisponibilité peut être déterminée par mesure des effets (= biodisponibilité toxicologique) et/ou de la bioaccumulation (= biodisponibilité environnementale) de ces contaminants chez des organismes indicateurs exposés en laboratoire ou *in situ* à des sols contaminés. Les indicateurs écologiques retenus pour déterminer la biodisponibilité, peuvent soit correspondre aux organismes effectivement présents sur le site contaminé étudié, soit être représentatifs d'un ensemble d'organismes sensibles aux contaminants présents dans le sol ou à protéger dans un objectif de maintien des fonctions du sol (e.g. habitat, rétention, biodiversité...). Ces indicateurs biologiques doivent appartenir à divers niveaux trophiques et provenir d'habitats variés pour illustrer le mieux possible la diversité des réponses aux contaminants. Pour comprendre les paramètres qui régissent la biodisponibilité, on étudie les relations existant entre caractéristiques du sol et absorption par les organismes. L'analyse de la disponibilité environnementale qui utilise diverses méthodes chimiques pour décrire la mobilité des contaminants dans les sols apporte également des informations qui, couplées aux approches biologiques, doivent permettre à terme de modéliser les risques résultant de la contamination des sols.

Les intérêts et les limites de ces approches sont présentés à l'aide d'exemples sur plantes et animaux exposés à des métaux dans les sols.

1. DEFINITIONS de la BIODISPONIBILITE .....	3
2. OUTILS DE MESURE DE LA (BIO)DISPONIBILITE .....	4
Biologiques .....	4
Physico-Chimiques .....	6
Modélisations mathématiques .....	6
2.1. Méthodes biologiques : biodisponibilité estimée par mesure de la bioaccumulation .....	7
2.1.1. Plantes : l'exemple du RHIZOtest .....	7
2.1.2. Animaux : l'exemple du « Snail watch » .....	9
2.2. Avantages et limites des méthodes biologiques et chimiques pour mesurer la biodisponibilité .....	11
2.3. Couplage des approches physico- chimiques et biologiques .....	13
2.3.1. Exemple de relation chimie/biologie chez les plantes : .....	13
2.3.2. Exemple de relation chimie/biologie chez les animaux : .....	14
3. APPORTS ET ENJEUX de (BIO)DISPONIBILITE en éRé .....	17
Bibliographie .....	18

---

<sup>1</sup> PNEC : Predicted No Effect Concentration

# 1. DEFINITIONS de la BIODISPONIBILITE

Les contaminants présents dans les sols représentent une source de contamination d'autres compartiments des écosystèmes : eau, air et organismes. De nombreux paramètres vont conditionner les effets néfastes que ces contaminants peuvent causer chez les êtres vivants exposés: la nature des contaminants, leur toxicité, leur capacité à s'accumuler dans les organismes, de même que la durée et l'intensité de l'exposition qu'il est donc important d'évaluer le plus précisément possible. Il est reconnu que les effets biologiques ne sont pas toujours liés à la concentration totale d'un contaminant dans le sol. En fait, un organisme répond seulement à la fraction qui est biologiquement disponible (biodisponible) pour cet organisme et cela peut modifier considérablement les effets observés d'une contamination similaire de divers sols (Fig.1)

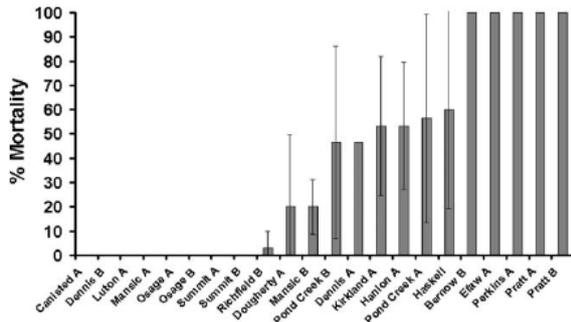


Figure 1- Réponse (mortalité) de vers de terre exposés à divers sols contaminés par 2000 mg.kg<sup>-1</sup> de Pb (Lanno et al, 2004).

La **biodisponibilité** correspond à la part des contaminants du milieu disponible pour les organismes. Elle dépend de facteurs physiques, chimiques et biologiques. Une définition consensuelle a été proposée par un groupe de travail international dans la norme ISO 17402 : *degré auquel des substances chimiques présentes dans le sol peuvent être absorbées ou métabolisées par un récepteur humain ou écologique, ou être disponibles pour une interaction avec les systèmes biologiques.*

La biodisponibilité est variable selon le contaminant, l'organisme cible, l'âge de la contamination (Smolders et al, 2009) et les propriétés réelles du milieu (sol/sédiment/eau). Aussi il convient de toujours préciser : **tel contaminant est biodisponible pour tel organisme** ainsi que les conditions d'exposition. La biodisponibilité est un processus dynamique qui repose sur trois concepts principaux (Fig 2) (Hamelink et al., 1994 ; Peijnenburg et al., 1997) :

✓ la disponibilité environnementale qui décrit les processus physico-chimiques régissant la partition (mobilité) de la substance étudiée entre la phase solide et la phase liquide du sol ou du sédiment.

✓ la disponibilité biologique ou biodisponibilité environnementale qui dépend de processus physiologiques particuliers à l'espèce considérée régissant le prélèvement<sup>2</sup> de la substance (qui peut conduire à la bioaccumulation).

✓ la biodisponibilité toxicologique qui correspond à la redistribution de la substance dans l'organisme et à ses **effets toxiques**.

En terme d'application environnementale, les concepts de biodisponibilité environnementale et toxicologique peuvent se traduire d'une part par la bioaccumulation du contaminant dans l'organisme cible et donc par une contamination potentielle de la chaîne alimentaire et/ou, d'autre part, par l'apparition d'une toxicité chez l'organisme cible l'empêchant ainsi de remplir de façon optimale sa fonction au sein des écosystèmes terrestres (par ex.. régulation du cycle de l'azote par la microflore des sols, production de biomasse par les plantes cultivées...).

A la base des modèles d'évaluation des risques (cf atelier n°3), la mesure des effets toxiques et de la bioaccumulation des substances chimiques peut permettre de comprendre, voir d'anticiper des pertes de biodiversité (cf Atelier n°1). De nombreux travaux sont également menés pour analyser la mobilité des contaminants dans les sols et pour modéliser les transferts dans divers compartiments

<sup>2</sup> Prélèvement = absorption et/ ou adsorption

biotiques et abiotiques des écosystèmes. **Parce qu'à terme, on espère pouvoir s'affranchir de mesures chez les organismes, beaucoup d'efforts sont portés sur la recherche d'extractants chimiques mimant la part biodisponible des contaminants.** Quelques exemples sont présentés pour le milieu terrestre et les métaux.

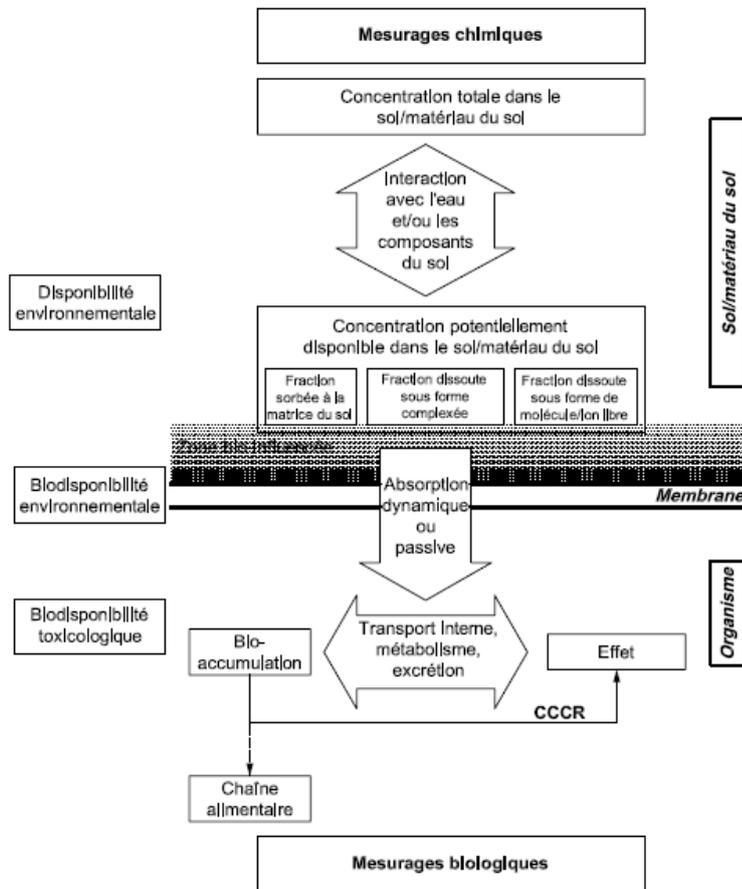


Figure 2 – De la concentration totale dans le sol à l'effet (ISO 17402 d'après Lanno et al, 2004)

## 2. OUTILS DE MESURE DE LA (BIO)DISPONIBILITE

**La biodisponibilité est variable selon les caractéristiques des milieux** (paramètres physico-chimiques du sol par exemple), **les indicateurs biologiques et les substances chimiques considérés**. Il n'y a donc pas une méthode mais diverses possibilités pour déterminer la biodisponibilité. Cela peut expliquer les difficultés rencontrées dans la prise en compte de la biodisponibilité en éRé (le concept n'étant pas récent, même en milieu aquatique...Cf Hamelink 1994). Les trois grands types de méthodes utilisables pour évaluer la biodisponibilité sont: biologiques (effets, bioaccumulation), physico-chimiques et mathématiques.

### Biologiques

On s'appuie dans ce cas sur la mesure des effets et / ou de la bioaccumulation des contaminants chez les organismes. **Il s'agit des seules mesures directes de la biodisponibilité**. Si le concept de biodisponibilité peut être défini de manière générale, **la biodisponibilité ne peut être mesurée que de manière spécifique**. La mesure de la biodisponibilité est en effet intimement liée à l'organisme cible sur lequel est effectuée cette mesure. La question du choix du ou des organisme(s) indicateur(s) est donc primordiale. L'indicateur(s) biologique(s) retenu(s) peut(vent) soit correspondre aux organismes effectivement présents sur le site, soit être représentatif d'un ensemble d'organismes du sol particulièrement sensible aux contaminants du sol ou à protéger dans un objectif de maintien des fonctions du sol (e.g. habitat, rétention, biodiversité...).

- Pour l'analyse des **effets**, diverses méthodes d'essais écotoxicologiques pour mesurer la biodisponibilité des contaminants dans les sols sont listées dans la norme ISO 17402. Un exemple de résultats classiques est illustré Fig.3.

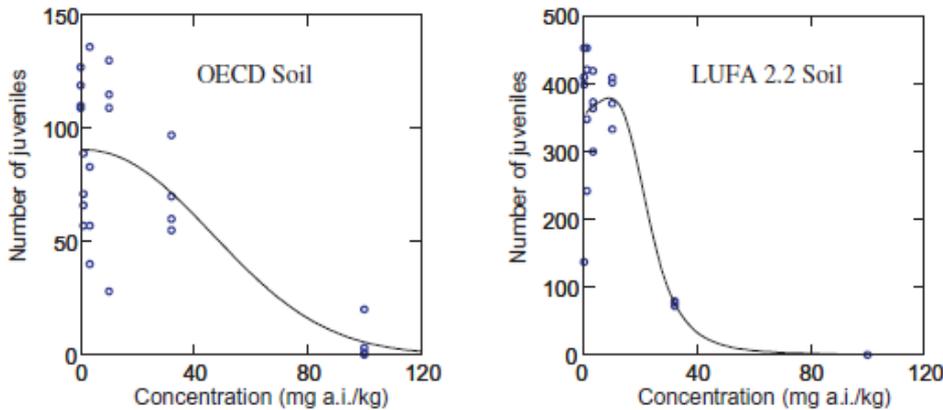


Figure 3 - Relation concentration d'exposition-réponse d'*Enchytraeus albidus* (oligochète, petit ver vivant dans le sol) à un herbicide (Amorim *et al.* 2005).

Ces bioessais permettent de déterminer des critères d'effets classiques (NOEC : No Observed Effect Concentration : concentration sans effet de la substance ou d'une matrice à tester, EC50 : concentration effective causant 50% d'effet...) qui seront utilisés pour définir des concentrations supposées sans risque pour les organismes dans les sols (PNEC : concentration prédite sans effet ; Eco-SSL : soil screening level par ex).

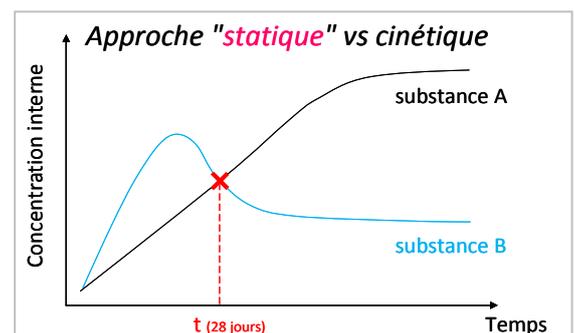
De nombreux travaux montrent que l'effet toxique est variable selon le type de sol utilisé (Fig, 1, 3). Ainsi dans l'exemple de la Fig.3, Amorim *et al.* établissent une NOEC (pour la production de juvéniles) dans les sols de cet herbicide comprise entre 3 et 32 mg.kg<sup>-1</sup> selon le type de sol où l'herbicide est utilisé. Il apparaît clairement que des paramètres du sol comme la teneur en matière organique, la capacité de rétention d'eau du sol (WHC), son pH, sa capacité d'échanges d'ions notamment, influencent la biodisponibilité toxicologique de la substance étudiée. Des essais de **modélisation des effets** à partir des paramètres du sol ont été réalisés et aboutissent à des équations du type :

$$\text{Log (EC50juv)} = 5 - 2 \cdot \log(\text{WHC}) + 0.5 \cdot \log(\text{OM})$$

L'équation étant valable pour des WHC comprises entre 42 et 90% et des teneurs en matière organique (MO) entre 2,7 et 8%. Ces équations ne peuvent pas, bien sur, être extrapolées à d'autres substances chimiques ou d'autres organismes. Le caractère intégrateur de l'organisme utilisé lui permet de refléter tous les paramètres en jeu (nature de la substance, facteurs du milieu, interactions biologiques et physico-chimiques...). Cependant, on ne maîtrise encore pas toutes les variables à considérer pour une modélisation fiable des effets.

- Pour les contaminants qui s'accumulent dans les organismes de façon plus ou moins stable selon les molécules et atteignent des concentrations internes supérieures à celle d'organismes non exposés on peut mesurer la **bioaccumulation**. **Cet autre outil d'évaluation de la biodisponibilité** reflète les processus d'adsorption, d'absorption/assimilation, d'excrétion et de stockage de polluants dans les organismes. Cette mesure du transfert peut être couplée à des mesures d'effets (toxicodynamique) par exemple sur la survie, la croissance. Cette approche utilise des organismes dans lesquels on mesure des concentrations en contaminants après une ou plusieurs durées d'exposition (flux de transfert) (toxicocinétique) (Fig.4).

Figure 4 - Complémentarité des informations obtenues par une mesure ponctuelle ou une analyse cinétique de l'accumulation. Cinétiques d'accumulation imaginées pour deux substances (A et B) dans un organisme exposé à un environnement contaminé (de Vaufleury *et al.* 2009, EGS).



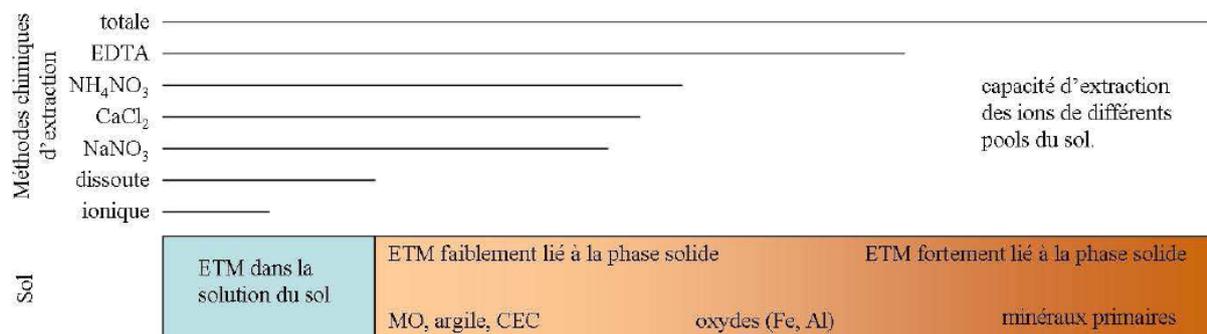
**Physico-Chimiques** : l'objectif de ces méthodes est de déterminer, avec la mise en œuvre de divers extractants chimiques (Fig.5), la fraction mobile des contaminants du sol, supposée disponible pour les organismes. Ces méthodes sont des mesures indirectes de la biodisponibilité. Elles fournissent des indicateurs des fractions extractibles des contaminants du sol qu'on cherche ensuite à corrélérer avec les effets et/ou les concentrations dans les organismes. Une liste non exhaustive des méthodes chimiques est donnée dans l'ISO 17402. Nous présenterons ici des exemples :

- avec le  $\text{CaCl}_2$  (cet extractant étant considéré comme pertinent pour caractériser la fraction disponible de métaux du sol comme le Cd et le Pb pour certaines plantes et invertébrés du sol ; ISO 2008 ; Harmsen 2007)

- et la méthode des gradients de diffusion en couche mince (Diffusive Gradients in Thin films, DGT) (Bravin *et al.*, 2010a, b) qui a par exemple déjà permis de quantifier la biodisponibilité environnementale du Cd et du Zn vis-à-vis des végétaux (Cornu et Denaix, 2006). La DGT prélève des métaux présents en solution induisant ainsi une déplétion et une réalimentation en élément par la phase solide.

L'extraction au  $\text{CaCl}_2$  et la DGT illustrent également les deux types de mesures physico-chimiques permettant d'évaluer la disponibilité environnementale des contaminants dans les sols. Le premier type correspond à des méthodes (extraction au  $\text{CaCl}_2$  par ex.) mises en œuvre sur des temps suffisamment longs pour que les équilibres physico-chimiques régulant la répartition des contaminants entre la phase solide et la solution soient atteints. Le deuxième type correspond à des méthodes dites cinétiques qui se caractérisent soit par une série de mesures à des temps inférieurs à celui nécessaire pour atteindre les équilibres chimiques (extractions cinétiques par ex.; Bermond et Varrault, 2004), soit par une mesure unique basée sur un prélèvement continu devant engendrer un perpétuel déséquilibre chimique (DGT par ex.).

Figure 5 - Capacité de différents extractants chimiques à extraire les ions des différents pools de métaux (ETM élément trace métallique) du sol.



Ces approches font l'objet de nombreux travaux de recherche dont la synthèse est notamment réalisée au sein du groupe de travail ISO TC190/SC7/WG8 Biodisponibilité<sup>3</sup>. Parmi les projets de normes, on peut citer l'ISO WD 14858 qui distingue les approches physico chimiques estimant la disponibilité présente (contaminants dans la solution du sol auxquels sont exposés les organismes) de la disponibilité potentielle (contaminants du sol qui peuvent mis en solution à partir de la phase solide dans un temps donné) sur la base d'extractants chimiques divers (0.01M  $\text{CaCl}_2$  et 0.1M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  pour la 1<sup>ère</sup> ou  $\text{HNO}_3$  0.43 M pour la 2<sup>de</sup>). Les extractants comme le  $\text{CaCl}_2$  ont été préférés à l'extraction ou percolation à l'eau (ISO 21-268) car ils simuleraient mieux le prélèvement par les plantes, seraient compatibles avec les bioessais d'écotoxicité et limiteraient les problèmes analytiques sur la phase extraite (ISO/WD 14858). Ces développements récents montrent que l'utilisation des extractants chimiques doit être réfléchiée en fonction des attentes de l'utilisateur.

### Modélisations mathématiques

On s'affranchit ici de mesures propres au site d'étude et on modélise d'après les caractéristiques du milieu, des contaminants, le risque de transfert et d'effet chez les organismes. Pour les métaux, des modèles sont basés sur le principe que l'ion libre dans la solution du sol (concentration à l'équilibre)

<sup>3</sup> <http://isotc.iso.org/livelink/livelink/open/tc190sc7>

est l'espèce chimique principalement prélevée par l'organisme (théorie de l'ion libre ou free ion activity model, FIAM) (Brown et Markich, 2000). Cette théorie a été plus récemment complétée dans le modèle du ligand biotique (terrestrial biotic ligand model, TBLM) par une prise en compte plus large de la chimie de la solution du sol (e.g. compétition s'exerçant entre les cations majeurs et les métaux vis à vis de cibles biologiques) (Thakali *et al.* 2006). Ces méthodes ne seront pas développées ici ; elles sont brièvement présentées dans la norme ISO 17402 (2008) qui cite également les méthodes en développement pour les contaminants organiques<sup>3</sup>.

Si la norme ISO 17402 (2008) liste les approches chimiques et biologiques (Fig.6) existantes d'évaluation de la biodisponibilité et spécifie les principes et les conditions limites des méthodes à utiliser, elle ne fournit pas une sélection des meilleures méthodes applicables. Les résultats obtenus à partir de telles méthodes peuvent être utilisés en tant qu'estimation de la biodisponibilité dans une approche d'évaluation du risque.

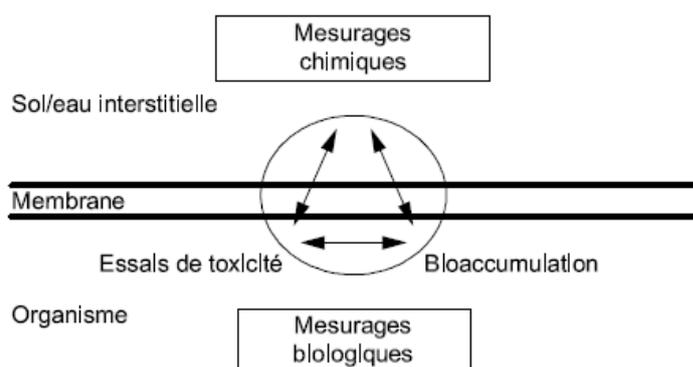


Figure 6 - Méthodes d'évaluation de la biodisponibilité – Relation entre essais biologiques, bioaccumulation et essais chimiques (Source : ISO, 17402 - Qualité du sol — Lignes directrices pour la sélection et l'application des méthodes d'évaluation de la biodisponibilité des contaminants dans le sol et les matériaux du sol (et peut également s'appliquer aux sédiments) publiée en 2008.

La biodisponibilité toxicologique évaluée à l'aide de bioessais d'écotoxicité (cf Fig.1, 3) ne sera pas approfondie ici, car leur intégration en éRé est plus pratiquée que celle de la biodisponibilité environnementale, même si des études sont encore nécessaires notamment pour améliorer la définition des valeurs toxiques de référence (Fritsch *et al.*, 2010 ; ateliers 1 et 3). L'intérêt de la bioaccumulation en éRé sera développé en s'appuyant sur des exemples qui portent sur l'analyse des transferts et de la bioaccumulation de métaux du sol vers une plante (le blé dur) et un animal (l'escargot). Loin d'être représentatifs de l'intégralité des transferts pouvant intervenir dans les écosystèmes, ces organismes « modèles » qui présentent des physiologies et des modes de vie contrastés illustrent deux maillons importants des chaînes trophiques terrestres.

## 2.1. Méthodes biologiques : biodisponibilité estimée par mesure de la bioaccumulation

L'analyse de l'accumulation de contaminants (métaux principalement) dans les organismes animaux (de Vaufleury, 2005 ; de Vaufleury et Gimbert, 2008) et végétaux (Mench, 1993, Morel, 1997, Smolders *et al.* 2009) pour détecter, cartographier les pollutions et appréhender les risques de transfert dans les chaînes alimentaires est pratiquée depuis de nombreuses années. Les relations entre l'accumulation et/ou leur « vitesse » d'entrée (flux d'absorption) des contaminants dans les organismes et leur toxicité (concept des CBR : Critical Body Residues, Lanno *et al.* 2004) sont également étudiées et constituent des éléments importants en éRé.

### 2.1.1. Plantes : l'exemple du RHIZOtest

Cette méthode (Fig.7) utilisant des plantes exposées en laboratoire par contact entre racines et sol (séparés par une fine membrane) permet de déterminer la phytodisponibilité environnementale des métaux et métalloïdes par la mesure des flux de transfert entre le sol et la plante. On peut aussi comparer les concentrations internes en fin d'essai. On couple ainsi analyse statique (mesure à un temps donné de la bioaccumulation) et cinétique des transferts (flux). Cette méthode permet par exemple de comparer la contamination de diverses espèces végétales sur un même sol, d'une même espèce sur divers sols ou encore d'évaluer le potentiel de bioaccumulation de diverses substances (éRé *via* une approche substance et matrice).

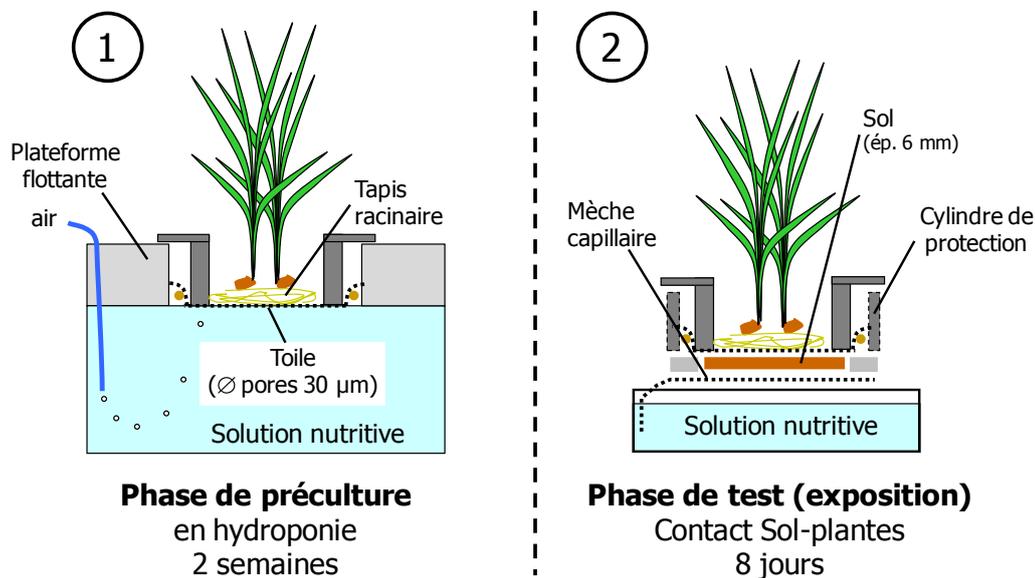


Figure 7 - Procédure expérimentale du RHIZOtest (ISO/WD 16198) constituée de deux étapes distinctes. La 1<sup>ère</sup> étape permet le développement des plantes et la formation d'un tapis racinaire en hydroponie. Au cours de la 2<sup>de</sup> étape, le tapis racinaire des plantes est mis en contact avec une mince couche du sol à étudier. C'est au cours de cette 2<sup>ème</sup> étape que la phytodisponibilité environnementale de métaux et métalloïdes en traces dans le sol est estimée par la mesure des flux de transfert chez les plantes (en ng métal m<sup>-2</sup> surface d'exposition s<sup>-1</sup>).

L'outil RHIZOtest a notamment été développé au travers d'une étude ayant pour objectif l'évaluation des risques de phytotoxicité du cuivre (Cu) sur le blé dur implanté sur sols à antécédents viticoles en Languedoc-Roussillon. Le RHIZOtest a ainsi montré sa capacité à discriminer la phytodisponibilité de Cu chez le blé dur dans des sols représentatifs de la région et présentant des propriétés physico-chimiques variées, notamment du point de vue du pH et du niveau de contamination en Cu (Fig.8.b).

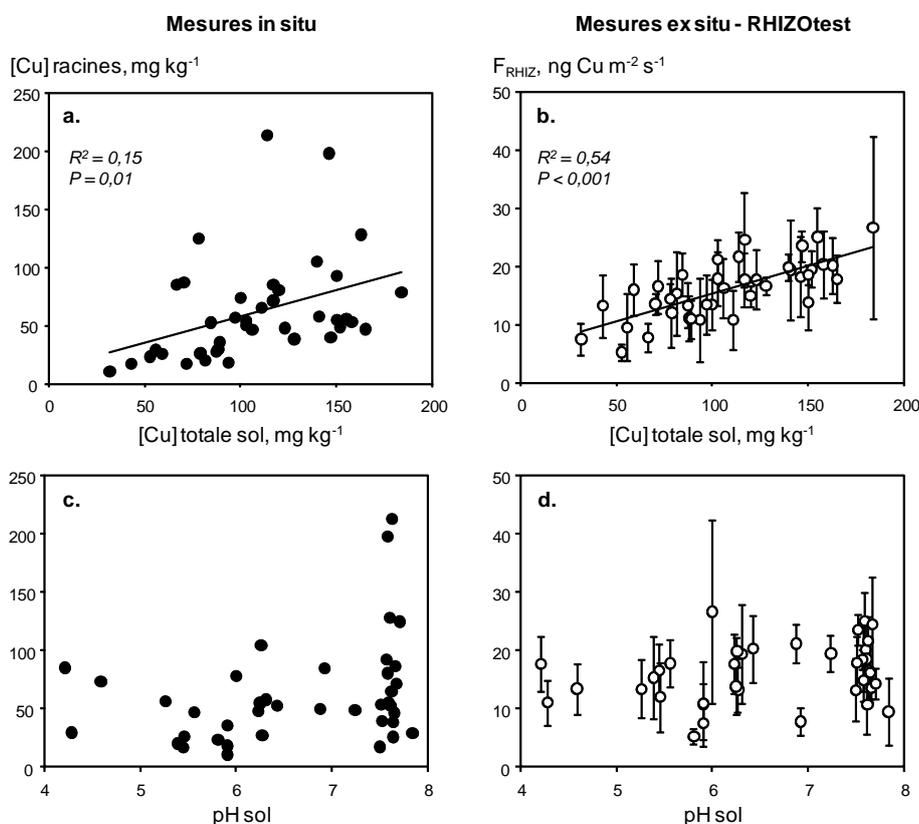


Figure 8 – Comparaison de la biodisponibilité de Cu pour le blé dur mesurée *in situ* ([Cu] racines, concentration en Cu dans les racines (a et c) et *ex situ* à l'aide du RHIZOtest ( $F_{RHIZ}$ , flux de Cu du sol à la plante (b et d) en fonction de la concentration totale en Cu (a et b) et du pH (c et d) de 40 sols à antécédent viticole (D'après Michaud *et al.* 2007 ; Bravin *et al.* 2010).

Les mesures en RHIZOtest ont également été comparées aux concentrations en Cu mesurées *in situ* dans des racines de blé dur prélevées sur les sols correspondants. Il est ainsi apparu que, comme pour la phytodisponibilité de Cu évaluée *in situ*, les mesures de phytodisponibilité effectuées en RHIZOtest ont été significativement corrélées à la concentration totale en Cu des sols et, au contraire, n'ont présenté aucune corrélation significative vis-à-vis du pH des sols (Fig.8). Cependant, malgré cette dépendance similaire vis-à-vis des propriétés du sol, aucune corrélation significative n'a pu être trouvée entre les mesures *in situ* et en RHIZOtest.

Une étude statistique a également permis de préciser les principales propriétés des sols déterminant la phytodisponibilité de Cu mesurée en RHIZOtest, à l'aide de régressions linéaires multiples du type (Bravin *et al.* 2010) :

$$\text{Log}(F_{\text{RHIZO}}) = 0,74(\pm 0,09)\text{Log}_{10}(\text{TotCu}) + 0,6 (\pm 0,1)\text{Log}_{10}(\text{CEC}) - 0,3 (\pm 0,1)\text{Log}_{10}(\text{Argile}) - 0,33(\pm 0,09)\text{Log}_{10}(\text{C}_{\text{organique}}) + 0,1(\pm 0,3) \quad R^2 = 0,72^{***} \quad (n = 40)$$

En multipliant la gamme de sols utilisés pour définir ces équations de transfert sol-plante, l'ambition est, à terme, de pouvoir prédire les risques de transfert de contaminants vers la plante *in situ*.

**Dans le cadre du projet de recherche NormaRHIZO (2010-2012), des travaux sont actuellement en cours, d'une part, pour étendre le domaine de validité du RHIZOtest aux principaux métaux et métalloïdes d'intérêt en écotoxicologie (notamment As, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb et Zn) et, d'autre part, pour parvenir à la normalisation ISO de la procédure expérimentale (projet de norme ISO 16198, Qualité du sol – Biotest végétal pour l'évaluation de la biodisponibilité environnementale des éléments traces pour les plantes).**

### 2.1.2. Animaux : l'exemple du « Snail watch »

L'évaluation de la biodisponibilité des contaminants pour les animaux est plus compliquée que pour les plantes car ils intègrent de multiples voies et sources d'exposition (Sizmur & Hodson, 2009). Pour l'exposition digestive, ce qui est dans le tube digestif peut être accessible mais pas forcément disponible (c'est à dire réellement assimilé dans les tissus) et peut être éliminé. Enfin la mobilité des animaux dans les milieux, leurs variations de régime alimentaire rendent complexes la modélisation des transferts et donc des concentrations internes dont on a besoin pour conduire une éRé, que ce soit pour estimer le risque pour l'organisme lui même (concept des CBR) ou pour ses consommateurs. Parmi les nombreux animaux utilisables en éRé pour suivre le devenir des contaminants dans les milieux (de Vaufleury, 2005 ; de Vaufleury & Gimbert, 2006), l'escargot Petit Gris (*Helix aspersa*, syn *Cantareus aspersus*) est un bioindicateur qui renseigne sur l'interface sol-plante-air-animal. Une illustration des réponses qu'il peut apporter en éRé est présentée à l'aide de deux études (une en laboratoire ; l'autre *in situ*) :

Question posée : les ETMs de sols d'un ancien site minier sont ils biodisponibles et toxiques pour les escargots ?

**In situ**, le « snail watch » (Fig. 9) révèle la biodisponibilité par l'accumulation de Pb dans des escargots implantés 28 jours en sentinelles ; cette accumulation ne s'accompagne pas d'effets toxiques (en terme de survie après 28 jours).

La mise en relation de la bioaccumulation avec les paramètres du sol et/ou la disponibilité environnementale est complexe à analyser car les escargots sont exposés non seulement aux métaux par ingestion ou contact avec le sol mais aussi par voie trophique *via* les végétaux ingérés.

**Dans le cadre d'un projet de recherche portant sur 12 sites naturels français contaminés ou non (Bioindicateurs 2<sup>4</sup>, 2009-2010), ce bioessai animal sera utilisé pour définir des concentrations internes de référence de divers métaux (Cd, Pb, As, Cr, Cu, Zn), préciser ses capacités de discrimination des sites selon leur niveau de contamination et déterminer si des équations multivariées peuvent être établies entre paramètres du sol et transfert.**

<sup>4</sup> <http://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/page.php?10>

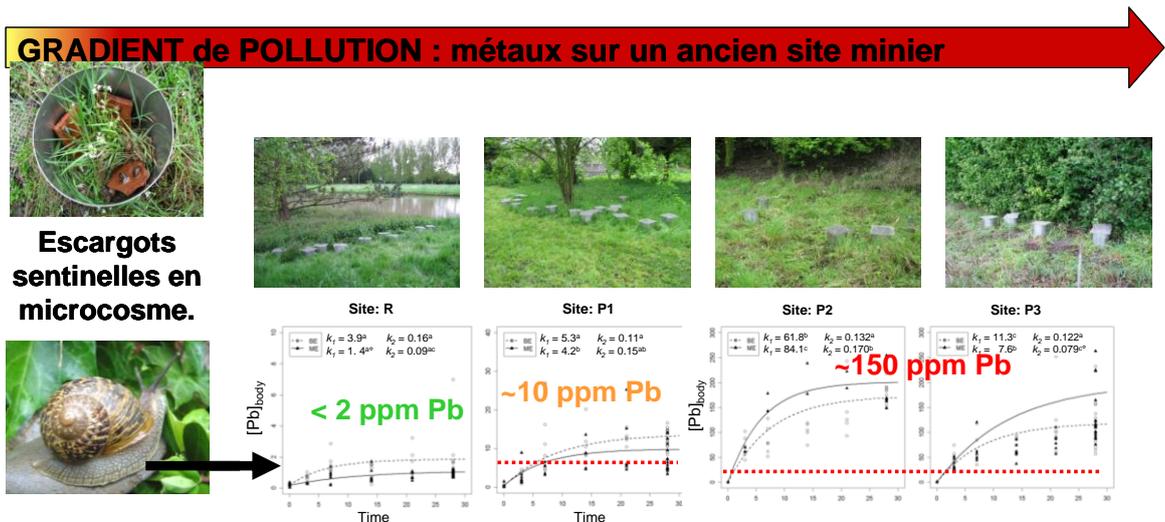


Figure 9 - Biomonitoring (« snail watch » : bioindication active = transplantation d’animaux de passé biologique connu pendant 28 jours) sur un ancien site minier (Fritsch *et al.* 2011) ( $k_1$  taux d’absorption ( $\text{g sol g escargot}^{-1} \text{ j}^{-1}$ );  $k_2$  taux d’excrétion ( $\text{j}^{-1}$ ). En couleur sur les courbes : concentration interne en Pb en fin d’exposition.

**En laboratoire**, la biodisponibilité pour l’escargot est étudiée par analyse de la bioaccumulation et des flux d’assimilation (Gimbert *et al.* 2006 ; Pauget, 2008) (Fig.10).

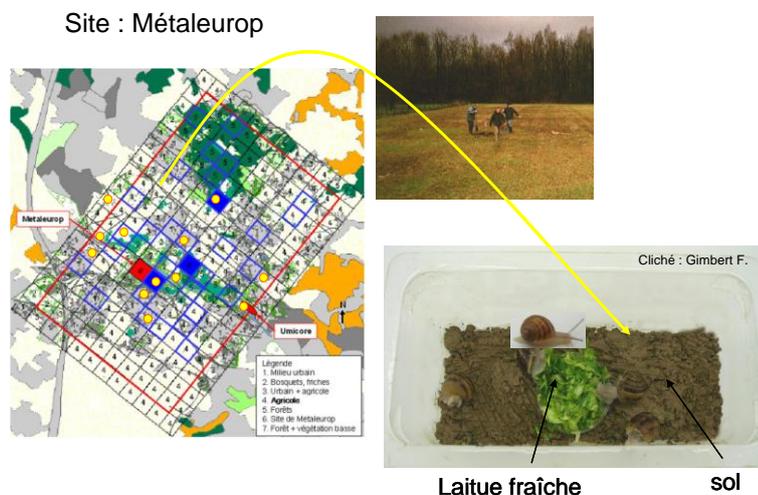


Figure 10- Méthode biologique d’estimation de la zoodisponibilité **en laboratoire** : des escargots sont exposés 28 jours aux sols de diverses zones du site d’étude (ancien site minier, Douay *et al.* 2008 ; Fritsch *et al.* 2010).

Les métaux du sol (exemple du Cd et du Pb, fig. 11) sont biodisponibles pour l’escargot. Les cinétiques d’accumulation chez l’escargot sont variables selon les caractéristiques du sol. Comme pour les plantes (Fig. 8) les flux d’assimilation ( $a$  ; en  $\text{mgCd.kg}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) peuvent être mis en relation avec les paramètres du sol (Pauget, 2008). Les paramètres à prendre en compte sont variables selon le métal considéré :

$$a = 2.86 + 0.02.Cd_{\text{tot}} - 0.14.pH - 1.24\log\text{CEC} - 0.26\log\text{Fe}_{\text{ox}} \quad (r^2 = 0.81)$$

$$a = 35,8 + 0.01.Pb_{\text{tot}} - 25.5 \log\text{CEC}$$

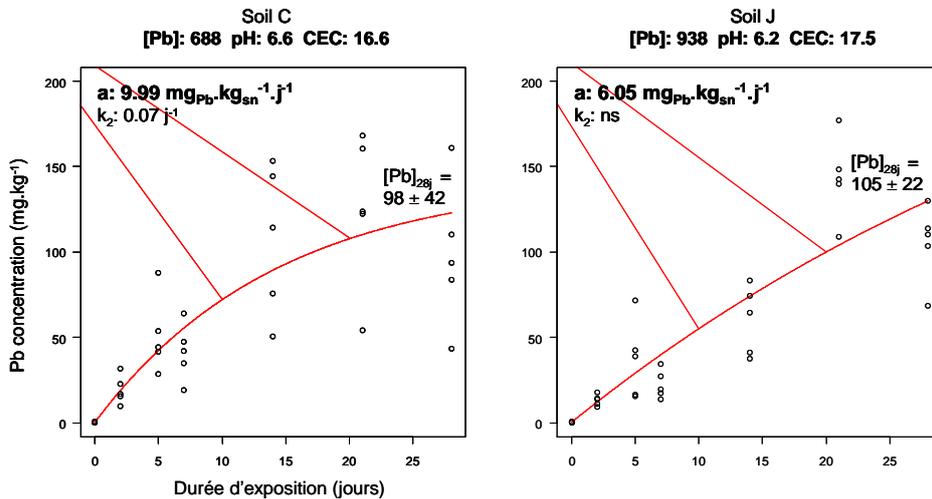


Figure 11 - Biodisponibilité (ex du Pb) pour l'escargot au cours d'une exposition de 28 jours en laboratoire à des sols d'un ancien site minier (Pauget, 2008). Les concentrations internes à 28 jours sont similaires pour des 2 sols; le flux d'assimilation (« vitesse » d'entrée) du Pb est plus élevé pour le sol le moins pollué.

A ces concentrations dans les sols et cette durée d'exposition aucun effet toxique n'est mis en évidence. D'autres travaux ayant montré que le Cd accumulé dans l'escargot était biodisponible pour un prédateur vertébré (Hispard *et al.* 2008), l'absence d'effets toxiques pour l'escargot ne signifie pas l'absence d'effet dans les chaînes alimentaires du fait de la biodisponibilité trophique des contaminants.

## 2.2. Avantages et limites des méthodes biologiques et chimiques pour mesurer la biodisponibilité

### Méthodes biologiques

\* **Avantages** : elles permettent de coupler l'analyse des effets et de la bioaccumulation ce que les méthodes chimiques ne peuvent faire. Elles constituent donc un apport indispensable aux efforts de modélisation actuels en éRé. Elles intègrent les transferts de tous les contaminants, les interactions possibles entre eux (alors que les modélisations se font le plus souvent molécule par molécule) et les effets possibles des organismes sur le milieu et vice-versa. Elles fournissent des données fiables pour renseigner les modèles de transfert. De manière générale, on peut considérer que les méthodes biologiques intègrent mieux la diversité des mécanismes mis en jeu à l'interface sol-organisme qui régulent la biodisponibilité des contaminants.

\* **Limites** : Leur mise en œuvre nécessite généralement un temps d'expérimentation plus long et implique un coût plus élevé que pour la plupart des méthodes physico-chimiques. Lorsqu'on s'intéresse à la bioaccumulation, il faut analyser les concentrations dans les tissus. Les données ne sont pas extrapolables à tous les organismes, tous les contaminants.

Même si un certain nombre de méthodes biologiques est actuellement normalisé au niveau français ou international (voir ISO 17402), le niveau de standardisation de ces méthodes reste le plus souvent sujet à caution. Des efforts restent à faire en ce sens pour disposer d'une batterie de méthodes biologiques fiables, robustes et donnant des réponses reproductibles.

L'analyse de la contribution respective du sol et des végétaux ou de l'air dans l'exposition n'est pas aisée pour les animaux surtout *in situ*. Les flux ne peuvent être exprimés avec les mêmes unités pour végétaux et animaux car pour ces derniers les surfaces de contact sont difficiles à évaluer, de même que le temps réel d'exposition.

## Méthodes physico-chimiques :

\* **Avantages** : simples, rapides, reproductibles et souvent peu onéreuses. Elles renseignent sur la disponibilité des contaminants, c'est à dire sur leur mobilité dans et entre les différentes phases du sol.

\* **Limites** : sauf pour les méthodes cinétiques, elles considèrent mal le facteur temps d'exposition dans les transferts sol-organisme. Elles n'intègrent pas la notion d'organisme indicateur et renseignent donc une mobilité des contaminants sans tenir compte des variations spécifiques de prélèvement par les organismes. Elles ne considèrent pas l'influence de l'organisme sur la disponibilité des contaminants à l'interface sol-organisme, comme par exemple dans la rhizosphère (interface sol-racines), et ne tiennent pas compte des capacités de régulation qui peuvent apparaître chez les organismes à de fortes expositions (ex du Pb de l'étude de cas de la Fig.9, site P3, Tableau 1 et zone C de la Fig.12).

Tableau 1 - Concentration en Cd et Pb ( $\text{mg.kg}^{-1}$  MS) de sols d'un ancien site minier (tot = totale ;  $\text{CaCl}_2$  : extraites au  $\text{CaCl}_2$ ) et dans des escargots exposés pendant 28 jours sur ce site (d'après Fritsch *et al.* 2011).

site	Cd tot	Cd $\text{CaCl}_2$	Cd escargot	Pb tot	Pb $\text{CaCl}_2$	Pb escargot
Te	1.4	0.17	0.7	115	0.06	2
P1	21	0.59	2.6	1201	0.3	12
P2	77	2.8	145	2816	0.38	187
P3	268	14.27	223	7821	1.67	117

D'une manière générale, la validation de méthodes physico-chimiques pour l'estimation de la biodisponibilité des contaminants dans les sols par le biais de comparaison avec des méthodes biologiques ou mieux des mesures de terrain reste encore largement imparfaite.

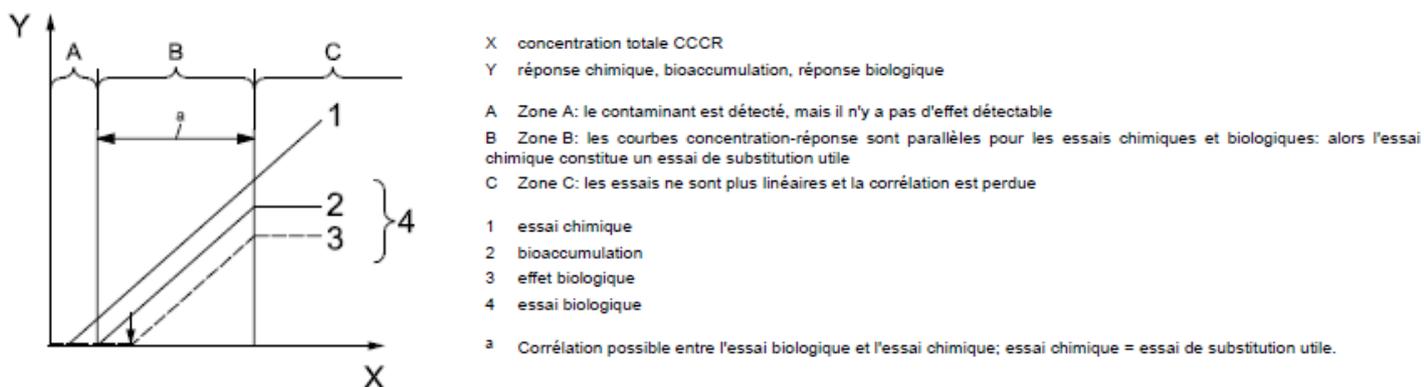


Figure 12 - Relation entre essais chimiques et biologiques (ISO 17402)

Actuellement, pour conduire une éRé, les données sont partielles voir lacunaires, particulièrement sur des organismes exposés *in situ* où les biodisponibilités environnementale et toxicologique sont généralement difficiles à mettre en évidence sous l'effet de nombreux facteurs de confusion (par ex. hétérogénéité spatiale des sols, variabilité temporelle des paramètres climatiques...). Les données biologiques utilisées en éRé sont encore souvent issues de travaux conduits en laboratoire avec des conditions expérimentales et des espèces qui ne sont pas toujours représentatives de ce qui se passe réellement en milieu naturel. Il est donc toujours nécessaire de valider les modèles proposés pour estimer les transferts milieu-organismes, et couplant approches biologiques, physico-chimiques voir mathématique. Enfin pour les méthodes physico-chimiques, il est actuellement impossible d'évaluer la mobilité de tous les contaminants potentiellement présents dans les sols à l'aide d'un extractant « universel ». Ainsi le gain de temps et la pertinence des méthodes physico-chimiques sont contrebalancés actuellement par la multiplicité des extractants différents qu'il faudrait mettre en œuvre pour estimer la biodisponibilité des métaux pour un organisme.

## 2.3. Couplage des approches physico- chimiques et biologiques

Les méthodes chimiques doivent être validées par des essais sur organismes (Fig 12 et 13) variés car on ne peut extrapoler les résultats obtenus avec un organisme, un extractant à tous les contaminants, toutes les matrices d'exposition, toutes les espèces. **L'utilisation des extractants chimiques doit être réfléchi en fonction des attentes de l'utilisateur**, par exemple :

- on souhaite savoir si le métal est plus ou moins mobile dans divers sols, sans avoir de cibles biologiques précises (objectif : comparer le risque potentiel de divers sols contaminés vis à vis des masses d'eau souterraines)
- on cherche à comprendre les mécanismes contrôlant la biodisponibilité de contaminants du sol pour un ou des organisme(s) et on essaye de mettre en relation les divers pools de métaux du sol (fig.5) avec la biodisponibilité.
- on souhaite modéliser les transferts et les effets potentiels de contaminants du sol sans utiliser d'organismes.

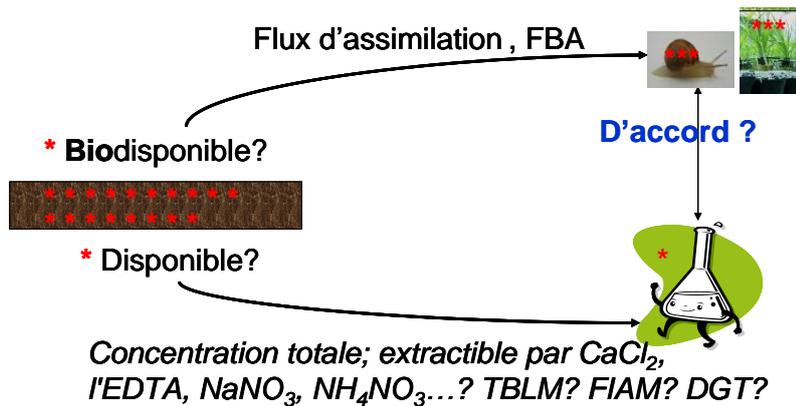


Figure 13 - Nécessité de valider les approches physico-chimiques ( $\text{CaCl}_2$ , DGT...) par des approches biologiques pour une modélisation fiable des transferts.

### 2.3.1. Exemple de relation chimie/biologie chez les plantes :

Des essais de corrélation entre la disponibilité du Zn dans le sol (évaluée par extraction au  $\text{CaCl}_2$ , 0.43M  $\text{HNO}_3$  et DGT) et la biodisponibilité de ce métal pour trois plantes (trèfle, laitue, lupin) (Koster *et al.* 2005, Fig 14) : si de bonnes corrélations entre flux d'absorption du Zn par le trèfle et la laitue et Zn-DGT ou Zn- $\text{CaCl}_2$  ou Zn-pore-water ont été trouvées, cela n'est pas le cas pour le lupin.

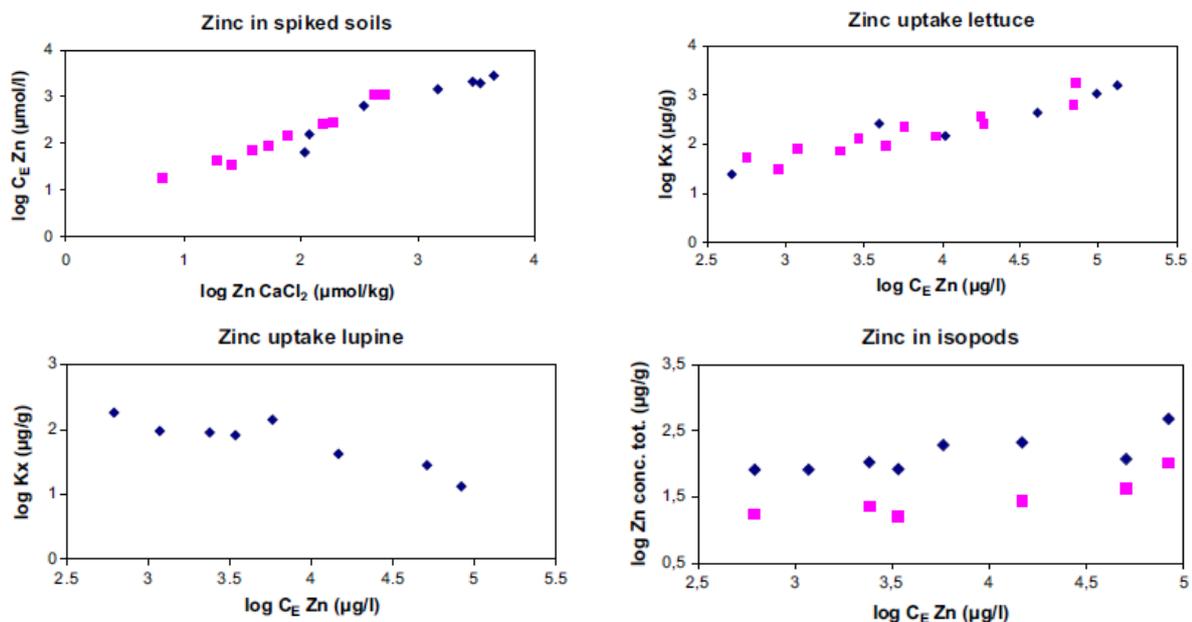


Figure 14 - Comparaison de la DGT et de techniques classiques d'extraction pour évaluer l'accumulation du zinc dans trois plantes et un invertébré du sol à exosquelette (isopode) (Koster *et al.*, 2005) : relation Zn-DGT (=  $C_E$  Zn) et Zn- $\text{CaCl}_2$  ou flux d'assimilation ( $k_x$ ) chez la laitue ou le lupin ; relation Zn-DGT et concentration totale du corps chez un isopode (carré rose, losange bleu : 2 sols différents).

Ces exemples illustrent la difficulté du couplage biologie et physico-chimie qui réside notamment dans la prise en compte variable de ces approches du facteur temps et l'influence de l'organisme sur la disponibilité des contaminants (zone bioinfluencée).

La DGT (voir définition en 2. méthodes physico-chimiques) fait l'objet de nombreuses investigations en ce sens : si ses limites ont déjà été montrées et ce même quand on utilise les flux d'absorption de plantes au lieu des concentrations internes à un temps donné (Fig 14), la compréhension des facteurs de variations impliqués progresse. Ainsi, la nature du sol est importante : le flux DGT ( $F_{DGT}$ ) est significativement corrélé avec les concentrations dans le blé (Fig 15, a) quand on distingue les sols calcaires et les sols non calcaires (Fig 15, a).

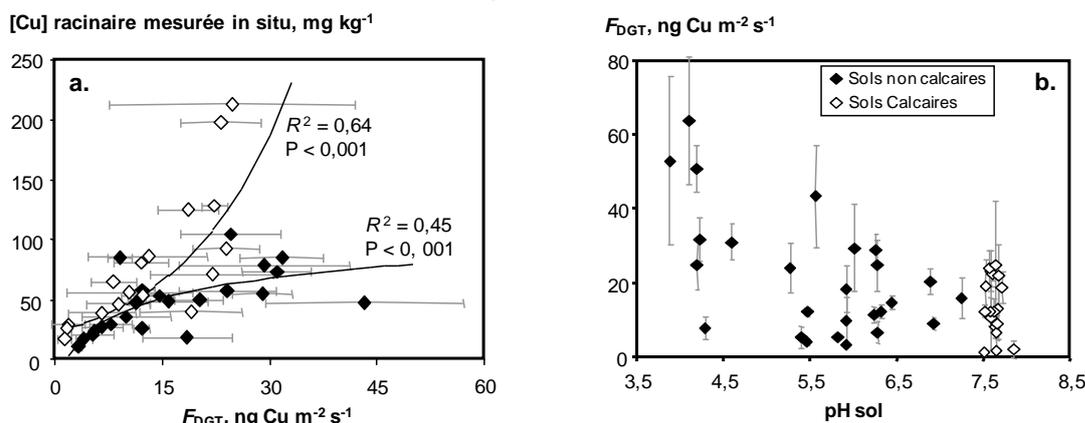


Figure 15 - Exemple d'utilisation d'une méthode physico-chimique ( $F_{DGT}$ ) pour prédire l'accumulation de cuivre dans les racines du blé dur cultivé en champ (a) et dépendance de la mesure DGT vis-à-vis du pH du sol (b) (D'après Bravin *et al.*, 2010).

**La DGT peut donc être considérée comme une méthode physico-chimique intéressante pour estimer en laboratoire la biodisponibilité du Cu pour le blé dur. Il a cependant été montré que la DGT tend à surestimer la biodisponibilité de Cu dans des sols acides du fait de sa forte dépendance vis-à-vis du pH du sol (Fig.15.b).**

Actuellement, ni la DGT (Fig. 15), ni le RHIZOtest (Fig.8) ne permettent de modéliser et donc de prévoir de façon suffisamment satisfaisante la biodisponibilité du Cu pour le blé dur mesurée *in situ*. Une des causes possible est que la DGT ne mime que le processus de prélèvement racinaire, et ne permet pas de prendre en compte l'effet des activités racinaires sur la disponibilité du Cu à l'interface entre le sol et les racines, c'est-à-dire dans la rhizosphère, et pour le RHIZOtest à cause d'une diversité différente de cultivars entre mesures de laboratoire en RHIZOtest et mesures *in situ* (Bravin *et al.* 2010). Cependant ces approches, qui considèrent notamment la variable temporelle de l'exposition des organismes, sont parmi les plus prometteuses en éRé comme en témoigne les travaux de Tian *et al.*, 2008 qui indiquent que la DGT est bien corrélée aux concentrations en Cd, Cu, Pb et Zn des racines ou des grains de riz cultivés en champ .

### 2.3.2. Exemple de relation chimie/biologie chez les animaux :

La ligne directrice ISO 17402 et le nouveau sujet de travail ISO sur les extractions utilisables pour estimer la biodisponibilité des métaux (ISO/WD 14958) présentent des exemples de la bibliographie où les extractions sont corrélées ou non aux concentrations dans les animaux. Chez le ver de fumier *Eisenia andrei*, Grelle et Descamps (1998) rapportent que les fractions extraites (EDTA,  $\text{CaCl}_2$ ) ne corrèlent pas avec les concentrations en Cd, Pb, Zn dans les tissus alors que

Peijnenburg *et al.* (1999) décrivent de bonnes corrélations entre extraits  $\text{CaCl}_2$  et concentrations internes pour Cd et Pb et que Koster *et al.* (2005) décrivent chez un isopode une corrélation limitée entre concentrations internes en Zn et concentrations extraites par DGT (Fig.14). Parmi les causes évoquées pour expliquer ces relations limitées entre chimie et biologie, la présence d'un exosquelette limitant l'exposition par les métaux en solutions et l'exposition par voie digestive sont évoquées. Ainsi, à notre connaissance il n'y a pas **de consensus actuellement** (c'est à dire pas d'extractant « universel ») et il faut donc faire plusieurs extractions pour tenter d'approcher la biodisponibilité de divers métaux pour un organisme.

Chez l'escargot, les essais de mise en relation des fractions disponibles et biodisponibles montrent que si les extractions au  $\text{CaCl}_2$  reflètent bien la fraction faiblement liée du Cd et du Pb (cf Fig.5), elles ne reflètent pas ce qui est biodisponible pour l'escargot exposé en laboratoire 28 jours aux sols étudiés (Tableau 1 et 2). L'approche développée ici vise, à partir de la modélisation des cinétiques d'accumulation (Gimbert *et al.*, 2006), à rechercher le meilleur extractant chimique permettant de corrélérer disponibilité environnementale ( $C_x$ ) et biodisponibilité (flux d'assimilation,  $a$ ) (Pauget *et al.*, 2011). Le Tableau 2 montre que ni la concentration totale ni la concentration extractible au  $\text{CaCl}_2$  ne permettent d'estimer la biodisponibilité du Cd pour l'escargot, notamment car ces deux méthodes ne reflètent pas correctement l'influence du pH et de la teneur en matière organique (MO) du sol sur l'escargot. Pour le Pb, c'est la concentration totale qui décrit le mieux la biodisponibilité sans qu'on puisse distinguer l'influence des facteurs du sol mis en jeu.

Tableau 2 - Régression multivariées liant taux d'absorption ( $k_1$  en  $\text{g sol.g}^{-1}$  escargot. $\text{j}^{-1}$ ) et caractéristiques du sol à partir de différentes méthodes d'estimation de la disponibilité environnementale de Cd pour l'escargot *Cantareus aspersus* exposé en laboratoire à divers sols issus d'un site contaminé (Pauget *et al.* 2011). La variation des taux d'absorption,  $k_1$  ( $=a / C_x$ )\*, déterminés pour différents extractants chimiques, en fonction des paramètres physico-chimiques des sols est testée dans une approche multivariée. Si  $a$  et  $C_x$  varient dans le même sens, on a une régression du  $k_1$  non significative et donc  $C_x$  peut être utilisée pour estimer la biodisponibilité environnementale pour l'escargot : ce n'est pas le cas ici pour le Cd quelque soit l'estimateur chimique considéré (Tableau 2). Par contre si la relation est significative ( $p < 0.05$ ), cela indique que ( $a$ ) et  $C_x$  ne sont pas modulés de façon similaire par les divers paramètres du sol et donc que l'extractant testé n'est pas représentatif de la fraction biodisponible.

Métal	Méthode chimique	Equation	$r^2_{\text{adj}}$	p-value
Cd	Concentration totale	$\log k_1 (\text{total}) = -0.21 \pm 0.06 \cdot \text{pH}^* - 0.60 \pm 0.18 \cdot \log \text{OM}^*$	0.77	0.023
	Extraction $\text{CaCl}_2$	$\log k_1 (\text{CaCl}_2) = 0.29 \pm 0.08 \cdot \text{pH}^* - 1.56 \pm 0.61^*$	0.70	0.012
Pb	Concentration totale	<b><math>\log k_1 (\text{total}) = \text{ns}</math></b>	<b>0.09</b>	<b>0.240</b>
	Extraction $\text{CaCl}_2$	$\log k_1 (\text{CaCl}_2) = 0.31 \pm 0.07 \cdot \text{pH}^{**}$	0.74	0.004

Significativité statistique: \*  $p < 0.05$ . \*\*  $p < 0.01$  and \*\*\*  $p < 0.001$ .. Ns : régression non significative

\*  $k_1$  (taux d'absorption) =  $a$  (flux d'assimilation = biodisponibilité) /  $C_x$  (concentration dans le sol totale ou extraite au  $\text{CaCl}_2$  ou avec un autre extractant = disponibilité environnementale).

Les premiers essais d'estimation de la biodisponibilité du Cd, Pb et Zn pour l'escargot à partir des métaux-DGT révèlent pour le Cd, l'existence d'un pallier au niveau du flux assimilation de Cd dans l'escargot à environ de  $1 \text{ mg}_{\text{Cd}} \cdot \text{kg}_{\text{escargot}}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  (Fig.16). La mesure du flux DGT ne reflète pas ce pallier. La limite d'absorption de l'animal est donc ici atteinte plus vite que celle de la DGT (cf zone C, fig 12) et on n'est plus dans une zone de corrélation entre chimie et biologie. En effet la méthode DGT fonctionne sans limite de prélèvement tant que la résine n'est pas saturée, c'est-à-dire comme un puits infini. Cette différence peut expliquer la non corrélation entre les deux paramètres. D'autre part, à la différence des isopodes (Fig.14), les escargots n'ont pas d'exosquelette qui pourrait limiter l'exposition via l'eau du sol, par contre ils ne sont pas en contact permanent avec le sol et ingèrent divers végétaux en plus du sol ; ces facteurs peuvent limiter les corrélations entre métaux extractibles-DGT et concentrations internes. Enfin, si la méthode DGT et le flux vers l'escargot sont corrélés pour le Cd, les concentrations internes de Cd dans l'escargot (mesure statique après 28

jours par exemple) sont mal expliquées par le Cd-DGT. Ceci peut être dû au fait que l'escargot a une accumulation limitée notamment par sa capacité de synthèse des molécules de stockage du Cd (métallothionéines).

Pour le Pb, il n'y a pas de relation entre le paramètre flux Pb DGT et flux d'assimilation par l'escargot (Fig. 16). On obtient une meilleure corrélation entre la concentration en Pb total dans le sol et le paramètre flux d'assimilation dans l'escargot. Pour le Zn, une bonne relation DGT et flux d'absorption est observée si l'on distingue deux groupes de sols en fonction du pH notamment.

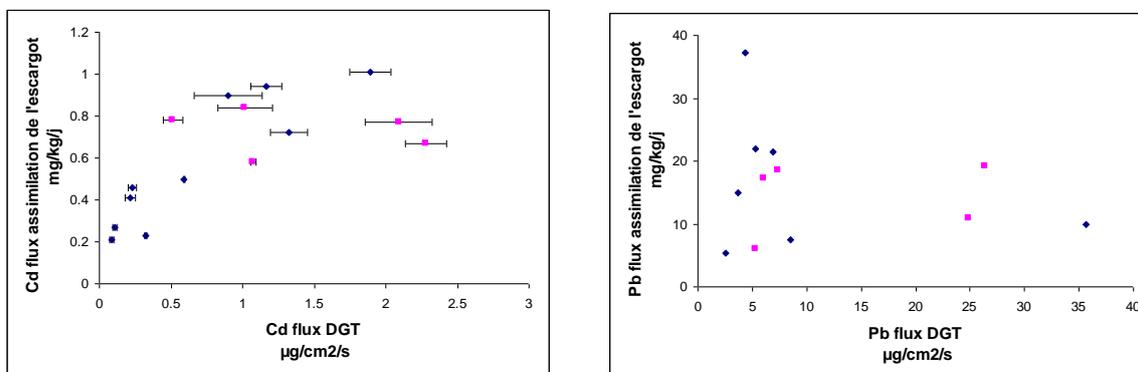


Figure 16 - Flux d'assimilation du Cd et du Pb chez l'escargot en fonction du flux de Cd et de Pb mesuré par DGT pour des sols contrastés issus d'un site contaminé (carrés roses : pH < 7 ; losanges bleus : pH > 7)(Gimbert *et al.* in prep.)

Ainsi, d'autres facteurs que ceux contrôlant la fraction extractible (durée d'exposition, exposition de l'escargot à d'autres pools que le pool faiblement lié aux métaux, par exemple *via* l'ingestion de particules de sol et processus de digestion interne, excrétion...) contrôlent la fraction réellement biodisponible. Ces résultats sont en accord avec les conclusions de Smolders *et al.* (2009) qui indiquent par exemple qu'en général **le pH du sol est un bon indicateur de la solubilité des métaux mais un mauvais indicateur de leur toxicité dans divers sols.**

**Des recherches sont donc encore nécessaires pour préciser les possibilités de couplage des méthodes de mesure de la disponibilité environnementale et de la biodisponibilité.** Un groupe de travail ISO s'y attache et travaille notamment sur la mesure de la disponibilité environnementale des métaux (ISO/WD 14858 ; Fig.17).

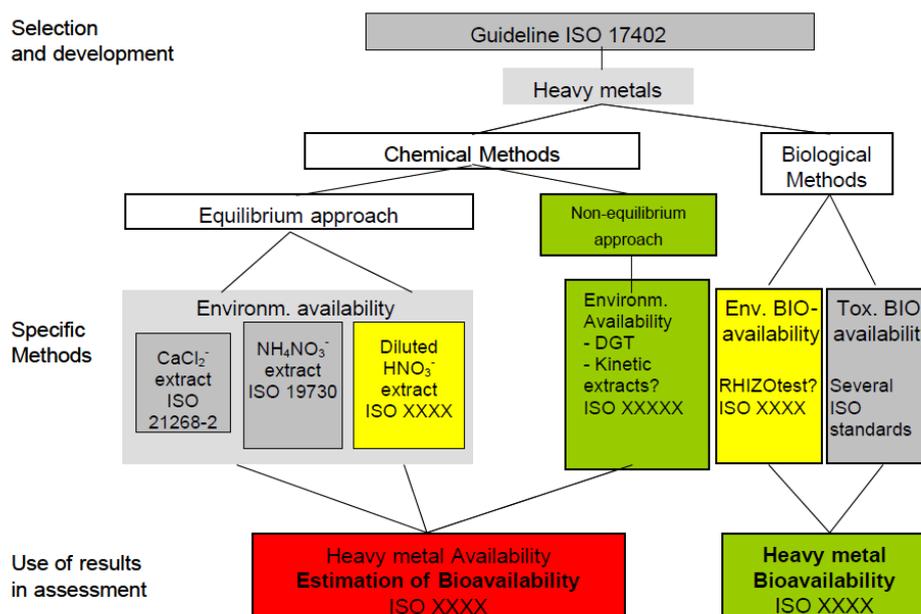


Figure 17 - Projet de normes en cours à l'ISO TC190/SC7/WG8 Biodisponibilité.

Trois projets sont également en cours pour les contaminants organiques. Ces textes concluent de façon objective que les difficultés de modélisation de la biodisponibilité à partir de méthodes chimiques peuvent résulter du fait que :

1) la biodisponibilité des métaux peut être fortement dépendante de processus cinétiques et donc non à l'équilibre, le pool de métaux liés à la phase solide du sol pouvant par exemple alimenter progressivement au cours du temps la solution du sol, cela devant conduire à mieux développer et à utiliser plus fréquemment des approches ne résidant pas sur un état d'équilibre (Tian *et al.* 2008);

2) comme décrit dans l'ISO 17402 la disponibilité environnementale peut être modifiée par les organismes du sol (par exemple au niveau de la rhizosphère pour les plantes et de la drilosphère pour les vers de terre) ;

**3) la biodisponibilité de métaux est très variable selon les espèces et même entre sous espèces ou cultivars et que cela ne peut être mimé par un extrait de sol.**

Ainsi, pour les points 2-3 il est nécessaire de faire appel à des méthodes biologiques pour une mesure plus directe de la biodisponibilité des métaux.

### 3. APPORTS ET ENJEUX de (BIO)DISPONIBILITE en éRé

Parmi les **apports** de la mesure de la biodisponibilité dans le contexte de l'éRé, on peut insister sur le fait qu'elle permet de suivre le cheminement de contaminants persistants et bioaccumulatifs qui caractérise l'exposition des organismes, et parfois explique les effets toxiques (pour les contaminants rapidement dégradés et / ou excrétés, métabolisés par les organismes, la mesure de la bioaccumulation n'est pas pertinente et c'est la caractérisation des effets qui sera utilisée). **Biodisponibilité environnementale et toxicologique permettent de définir des valeurs toxiques de référence dans les milieux et dans les organismes et ces données sont indispensables pour estimer le risque environnemental des contaminations du sol.** Ces 2 volets de l'évaluation de la biodisponibilité qui déterminent des effets et /ou une bioaccumulation vers des indicateurs biologiques précis peuvent être couplés à l'analyse de la disponibilité environnementale qui reflète elle, la mobilité vers des cibles à définir en fonction des objectifs de chaque utilisateur.

Une synthèse de nombreux travaux sur la toxicité de métaux ( Cd, Cu, Co, Ni, Pb et Zn) sur divers organismes et processus (microorganismes, plantes, invertébrés) a conduit Smolders *et al* (2009) à proposer des valeurs limites pour ces métaux (PNEC sol) dans les sols ; ces « Ecological Soil Standard » considèrent l'influence du type de sol et l'âge de la contamination (Tableau 3) pour définir des sols plus ou moins à risque vis à vis des contaminations. Des démarches similaires devront être conduites pour proposer l'équivalent en intégrant le risque de bioaccumulation.

Ces valeurs de PNEC sont à améliorer notamment parce que des différences non négligeables existent entre effets mesurés en laboratoire et *in situ* et entre sols naturellement ou artificiellement contaminés (ce qui pourrait s'expliquer en partie par le fait que les sols utilisés en laboratoire ne sont pas lessivés avant utilisation ; Smolders *et al*, 2009).

Paramètres du sol	Sol estimé		
	très sensible	moy sensible	peu sensible
CEC (cmolc/kg)	4	15	35
pH	4.5	5.5	7.5
CO (%)	1	2.9	12
background Zn (mg.kg <sup>-1</sup> )	8	51	155
PNEC Zn (total)	28	111	286
PNEC Cu	30	93	162
PNEC Ni	8	36	93
PNEC Co	5	31	86
PNEC Pb		166	
PNEC Cd		1.1-2.2	

Tableau 3 - Valeurs estimées acceptables dans trois sols présentant des caractéristiques contrastées (PNEC : Predicted No Effect Concentration en mg.kg<sup>-1</sup>) d'après Smolders *et al.*, 2009.

Si la modélisation de l'exposition, des effets et des transferts de contaminants constitue un outil précieux quand on ne dispose pas de l'ensemble des analyses de terrain (cf atelier n°3) nécessaire à la réalisation d'une éRé, il est préférable d'acquérir des connaissances supplémentaires pour affiner la pertinence de ces modèles et / ou de valider leurs prédictions par quelques analyses sur les sites investigués. En effet les modèles actuels qui permettent d'estimer les effets et/ou les concentrations dans les organismes sont limités car ils sont basés soit sur peu de données, soit sur des données expérimentations de laboratoire effectuées sur des espèces peu représentées *in situ*, soit sur des modèles qui ne sont pas adaptés car ne considèrent pas le fait que l'accumulation n'est pas toujours linéaire (cf par ex. modèle US-EPA utilisé pour définir des concentrations dans des proies comme les vers de terre à l'aide de modèle du type :  $\ln[\text{organisme}] = a \cdot (\ln[\text{soil}]) + b$ ; Sample *et al*, 1998 et 1999). Les auteurs de ces travaux indiquent très justement que les valeurs modélisées constituent un appui à l'éRé mais doivent être confortées par des données spécifiques du site étudié.

**Les enjeux** sont notamment d'acquérir de nombreuses données de référence indispensables aux tentatives de modélisation visant à prédire les effets et les concentrations dans les organismes à partir de caractéristiques physico-chimiques des polluants et du milieu en relation avec la toxicité potentielle et **la définition de seuils de qualité des milieux**.

**La figure 18 synthétise les points les divers apports de la (bio)disponibilité à l'éRé :**

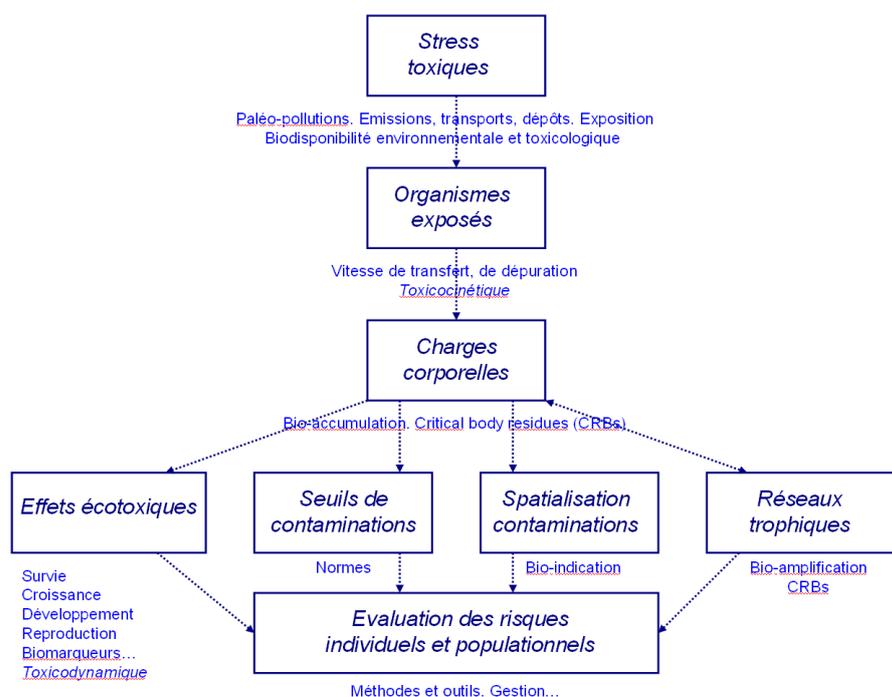


Figure 18 – Apports des mesures de biodisponibilité en éRé (exposition, transfert, bioaccumulation, effets, seuils et spatialisation des contaminants, transferts trophiques).

## Bibliographie

- Amorim M, Römbke J., A. Scheffczyk, A.M.V.M. Soares. Effect of different soil types on the enchytraeids *Enchytraeus albidus* and *Enchytraeus luxuriosus* using the herbicide Phenmedipham. *Chemosphere* 61 (2005) 1102–1114.
- Bermond A, Varrault G 2004 Application of a kinetic fractionation of trace elements (Cd, Cu & Pb) in polluted soil samples. *Environmental Technology* 25, 293-300.
- Bravin N.M., Le Merrer B., Denaix L., Schneider A., Hinsinger P. Copper uptake kinetics in hydroponically-grown durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) as compared with soil's ability to supply copper. *Plant Soil* (2010) 331:91–104
- Bravin M.N., Michaud A.M., Larabia B., Hinsinger P. (2010) RHIZOtest: A plant-based biotest to account for rhizosphere processes when assessing copper bioavailability. *Env Poll.*, 158, 3330-3337
- Brown P.L., Markich S.J. Evaluation of the free ion activity model of metal- organism interaction: extension of the conceptual model. *Aquatic Toxicology* 51 (2000) 117–174.

- Cornu J.Y., Denaix L., 2006. DGT ability to predict Zn and Cd phytoavailability for lettuce within an agricultural contaminated site, *Environmental Chemistry* 3, 61-64.
- de Vaufléury A.(2005). Bioaccumulation et biomagnification dans la faune terrestre. Evaluation des risques pour les écosystèmes- Expériences françaises et québécoises sur la mise en oeuvre des méthodes et des outils. Recueil des interventions- Journée d'information et d'échanges 17 mars, Paris. 8p.
- de Vaufléury A., Gimbert F. (2006) « Bioaccumulation, biomagnification des polluants dans la faune terrestre : un outil pour la biosurveillance des écosystèmes ». Synthèse bibliographique réalisée dans le cadre de la convention Ademe-Université Franche-Comté n°01 75 037. 598p. Document, actualisé en 2008, en cours de publication en collaboration avec l'ADEME et EDP Sciences.
- Douay F., Pruvot C., Waterlot C., Fritsch C., Fourrier H., Loriette A., Bidar, G., Grand C., de Vaufléury A., Scheiffler R. (2009) Contamination of woody habitat soils around a former lead smelter in the North of France. *Science of the Total Environment* 407 (21), pp. 5564-5577.
- Eco-SSL (US-EPA): Ecological Soil Screening Levels. <http://www.epa.gov/ecotox/ecossil/>
- Fritsch C., Giraudoux P., Coeurdassier M., Douay F., Raoul F., Pruvot C., Waterlot C., de Vaufléury A., Scheiffler R. (2010) Spatial distribution of metals in smelter-impacted soils of woody habitats: Influence of landscape and soil properties, and risk for wildlife. *Chemosphere* 81 (2010) 141–155.
- Fritsch C., Coeurdassier M., Gimbert F., Crini N., Scheiffler R., de Vaufléury (2011). Investigations of responses to metal pollution in land snail populations (*Cantareus aspersus* and *Cepaea nemoralis*) from a smelter-impacted area. *Ecotoxicology*, 20, 739-759.
- Gimbert, F., de Vaufléury, A., Douay, F., Scheiffler, R., Coeurdassier, M., Badot, P.M., (2006). Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ. Int.* 32, 866-875.
- Gimbert F., Sappin-Didier V., Pauget B., Scheiffler R., de Vaufléury A. Linking environmental availability and bioavailability of metals to snails: holistic approaches using single chemical extractions and DGT applied to field contaminated soils. In prep.
- Hamelink J.L., Landrum P.F., Bergman H.L., Benson W.H. (1994) Bioavailability: physical, chemical and biological interactions, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Hispard F., de Vaufléury A., Cosson R.P., Devaux S., Scheiffler R., Coeurdassier M., Gimbert F., Martin H. , Richert L., Berthelot A. and Badot P.-M. (2008) Comparison of transfer and effects of Cd on rats exposed in a short experimental snail-rat food chain or to CdCl<sub>2</sub> dosed food. *Environment International*, 34, 381-389.
- ISO (2008) Soil quality - Requirements and guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials. ISO 17402:2008. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO/CD (committee draft; August 2011) 16198 - Soil quality – Plant-based biotest to assess the environmental bioavailability of trace elements to plants. ISO/TC 190/SC 7/WG 8 Bioavailability.
- ISO/WD (working draft; August 2011) 14858 Soil quality — Environmental availability in soil — Use of soil extracts for the assessment of trace element bioavailability. ISO/TC 190/SC 7/WG 8 Bioavailability.
- Koster M., Reijnders L., van Oost N.R., Peijnenburg W.J.G.M. (2005). Comparison of the method of diffusive gels in thin films with conventional extraction techniques for evaluating zinc accumulation in plants and isopods. *Environ. Pollut.* 133, 103-116.
- Landrum P.F., Hayton W.L., Lee II H., McCarty L.S., Mackay D., McKim J.M. (1994) Synopsis of discussion session on the kinetics behind environmental bioavailability. In: Hamelink et al 1994, Bioavailability...p203-219.
- Lanno R, Wells J, Conder J, Bradham K, Basta N. 2004. The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotox Env Safety*, 57, 39-47.
- Lanno R.P, editor. 2003. Chap 10. assessing contaminated soils: lessons learned and future directions. R.P. Lanno, 363-393. Contaminated soils: from soil-chemical interactions to ecosystem management . Pensacola FL, USA: Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC). 445p.
- Michaud A.M., Bravin M.N., Galleguillos M., Hinsinger P. (2007) Copper uptake and phytotoxicity as assessed in situ for durum wheat (*Triticum turgidum durum L.*) cultivated in Cu-contaminated, former vineyard soils. *Plant Soil*, 298, 99-111.
- Mench M. (1993). Notions sur les éléments en trace pour une qualité des sols et des produits végétaux. Purpan, 166, 118-127.
- Morel J.L. (1997). Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. In: Soil ecotoxicology . Tarradellas J., Bitton G. & Rossel D. (Eds) C.R.C. Lewis Publishers, Boca-Raton, 141-175.
- Pauget B, Gimbert F., Coeurdassier M., Scheiffler R., de Vaufléury A. Use of chemical methods to assess Cd and Pb bioavailability to the snail *Cantareus aspersus*: a first attempt taking into account soil characteristics. *Journal of Hazardous Materials*, 192,1804– 1811..
- Pauget B., 2008. De la disponibilité environnementale à la biodisponibilité : impact des paramètres du sol sur le transfert de métaux vers l'escargot *Helix aspersa*. Master Sciences, Santé, Technologie, Université de Franche Comté.

- Peijnenburg W.J.G.M., Posthuma L., Eijsackers H.J.P., Allen H.E. (1997) A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. *Ecotox Env Safety*, 37, 163-172.
- Sample B.E., Beauchamp J.J., Efroymson R.A. & Suter II G.W. (1998). Development and validation of bioaccumulation models for small mammals. ES / ER / TM-219. Oak Ridge National Laboratory, Oak Ridge, TN, USA.
- Sample B.E., Suter II G.W., Beauchamp J.J. & Efroymson R.A. (1999). Literature-derived bioaccumulation models for earthworms: development and validation. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 2110-2120.
- Sizmur A., Hodson M.E. (2009). Do earthworms impact mobility and availability in soil ? A review. *Env Poll*, 159, 1981-1989.
- Smolders E., Oorts K., Van Sprang P., Schoeters I., Janssen C.J., McGrath S.P., McLaughlin M.J. (2009) Toxicity of trace metals in soils as affected by soil type and aging after contamination: using calibrated bioavailability models to set ecological soil standards. *Env Tox Chem*, 28, 1633-1642.
- Thakali S, Allen H E, Di Toro D M, Ponizovsky A A, Rooney C P, Zhao F J and McGrath S P 2006 A Terrestrial Biotic Ligand Model. 1. Development and application to Cu and Ni toxicities to barley root elongation in soils. *Environmental Science & Technology* 40, 7085-7093.
- Tian Y., Wang X., Luo J., Yu H., Zhang H. 2008. Evaluation of holistic approaches to predicting the concentrations of metals in field-cultivated rice. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 7649-7654.