

EQUAVEG - Développement d'un outil d'Evaluation de la QUALité sanitaire des VEGétaux avant récolte vis-à-vis de la présence dans les sols d'éléments traces métalliques

Donnat E.¹, Denaix L.³, Faucher S.⁴, Vivien E.³, Lebeau M.³, Moreau C.⁴, Ponce de Leon M.⁵, Raynal C.⁶, Reynaud S.⁴, Sabatier C.⁵, Taupier-Létage B.⁷, Chery P.², Lespes G.⁴

¹ ACTA - 149 rue de Bercy, F-75595 Paris Cedex 12

² Bordeaux Sciences Agro, EA 4592 Géoressources & Environnement, Département Agroécologie, 1 cours du Général de Gaulle, F-33170 Gradignan

³ INRAE UMR 1391 ISPA, Centre de Bordeaux Aquitaine, 71 avenue E. Bourlaux, CS 20032, F-33882 Villenave d'Ornon

⁴ IPREM UMR 5254, UPPA/CNRS, Technopole Hélioparc, 2 avenue du Président Pierre Angot, F-64053 Pau Cedex 09

⁵ Ctifl, Route de Mollégès, F-13210 Saint-Rémy-de-Provence

⁶ Ctifl, Centre de Lanxade, BP21, F-24130 Prignonieux

⁷ ITAB, 525 route de Gothon, F-26320 Saint Marcel les Valence

Correspondance : emilie.donnat@acta.asso.fr

Résumé

Le projet EQUAVEG s'est intéressé au développement d'un capteur passif innovant pour évaluer les capacités de transfert des ETM (éléments traces métalliques) du sol vers des plantes afin d'anticiper la qualité sanitaire d'une production végétale à l'échelle de la parcelle dans la perspective d'un diagnostic rapide. Ce capteur, nommé DMGS, est conçu à partir de milligels diffusifs (Diffusive MilliGels, DMG) synthétisés par un procédé millifluidique innovant et incorporant des nanoparticules chélatantes.

Le cadmium, le plomb et le cuivre ont été choisis comme éléments tests. Les capteurs ont été expérimentés sur deux végétaux cultivés dans des conditions bien différentes : la laitue, cultivée en sol sous abri et en plein champ, et le cresson, cultivée en milieu liquide. Les capacités de prédiction de la biodisponibilité du capteur DMGS ont été comparées à un capteur passif déjà utilisé et considéré comme pertinent sur les sols contaminés, le capteur DGT (Diffusive Gradient in Thin Films).

Les essais visant à définir de nouvelles conditions d'utilisation des DMGS dans des eaux et des sols ont montré que la mise en contact direct avec le sol in situ engendre une grande variabilité des mesures réalisées du fait de l'inhomogénéité du sol et de la variabilité des conditions environnementales (température, humidité). Les conditions d'utilisation du capteur ont alors été totalement revues : en conditions contrôlées (en laboratoire après échantillonnage du sol), à partir de solutions de sol générées selon un protocole établi qui a été développé et évalué spécifiquement pour ce projet.

Parallèlement, il a été mis en évidence aucune corrélation significative entre les quantités de Cd des feuilles de cressons et les flux en Cd mesurés par le capteur DGT soit dans l'eau, soit dans le sol dans lequel les plantules de cresson germent. Le capteur DGT n'est ainsi pas pertinent pour une culture semi-aquatique telle que le cresson. En revanche, utilisé au laboratoire en conditions contrôlées sur sol humide, il permet de prédire la concentration accumulée dans des feuilles de laitue Batavia cultivées sur des sols n'ayant pas reçu de fertilisation minérale. Ce dispositif est donc tout à fait pertinent pour l'agriculture biologique.

Mots-clés : Capteur, biodisponibilité des éléments traces métalliques, flux, évaluation, laitue, cresson

Abstract : Development of a tool for assessing the sanitary quality of pre-harvest vegetables against the presence of trace metal elements in soils

The EQUAVEG project focused on the development of an innovative passive sensor to assess the transfer capacity of the TME (trace metal elements) from the soil to plants in order to anticipate the health quality of plant production at the scale of the plot with a view to rapid diagnosis. Called DMGS, it is designed from diffusive clouds (Diffusive MilliGels, DMG) synthesised by an innovative millifluidic process incorporating chelating nanoparticles.

Cadmium, lead and copper were selected as test elements. The sensors were tested on two plants grown under very different conditions: lettuce, grown under cover and in open field, and cress, grown in liquid medium. The bioavailability prediction capabilities of the DMG sensor were compared to a passive sensor already used and considered relevant on contaminated soils, the DGT (Diffusive Gradient in Thin Films).

Testing to define new conditions for the use of DMGS in water and soil showed that direct contact with soil *in situ* results in a high variability in measurements due to soil Heterogeneity and variability in environmental conditions (temperature, humidity). The conditions of use of the sensor were completely reviewed: under controlled conditions (laboratory after soil sampling), based on soil solutions generated according to an established protocol that has been developed and evaluated specifically for this project.

At the same time, no significant correlation was found between the amounts of Cd in the cress leaves and the Cd flows measured by the DGT sensor either in water or in the soil in which the cress seedlings germinate. The DGT sensor is thus not relevant to a semi-aquatic culture such as the cress. However, when used in the laboratory under controlled conditions on wet soil, it can predict the concentration accumulated in Batavia lettuce leaves grown on soils that have not received mineral fertilisation. This is therefore very relevant for organic farming.

Keywords: Sensor, bioavailability of metallic trace elements, flux, assessment, lettuce, cress

Introduction

La contamination des sols par les éléments traces métalliques (ETM) constitue une préoccupation importante car plusieurs ETM sont toxiques pour les organismes vivants à de très faibles concentrations. En général, l'Homme est exposé à ces contaminants par voie alimentaire car les ETM du sol sont prélevés par les plantes cultivées à destination de l'alimentation. Dans le contexte actuel, la problématique de la contamination des sols par les ETM est devenue un enjeu fort à plusieurs niveaux. L'activité humaine croissante multiplie les contaminations potentielles tandis qu'en parallèle, la demande sociétale vis-à-vis de la sûreté des produits alimentaires s'accroît.

L'étude EAT2 de l'Anses a permis de reposer la problématique de la contamination de l'alimentation, en rendant publics le 1^{er} juillet 2011 les résultats obtenus sur l'exposition des consommateurs aux contaminants présents sous forme de résidus dans l'alimentation. Cette étude pointe notamment des risques de dépassement des seuils toxicologiques pour le plomb, le cadmium, l'arsenic inorganique.

Les productions végétales issues de grandes cultures et les cultures maraîchères sont fortement concernées, les fruits et légumes comptant pour 21 à 27% dans l'exposition des consommateurs au cadmium d'après cette même étude. Parallèlement, la Commission Européenne est amenée à réfléchir régulièrement à un abaissement des seuils réglementaires en alimentation humaine qui remettrait en cause la conformité des récoltes et donc leur possibilité de commercialisation.

Il y a ainsi un véritable enjeu de santé publique, économique et environnemental à évaluer la biodisponibilité des ETM pour la plante cultivée à partir de la mesure de la concentration en ETM dans le sol. Cependant, la concentration totale en ETM dans un sol n'est pas un indicateur prédictif du prélèvement des ETM par les végétaux. Il faut donc utiliser des indicateurs de la phytodisponibilité.

Le projet visait à disposer d'un outil de mesure pour l'évaluation des capacités de transfert des éléments traces métalliques du sol vers la plante cultivée. Cet outil repose sur l'utilisation d'un capteur innovant conçu (DMGS) à partir de milligels diffusifs (Diffusive MilliGels, DMG) synthétisés par un procédé millifluidique et incorporant des nanoparticules chélatantes, donnant accès à la concentration phytodisponible des éléments traces métalliques.

Les objectifs constituant les différentes actions du projet étaient les suivants :

1. Adapter le design du capteur.
2. Évaluer la réponse du capteur DMGS, sa répétabilité et sa capacité à évaluer la biodisponibilité vis-à-vis d'une culture en milieux connus (milieu aqueux et milieu sol) et en conditions climatiques contrôlées (humidité, température), après étalonnage.
3. Tester le capteur dans des situations de culture de terrain afin de définir son domaine et ses conditions d'utilisation, et de valider son usage dans ces conditions.

Pour mener à bien ce projet, l'Acta, l'UMR IPREM Université de Pau et des Pays de l'Adour/CNRS, l'INRA (UMR ISPA), le Ctifl, l'ITAB et Bordeaux Sciences Agro se sont associés en apportant leur expertise et connaissances pour réaliser des expérimentations communes. Ce projet était soutenu par le RMT Quasaprove.

1. Développement d'un capteur passif innovant

1.1 Des indicateurs de disponibilité plus prédictifs et génériques grâce aux capteurs passifs

Il est très clairement établi maintenant par de nombreuses études que la relation entre la teneur totale en métal dans un sol et la concentration dans les organismes vivants est rare, et en particulier dans la plante. En effet, seule une partie des métaux présents dans un sol sera accessible et transférable aux organismes vivants. Cette fraction est considérée comme la fraction biodisponible. Elle va dépendre de la localisation des métaux et de leur capacité à passer en solution sous la forme d'ion libre, de complexes minéraux et organiques labiles (c'est-à-dire peu stables dans le temps) et capables de libérer l'ion libre assimilable par la plante (fraction dite disponible) et enfin de la capacité de l'organisme vivant, en l'occurrence la racine pour une plante, à assimiler ces éléments (fraction dite biodisponible).

Pendant de nombreuses années, différents indicateurs de disponibilité basés sur des extractions chimiques variées (EDTA¹, DTPA², acides organiques, sels neutres) ont été proposés et certains sont utilisés en routine dans les laboratoires d'analyse. Cependant, la plupart de ces indicateurs ne sont pas prédictifs de la biodisponibilité et, s'ils le sont, ils ne sont pas génériques et ne sont donc valides que pour des types de sols et de plantes bien définis (Brun *et al.*, 2008 ; Feng *et al.*, 2005). De plus, les méthodes de suivi ayant recours à ces extractions sont nécessairement combinées à des campagnes d'échantillonnage de sols, l'ensemble est long et coûteux. Enfin, dans le type d'investigation décrit, les prélèvements sont effectués de façon ponctuelle. L'information obtenue ne peut donc pas être intégrée sur une période de temps donnée, par exemple une période de pluie intense ou de sécheresse.

Aujourd'hui, apparaît un véritable besoin de proposer une méthode qui soit (i) alternative aux méthodes « traditionnelles » basées sur le prélèvement d'échantillon et son analyse, (ii) qui permette d'obtenir une évaluation et un suivi de substances cibles à la fois plus justes, plus rapides, moins contraignants d'un point de vue « terrain » et plus représentatifs de la phytodisponibilité.

Une des stratégies permettant d'envisager une telle alternative est basée sur l'utilisation de capteurs passifs. De nombreux types existent, rendant les champs d'application de ce type de méthodes

¹ acide éthylène diamine tétra-acétique

² acide diéthylène triamine penta acétique

relativement larges : surveillance des milieux sur du long terme, criblage, estimation de l'exposition d'organismes à des polluants, quantification, détermination de la spéciation d'éléments... Dans les sols, la technique d'échantillonnage par capteur passif basée sur le principe d'un gradient de diffusion en couche mince (Diffusive Gradient in Thin Films, DGT) permet de prélever *in situ* les métaux sous formes libre et labile. Les métaux après passage à travers une mince couche de gel sont piégés dans une résine chélatante (Figure 1).

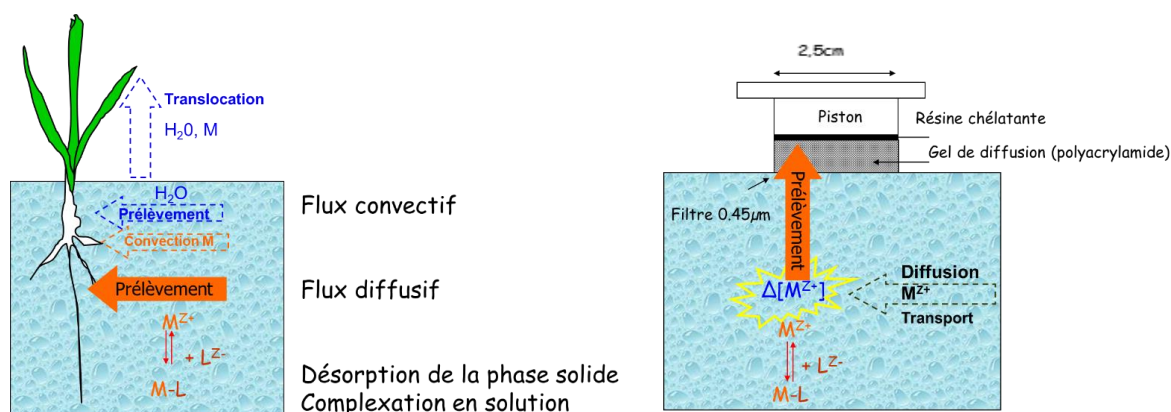


Figure 1 : Le prélèvement par flux diffusif des ETM par la plante est simulé par le dispositif DGT. (M : métal, L : Ligand, z : charge électrique)

Zhang et Davison (1995) ont proposé la DGT comme nouvelle méthode d'évaluation de la disponibilité. Elle s'est révélée pertinente pour prédire le prélèvement de métaux (Zhang *et al.*, 2001) notamment le cadmium et le zinc dans la laitue (Denaix et Cornu, 2006), le cuivre dans le blé (Bravin *et al.*, 2010), le cadmium et le plomb dans le blé (Zarrouk *et al.*, 2013). Ses limites, principalement liées à sa conception et sa géométrie, se sont révélées être un manque de sensibilité et de sélectivité, et, dans certains cas, un manque de reproductibilité de la mesure. En particulier, elles ont été constatées dans des sols agricoles peu contaminés pour lesquels la variabilité de la mesure est forte. L'application de ce type de capteur à la problématique d'évaluation de la biodisponibilité pour une contamination diffuse nécessite ainsi d'améliorer les performances du dispositif.

Malgré cela, globalement les capteurs passifs demeurent une stratégie d'évaluation attractive de la phytodisponibilité, de par leur utilisation simple, ne nécessitant pas de gros matériel ce qui peut faciliter une utilisation à grande échelle au laboratoire ou sur le terrain (Figure 1). Ces dispositifs sont jetables et ne demandent pas d'opération de nettoyage, les contaminations croisées sont donc évitées. L'utilisation d'hydrogel sélectif peut enfin permettre de ne collecter que les éléments dissous ce qui apporte une information sur la fraction réellement biodisponible de l'élément sans impliquer d'opération de filtrage.

1.2 Un capteur passif avec une conception différente : DMGS

Compte tenu à la fois des performances des capteurs passifs et des limites des DGT, il est apparu pertinent de développer de nouveaux capteurs, toujours basés sur le principe de diffusion utilisé dans les DGT, mais avec une conception différente afin de pallier les principales limites constatées. Ainsi, en 2013, des capteurs à base d'hydrogels de taille millimétrique (MilliGels Diffusifs, DMG) dans lesquels sont encapsulées des nanoparticules de résine chélatante Chelex (Figure 2) ont été conçus et réalisés à l'IPREM (Institut des Sciences Analytiques et de Physico-Chimie pour l'Environnement et les Matériaux, Université de Pau et des Pays de l'Adour) pour le suivi du cuivre (thèse de M. Perez soutenue en 2015-LCABIE, projet NanoVin, Région Aquitaine).

L'innovation et les avancées de ce type de capteur résident particulièrement dans la possibilité de modulation de la sélectivité par encapsulation de nanoparticules de sélectivité désirée, l'augmentation de la sensibilité du fait de l'augmentation de la surface d'exposition et un échantillonnage dans les 3 dimensions, plus représentatif de l'exposition d'un organisme végétal.



Figure 2 : Billes de milligel après synthèse (Photo : IPREM)

2. Design et validation du capteur DMGS

L'évaluation des capacités de piégeage a été réalisée à partir d'une résine chelex 100 préalablement sélectionnée pour ses propriétés de piégeage du cuivre, du cadmium et du plomb et pour l'absence de trace de ces éléments (selon les travaux réalisés durant la thèse de M. Perez, aucune autre résine satisfaisant ces critères n'a pu être trouvée). Cette résine est constituée de microbilles d'environ 75 à 150 μm de diamètres. Or, la taille des billes est importante pour la synthèse en millifluidique, la taille maximale étant idéalement de quelques dizaines de micromètres. La résine doit être broyée au préalable avant la synthèse des DMG. Le broyage peut également avoir une importance sur les propriétés de piégeage en altérant la structure de la résine.

La qualité du broyage (homogénéité du matériau et tailles des fragments) s'est avérée optimale avec une masse minimale (0,5 g) et un nombre de billes maximum (4), le broyage le plus homogène a permis une répétabilité de piégeage optimale (1% contre 13% avec un broyage insuffisant). La capacité de piégeage s'avère également améliorée d'au moins 8% par rapport à la résine non broyée.

La résine broyée dans les conditions optimisées a été alors incorporée au gel. Pour cela, au préalable de la synthèse en millifluidique, la résine a été introduite dans le mélange de monomères. Trois taux d'incorporation ont été testés : 15%, 7,5% (selon travaux précédents de M. Perez) et 1%. Les clichés de microscopie réalisés sur les DMG ainsi synthétisés ont permis de mettre en évidence une répartition homogène de la résine de chelex broyée au sein des milligels en particulier pour le taux d'incorporation de 1%. Cette répartition semble identique d'un lot de synthèse à un autre. Cependant quel que soit le taux d'incorporation, la taille moyenne des DMG augmente d'environ 15% au cours d'une synthèse et peut également varier d'environ 10-15% d'un lot à un autre. L'augmentation du pourcentage de résine conduit à l'obtention de DMG plus petites. Le milligel apparaît déformé et sa surface est irrégulière lorsque la résine est incorporée en trop grande quantité (particulièrement à 15%). Compte tenu de ces résultats, il a été décidé : (i) de poursuivre la synthèse des DMG avec ces 3 taux d'incorporation pour réaliser des tests de caractérisation comparatifs des DMG, (ii) de synthétiser essentiellement des DMG à 1% pour constituer les capteurs des futures utilisations. *In fine*, le nombre de DMG était suffisant, de même pour le nombre de capteurs DMGS, pour la réalisation du projet comme initialement programmé (Figure 4). Enfin, des calculs de capacité de piégeage en fonction des concentrations élémentaires attendues et des conditions de mise en œuvre du capteur ont permis d'estimer que le nombre de DMG dans un capteur pouvait être égal à 30.

En conclusion, les DMG sont confectionnés à partir d'une résine Chelex-100 qui doit nécessairement être broyée avant d'être introduite dans le système de synthèse du capteur. Il a été démontré que ce broyage permet d'améliorer à la fois la capacité et la répétabilité de piégeage (Faucher *et al.*, 2020). Les DMG doivent idéalement contenir 1% (humide) de résine pour favoriser la diffusion des éléments à piéger dans le gel et doivent être mises dans un contenant pour constituer le capteur DMGS. Un contenant non rigide de type « sachet de thé » a été initialement proposé afin de privilégier le contact tridimensionnel avec le milieu d'étude.

3. Evaluation de la réponse du capteur passif en milieu contrôlé

Les capacités de prédiction de la phytodisponibilité du capteur DMGS devaient être comparées à un capteur déjà utilisé et considéré comme performant sur les sols contaminés, la DGT. Un sous-objectif était de valider la DGT dans des conditions de contamination modérées en métaux que l'on retrouve dans les sols agricoles.

Le choix des sols a impliqué l'échange d'informations provenant des enquêtes réalisées par les partenaires du projet. Un panel de 8 sols de caractéristiques contrastées a été sélectionné. Les caractéristiques du capteur DMGS conçu dans l'action 1, ont été déterminées par évaluation de sa réponse ainsi que de ses capacités à capter les éléments libres et labiles en milieu contrôlé dans des solutions de sols synthétiques et des solutions du panel des 8 sols. Cette action a été réalisée sur des sols issus de parcelles en agriculture conventionnelle ou biologique provenant de différentes régions françaises (Tableau 1).

Tableau 1 : Caractéristiques des sols utilisés

Commune	Conduite	pH	Argile	Limons	Sables	MO	C/N	CaCO ₃	CEC	Cd	Cu	Pb	Zn
			g/kg	g/kg	g/kg	g/kg		g/kg	cmol+/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
La Chapelle Basse Mer	AB	7,7	61	52	887	19,6	10,7	11	8,1	0,13	15,7	26,7	48,8
St Colomban	AB	6,7	140	217	643	55,3	12,6	2	12,7	0,1	14,0	26,8	49,2
Damazán	Conventionnel	6,2	161	629	210	27,6	13,4	<1	10,9	0,23	25,6	22,4	69,5
St Priest	Conventionnel	7,0	164	315	521	260,0	25,9	5	31,7	1,9	348,0	374	334,0
Foulayronnes	AB	7,5	342	436	222	44,6	9,9	21	25,7	0,2	37,8	31,1	97,0
Morlaix	AB	7,3	123	655	222	22,9	9,6	<1	7,2	0,1	21,1	32,2	53,1
Saint Cassien	AB	7,5	178	426	396	47,7	12,6	<1	14,4	0,2	187,0	41,2	82,7
Peaugres	AB	7,9	231	333	436	43,0	12,1	5	19,8	0,2	27,4	23,4	91,4

(Si on se réfère à la seule réglementation en vigueur pour les sols donnant des valeurs limites en métaux, à savoir la réglementation sur l'épandage de boues de station d'épuration (arrêté de 1998), un sol, Saint Priest, peut être considéré)

Dans cette action, tout d'abord l'optimisation des conditions d'utilisation des capteurs DGT et DMGS dans les sols a été recherchée. Pour cela le temps de déploiement optimal a été mesuré, en déposant les capteurs dans les sols humides (100% de la capacité au champ) pendant 8, 24 et 48 heures à 20°C. Cette première expérimentation a été réalisée sur un seul sol (Damazan).

L'effet de l'état initial du sol (sec ou humide) et la gamme de réponse des deux capteurs a été testé. Pour cette deuxième partie, trois sols ont été sélectionnés, avec des caractéristiques physicochimiques contrastées afin d'obtenir une gamme de valeurs de disponibilité des métaux : Morlaix, Foulayronne et Saint Priest.

Une fois les conditions d'utilisation fixées, la réponse des capteurs a été éprouvée dans le cas d'une culture de laitue (variété Appia) en conditions contrôlées sous serre. Cette expérimentation a été conduite pendant un mois, en pot de culture, sur huit sols provenant de parcelles conduites en maraîchage, en agriculture conventionnelle ou biologique.

Les capteurs DGT et DMGS ont été installés pendant 24 heures, en début, au milieu (à 15 jours après repiquage) et à la fin (à 1 mois du repiquage) de l'expérimentation. Des microbougies poreuses ont également été installées dans les pots et la solution du sol a pu ainsi être prélevée à ces différentes dates. Les concentrations en cadmium ont été mesurées dans les capteurs et la solution du sol. Au bout d'un mois, les laitues ont été récoltées, pesées, séchées, minéralisées et leur teneur en cadmium a été analysée.

3.1 Test des capteurs DMGS et DGT en conditions contrôlées

3.1.1 Test des temps d'exposition des DGT et des DMG

Les capteurs DGT et DMGS ont été déployés sur un même sol (Damazan) à différents temps d'exposition, en conditions contrôlées (humidité et température), afin de déterminer leur capacité d'accumulation du Cadmium (Cd) et la répétabilité de la mesure au cours du temps.

Les concentrations en Cd obtenues par le capteur DGT et le capteur DMGS pour les différents temps d'exposition sont présentées sur la Figure 3. Afin de pouvoir comparer des dispositifs de géométrie différente, les concentrations en Cd mesurées ont été rapportées à la quantité de résine Chelex dans chacun des dispositifs. Pour cela, les concentrations en Cd ont été divisées par la masse théorique de Chelex dans le gel chélatant de la DGT d'une part et dans les billes DMG d'autre part.

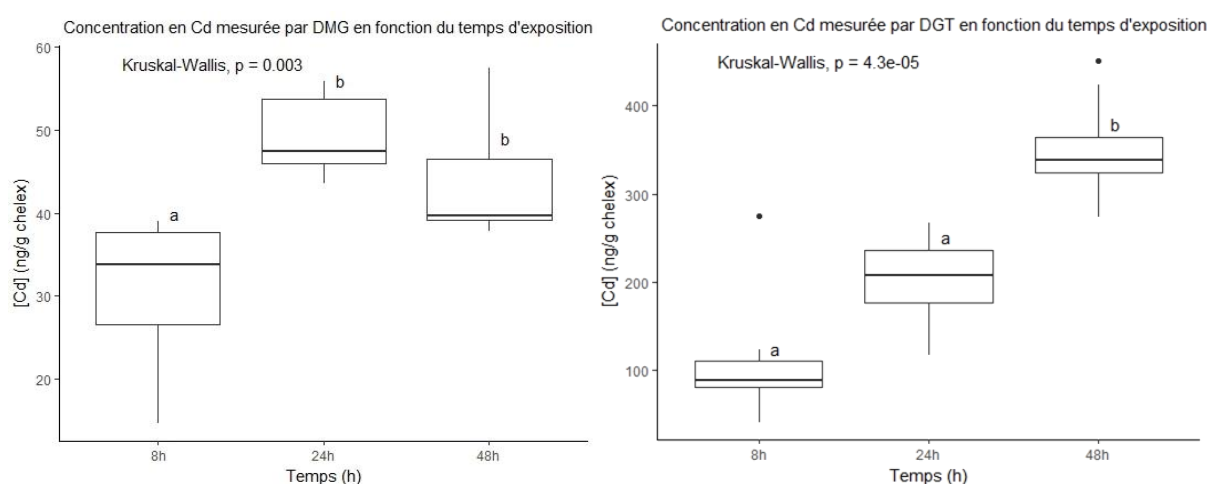


Figure 3 : Evolution des concentrations en Cd obtenues par les capteurs DGT et DMGS au cours du temps

Afin de déterminer l'existence d'une différence significative entre les concentrations en Cd obtenues par les deux capteurs à différents temps d'exposition, un test de Kruskal-Wallis a été effectué. Ce test statistique non paramétrique a révélé pour le capteur DMGS, que les concentrations en Cd obtenues à 8h sont significativement différentes de celles obtenues à 24h (p -value = 0.003) et à 48h (p -value = 0.04). En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations obtenues à 24h et à 48h (p -value = 0.63). Pour le dispositif DGT, le même test statistique a montré qu'il existe une différence significative entre les concentrations en Cd obtenues à 48h et celles obtenues à 8h (p -value < 0.0001) et 24h (p -value = 0.02). En revanche, aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations obtenues à 8h et à 24h (p -value = 0.17). Ainsi, pour les deux capteurs, les concentrations

de Cd accumulées après 48h d'exposition sont significativement différentes de celles obtenues après 8h d'exposition.

Les deux capteurs ont montré leur capacité d'accumulation du Cd au cours du temps (Figure 4). Cette observation n'est pas inattendue, puisque la résine Chelex, contenue dans les deux capteurs, chélate les cations métalliques. Ainsi, les ions Cd^{2+} vont s'accumuler au cours du temps dans la résine Chelex.

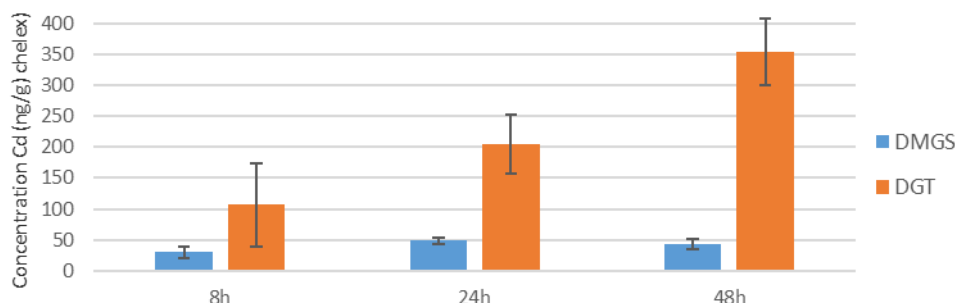


Figure 4 : Comparaison des concentrations de Cd mesurées par les deux capteurs passifs

Cette comparaison montre que les deux capteurs DGT et DMGS n'accumulent pas la même quantité de Cd. La mesure DGT permet d'obtenir une concentration de Cd 3 fois plus importante que la mesure DMG après 8h d'exposition. Cette différence augmente avec le temps d'exposition. En effet, le capteur DGT a accumulé 4 fois plus que le capteur DMGS après 24h d'exposition, et 8 fois plus après 48h d'exposition. Ainsi, le capteur DGT a tendance à accumuler du Cd au cours du temps. Cette tendance n'est pas observée pour le capteur DMGS, ce qui explique que les deux capteurs DGT et DMGS n'accumulent pas la même quantité de Cd.

Cette différence d'accumulation peut s'expliquer par une surface d'exposition moins importante pour le capteur DMGS. Les billes DMG possèdent un diamètre de 1 mm et donc une surface de 0.09 cm^2 . Le gel Chelex présent dans le capteur DGT possède, quant à lui, une surface de 4.9 cm^2 . De plus, la présence d'un sachet de thé, dans lequel sont présentes les billes DMG, peut entraîner un contact insatisfaisant de celles-ci avec le sol. Par ailleurs, elles peuvent se retrouver collées entre elles. Ainsi, il est possible d'émettre l'hypothèse que la diffusion ne s'effectue pas sur la totalité de la surface de la bille.

Les coefficients de variation des concentrations mesurées par les deux capteurs ont été calculés afin de déterminer quel est le temps de déploiement du capteur qui permet d'obtenir une mesure répétable des concentrations en Cd pour la suite des expérimentations (Figure 5).

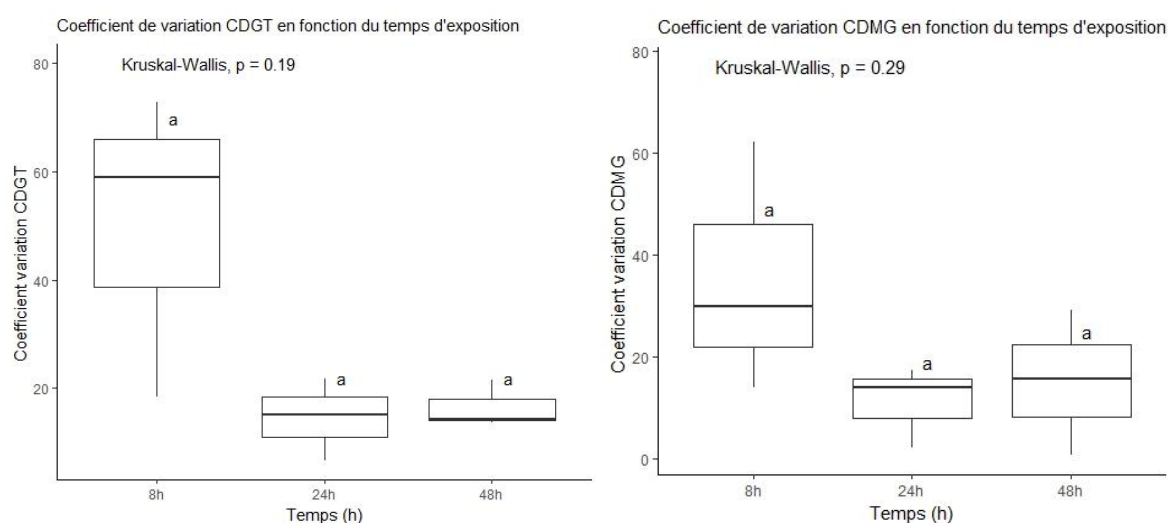


Figure 5 : Evolution du coefficient de variation des concentrations en Cd au cours du temps d'exposition

Le coefficient de variation a tendance à diminuer au cours du temps (Figure 5). Cependant, cette tendance n'est pas significative d'après un test statistique de Kruskal-Wallis pour le capteur DMGS (p -value = 0.29) et pour le capteur DGT (p -value = 0.19). Les coefficients de variation des concentrations mesurées par les deux capteurs montrent une tendance à une plus faible variabilité à partir de 24h. Le temps d'exposition de 24h étant un temps intermédiaire, celui-ci a été retenu pour réaliser les deux expérimentations qui ont suivies celle-ci.

3.1.2 Test de la gamme de réponse des capteurs sur deux états du sol en condition contrôlée

Au cours des expérimentations précédentes, il est apparu que le capteur DMGS, tel qu'il était agencé s'est révélé être inadapté (Figure 6). En effet, le contenant type « sachet de thé » ne permet pas d'arrêter certaines particules du sol qui viennent se piéger dans le gel des DMG ; il est impossible de retirer ces particules et l'analyse des DMG conduit alors à fortement surestimer les concentrations en éléments piégés. La tenue mécanique des DMG s'est également révélée être insuffisante au regard des contraintes d'une implémentation dans un sol ; certaines se sont écrasées et n'ont donc plus fait office de capteur. Aucun autre dispositif permettant le déploiement des DMG directement sur sol n'a pu être mis au point au cours du projet. Ainsi, les analyses des capteurs DMGS n'ayant pu être réalisées sur sols humides, seuls les résultats des mesures DGT seront présentés et discutés.



Figure 6 : Conditionnement des billes de milligel par ensachage (Sachet de thé fermé par un collier de serrage)

Afin d'estimer si l'état du sol a un effet sur la capacité du dispositif DGT à mesurer la concentration en Cd biodisponible, trois sols ayant des caractéristiques physico-chimiques différentes ont été choisis : Foulayronne, Morlaix et Saint (St) Priest (Tableau 1).

Avant d'être réhumectés à 100% de la capacité au champ pour effectuer la mesure DGT, les trois sols se présentaient sous deux états différents : sec (séché à 70°C) et frais (conservé aux conditions d'humidité du champ). Afin de déterminer si l'état du sol influe sur l'accumulation en Cd par le dispositif DGT, un test de Kruskal-Wallis a été effectué. Ce test statistique a montré que l'état du sol a un effet significatif sur les concentrations en Cd mesurées par DGT pour les trois sols étudiés. Effectivement, les concentrations en Cd sont significativement plus élevées lorsque le sol a été séché. Le même phénomène a également été observé au niveau de la solution du sol.

Le séchage des sols permet la standardisation de la mesure DGT puisque tous les sols se trouvent dans les mêmes conditions. Cependant, les résultats de cette expérience, ont montré que sécher le sol a pour effet de surestimer la concentration en Cd biodisponible. La reprise de la minéralisation des matières organiques lors de la réhumectation conduit souvent à augmenter temporairement la concentration des métaux en solution, pouvant ainsi expliquer cette surestimation. Utiliser le dispositif DGT serait plus pertinent avec des sols qui sont à l'état frais qu'avec des sols qui ont été séchés. Pour l'expérience suivante, l'utilisation des sols frais a donc été décidée pour réaliser la mesure de la biodisponibilité du Cd par les capteurs passifs. En effet, l'utilisation d'un sol frais pour la mesure DGT permet d'éviter de s'éloigner excessivement de la réalité du terrain.

Par ailleurs, les concentrations en Cd mesurées par DGT sont plus élevées pour St Priest ($CDGT \sim 0.4 \mu\text{g/L}$) que pour les deux autres sols ($C_{DGT} < 0.1 \mu\text{g/L}$). Un test de Kruskal-Wallis a révélé que cette différence est significative (sol frais p-value < 0.0001 ; sol sec p-value < 0.0001). Ce résultat était celui attendu à la vue des caractéristiques physicochimiques du sol. Les concentrations en Cd mesurées par DGT entre Foulayronne et Morlaix, quant à elles, ne sont pas significativement différentes. Morlaix possède donc une biodisponibilité du Cd équivalente à celle de Foulayronne. Ainsi, une gamme de biodisponibilité du Cd n'a pas été observée comme ce qui avait été souhaité.

Afin de déterminer si la différence d'état du sol a un effet sur la répétabilité de la mesure DGT, les coefficients de variation des concentrations en Cd mesurées par DGT ont été calculés pour chacune des conditions.

Pour les trois sols étudiés, le coefficient de variation de la concentration en Cd mesurée par DGT n'est pas significativement différent entre les deux états du sol (frais et sec). Pour Foulayronne, le coefficient de variation peut atteindre 95% lorsque le sol a été séché. Pour Morlaix, le phénomène inverse est observé : le coefficient de variation peut atteindre 87% pour le sol frais. Quant à St Priest, les coefficients de variation des deux conditions sont moins élevés et ne dépassent pas les 30%.

Les concentrations en Cd total de Morlaix et de Foulayronne sont plus faibles que celle de St Priest (Tableau 1). Ainsi, la présence de faibles concentrations en Cd total dans le sol est susceptible d'être responsable de l'augmentation de la variation de la mesure DGT. L'utilisation du dispositif DGT serait donc plus adaptée à des sols présentant des concentrations en Cd total moyennes voire élevées qu'à des concentrations en Cd total faibles.

3.2 Estimation de la capacité de prédiction des transferts sol-plantes en Cd, Cu et Pb

3.2.1 Suivi cinétique de la disponibilité

Pour cette dernière expérimentation, une culture de laitue a été mise en place sur huit différents sols (Tableau 1) pendant une durée de 30 jours. Pour chaque sol, quatre pots ont été utilisés avec une laitue par pot, soit quatre répliques par sol. Afin d'assurer le suivi cinétique de la biodisponibilité du Cd, les capteurs DGT et DMGS ont été déployés à 3 temps différents pendant la culture de laitue : t_0 , t_{15} et t_{30} . Les analyses ne pouvant être réalisées pour les capteurs DMGS, seuls les résultats obtenus par le dispositif DGT sont présentés. Parmi les concentrations en Cd mesurées par DGT pour les huit sols à t_0 (Figure 7), elles sont nettement plus élevées pour deux sols : St Priest et Damazan.

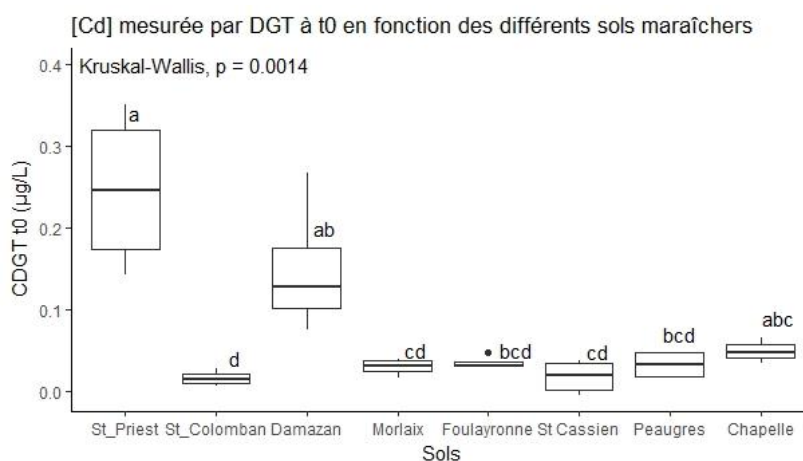


Figure 7 : Comparaison de la concentration en Cd mesurée à t_0 entre les différents sols

Un test de Kruskal-Wallis a montré que les concentrations en Cd mesurées à t0 par le dispositif DGT sont significativement différentes entre certains sols (Figure 7). Ainsi, les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT pour St Priest, Damazan et La Chapelle sont significativement différentes de celles de St Colomban. Les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT pour Morlaix, Foulayronne, St Cassien et Peaugres sont significativement différentes de celles mesurées pour St Priest. En revanche, ces concentrations ne sont pas significativement différentes entre elles. Ainsi, le gradient de biodisponibilité attendu n'est pas observé. Le même test statistique a montré que pour t15, les concentrations en Cd mesurées par DGT pour St Priest sont significativement différentes de celles de La Chapelle (p-value = 0,021). Pour t30, les concentrations en Cd mesurées par le dispositif DGT pour St Priest sont significativement différentes de Morlaix (p-value = 0.0035) et de Peaugres (p-value = 0.0181). Aucune autre différence significative n'a été observée entre les concentrations en Cd mesurées à t15 et à t30 entre les différents sols. Ainsi, aucun gradient de biodisponibilité n'est observé par la mesure DGT à t15 et à t30 (Figure 8).

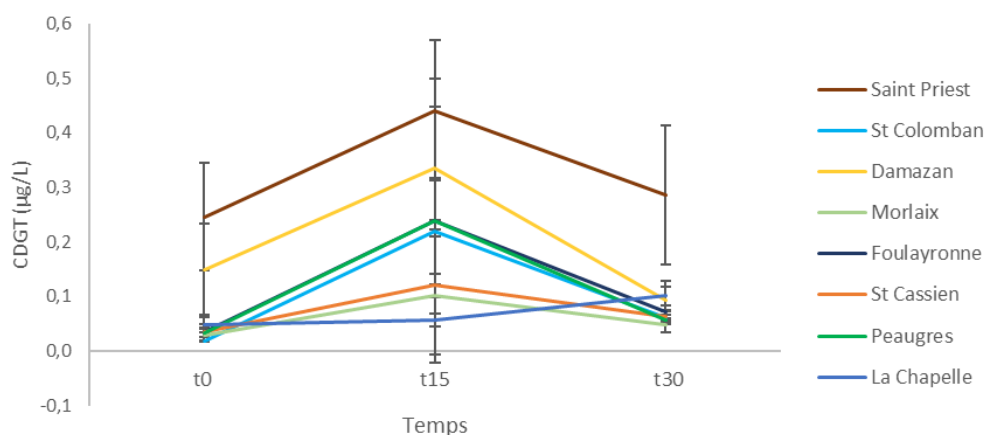


Figure 8 : Suivi cinétique de la concentration en Cd mesurée par DGT

Pour tous les sols étudiés, les concentrations en Cd mesurées par DGT ne sont pas restées constantes au cours du temps. En effet, pour tous les sols sauf pour La Chapelle, une augmentation des concentrations en Cd mesurées par DGT a eu lieu entre la mesure DGT t0 et t15, suivie d'une diminution entre la mesure DGT t15 et t30. Pour La Chapelle, une autre tendance a été observée : les concentrations DGT sont restées stables entre t0 et t15 et ont ensuite augmenté entre t15 et t30.

Afin de déterminer si ces variations de la concentration en Cd mesurées par DGT sont significatives au cours du temps, une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée. Ce traitement statistique a permis de mettre en évidence que ces variations sont significatives pour certains sols : St Colomban (p-value= 0.002), Damazan (p-value = 0.006), Foulayronne (p-value < 0.001), St Cassien (p-value < 0.001), La Chapelle (p-value = 0.006).

Les concentrations en Cd dans les solutions de sol ont été également mesurées pour ces mêmes sols aux différents temps t0, t15 et t30. Pour St Priest et Damazan, les concentrations sont celles qui sont les plus importantes. Cette observation permet d'expliquer les concentrations élevées en Cd mesurées pour ces deux sols par le dispositif DGT. Un test de Kruskal-Wallis a montré que les concentrations en Cd de la solution sol de Damazan et St Priest sont significativement différentes de celles de Morlaix, St Cassien et La Chapelle.

A t15, les concentrations en Cd de la solution de sol de Morlaix sont significativement différentes de celles de St Priest et Damazan. A t30, les concentrations en Cd de la solution sol de St Priest sont significativement différentes de celles de Morlaix, et Peaugres. La concentration en Cd dans la solution de sol a également été mesurée au cours du temps (Figure 9).

Pour certains sols, une analyse de variance (ANOVA) a permis de mettre en évidence que les concentrations en Cd de la solution de sol sont significativement différentes au cours du temps : Morlaix (p-value < 0.001), Damazan (p-value = 0.005), Foulayronne (p-value = 0,02), Peaugres (p-value < 0.001). Par ailleurs, l'évolution des concentrations en Cd dans la solution de sol entre t0 et t15 ne semble pas expliquer l'augmentation des concentrations en Cd mesurées par DGT à t15.

Le suivi cinétique du pH de la solution de sol a aussi été réalisé pour les 8 sols. Aucune variation importante du pH n'a été observée entre t0 et t15 qui aurait pu expliquer les variations significatives observées pour les concentrations en Cd mesurées par DGT sur certains sols. Cependant, une tendance à une légère augmentation du pH de la solution de sol a été observée au cours du temps. Cette tendance, d'après une analyse de variance (ANOVA), est significative pour tous les sols (p-value < 0,03) sauf pour Peaugres (p-value = 0,082).

Les concentrations du Cd et le pH de la solution de sol n'ont pas permis d'expliquer les variations des concentrations en Cd mesurées par DGT.

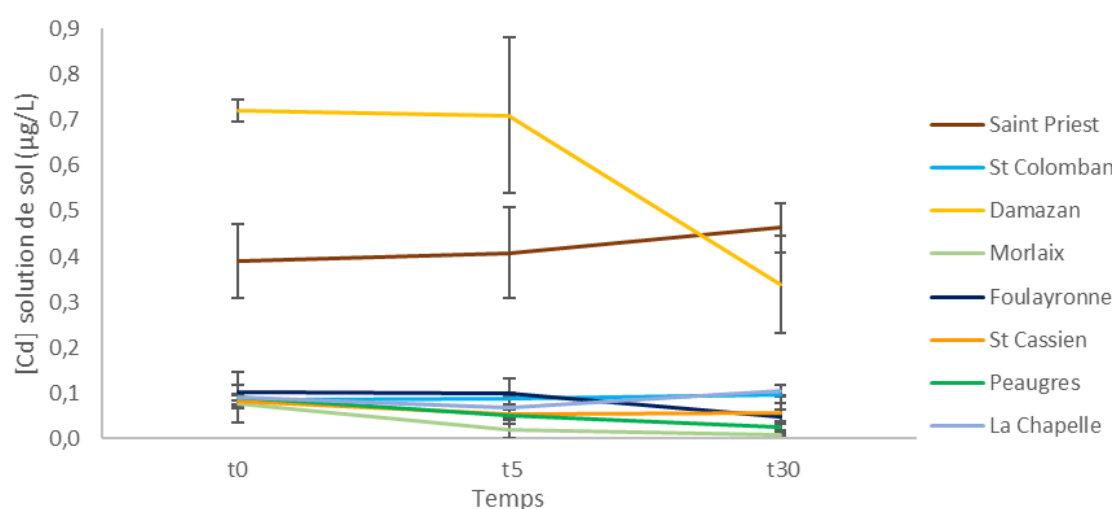


Figure 9 : Evolution cinétique de la concentration en Cd dans la solution de sol

3.2.2 Accumulation du Cd dans la laitue

Afin de déterminer la biodisponibilité du Cd vis-à-vis de la laitue, une culture a été mise en place sur les 8 sols fournis par les partenaires instituts techniques agricoles (Tableau 1). De façon à obtenir 4 réplicas par sol, 4 pots par sol ont été préparés. Une plante par pot a été repiquée et récoltée au bout de 30 jours (t30). Ainsi, pour chacun des sols, les moyennes des biomasses sèches, ainsi que les moyennes des concentrations en Cd (exprimées en mg/kg de matière sèche) sont présentées pour les parties aériennes et les parties racinaires dans le Tableau 3. Afin d'obtenir des concentrations en Cd dans les feuilles exprimées en mg/kg de matière fraîche, les concentrations en Cd dosées dans les feuilles séchées ont été rapportées à leur masse fraîche (Tableau 2).

Un test statistique de Kruskal Wallis a permis de mettre en évidence que la biomasse sèche totale des laitues cultivées n'est pas significativement différente entre les sols (p-value = 0,0051). Cette observation peut s'expliquer par la forte variabilité de la biomasse des laitues au sein d'un même sol.

Tableau 2 : Moyennes des biomasses sèches (matière sèche MS) et des concentrations en Cd pour les laitues de chaque sol (écarts- types entre parenthèses)

	MS Feuilles	MS Racines	[Cd] Feuilles	[Cd] Racines	[Cd] Feuilles
	g	g	mg/kg de MS	mg/kg de MS	mg/kg de MF
St Priest	6.24 (±2.7)	2.84 (±1.57)	0.4 (±0.14)	0.45 (±0.18)	0.04 (±0.01)
St Colomban	2.48 (±0.62)	1.75 (±0.6)	0.11 (±0.02)	0.08 (±0.01)	0.02 (±0)
Damazan	3.03 (±2.05)	1.15 (±0.9)	0.33 (±0.14)	0.43 (±0.03)	0.04 (±0.01)
Morlaix	2.73 (±1.61)	1.61 (±0.48)	0.35 (±0.02)	0.3 (±0.05)	0.05 (±0.01)
Foulayronne	8.06 (±0.67)	2.63 (±0.47)	0.32 (±0.02)	0.27 (±0.04)	0.03 (±0)
St Cassien	4.53 (±0.73)	2.24 (±0.26)	0.32 (±0.02)	0.35 (±0.03)	0.04 (±0)
Peaugres	7.64 (±0.45)	2.58 (±0.81)	0.35 (±0)	0.2 (±0.03)	0.04 (±0)
La Chapelle	3.49 (±0.23)	2.24 (±0.54)	0.18 (±0.02)	0.16 (±0.02)	0.02 (±0)

Toutefois, des biomasses plus importantes ont été observées pour les laitues cultivées sur les sols St Priest, Foulayronne et Peaugres. Cette différence de biomasse n'est pas liée à un effet de toxicité du Cd pour les sols qui présentent les biomasses les plus faibles. En effet, parmi les 8 sols de cette étude, les concentrations en Cd total pour St Priest, Foulayronne et Peaugres sont celles qui sont les plus élevées. Cette différence de biomasse peut éventuellement être causée par la différence de fertilité de ces sols. La quantité de matière organique, de phosphore, de potassium entre les sols peut influencer la fertilité des sols. Le pourcentage de matière organique des sols de ces études ne permet pas d'expliquer la différence de fertilité. La quantité de matière organique pour Foulayronne et St Colomban est quasiment équivalente (47,8 mg/kg et 48,7 mg/kg respectivement), mais la biomasse totale des laitues cultivées sur Foulayronne est plus élevée que celle des laitues cultivées sur St Colomban. Les teneurs en phosphore et potassium n'ayant pas été réalisées sur tous les sols, il n'est pas possible de conclure sur ces paramètres de fertilité des sols.

D'après le même test statistique, les concentrations en Cd dans les feuilles des laitues (exprimées en mg/kg de poids sec) sont, quant à elles, significativement différentes entre les sols.

Les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles des laitues ayant poussé sur St Priest et sur Damazan sont significativement différentes de celles des laitues ayant poussé sur Colomban. De plus, celles des laitues ayant poussé sur St Priest sont significativement différentes de celles des laitues ayant poussé sur La Chapelle. Les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles des laitues ayant poussées sur Morlaix, Foulayronne, St Cassien et Peaugres ne sont pas significativement différentes de celles des laitues ayant poussées sur St Priest et Damazan. Ainsi, les différences entre les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles des différents sols sont moins marquées que pour celles observées par les mesures DGT.

La réglementation européenne (Règlement CE 1881/2006 et Directive 2002/32/CE) impose des valeurs limites en Cd dans les denrées alimentaires. La valeur maximale réglementaire des légumes-feuilles est fixée à 0,2 mg de Cd/kg de poids frais³. Pour tous les sols, les concentrations en Cd dans les feuilles, exprimées en mg/kg de matière fraîche, sont inférieures à cette réglementation.

³ Le règlement 2021/1323 du 10 août 2021 modifie la teneur maximale en cadmium dans les légumes-feuilles en l'abaissant à 0,1 mg/kg de poids à l'état frais.

Parmi le lot de plantules utilisées pour l'étude, trois d'entre elles n'ont pas été plantées dans les sols. Celles-ci ont permis de déterminer la biomasse moyenne et les concentrations moyennes en Cd à t0, pour les parties aériennes et racinaires (Tableau 3).

Tableau 3 : Moyennes des biomasses (exprimées en g) et des concentrations en Cd (exprimées en mg/kg de poids sec) pour les plantules à t0 (écarts- types entre parenthèses)

	MS Feuilles	MS Racines	[Cd] Feuilles	[Cd] Racines	[Cd] Feuilles
Plantules	0.52 (±0.15)	0.19 (±0.04)	1.43 (±0.49)	2.67 (±1.11)	0.17 (±0.11)

Les concentrations en Cd dans les feuilles et les racines sont amplement supérieures à celles mesurées dans les plants de laitues cultivés sur les 8 sols. Le terreau dans lequel ont été semées les plantules possédait certainement des concentrations en Cd élevées. Les plantules utilisées étaient pourtant issues de l'agriculture biologique. Cependant, cette hypothèse semble la plus logique pour expliquer cette observation.

Les concentrations en Cd dans les feuilles des plantules exprimées en mg/kg de matière fraîche sont trois fois plus élevées que celles des plantes de laitues cultivées sur les sols de l'étude. Ainsi, ces concentrations sont proches de la valeur maximale réglementaire des légumes-feuilles fixée à 0,2 mg/kg de poids frais. La diminution des concentrations en Cd entre les plantules à t0 et les plants de laitues cultivés sur les sols et récoltés à t30, doit certainement être causée par l'augmentation de la biomasse au cours de la période de culture.

3.2.3 Estimation de la capacité des capteurs DGT à prédire la biodisponibilité du Cd, du Cu et du Pb pour la laitue

Afin d'estimer la capacité du capteur DGT à évaluer la biodisponibilité du Cd vis-à-vis de la laitue, il est nécessaire de déterminer s'il existe un facteur de proportionnalité entre les concentrations en Cd mesurées par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines.

Des régressions linéaires ont donc été testées afin d'identifier l'existence d'une relation entre les concentrations en Cd mesurées par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines (Figure 10). Aucune corrélation ne se dégage lorsque l'ensemble des sols est considéré. Cependant, en observant la Figure 10, il apparaît deux groupes de sols qui semblent réagir différemment vis-à-vis du capteur DGT.

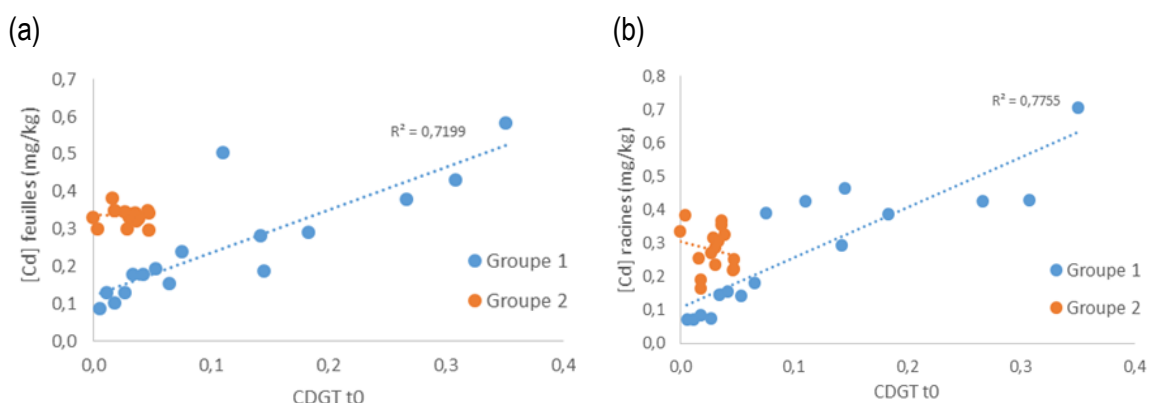


Figure 10 : Régressions linéaires entre les CDGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles (a) et dans les racines (b) des laitues.

Une corrélation linéaire significative existe entre les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles ($R^2 = 0,72$) et dans les racines ($R^2 = 0,78$) pour un groupe de 4 sols (groupe 1) : La Chapelle, St Colamban, Damazan, et St Priest. Cependant, pour les autres sols (groupe 2), à savoir Foulayronne, Morlaix, St Cassien et Peaugres, les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT ne semblent pas être corrélées avec les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles et dans les racines. Pour les temps t15 et t30, les corrélations ne sont pas significatives par rapport à t0.

Pour le groupe 1, la corrélation linéaire entre les concentrations en Cd mesurées à t0 par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles ($R^2 = 0,7199$) est significative ($p\text{-value} < 0,001$). Cependant, à t30, la corrélation observée pour les concentrations en Cd mesurées par DGT avec les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles n'est pas significative ($p\text{-value} = 0,097$). Ce résultat peut être expliqué par la perturbation du sol au cours du temps, notamment par des variations de température et d'humidité que le sol n'a pas connues à t0. La présence des laitues à t15 et à t30 pour la mesure DGT a peut-être également perturbé le sol par rapport au temps t0.

Pour le groupe 2, les corrélations entre les concentrations en Cd mesurées par DGT et les concentrations en Cd mesurées dans les feuilles ne sont pas significatives aussi bien pour les mesures DGT à t0 ($p\text{-value} = 0,741$) qu'à t30 ($p\text{-value} = 0,28$).

Afin d'estimer la quantité en Cd prélevée par la laitue pendant la période de culture, le flux de Cd à travers le dispositif DGT a été multiplié par la surface racinaire des laitues et par 24h. Ce calcul, proposé par Zarrouk *et al.* (2014), est basé sur l'hypothèse que l'apex des racines en croissance est la région racinaire vraisemblablement où le flux de cadmium est le plus important.

En comparant ces quantités en Cd calculées grâce au flux DGT et les quantités en Cd accumulées par la laitue, il apparaît que ces valeurs ne sont pas significativement différentes pour les sols de Damazan, Saint Priest et La Chapelle, trois sols du groupe 1. En revanche, cette comparaison montre, pour les sols du groupe 2 (Morlaix, Foulayronne, St Cassien et Peaugres), une sous-estimation des quantités en Cd calculées à partir du flux DGT par rapport aux quantités en Cd réellement prélevées par la laitue (Figure 11).

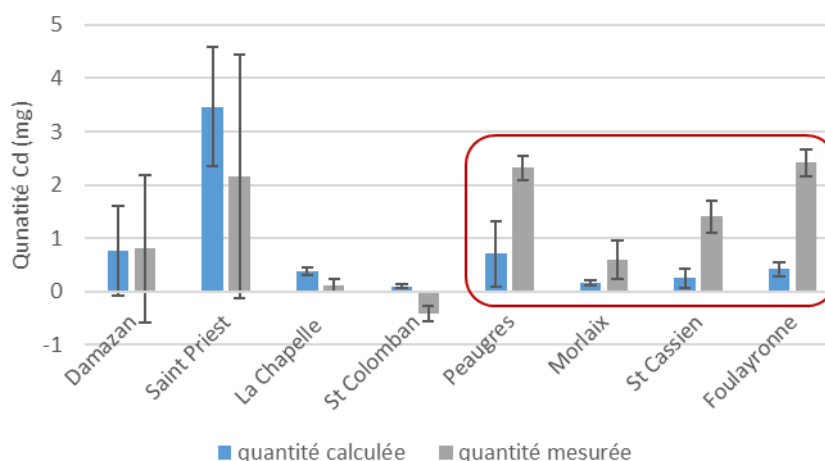


Figure 11 : Comparaison des quantités en Cd accumulées par la laitue et les quantités mesurées grâce aux flux DGT

Le paramètre pH des sols ne permet pas d'expliquer la différence observée pour ces 2 groupes de sols au niveau de la mesure DGT. Effectivement, les pH des sols du groupe 1 sont compris entre 6,7 et 7,9 et ceux du groupe 2 sont compris entre 6,2 et 7,5.

Aucun paramètre pédologique (pH, matière organique, etc.) n'explique cette répartition en deux groupes. La différence de l'efficacité de la mesure DGT entre ces deux groupes de sol peut être expliquée, seulement en partie, par la granulométrie de ces sols. En effet, les sols appartenant au groupe 2 sont des sols moins sableux, qui possèdent des concentrations plus importantes en limons par rapport aux sols du groupe 1. Des informations complémentaires devront être recherchées pour comprendre les différences entre les deux groupes.

Les capteurs ont également été testés sur leur capacité à prédire la biodisponibilité du cuivre (Cu) et du plomb (Pb). Le cuivre étant un oligoélément, il est fortement régulé dans les végétaux. Ainsi les concentrations en cuivre mesurées dans les feuilles de batavia varient de 0,28 à 0,78 mg/kg de matière fraîche, soit moins d'un facteur 3, et sont largement en deçà des concentrations maximales retrouvées dans les laitues collectées dans la base de données BAPPET.

Hormis deux sols pour lesquels les teneurs totales en cuivre sont plus élevées, Saint Priest et Saint Cassien, le flux de cuivre mesuré par le dispositif varie très peu et aucune relation significative entre la concentration DGT et la concentration en cuivre dans les feuilles de laitues n'a pu être montrée.

Le plomb est un élément problématique, dont la concentration est réglementée. La limite réglementaire pour la consommation humaine est 0,3 mg/kg MF. Les concentrations mesurées dans les laitues de cette étude sont bien inférieures, le maximum mesuré étant de 0,04 mg/kg MF (Figure 19). Hormis le sol de Saint Priest, contaminé en plomb, pour les autres sols, le flux DGT est très peu variable et très faible.

Pour le plomb également, aucune relation significative n'a pu être montrée entre la concentration DGT et la concentration en plomb dans les feuilles de laitues.

3.2.4 Comparaison DMGS – DGT

Ne pouvant être comparés directement sur les sols, les capteurs DMGS ont été utilisés sur des solutions d'extraction et ensuite comparés d'une part avec les capteurs DGT (Figure 12) et avec la concentration dans les laitues (Figure 13). Une relation apparaît clairement pour le cuivre, mais fortement influencée par deux points extrêmes. Valider cette relation par un panel plus important de sols est donc nécessaire.

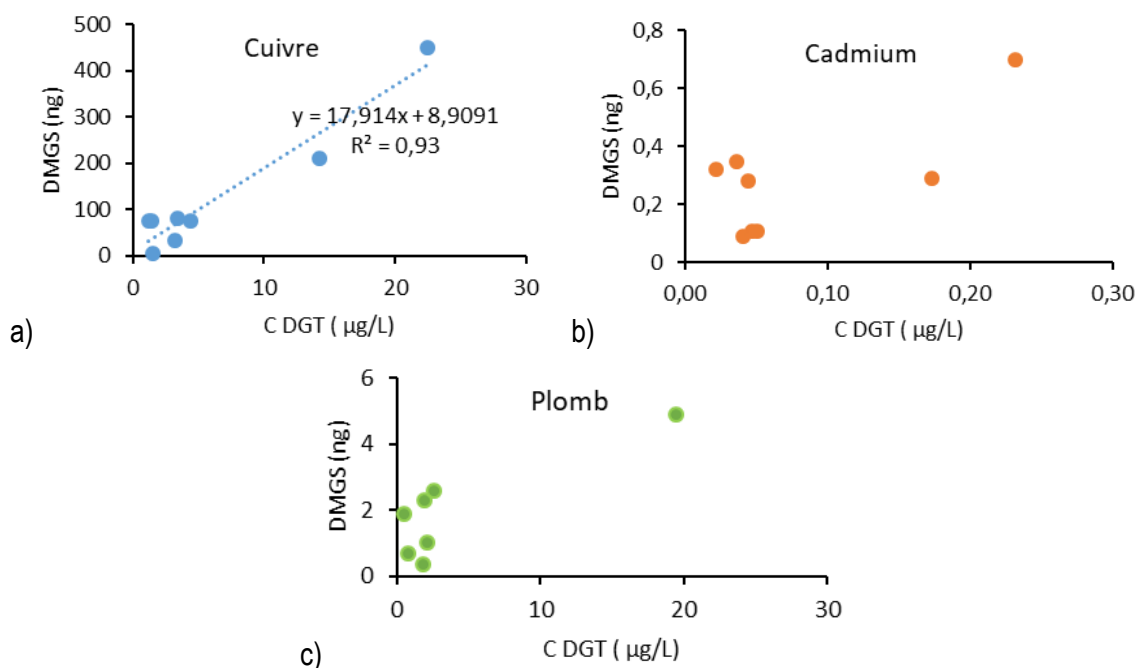


Figure 12 : Comparaison des concentrations mesurées par le capteur DGT et les quantités accumulées par le capteur DMGS pour le Cuivre (a), le Cadmium (b) et le Plomb (c)

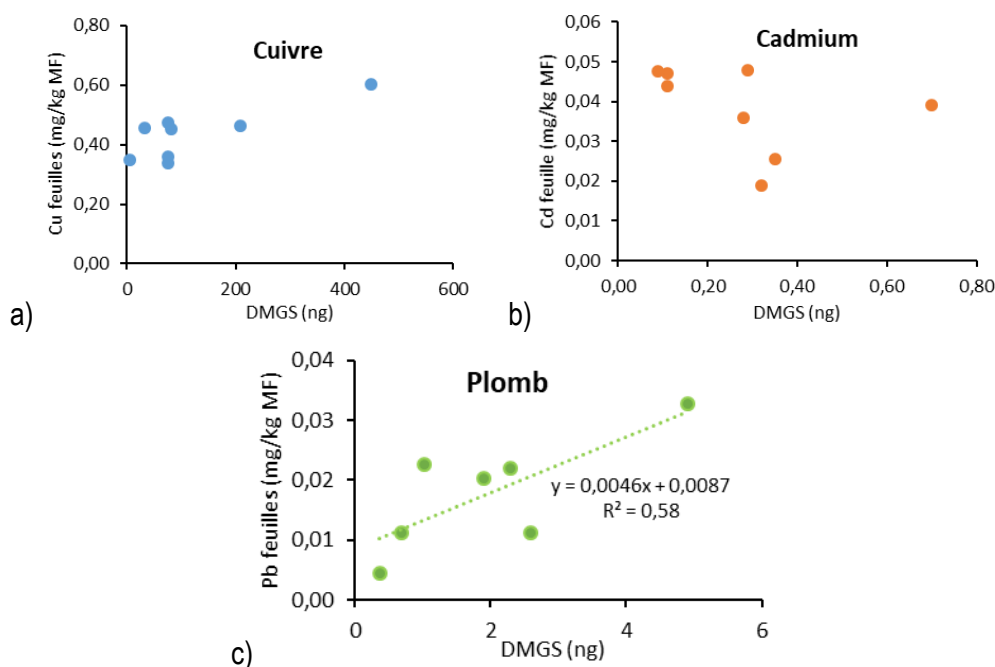


Figure 13 : Relation entre la mesure DMG et la concentration mesurée dans les feuilles de laitue pour le Cuivre (a), le Cadmium (b) et le Plomb (c)

Pour le cadmium et le plomb, aucune relation significative ne se dégage. Même si les deux capteurs sont composés des mêmes composants (résine Chelex), ils n'ont pas été directement appliqués sur les mêmes compartiments, l'un étant appliqué sur le sol, l'autre sur un extrait de sol.

La comparaison de la mesure DMGS avec la concentration dans les feuilles de laitue permet d'évaluer le potentiel de prédiction de la disponibilité des métaux de ce dispositif. Il apparaît que, mis à part pour le plomb où une tendance pourrait se dégager, il n'y a pas de relation directe entre la réponse de capteur DMGS ainsi mesurée et la concentration dans le végétal. Le capteur DMGS n'améliore donc pas la prédiction de la disponibilité par rapport au capteur DGT.

4. Analyse de la pertinence du capteur passif pour prédire la disponibilité du Cd

4.1 Pour le cresson

Les cressonnières sont installées sur des sols en bord de Garonne. La levée des plantules se fait en sol humide, elles sont ensuite ennoyées lors de la phase de croissance du cresson. Les sols et l'eau circulant avant le début de l'expérimentation ont été analysés pour choisir les sites d'implantation.

L'analyse des sols montrent que ceux-ci ont des pH alcalins, variant de 7,6 à 8,6 et des teneurs en cadmium modérées, variant de 0,2 à 0,5 mg/kg de matière sèche.

L'analyse des eaux montre des teneurs en cadmium faibles, variant de 0,01 à 0,14 µg/L (Figure 14). D'après le producteur, l'eau utilisée pour la culture des cressons sur les différentes parcelles provient de la même nappe phréatique. La variation des teneurs en cadmium dans les eaux ne peut donc être expliquée par la provenance de l'eau utilisée. En revanche, l'apport de fertilisant lors de la croissance des cressons pourrait expliquer cette variation.

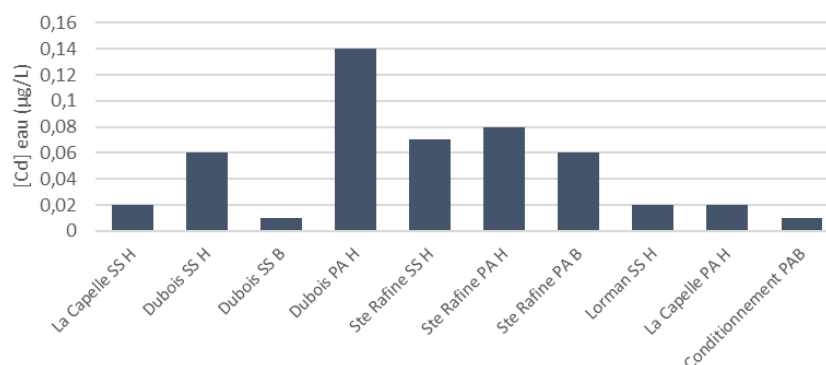


Figure 14 : Concentrations en cadmium mesurées dans l'eau des cressonnières

Les points d'implantation des capteurs et de prélèvement des cressons ont été choisis de manière à maximiser les différences de biodisponibilité. De plus, le nombre de coupes des cressons réalisées sur les parcelles a été pris en compte pour le choix des emplacements des capteurs. Des DGT ont été installées à la fois dans le sol et dans le milieu aqueux.

Les concentrations DGT varient dans les sols d'un facteur 3 entre les différents sols des sites choisis (Figure 15). Ainsi, des différences de biodisponibilité sont observables comme souhaitées initialement. Les concentrations dans les solutions du sol varient également d'un facteur 3 (Figure 16).

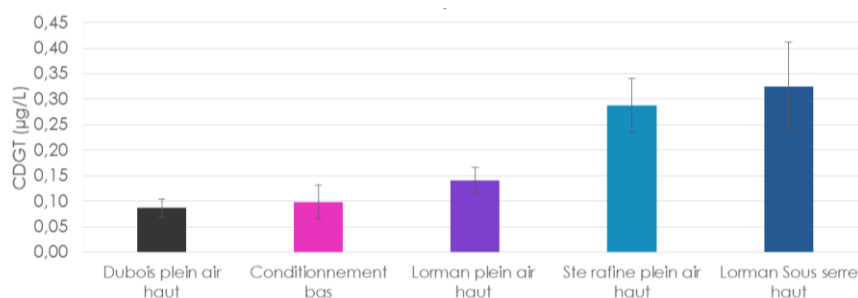


Figure 15 : Concentration DGT en cadmium dans les points de prélèvement choisis, avant la culture

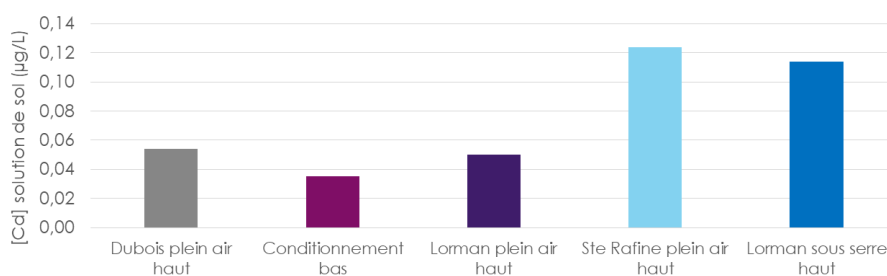


Figure 16 : Concentration en cadmium dans les solutions de sol avant la culture

Au cours de la culture, les mesures DGT ont été réalisées dans les sols immergés et dans les eaux. Les capteurs ont ainsi été déployés de manière à flotter sur l'eau qui s'écoule dans les planches. Afin de comparer les réponses du capteur dans les deux milieux, les résultats sont présentés en flux (Figure 17, Figure 18). Les flux dans les sols varient en moyenne d'un facteur 4 entre les sites et sont beaucoup plus élevés dans les sols que dans les eaux, où ils varient en revanche beaucoup plus (d'un facteur 13).

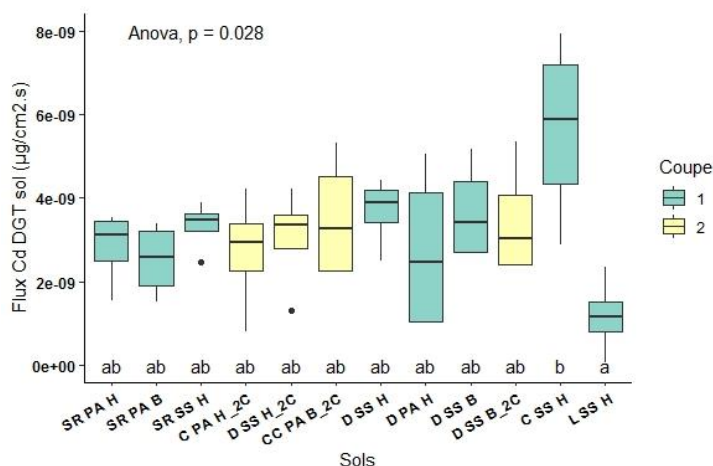


Figure 17 : Flux de cadmium mesuré par DGT dans les sols des cressonnières

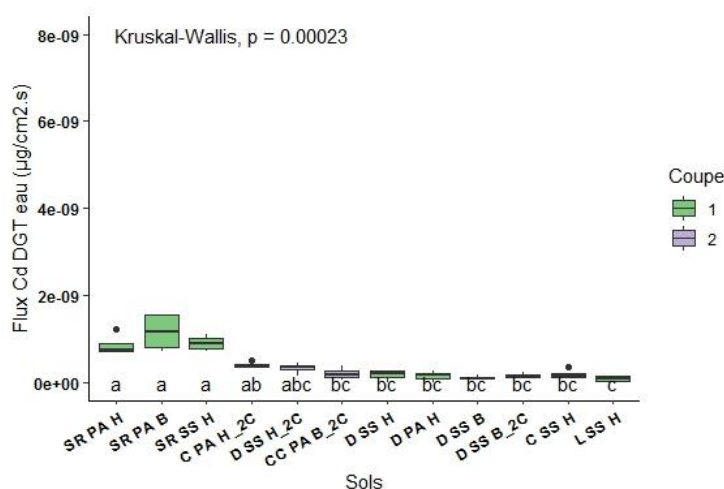


Figure 18 : Flux de cadmium mesuré par DGT dans l'eau des cressonnières

Les flux en Cd mesurés par DGT dans les sols sont les plus élevés pour le site de La Capelle « sous serre haut » et les plus faibles pour Lorman « sous serre haut » (Figure 17). Un test de Kruskal-Wallis a révélé une différence significative entre les flux DGT de ces deux sites. Concernant les flux DGT des autres sites, il s'est avéré qu'ils ne sont pas significativement différents. Ainsi, aucune gamme de biodisponibilité du Cd n'a été obtenue, contrairement à nos attentes.

Les flux en Cd mesurés par DGT dans l'eau des cressonnières sont les plus élevés pour le site de Sainte Raffine et les plus faibles pour Lorman « sous serre haut » (Figure 18). Une différence significative existe entre les flux DGT de ces deux sites. Concernant les flux DGT des autres sites, il s'est avéré qu'ils ne sont pas significativement différents entre eux. Les cressons ont été récoltés avant la coupe, certains étant au stade première coupe et d'autres au stade deuxième coupe.

Certains échantillons ont présenté des concentrations s'approchant ou excédant la limite réglementaire pour la consommation humaine, à savoir 0,2 mg/kg de matière fraîche (Figure 19). Il apparaît une forte variabilité des concentrations au sein d'une même parcelle, en particulier pour les plus fortes concentrations. Aucune différence significative n'a été trouvée entre la première et la deuxième coupe.

En revanche, il a été montré que cette concentration en cadmium diminuait avec la biomasse (Figure 20), les concentrations les plus élevées étant mesurées sur les végétaux ayant produits moins de biomasse. Il semble donc indispensable d'attendre une croissance optimale du cresson et de ne pas le récolter trop jeune si on veut éviter des problèmes d'accumulation du cadmium et de dépassement des limites réglementaires.

Aucune corrélation significative n'a pu être mise en évidence entre les quantités de Cd des feuilles de cressons et les flux en Cd mesurés par le capteur DGT, soit dans l'eau, soit dans le sol dans lequel les

plantules de cresson germent. Le cresson est une plante semi-aquatique et le mécanisme de transfert du Cd vers la plante reste difficile à appréhender, une partie du cadmium devant être prélevée dans le sol, lors de la première phase de croissance, et une partie devant être prélevées dans l'eau.

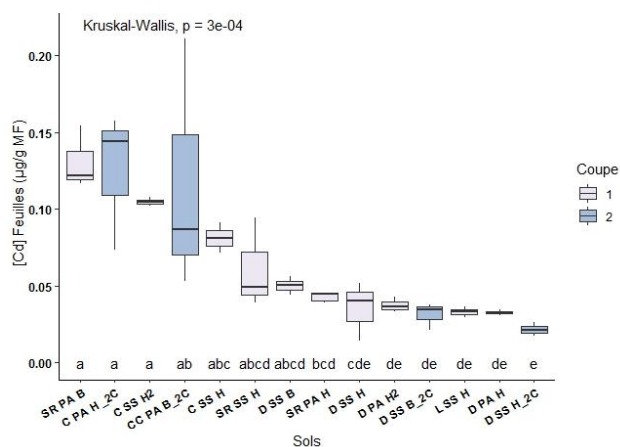


Figure 19 : Distribution des concentrations en cadmium mesurées dans les cressons (feuilles)

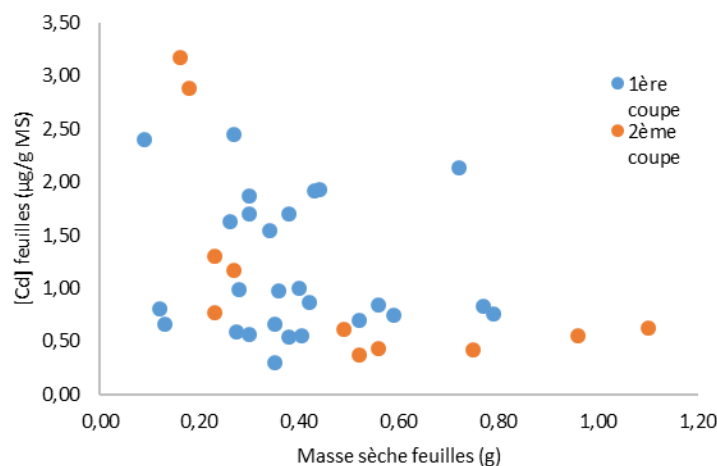


Figure 20 : Relation entre la biomasse (sèche) du cresson et la concentration en cadmium dans ses feuilles

4.2 Pour les laitues cultivées en plein champ

La composition chimique des sols qui ont été sélectionnés dans cette action montre, contrairement à l'action précédente, qu'aucun sol n'est contaminé en métal, bien que certains présentent des concentrations en cuivre élevées.

Les terreaux utilisés pour faire les plants avant repiquage ont également été analysés chez plusieurs producteurs et aucun ne présentait de contamination en métaux.

Les sols sont des sols plutôt alcalins, la médiane de pH étant de 7,7. Du point de vue du paramètre pH, le panel de sols utilisé est donc déséquilibré, avec une sous-représentation des sols acides à neutres. Cependant, ce panel est probablement représentatif des sols utilisés pour les cultures maraîchères de laitues en plein champ.

4.3 Différences entre la mesure DGT sur le terrain et la mesure au laboratoire

Initialement, la réalisation des mesures DGT était prévue en plein champ en même temps que les cultures de laitue. Cependant, pour des raisons de relais sur le terrain, ces mesures n'ont pas pu être possible sur

les 28 parcelles sélectionnées. D'autre part, pour un futur transfert vers des laboratoires, la mesure en conditions contrôlées apparaissait la plus facile à mettre en œuvre et à standardiser. Ainsi, la réalisation de la mesure DGT en laboratoire a été choisie mais, avec le Ctifl, cinq parcelles pour lesquelles une comparaison a pu être faite entre la mesure au champ et la mesure en laboratoire ont été sélectionnées.

Pour trois sols, une différence significative apparaît clairement entre les deux mesures (Figure 21). Les résultats obtenus dans l'action 2 sont donc confirmés sur le terrain. Il est bien nécessaire de laisser les DGT au minimum 24h sur le terrain pour obtenir une mesure stable, l'accumulation des métaux dans le dispositif DGT ne semblant pas être linéaire avant 24 h de dépôt pour la majorité des sols, comme cela a déjà été montré dans la bibliographie (Hooda *et al.*, 2008).

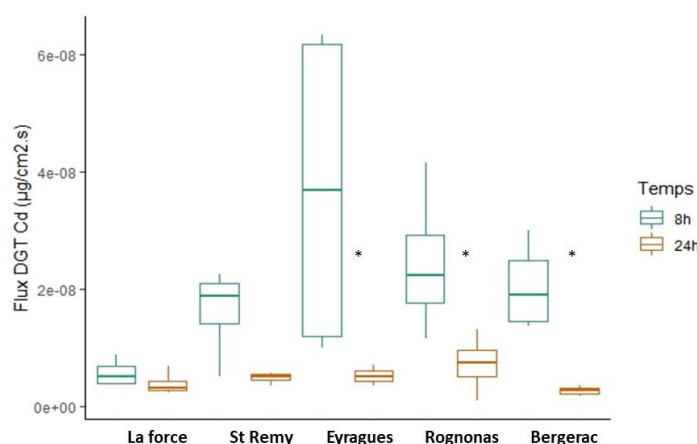


Figure 21 : Comparaison entre les mesures DGT réalisées sur le terrain à deux temps différents : 8 heures et 24 heures.

Les mesures effectuées sur le terrain ont été comparées aux mesures effectuées en laboratoire. Sauf pour un cas, aucune différence significative n'a été notée entre les valeurs obtenues. Les températures du sol sur le terrain ont été en moyenne sur 24 heures plus basses que celles appliquées au laboratoire, variant selon les sites entre 13 et 14 °C. La singularité du site « La Force » ne peut donc pas s'expliquer par cette différence.

Ces résultats valident l'utilisation des données mesurées au laboratoire pour estimer les flux de cadmium mesurés sur le terrain.

4.4 Relation entre la concentration en Cd dans les laitues et la concentration mesurée par les capteurs DGT

Les concentrations en cadmium ont été obtenues par les capteurs DGT et mesurées dans les laitues selon les sites (Figure 22).

Sur les 28 sites analysés, les concentrations en cadmium dans les feuilles de Batavia sont inférieures à la réglementation qui correspond à 0,2 mg de Cd/kg de poids frais (Règlement CE 1881/2006). Elles s'échelonnent de 0,009 à 0,088 mg/kg MF avec une médiane à 0,023. Les laitues récoltées sont donc très peu contaminées en cadmium, et aucun risque sanitaire n'est relevé sur le lot des 112 laitues récoltées à maturité.

Pour les mesures DGT, les mesures varient d'un facteur 10, avec un minimum à 0,068 et un maximum à 0,679 $\mu\text{g}/\text{L}$, pour une médiane de 0,167 $\mu\text{g}/\text{L}$. Il n'y a pas de référentiel pour ces mesures DGT. Cependant, elles sont comparables aux résultats obtenus sur le réseau Quasaprove qui fluctuent sur des sols agricoles de grande culture entre 0,012 et 1,19 $\mu\text{g}/\text{L}$ avec une médiane à 0,069 $\mu\text{g}/\text{L}$. La gamme

des sols maraîchers choisis est donc dans cette gamme de sols agricoles, mais avec une médiane un peu plus élevée.

L'analyse des concentrations en cadmium selon le type d'agriculture ne montre pas de différence significative par la concentration DGT (Figure 22). Cependant, une différence significative apparaît pour la concentration en cadmium dans les feuilles (Figure 22), plus notable pour la concentration exprimée en masse sèche (test Kuskal-Wallis, p-value = 0,004) que pour la concentration exprimée en masse fraîche (test Kuskal-Wallis, p-value = 0,012). Dans ce panel, les laitues Batavia cultivées en agriculture biologique ont une concentration en cadmium plus faible que les laitues cultivées en agriculture conventionnelle.

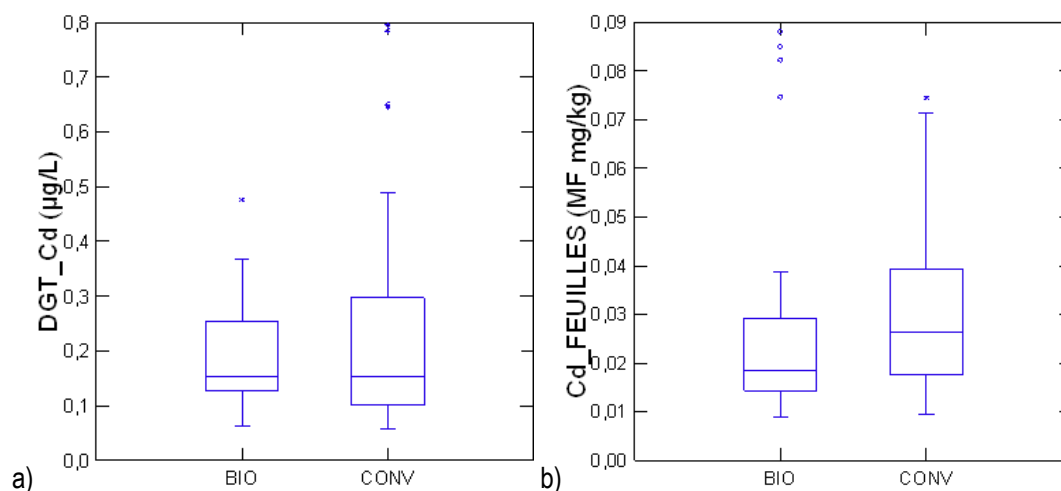


Figure 22 : (a) Concentration en cadmium mesurée par DGT (en µg/L) et (b) Concentration en cadmium dans les feuilles de laitue (en mg/kg MF) en fonction du type d'agriculture, biologique (BIO) ou conventionnelle (CONV)

L'objectif de cette action était d'analyser la potentialité de ce capteur passif à prédire le niveau de concentration des laitues à maturité. Les concentrations accumulées dans les feuilles ont été comparées, exprimées en matière sèche, ce qui permet de moyenner le facteur de l'humidité des feuilles qui a pu fluctuer lors du transport entre le champ et le laboratoire, et DGT (Figure 23). Il s'avère être l'indicateur si l'ensemble du jeu de données est considéré, aucune corrélation n'apparaît entre ces deux valeurs. Cependant, cette approche peut être affinée. Le facteur pH jouant sur les flux de métaux dans les sols et les plantes ayant tendance à développer des stratégies de prélèvement actif dans les sols basiques, processus non reproduit par un capteur passif, la distinction des sols selon leur pH a été recherchée. Comme indiqué précédemment, le panel de sols utilisé est déséquilibré vers les pH alcalins. De cette approche, une distinction apparaît entre les sols à pH acides à neutres (inférieurs à 7,3) pour lesquels il est possible de trouver une relation entre la teneur en cadmium accumulée par la laitue et l'indicateur DGT, et les autres sols. Cependant, certains sols cultivés en agriculture biologique semblent tout de même suivre la relation établie pour les sols acides, tout en étant alcalin. Une distinction a donc été recherchée entre les sols selon leur type d'agriculture (Figure 24). Une relation linéaire apparaît nettement entre l'indicateur DGT et la concentration en cadmium dans la laitue pour les sites en agriculture biologique.

Cependant, la différence suivant ces sites vient aussi de leur forme de fertilisation, certains sols en conventionnel étant amendés uniquement avec des engrais organiques. En séparant les sols en deux groupes, selon leur mode de fertilisation, aucune fertilisation ou fertilisation uniquement organique pour le groupe 1 (Figure 25 a) et fertilisation minérale ou minérale et organique pour le groupe 2 (Figure 25 b), il est alors possible de distinguer deux comportements. Pour le groupe 1, une relation linéaire entre l'indicateur DGT et la concentration en cadmium dans les feuilles a été mise en évidence, alors que cela n'a pas été possible pour le groupe 2.

Le fait d'utiliser des fertilisants minéraux semble donc avoir un impact, soit en modifiant la disponibilité du cadmium dans le sol, soit en modifiant l'absorption ou l'accumulation du cadmium dans la plante. La présence de cadmium dans les engrais phosphatés est peut-être un facteur explicatif. Des expérimentations complémentaires seraient à mener pour mieux comprendre l'effet de cette fertilisation.

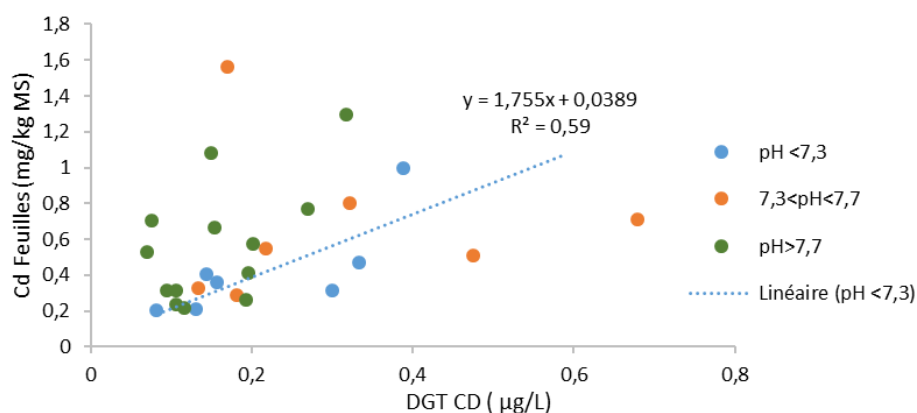


Figure 23 : Relation entre l'indicateur DGT et la concentration en cadmium dans les feuilles de laitue Batavia – Regroupements selon le pH des sols

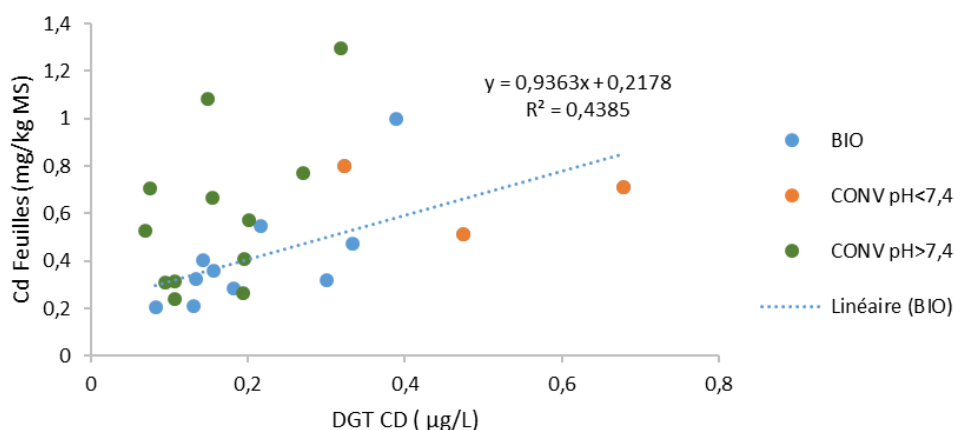


Figure 24 : Relation entre l'indicateur DGT et la concentration en cadmium dans les feuilles de laitue Batavia – Regroupements selon le type d'agriculture, conventionnelle (CONV) ou biologique (BIO) et selon le pH du sol

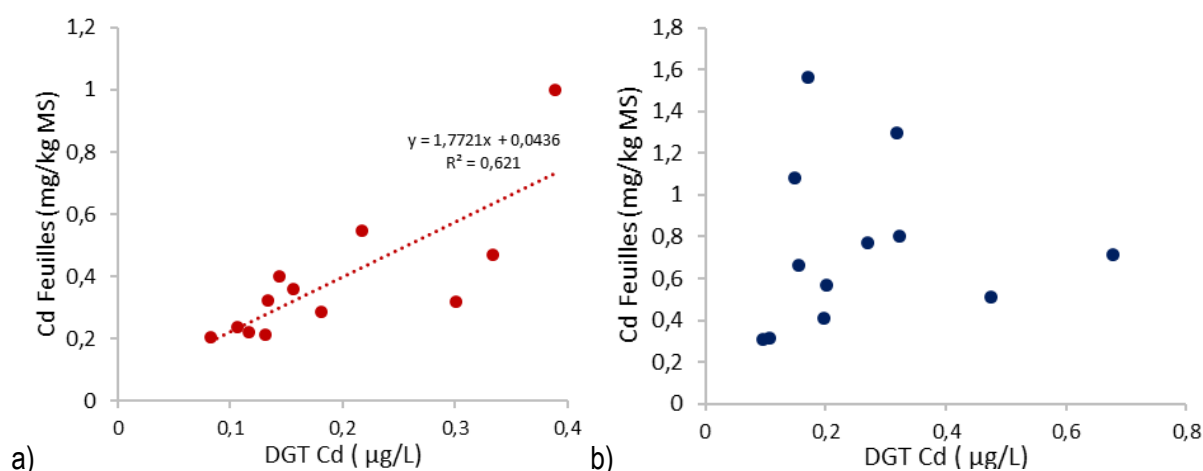


Figure 25 : Relation entre l'indicateur DGT et la concentration en cadmium dans les feuilles de laitue Batavia pour a) les parcelles fertilisées avec uniquement un apport organique ou non fertilisées et b) pour les parcelles fertilisées avec un minéral associé ou non à un apport organique.

Conclusion

L'utilisation du capteur DGT n'apparaît pas pertinente pour une culture semi-aquatique telle que le cresson. En revanche, employé au laboratoire en conditions contrôlées sur sol humide, il permet de prédire la concentration accumulée dans des feuilles de laitues Batavia cultivées sur des sols n'ayant pas reçu de fertilisation minérale. Ce dispositif est donc tout à fait adéquat pour l'agriculture biologique.

Les essais visant à définir de nouvelles conditions d'utilisation des DMGS dans des eaux et des sols ont montré que la mise en contact direct avec le sol in situ engendre une grande variabilité des mesures réalisées du fait de l'inhomogénéité du sol et de la variabilité des conditions environnementales (température, humidité). Les conditions d'utilisation du capteur ont alors été totalement revues : en conditions contrôlées (en laboratoire après échantillonnage du sol), à partir de solutions de sol générées selon un protocole établi qui a été développé et évalué spécifiquement pour ce projet. Un guide d'utilisation du capteur DMGS (Partie descriptive - Conditionnement - Conditions et limites d'utilisation) a été rédigé à l'issue du projet.

Complémentairement aux capteurs passifs, une autre approche permettant d'accéder à la biodisponibilité consiste à utiliser des capteurs électrochimiques. L'IPREM a développé depuis plusieurs années des capteurs sérigraphiés originaux qui, associés à une méthode électrochimique, permettent d'atteindre les formes libres et électrolabiles des métaux (Cd, Pb, Cu, Zn) dans les eaux naturelles (Zaouak *et al.*, 2010). Tout comme les capteurs passifs, les électrodes sérigraphiées sont à usage unique et ne demandent donc pas d'opération de nettoyage ce qui évite les risques de contamination. Une limite est qu'ils nécessitent que la solution du sol soit extraite (par bougie poreuse par exemple) pour pouvoir effectuer une mesure.

La combinaison des capteurs passifs avec les capteurs électrochimiques ouvre une stratégie d'investigation comparative inédite et plus complète. En effet, elle permet d'appréhender la biodisponibilité à la fois en termes de diffusion simple et de diffusion sous l'effet d'un gradient de potentiel, et donc de prendre en compte les différentes voies de pénétration d'un contaminant dans un organisme végétal. Cependant à ce jour et à notre connaissance, peu voire aucune étude n'a exploré cette approche pourtant utile pour mieux cerner les risques de transfert des ETM vers les végétaux.

Références bibliographiques

- Anses, 2011. Avis de l'Anses et rapport d'expertise relatifs à l'Etude de l'Alimentation Française 2 (EAT2), Maisons-Alfort.
- Bravin M.N., Le Merrer B., Denaix L., Schneider A., Hinsinger P., 2010. Copper uptake kinetics in hydroponically-grown durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.) as compared with soil's ability to supply copper. *Plant and Soil*, 331(1-2), 91-104.
- Brun L.A., Maillet J., Hinsinger P., Pepin M., 2008, Evaluation of copper availability to plants in copper-contaminated vineyard soils, *Environmental Pollution*, 111, 293-302.
- 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.
- Denaix L., 2007. Transfert sol-eau-plante d'éléments traces dans les écosystèmes cultivés contaminés, Mémoire d'Habilitation à Diriger des Recherches, Université de Pau et des Pays de l'Adour, 123 p.
- Faucher S., Cugnet C., Authier L., Lespes G., 2014. Determination of total and electrolabile copper in agricultural soil by using disposable modified-carbon screen-printed electrodes, *Anal. Bioanal. Chem.*, 406, 1249-1252.
- Faucher S., Moreau, C., Chéry, P., Lespes G., 2020. Chelating Performance Evaluation of Ion Exchange Resin Chelex-100. *J Anal Chem* 75, 468–473. DOI: 10.1134/S1061934820040024
- Feng M.H., Shan X-Q, Zhang S., Wen H., 2005. A comparison of the rhizosphere-based method with DTPA, EDTA, CaCl₂ and NaNO₃ extractions for prediction of bioavailability of metals in soil to barley, *Environmental Pollution*, 137, 231-240.

Hooda P.S., Zhang H., 2008. Chapter 9 DGT measurements to predict metal bioavailability in soils. *Developments in Soil Science*, Elsevier, 32, 169-185. DOI: 10.1016/S0166-2481(07)32009-6

Perez M., Reynaud S., Lespes G., Potin-Gautier M., Mignard E., Chery P., Schaumlöeffel D., Grassl B., 2015b. Development of a new passive sampler based on Diffusive MilliGel beads for copper analysis in water. *Analytica Chimica Acta*, 890, 117-123.

Zaouack O., Authier L., Cugnet C., Normandin E., Champier D., Rivaletto M., Potin-Gautier M., 2010. Electroanalytical device for the cadmium speciation in waters. Part 1 : development and characterization of a reliable screen-printed sensor, *Electroanalysis*, 22, 1159-1165.

Zhang H., Davison W., 1995. Performance-Characteristics of Diffusion Gradients in Thin-Films for the in-Situ Measurement of Trace-Metals in Aqueous-Solution. *Anal. Chem.*, 67, 3391-3400

Zhang H., Zhao F.J., Sun B., Davison W., McGrath S.P., 2001. New method to measure effective soil solution concentration predicts copper availability to plants. *Environmental Science and Technology* 35, 2602-2607.

Zarrouk S., Bermond A., Kolsi Benzina N., Sappin-Didier V., Denaix L., 2013. Diffusive gradient in thin-film (DGT) models Cd and Pb uptake by plants growing on soils amended with sewage sludge and urban compost. *Environmental Chemistry Letters*, Published online: 14 June 2013. DOI: 10.1007/s00442-012-2498-2

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-NC-ND 3.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « *Innovations Agronomiques* », la date de sa publication, et son URL)