

Mesure des flux d'éléments traces (Pb, Cd, As, Cu, Zn) dans les sols, végétaux, porcs et lisiers des exploitations porcines du Sud-Ouest.

Dauguet S.¹, Denaix L.², Nguyen C.², Royer E.³, Levasseur P.⁴, Potin-Gautier M.⁵, Lespes G.⁵, Parat C.⁵, Héroult J.⁵, Coudure R.⁶, Chéry P.⁷, Devert M.⁸, Robert N.⁸, Pouech P.⁹

(1) CETIOM, 11 rue Monge 33600 Pessac, France

(2) INRA-Bordeaux TCEM UMR1220, Centre Bordeaux-Aquitaine 33883 Villenave d'Ornon, France

(3) IFIP-Institut du porc, 34 Boulevard de la gare 31500 Toulouse, France

(4) IFIP-Institut du porc, Le Motte au Vicomte 35651 Le Rheu, France

(5) UPPA-CNRS, LCABIE-UMR5254, IPREM, 2 avenue P. Angot 64000 Pau, France

(6) ARVALIS – Institut du végétal, 21 chemin de Pau 64210 Montardon, France

(7) ENITAB, unité Agrosystèmes et forêts, 1 cours du Général de Gaulle 33175 Gradignan, France

(8) INPAQ, Interprofession porcine d'Aquitaine, route de Samadet 64410 Arzacq-Arraziguet, France

(9) APESA, Helioparc 2 avenue du Président Pierre Angot 64053 Pau, France

Correspondance : dauguet@cetiom.fr

Résumé :

Le transfert et l'accumulation des éléments traces métalliques et minéraux (ETM) au long des différentes étapes de la production porcine du Sud-Ouest de la France ont été décrits et quantifiés lors d'un programme de recherche. Dans une première phase, les flux d'éléments traces ont été étudiés au sein d'exploitations de polyculture-élevage porcin du Sud-Ouest. Au niveau analytique, les travaux ont permis une validation de la méthode d'analyse des éléments en total ainsi que la mise au point d'une méthode d'analyse de spéciation de l'arsenic. Durant la deuxième phase de l'étude, les flux d'ETM ont été quantifiés dans la chaîne de production porcine en distinguant d'une part le système sol-plante et d'autre part le système animal (aliment - organes animaux - lisiers). Les transferts d'ETM ont été suivis du sol à la plante lors de sa croissance, pour une culture modèle utilisée pour l'alimentation des porcs : le maïs. Une expérimentation en station porcine a été menée afin de mesurer les transferts entre l'aliment et l'animal.

Mots clés : éléments traces métalliques, sécurité sanitaire, transfert sol-plante, porc, lisier

Abstract: Measurements of metallic trace elements (Pb, Cd, As, Cu, Zn) flows in soils, plants, animals and manure in pig farms of Southwest of France

The potential transfer and accumulation of metallic trace elements (MTE) through the different stages of the pork food chain were studied in a research program. In the first phase, the dynamics of trace elements was studied within farms combining crops and pig production in the Southwest of France. Analytical work had enabled a validation of the analytical determination of elements in total and the development of an analytical method of arsenic speciation. During the second phase of the study, the flow of MTE along the pork food chain was quantified, distinguishing the animal system (feed - animal tissues - manure) and the soil -plant system. The flow of MTE from soil to growing plants was estimated using a corn plant model. An experiment was conducted to measure the transfer of MTE from feed to pig body tissues.

Keywords: metallic trace elements, food safety, soil-plant transfer, pig, manure

Introduction

Les « éléments traces métalliques » (ETM) sont présents dans les sols agricoles, naturellement puisqu'ils sont des composants de la croûte terrestre, mais aussi en raison des apports humains. Ils sont plus ou moins prélevés par les plantes cultivées et peuvent potentiellement poser des problèmes de sûreté des produits agricoles destinés à l'alimentation humaine et animale.

Ces éléments métalliques ou métalloïdes sont dits « traces » car ils sont présents en faibles concentrations dans la croûte terrestre ou les organismes vivants. Ils désignent des oligo-éléments indispensables aux processus biologiques, mais toxiques à des teneurs élevées (zinc, cuivre, sélénium, chrome, molybdène, nickel, arsenic qui est un métalloïde). D'autres ETM, tels que plomb, cadmium et mercure, dont le caractère essentiel pour les être vivants n'est pas démontré, sont considérés comme des contaminants stricts et sont toxiques pour les êtres vivants à de très faibles concentrations.

Les réglementations européennes et françaises fixent des valeurs limites dans les denrées alimentaires et les aliments pour animaux, en particulier pour le plomb, le cadmium, le mercure et l'arsenic (Règlement CE 1881/2006 et Directive 2002/32/CE). Des plans de surveillance professionnels permettent de suivre la conformité des céréales et oléagineux par rapport à ces limites maximales pour les quelques éléments réglementés.

La concentration des ETM dans les sols agricoles varie selon le fond géochimique mais dépend aussi des retombées atmosphériques d'origine naturelle (volcanisme, poussières d'érosion) ou anthropique (industries, transports) et des apports par l'homme (engrais, produits phytosanitaires, déjections animales, boues urbaines, etc.). Les ETM entrent dans la chaîne alimentaire notamment en raison de leur absorption par les plantes. Leur présence dans la chaîne de production animale peut résulter des productions végétales et des matières premières minérales utilisées pour l'alimentation des animaux. Au final, l'homme est exposé à ces contaminants par voie alimentaire en consommant les produits végétaux et animaux, ou par l'usage du tabac.

Les ETM sont la troisième source de risque pour l'alimentation humaine et animale après les mycotoxines et les micro-organismes. Ce rang est principalement dû aux contaminations détectées pour les poissons et les fruits de mer, selon les chiffres du système d'alerte rapide de l'Union européenne (RASFF¹).

Contrairement aux contaminants organiques, les ETM ne sont pas biodégradables. Ils s'accumulent durablement dans les sols et dans les organismes vivants. En conséquence, il est nécessaire d'appréhender leur flux dans un système sol-plante-animal.

Le système sol-plante-animal sous la loupe

Etudier et comprendre les flux des ETM contaminants dans un système sol-plante-animal, tels ont été les principaux objectifs d'un projet de recherche multipartenaire², financé par le Casdar et l'Ademe. Le système de production choisi comme cadre expérimental est celui d'exploitations de polyculture-élevage porcin du Sud-Ouest de la France. Les modèles végétaux étudiés ont été le maïs et le tournesol, qui se caractérisent par des capacités différentes d'accumulation d'éléments traces : le maïs est une plante faiblement accumulatrice alors que le tournesol est plus fortement accumulateur. Ces deux cultures sont largement utilisées pour l'alimentation porcine. Le modèle animal choisi est celui de l'élevage porcin avec alimentation des porcs à partir des végétaux produits sur l'exploitation ou achetés (tourteaux d'oléagineux), et fertilisation des parcelles de l'exploitation avec les lisiers.

¹ RASFF: Système d'alerte rapide pour les denrées alimentaires et les aliments pour animaux

² CETIOM, ARVALIS-Institut du Végétal, IFIP-Institut du Porc, INRA-Bordeaux, Université de Pau et des Pays de l'Adour-LCABIE, Interprofession Porcine d'Aquitaine, ENITA de Bordeaux, APESA

Les flux d'ETM dans les différents compartiments du système : sol, plante, porc et lisier, et les actions principales du projet de recherche permettant d'acquérir des données sont représentées dans la Figure 1. Les actions ont été réalisées lors de deux phases successives.

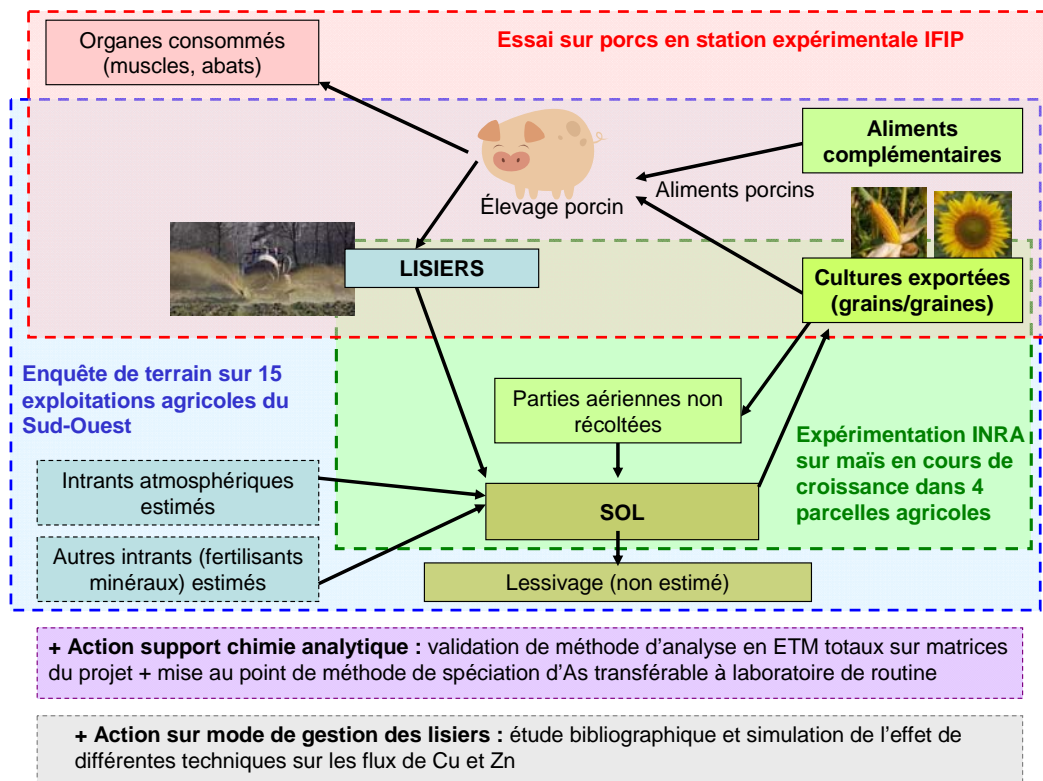


Figure 1. Système étudié et actions du programme de recherche

1^{ère} phase : caractérisation des contaminations dans quinze exploitations agricoles et mise au point de méthode d'analyse

Une enquête de terrain a permis de caractériser les contaminations en Cu, Zn, Pb, Cd et As des sols, lisiers et végétaux d'exploitations sous signe de qualité (Indication Géographique Jambon de Bayonne), à partir de prélèvements et d'enquêtes effectués dans des exploitations du Sud-Ouest, ayant des élevages de porcs et des cultures de maïs et tournesol. Les rejets d'ETM par les lisiers ont été estimés. Ainsi, pour cette action, l'étude des flux d'ETM à la parcelle est effectuée pour le système « élevage – lisier – sol – plante ».

Dès cette première étape, un développement des méthodes analytiques a été entrepris pour optimiser et valider les méthodes d'analyse totale des ETM dans les différentes matrices (sol, maïs, tournesol, lisier, organes animaux), puis mettre au point une méthode d'analyse de spéciation de l'arsenic qui soit transférable à un laboratoire de routine.

2^{ème} phase : quantification des flux d'éléments traces sur quatre exploitations agricoles (transfert sol-plante) et en station expérimentale animale (transfert plante-animal)

Les transferts d'ETM ont été suivis au cours de la croissance du maïs : une expérimentation a été menée, sur quatre parcelles sélectionnées parmi les exploitations déjà enquêtées. L'ensemble étudié est donc un système « sol - plante ».

L'essai en station expérimentale porcine a permis d'une part d'étudier le transfert des ETM présents dans les aliments (maïs et tourteaux d'oléagineux) vers les organes du porc (foie, rein, muscle) et les lisiers et d'autre part, de quantifier l'accumulation des ETM chez le porc à partir des apports alimentaires. Le modèle pris en compte est donc un système « aliment - organes animaux - lisier ».

Enfin, dans cette deuxième phase, une simulation sur l'effet des différentes techniques de traitement des lisiers sur les flux de Cu et Zn au niveau de l'exploitation agricole a été réalisée à partir d'une étude bibliographique sur l'impact des modes de gestion des lisiers

1. Flux d'ETM dans des exploitations de polyculture-élevage du Sud-Ouest

Matériel et méthode

Dispositif retenu

Quinze exploitations élevant des porcs ont été sélectionnées. Elles fabriquent à la ferme une alimentation à base de maïs et de tourteau de soja et/ou de tournesol caractéristique de la production du « Jambon de Bayonne ». Ces exploitations auto-consomment le maïs et cultivent des oléagineux (même si ceux-ci ne sont pas autoconsommés). Des échantillons de lisiers, de sols et de végétaux cultivés ont été collectés puis caractérisés chimiquement (teneurs en Cd, Pb, As, Cu, Zn en total, spéciation de As). Sur chaque exploitation, des informations ont été recueillies sur les rotations pratiquées au niveau des cultures, sur les aliments complémentaires introduits dans la ration des porcs et sur les techniques de gestion et d'épandage des lisiers. Un bilan des entrées et sorties des éléments par la méthode du bilan Réel Simplifié (BRS) (Dourmad *et al.*, 2003) a complété les données analytiques et permis d'établir une comptabilité des flux d'éléments. Des analyses agronomiques et de profils granulométriques ont permis de mieux caractériser les lisiers.

Echantillonnage

Les exploitations étudiées étaient situées dans les départements des Pyrénées-Atlantiques, des Landes, du Lot-et-Garonne, du Gers, de la Charente et des Deux-Sèvres. Les parcelles choisies sont localisées à proximité de parcelles du Réseau de Mesure de la Qualité des Sols (Jolivet *et al.*, 2006) afin de comparer les résultats à ceux de ce réseau. Ainsi, ces parcelles couvrent une large gamme de sols. Les sols ont été prélevés selon le protocole élaboré par le Réseau de Mesure de la Qualité des Sols sur une placette homogène de 20m x 20m, sur l'horizon 0-30 cm.

Dans les exploitations, des échantillons de lisier ont été prélevés dans les fosses en début d'année. Après une agitation de plusieurs heures, les lisiers ont été prélevés avec une canne sonde à différents endroits de la fosse puis homogénéisés dans un bac plastique. Deux échantillons d'un litre ont été prélevés pour analyse.

A maturité, les végétaux ont été prélevés sur la même placette que les sols, selon un protocole proche : 25 pieds de maïs et 25 épis de maïs ou 25 capitules de tournesols ont été prélevés sur chaque placette.

Optimisation de l'analyse en ETM des différentes matrices d'intérêt

Les échantillons de lisiers ont été lyophilisés et broyés à l'aide d'un broyeur à couteaux. Les échantillons de maïs (grains et parties aériennes) ont été séchés à 50°C. Les grains ont été broyés au broyeur centrifuge alors que les parties aériennes ont été broyées au broyeur à couteaux. Ces échantillons ont été quartés par la méthode des quarts qui représente 5% du volume total. Cette aliquote a été ensuite broyée au broyeur planétaire dans des bols et billes en zirconium.

Les parties aériennes et les grains de maïs ont été minéralisés sous champ micro-ondes ou par digiprep à l'aide d'un mélange de 7 ml HNO₃ et 1 ml H₂O₂ de qualité ultra-pure.

Pour les sols, les échantillons ont été séchés à 60°C, puis tamisés à 2 mm avant d'être minéralisés avec un mélange de HF, HClO₄ et HNO₃ au laboratoire d'analyses de l'INRA d'Arras. L'analyse des ETM a été effectuée au LCABIE par ICP-AES et ICP-MS.

Deux méthodes de mises en solution ont été comparées pour la détermination des teneurs en ETM (Cd, Pb, Cu, Zn, As) dans les différentes matrices d'intérêt à savoir, le sol, les grains de maïs, les graines de tournesol et le lisier. La première méthode est une méthode classique de minéralisation à l'aide d'un four à micro-ondes. La seconde fait appel à un « digiprep », appareil plus approprié pour les minéralisations en routine que le four à micro-ondes, puisqu'il permet de minéraliser 54 échantillons simultanément dans des tubes jetables minimisant ainsi le nombre de manipulation et les risques de contamination.

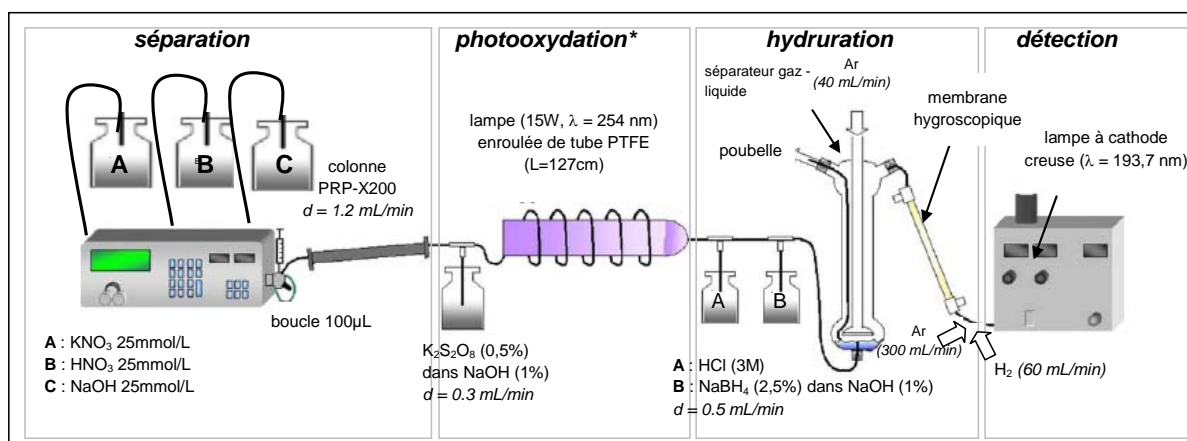
Les minéralisats ainsi obtenus ont été analysés en spectrométrie d'émission atomique à couplage inductif (ICP-AES) pour les éléments traces (Cu, Zn) et les majeurs (Fe, Mn) et en spectrométrie de masse atomique à couplage inductif (ICP-MS) pour les ultra-traces (As, Cd, Pb). Des échantillons de références ont été inclus à chaque série d'analyse.

Les tests de justesse, de répétabilité (n=3 répétitions) et de reproductibilité (n=3 manipulateurs) effectués sur des échantillons de référence (plante entière et feuille de pêche) ont montré que, quelle que soit la méthode de mise en solution utilisée, les résultats étaient satisfaisants puisque des coefficients de variation inférieurs à 10% ont été obtenus (Héroult *et al.*, 2010).

Dans un deuxième temps, des tests d'intercomparaison ont été réalisés sur les différentes matrices d'intérêt du projet à savoir le lisier, les grains de maïs et les graines de tournesol. Des résultats identiques ont été obtenus par microondes et par digiprep. Cette étude préliminaire a ainsi montré que la minéralisation par « digiprep », pouvait être une alternative intéressante au four à micro-onde d'une part en raison des types de matrices étudiées dans le cadre de ce programme et d'autre part en raison du grand nombre d'échantillons pouvant être traités simultanément.

Méthode d'analyse de spéciation de l'arsenic

Une méthode simple, fiable et robuste d'analyse de spéciation de l'arsenic mise au point au LCABIE (Simon *et al.*, 2004) a été adaptée aux matrices complexes que sont les lisiers et les sols dans l'objectif de la transférer aux laboratoires de routine. Le choix du détecteur s'est porté sur le spectromètre de fluorescence atomique (AFS) car il présente le meilleur rapport performances analytiques/coût (acquisition et fonctionnement). De plus, son couplage avec un chromatographe en phase liquide haute performance (HPLC) permet de déterminer les principales espèces arsénées d'un échantillon. Le montage mis au point comprend les différents modules présentés dans la Figure 2, l'étape de photooxydation (UV) n'étant nécessaire que pour les espèces organiques.



*photooxydation : module nécessaire qu'en présence d'espèces organiques autres que méthylées

Figure 2. Schéma du montage pour l'analyse de spéciation de l'arsenic par HPLC-(UV)-HG-AFS

Résultats et discussion

Spéciation de l'arsenic dans les exploitations agricoles étudiées

Les analyses de spéciation d'arsenic sur les prélèvements issus des 15 exploitations agricoles ont permis de quantifier les différentes espèces d'arsenic sur les matrices étudiées, sauf dans les végétaux où les concentrations en As total ($< 7 \mu\text{g}(\text{As}).\text{kg}^{-1}$) étaient trop faibles. Les résultats obtenus ont montré une contamination en As comprise entre 250 et $1500 \mu\text{g}(\text{As}).\text{kg}^{-1}$ des lisiers analysés. Cette contamination est bien supérieure à celle détectée par Jackson *et al.* dans les déjections des volailles comprises entre 40 et $100 \mu\text{g}(\text{As}).\text{L}^{-1}$ (Jackson et Bertsch, 2001; Jackson *et al.*, 2003). Il est à noter qu'aucun composé organique autre que les acides monométhylarsonique (MMA) et diméthylarsinique (DMA) n'a été détecté dans les échantillons étudiés. Toutefois, ces composés méthylés représentent environ 50% de la quantité totale en arsenic. Au vu de la faible teneur des végétaux analysés, d'autres sources de contamination du porc en As doivent exister (médicaments, eaux, complément alimentaires autres que les végétaux de la ferme). Ces autres sources se présentant très probablement sous la forme principale d'As inorganique, il semblerait que le porc soit capable de métaboliser l'arsenic et de le détoxifier, les espèces méthylées étant moins toxiques que les inorganiques.

Dans les sols, l'arsenic extractible est très majoritairement sous la forme As^{V} . Aucune espèce organique n'a été détectée dans les échantillons étudiés. Pourtant, certains de ces sols reçoivent des apports de lisier qui sont contaminés en MMA et DMA. Une explication à leur absence dans les sols pourrait être leur lixiviation par les eaux interstitielles. Toutefois, au vu des contaminations en As des lisiers, un enrichissement des sols, et par conséquent de l'ensemble du cycle sol – plante – animal – lisier – sol, par leur épandage est à considérer. Un suivi de la contamination en As sur plusieurs années devrait donc être entrepris dans ces milieux.

Concentrations en ETM total des différents compartiments

Les sols étudiés ne présentent pas d'anomalie flagrante et correspondent bien à une contamination diffuse en Cu, Zn, Pb, Cd et As (Tableau 1). Les teneurs suivent l'ordre suivant : $\text{Zn} > \text{Cu} > \text{Pb} > \text{As} >> \text{Cd}$.

Les concentrations médianes des lisiers en cuivre sont de 355 mg/kg MS et en zinc de 969 mg/kg MS , ce qui dans le cas du cuivre est supérieur aux valeurs de l'étude européenne AROMIS (237 mg Cu /kg MS et 926 mg Zn/kg MS) (AROMIS, 2005). Par contre, les concentrations médianes en cadmium ($0,33 \text{ mg/kg MS}$) et en plomb ($1,13 \text{ mg/kg MS}$) sont inférieures à celles de l'étude européenne ($0,5 \text{ mg Cd/ kg MS}$ et $3,6 \text{ mg Pb/ kg MS}$). On trouve $1,32 \text{ mg/kg d'arsenic /kg MS}$ en médiane dans notre enquête, ce qui est du même ordre que le peu de valeurs disponibles (données de l'IFIP). En comparant ces valeurs au seul déchet organique dont les teneurs en ETM sont réglementées, à savoir les boues de station d'épuration, il apparaît que les concentrations mesurées dans les lisiers sont très largement inférieures à ces seuils réglementaires.

Tableau 1 : Teneurs médianes en ETM des sols, lisiers, grains de maïs et graines de tournesol issus des prélèvements effectués dans les 15 exploitations agricoles du projet.

	Teneur médiane (mg/kg MS)				
	Cd	Pb	As	Cu	Zn
Sol	0,24	21,9	11,6	16,6	67,8
Maïs (grains)	0,013	0,070	0,007	1,2	21,1
Tournesol (graines)	0,245	0,267	0,005	18,2	47,8
Lisier	0,33	1,13	1,32	355	969

Les teneurs en ETM des végétaux prélevés dans les exploitations sont nettement inférieures aux valeurs seuils de la réglementation pour l'alimentation animale (seuils réglementaires : 2 mg As , 1 mg

Cd et 10 mg Pb par kg à 12% d'humidité). Les concentrations en cadmium, cuivre, plomb et zinc sont cependant plus élevées dans les graines de tournesol que dans les grains de maïs.

2. Flux d'ETM à la parcelle

Pour les parcelles enquêtées, les bilans entrée-sortie d'ETM à la parcelle ont été calculés à partir des mesures des grains et des lisiers et des valeurs moyennes des engrais minéraux et des retombées atmosphériques données par la littérature. Les flux majoritaires proviennent du lisier pour Cu et Zn, des engrais minéraux pour As et Cd, et des retombées atmosphériques pour Pb (Figure 3). Les pertes en ETM par lessivage n'ont pas été prises en compte dans ce calcul, car elles n'ont pas pu être estimées localement. Dans les parcelles recevant régulièrement du lisier, l'exportation d'ETM hors de la parcelle par la récolte des grains est faible par rapport aux apports, si bien que le bilan est en faveur d'une accumulation par le sol des ETM apportés par les intrants. Cette accumulation est importante pour le cuivre et le zinc mais beaucoup plus faible pour le cadmium, le plomb ou l'arsenic. Néanmoins dans le cas des parcelles sans apport de lisier, le bilan est négatif (exportation nette) pour Cu et Zn dans le cas du tournesol et pour Zn dans le cas du maïs.

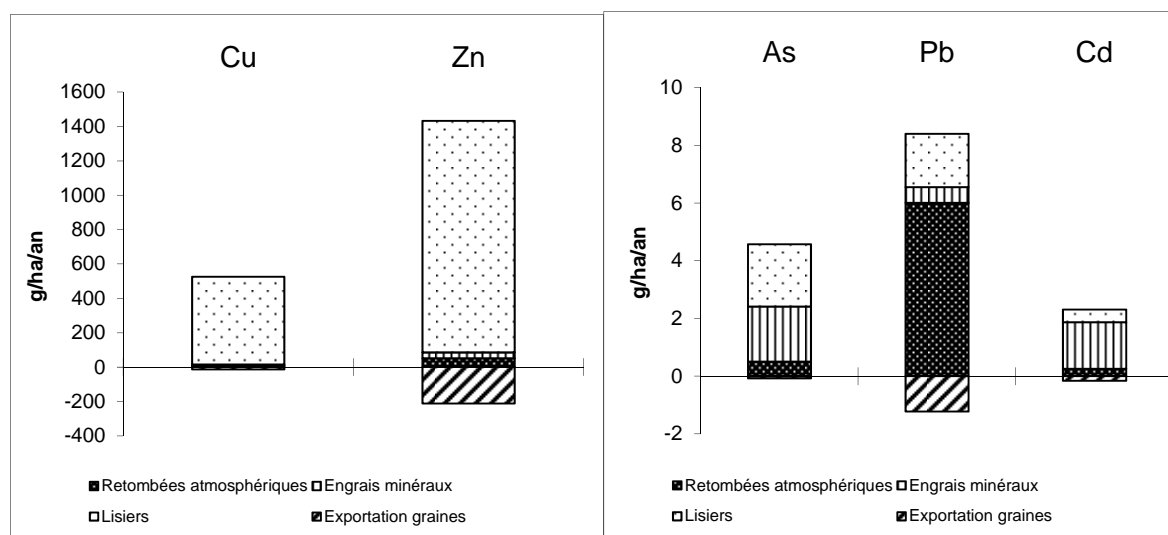


Figure 3. Moyennes des flux entrants et sortants de la parcelle pour la culture de maïs (11 parcelles)

Facteurs de variation du transfert des ETM aux plantes

La concentration pour un ETM dans les plantes est peu corrélée avec sa présence dans le sol. Notre enquête, en accord avec de nombreuses études précédentes, montre qu'il n'y a aucun lien direct entre la teneur totale en ETM dans le sol et la concentration dans les végétaux (exemple du cadmium, Figure 4).

En fait, pour qu'un élément soit assimilé par une plante, il faut qu'il soit dans la solution du sol et biodisponible. Le passage en solution du cadmium se fait sous l'influence de différents facteurs, dont le plus important est le pH : plus le pH est faible (sol acide), plus le cadmium sera disponible pour la plante. La teneur en matière organique du sol a aussi une influence sur la biodisponibilité : plus un sol est organique, moins les métaux, dont le cadmium, auront tendance à passer en solution. Ainsi, dans notre étude, les concentrations les plus élevées en cadmium l'ont été sur les sols acides ne recevant pas d'amendement organique (Figure 5).

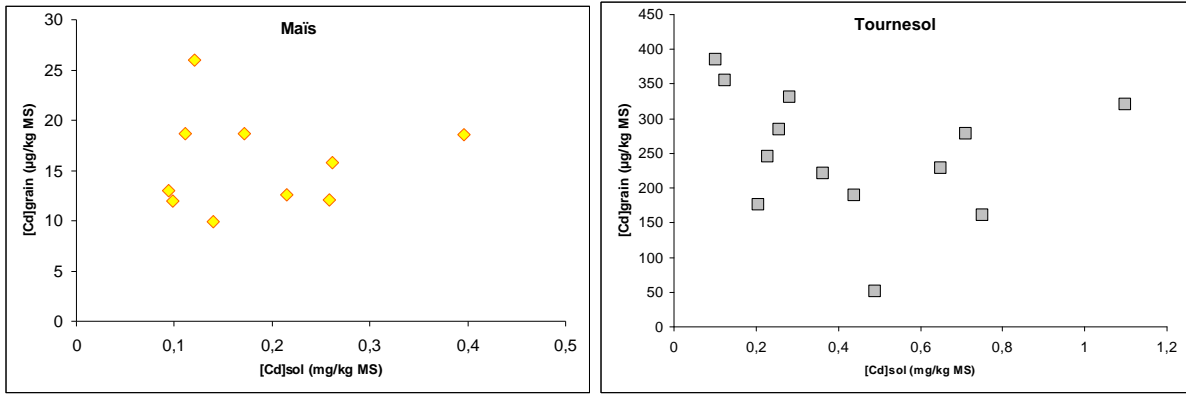


Figure 4. Teneur en cadmium dans les grains et graines de maïs et tournesol, en fonction de la teneur en cadmium dans les sols des parcelles

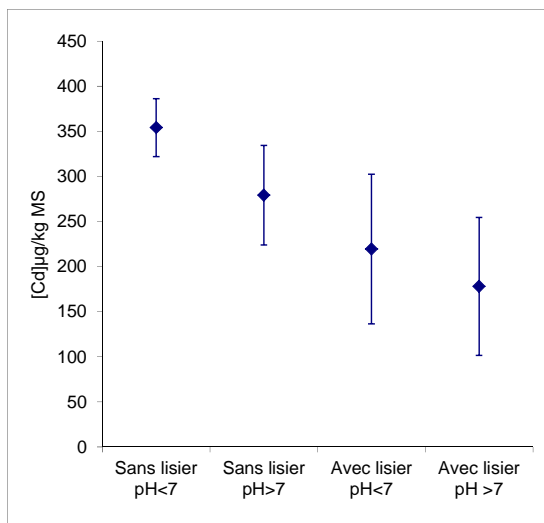


Figure 5 : Concentration en cadmium dans les graines de tournesol ($\mu\text{g}/\text{kg MS}$), en fonction du pH du sol et en fonction de l'apport de lisier (13 parcelles), les barres verticales correspondant à ± 1 écart-type

Comme cette étude l'a confirmé, les capacités de prélèvement d'ETM varient suivant l'espèce végétale et, dans un végétal, suivant l'organe. De plus, différents travaux ont démontré un effet variétal sur l'accumulation d'ETM, en particulier pour le cadmium pour le blé, orge, tournesol et lin.

Des différences annuelles apparaissent également. Ainsi, des expérimentations sur blé ont montré des différences d'un facteur 2 à 3 entre années pour l'accumulation de cadmium dans les grains de blé (même site, même variété) sans que la cause soit clairement identifiée. Les relations entre paramètres climatiques et teneur en ETM des graines en sont peut-être la cause mais elles sont actuellement mal comprises.

Effet d'un apport répété de lisier

Un épandage répété de lisier conduit à une augmentation des concentrations en cuivre dans les sols. Dans cette étude, selon la concentration initiale du sol il faudrait entre 7 et 63 ans d'apports de lisier de $30 \text{ m}^3/\text{ha}$ chaque année pour doubler la teneur initiale en cuivre du sol. Pour atteindre le seuil réglementaire en cuivre dans les sols au-delà duquel les apports de boues urbaines sont interdits, il faudra dans le pire scénario deux siècles. Les teneurs élevées en cuivre des sols dans les exploitations étudiées peuvent s'expliquer par deux facteurs. Les parcelles ayant un antécédent vigne, même ancien, se distinguent par leur teneur en Cu du sol significativement supérieure à celles n'ayant jamais été en viticulture. Pour les parcelles sans précédent vigne, le volume total de lisier épandu ainsi que la concentration en fer du sol expliquent la teneur en Cu du sol. La relation suivante a été obtenue :

$$[\text{Cu}]_{\text{sol}} = 0.006 [\text{Fe}]_{\text{sol}} + 0.011 \text{ volume lisier } (R^2 = 0.86; p < 0.001),$$

avec les concentrations exprimées en mg/kg et le volume de lisier épandu sur les 20 dernières années en m³/ha.

Afin d'éviter cet effet environnemental négatif, il apparaît nécessaire de minimiser le niveau en cuivre dans les déjections animales. La mise en place de la réduction des teneurs maximales en oligo-éléments dans les aliments pour animaux, afin de les adapter aux besoins physiologiques des animaux (Règlement CE No 1334/2003 de la Commission européenne), devrait entraîner une baisse marquée de la concentration en cuivre dans les lisiers. Les apports de zinc sont également à surveiller et ont pareillement fait l'objet d'une révision des seuils dans les aliments pour animaux afin d'éviter une forte accumulation, même si aujourd'hui aucun effet significatif sur les sols n'a été mis en évidence.

Effet du mode de gestion des lisiers sur le flux d'ETM

L'objectif était d'évaluer les flux de Cu et Zn selon les modes de gestion des lisiers. Les exploitations enquêtées ne présentaient pas cependant de techniques de traitement de lisier (mis à part un cas avec séparation de phase). Aussi, afin de répondre à cet objectif, une recherche bibliographique a été menée sur les impacts potentiels de différents modes de gestion des lisiers sur la répartition granulométrique des éléments traces métalliques.

Les simulations réalisées ont permis de pointer certains aspects relatifs à la gestion de lisiers traités par différents procédés. Les techniques séparatives utilisées seules ne modifient pas de façon conséquente les flux d'éléments sur l'exploitation. Les techniques séparatives efficaces pour concentrer le cuivre et le zinc, telles que la centrifugation, conduisent à l'obtention d'un coproduit ne répondant pas aux exigences de la norme NF U44-051. Le traitement par nitrification/dénitrification couplé à une séparation de phase (par filtration ou centrifugation) peut générer un produit solide exportable dont les concentrations en Cu et Zn dépassent celles indiquées par la norme NF U44-051, selon les performances du séparateur. Il produit des boues dont les caractéristiques (concentrations et flux associés) ne correspondent pas à la réglementation aujourd'hui imposée aux boues issues de station d'épuration d'eaux usées. Ce procédé peut également entraîner de forts excès d'apport de K par rapport aux besoins agronomiques dans la mesure où le lisier traité et généré par ces filières peut être épandu avec un système d'irrigation. Le traitement par nitrification/dénitrification couplé à une double séparation ne solutionne pas la question du potassium, mais il permet de maîtriser totalement le flux de Cu et Zn sur l'exploitation et de produire deux coproduits exportables, dont un, les boues, ne remplit pas les exigences de la norme NF U44-051. Le traitement par digestion anaérobie ne modifie pas de façon sensible les flux sur l'exploitation et n'est pas une solution pour les zones en excédent structurel. De plus, il concentre, du fait de bioconversion d'une partie de la matière organique, les ETM dans le lisier traité dont les teneurs peuvent atteindre les limites données par l'arrêté du 8 janvier 1998 (Marcato, 2007).

Ainsi, les procédés de traitement qui modifieront de façon conséquente le pH ou le niveau de stabilité de la matière organique pourront influencer la mobilité chimique et la phytodisponibilité de Cu et Zn. Cependant, des interrogations demeurent sur l'effet de procédés de traitement de la matière organique, et particulier des lisiers porcins, sur la proportion de métaux susceptibles d'être absorbés par les végétaux et sur les conditions de ce transfert.

3. Transfert sol-plante des cinq éléments traces métalliques (As, Cd, Pb, Zn, Cu) chez le maïs cultivé au champ.

Contexte et objectifs.

Cette étude s'inscrit dans le contexte de l'élaboration de modèles permettant de prédire l'accumulation des ETM par les productions végétales dans le cadre de la sécurité sanitaire des produits végétaux. Actuellement, pour prédire la concentration en ETM dans les produits végétaux, des facteurs de

bioaccumulation sont fréquemment utilisés afin de relier la concentration des ETM dans le végétal avec la concentration dans le sol (Bechtel Jacobs Company LLC 1998; 2005). Ces modèles sont de faible valeur prédictive car ils ne détaillent pas de manière suffisante le comportement des ETM dans le sol et dans la plante (Bechtel Jacobs Company LLC 1998; Tudoreanu et Phillips, 2004). Les modèles plus mécanistes sont quant à eux fortement centrés sur la géochimie des ETM et ils détaillent peu leur devenir dans la plante (Antunes *et al.*, 2006; Hough *et al.*, 2005; Sterckeman *et al.*, 2004; Whiting *et al.*, 2003).

Au niveau réglementaire, c'est la concentration en ETM dans les produits végétaux qui est ciblée. Cette dernière résulte à la fois de la disponibilité des contaminants dans le sol et de la croissance de la plante qui peut induire une dilution des ETM dans la biomasse (Clemens, 2006; Grant *et al.*, 2008; Greger, 2004). L'objectif de ce travail a donc été de tester l'hypothèse selon laquelle la concentration des cinq ETM étudiés pouvait être expliquée par la disponibilité dans le sol et la biomasse de l'organe considéré.

Matériels et méthodes

Un même cultivar de maïs ('Paolis', Euralis semences SA) a été cultivé au champ sur 4 sites du sud-ouest de la France se distinguant par des propriétés du sol contrastées afin de faire varier la biodisponibilité des ETM pour la culture. Entre 5 et 6 prélèvements des parties aériennes ont été effectués tout au long de la culture, aux stades végétatifs (4-5, 9-10 et 13 feuilles ligulées), à la floraison, durant le remplissage du grain et à la récolte (n=4). Après lavage des plantes, la concentration en As, Cd, Pb, Zn, Cu des parties végétatives (feuilles+tiges) et des grains a été déterminée en dosant les ETM par ICP-MS après minéralisation des échantillons dans une solution d'acide nitrique (70% v/v).

La concentration des ETM dans les parties végétatives (feuilles+tiges) et les grains a été modélisée par un modèle de la forme: $Concentration = \alpha(MS)^{-\beta} \cdot Xi^{\gamma_i}$ où MS est la matière sèche des feuilles+tiges ou des grains et Xi sont des variables du sol utilisées pour caractériser la biodisponibilité des ETM (la concentration des ETM et du fer total dans la solution du sol récupérée par centrifugation entre 30 et 3000g, le pH, la capacité d'échange cationique, la teneur en carbone, l'humidité moyenne durant la culture du sol prélevé entre 0-30 cm de profondeur). Ce modèle permet de rendre compte des effets de la biodisponibilité des ETM dans le sol ainsi que d'une éventuelle dilution des ETM dans la biomasse. La sélection des variables relatives au sol a été faite en comparant toutes les combinaisons jusqu'à trois variables et en minimisant l'erreur résiduelle ainsi que la colinéarité.

Résultats et discussion

La croissance des plantes a été significativement différente suivants les sites. Généralement, la quantité d'ETM dans les parties aériennes a suivi la croissance des organes (résultats non montrés).

Les concentrations en As, Zn et Cu des feuilles + tiges ont varié significativement entre les sites de culture. La concentration des ETM dans les parties végétatives a diminué avec la croissance de ces organes (Figure 6). Autrement dit, l'accumulation des ETM dans les feuilles+tiges a été moins rapide que l'accumulation de la matière sèche, ce qui correspond à une dilution dans la biomasse. Ce phénomène peut avoir plusieurs explications. Il peut s'agir d'une baisse de la disponibilité des ETM dans le sol liée à une augmentation de la compétition pour le prélèvement entre les racines lorsque la densité du système racinaire augmente avec l'âge de la culture. Il peut également s'agir d'une allocation des ETM au sein de compartiments métaboliques dont l'importance relative diminue au cours du développement de la plante, notamment par rapport aux compartiments structuraux, comme cela a été suggéré pour expliquer la dilution de l'azote dans la biomasse (Greenwood *et al.*, 1991).

L'évolution de la concentration des ETM dans les parties végétatives s'ajuste très bien au modèle exponentiel testé, qui permet de rendre compte à la fois de l'effet de dilution dans la matière sèche végétale et de la biodisponibilité des ETM dans le sol (Figure 6, Tableau 2). En examinant la valeur des

paramètres des modèles, nous pouvons constater que pour un stade de développement donné, les variations de biomasses produites qui sont imputables au site de culture ont un effet plus faible sur la concentration des ETM dans la plante que l'effet des variables relatives à la disponibilité des ETM dans le sol, sans pour autant être négligeables. Nous notons que la concentration des ETM dans la solution du sol telle que nous l'avons déterminée est systématiquement une variable à forte valeur prédictive car son effet est important. Cette variable, simple à mesurer pourrait donc être un bon indicateur du risque de contamination des parties végétatives par les ETM contaminants.

Concernant les grains, aucune quantité significative de Cd n'a été détectée alors que d'autres auteurs ont montré que les graines de maïs pouvaient accumuler le cadmium, en quantités certes plus faibles que d'autres cultures comme le blé dur ou le tournesol (Broadley *et al.*, 2001).

Pour les autres ETM, la concentration dans les grains a également varié significativement entre les sites pour As, Pb, et Zn mais pas pour le Cu. Pour As, la concentration dans les grains diffère entre les sites mais il n'y a pas de dilution dans la biomasse (Figure 6). Pour le plomb, il est difficile de dégager des conclusions claires et nous soupçonnons que les dépôts atmosphériques contribuent significativement à l'incorporation de ce métal dans les grains. Pour ces deux ETM non essentiels, il n'y a donc pas de dilution dans la biomasse. Pour le Zn et le Cu, oligoéléments essentiels à la plante, il y a un effet de dilution dans la matière sèche. En outre, pour le Zn, l'existence de différences de concentrations dans les grains entre les sites peut être expliquée par des variables du sol comme en témoigne le modèle exponentiel qui a été ajusté. L'effet de dilution du Zn et du Cu dans la matière sèche du grain pourrait avoir pour origine la localisation principale de ces microéléments nutritifs au niveau de l'embryon (Lombi *et al.*, 2011), dont la biomasse relative diminue avec la croissance du grain. Au contraire, pour l'As, il a été montré chez le riz, que sa localisation était beaucoup plus diffuse dans la totalité du grain.

Contrairement aux parties végétatives, pour les grains, la concentration des ETM dans la solution du sol n'est pas une variable qui a systématiquement une bonne valeur prédictive. Ces résultats suggèrent que l'allocation des ETM au grain n'est pas uniquement liée au prélèvement racinaire et qu'il y a probablement une remobilisation importante à partir des stocks présents dans les parties végétatives durant le remplissage du grain.

Conclusions partielles

Le modèle prédictif de la concentration des ETM dans les compartiments végétaux possède de bonnes performances pour les feuilles+tiges du maïs. Il permet de rendre compte d'un effet de dilution des ETM dans la matière sèche en plus des effets liés à la disponibilité de ces contaminants dans le sol. Cette mise en évidence et modélisation de l'effet de dilution est novatrice et permet d'affiner la prédiction de la concentration des tissus végétatifs aériens. Cela est particulièrement utile dans le cas où ces parties sont utilisées dans l'alimentation, notamment pour produire du fourrage.

Le modèle est également assez performant pour prédire la concentration en Zn et Cu dans les grains, et il pourrait donc contribuer à la gestion de la valeur nutritionnelle des récoltes. Le modèle est par contre moins adapté pour prédire la concentration dans les grains des ETM fortement toxiques que sont As et Pb car il n'y pas d'effet de dilution évident. Pour ces ETM, la disponibilité dans le sol explique assez bien la concentration des grains.

La croissance en biomasse végétale est maintenant bien modélisée dans les modèles agronomiques de développement des cultures (Brisson *et al.*, 2009). C'est pourquoi, la prise en compte de la dilution des ETM dans la biomasse végétale en plus de la biodisponibilité des contaminants dans le sol est un progrès dans la modélisation prédictive de la concentration des ETM dans les produits végétaux.

Tableau 2 : Modèles ajustés à la cinétique d'accumulation de 5 éléments traces (As, Cd, Pb, Zn, Cu) dans les feuilles+tiges et dans les grains de maïs cultivés au champ sur quatre sites différent. C_{PA} et C_{Grains} : Concentration de l'élément trace respectivement dans les parties aériennes (feuilles+tiges) et dans les grains, MS : matière sèche de la biomasse, C_{As} , C_{Cd} , C_{Pb} , C_{Zn} , C_{Cu} , C_{Fe} : concentration de As, Cd, Pb, (nM) Zn, Cu, Fe (μM) total dans la solution du sol, C_{sol} : teneur en carbone du sol (mg/kg), CEC : capacité d'échange cationique (cmol+/kg), θ : humidité volumétrique du sol (cm^3 eau/ cm^3 de sol)

	Feuilles+Tiges	Grains
As	$C_{PA}=5.8 \cdot 10^{-9} MS^{-0.25} C_{As}^{6.30} C_{sol}^{1.17}$ $R^2=0.94$	$C_{Grains}=1.6 \cdot 10^{-6} MS^{0.10} C_{As}^{3.10} C_{sol}^{0.20}$ $R^2=0.96$
Cd	$C_{PA}=5.4 \cdot 10^{-2} MS^{-0.34} C_{Cd}^{1.05} C_{Fe}^{-0.12} C_{sol}^{0.83}$ $R^2=0.91$	N.D.
Pb	$C_{PA}=4.24 MS^{-0.34} C_{Pb}^{0.34} \theta^{1.02}$ $R^2=0.76$	$C_{Grains}=5.310^{-3} MS^{0.24} C_{sol}^{0.49}$ $R^2=0.77$
Zn	$C_{PA}=2 \cdot 10^{-2} MS^{-0.14} C_{Zn}^{0.40} C_{sol}^{0.25} C_{Fe}^{-0.25}$ $R^2=0.99$	$C_{Grains}=4.8 \cdot 10^{-2} MS^{-0.20} C_{Zn}^{0.17} C_{sol}^{0.15} C_{Fe}^{-0.15}$ $R^2=0.99$
Cu	$C_{PA}=2.2 \cdot 10^{-3} MS^{-0.14} C_{Cu}^{0.24} C_{sol}^{0.32}$ $R^2=0.98$	$C_{Grains}=7 \cdot 10^{-3} MS^{-0.27} CEC^{0.08}$ $R^2=0.94$

ND: non détecté

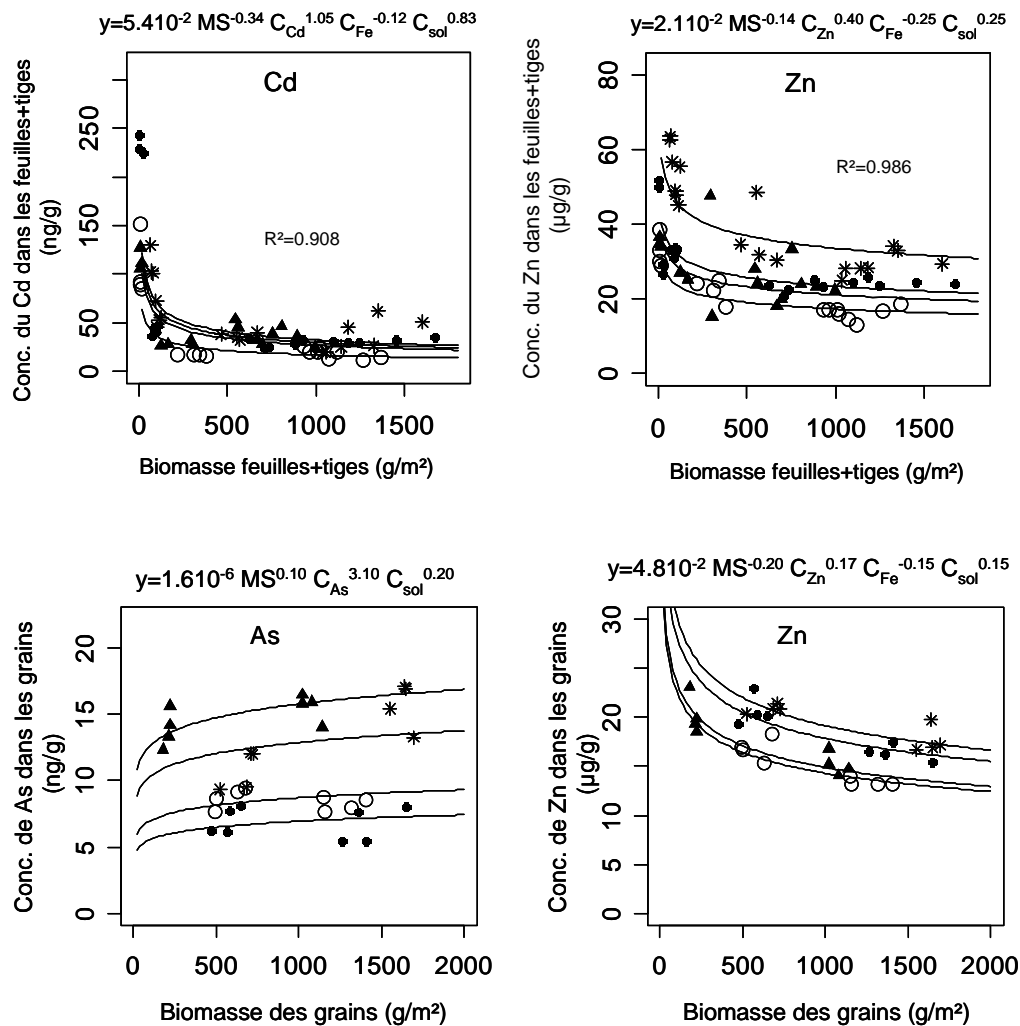


Figure 6 : Concentration en Cd et Zn des feuilles + tige, en As et Zn des grains en fonction de la biomasse de ces organes pour une même variété de maïs cultivée sur 4 sols différents. Les courbes représentent les modèles ajustés dont l'équation figure au-dessus et dans le tableau 2.

4. Transfert de faibles doses de plomb et de cadmium chez le porc

Contexte et objectifs

Les plans de surveillance réalisés dans les pays européens confirment qu'une large majorité des viandes analysées, dont celle de porc, présente des teneurs très faibles (EFSA, 2009, 2010). Pour les abats (foie et reins), toutes espèces cumulées, plus de la moitié des échantillons ont une concentration en plomb inférieure à la limite de détection mais on arrive généralement à détecter la présence du cadmium. Dans les reins en particulier, les concentrations en cadmium sont relativement plus élevées.

Les cas de contaminations des tissus du porc dépassant les valeurs réglementaires maximales pour la consommation humaine sont rares mais concernent toujours régulièrement quelques échantillons (Commission Européenne, 2000 à 2008; Mircovitch, 2005). Cette situation de dépassements isolés souffre d'un manque d'explications, puisque des teneurs maximales sont fixées de façon stricte dans les aliments du bétail.

La présence des ETM dans la chaîne de production animale peut parfois résulter des productions végétales. Mais les notifications au système d'alerte européen confirment que ce sont les matières premières minérales incorporées dans les aliments (principalement les phosphates et les sources de zinc) qui représentent le principal risque de contamination des aliments pour animaux.

L'objectif de l'expérimentation a été d'étudier le transfert du cadmium et/ou du plomb présents dans les aliments du porc à des teneurs s'approchant des seuils fixés par la Directive UE 2002/32 vers les organes du porc (foie, rein, muscle) et les lisiers. Il était également de comparer l'accumulation d'ETM chez le porc à partir d'apports alimentaires d'origine végétale ou minérale.

Matériels et méthodes

Une expérimentation a été mise en place à la station expérimentale de l'Ifip-Institut du porc à Villefranche-de-Rouergue (12) afin de mesurer les effets de faibles taux de Cd et Pb dans les aliments des porcs sur les teneurs des tissus comestibles, dans une situation représentative des conditions d'élevage européennes : élevage en bâtiment, ajout de phytase, absence de vitamine C. Deux essais successifs ont été effectués. A partir de 12 ou 20 kg jusqu'à l'abattage à 160 jours d'âge (106 ou 116 kg de poids vif), des porcs femelles ont reçu à volonté des régimes non contaminés ou bien dont les teneurs étaient légèrement inférieures à 0,5 mg de cadmium et/ou 5 mg de plomb par kg d'aliment. Les éléments métalliques ont été apportés sous forme minérale (nitrate de cadmium ou Pb) ou végétale (blé et tourteau de tournesol). Les reins, foies, et le muscle *Semimembranosus* ont fait l'objet d'analyses par AAS ou AAS/ICP-MS.

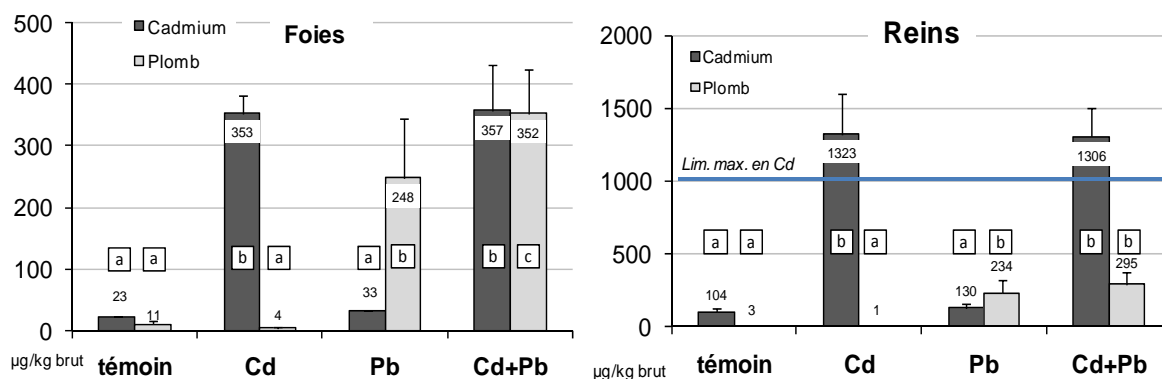


Figure 7. Teneur en Cd et Pb des foies et des reins de porcs dont les aliments contiennent 0 ou 0,5 mg de Cd et 0 ou 5 mg de Pb par kg. Des lettres différentes pour chaque couple organe/élément indiquent une différence significative à 5% (test SNK).

Résultats et discussion

Les mesures dans le muscle du jambon des porcs exposés ou non au cadmium et au plomb sont toujours inférieures aux limites de quantification, et donc nettement inférieures aux seuils réglementaires de 50 µg de cadmium et de 100 µg de plomb par kg de viande. Dans les foies des porcs ayant consommé du cadmium ou du plomb, des concentrations élevées apparaissent pour ces éléments, mais tous les échantillons sont inférieurs à la limite réglementaire de 500 µg de cadmium ou de plomb par kg de poids frais (Figure 7 ; Royer et Lebas, 2010a). Les reins des porcs exposés au plomb présentent également des teneurs en plomb inférieures à la limite de 500 µg/kg. Par contre, les reins des porcs exposés au cadmium ou au cumul cadmium-plomb, dépassent généralement le seuil réglementaire de 1 000 µg/kg en cadmium pour la consommation humaine.

Les résultats du second essai montrent que l'origine soit végétale, soit minérale du cadmium présent dans l'aliment ne modifie pas le niveau d'absorption par l'animal et entraîne des accumulations équivalentes dans les tissus animaux (Royer et Lebas, 2010b).

Ainsi, les porcs non exposés au Cd ou Pb dans notre étude ont des concentrations faibles dans le muscle et les abats, proches de celles habituellement constatées dans les viandes en Europe. Par contre, dans les conditions standards d'alimentation et d'élevage, l'exposition continue à une teneur proche des limites réglementaires pendant la totalité de la période d'élevage, se traduit par un dépassement de la teneur maximale en cadmium dans les reins, alors qu'il n'est pas constaté de dépassement pour le plomb ou dans les foies et les muscles.

Conclusion partielle

L'expérimentation confirme que les reins apparaissent comme l'organe pouvant présenter des dépassements lors d'expositions à de faibles doses de cadmium. Elle indique que des cas de concentrations en cadmium dans les reins dépassant la limite pour la consommation humaine pourraient s'expliquer par une exposition sur l'ensemble de la période d'élevage à la suite de contaminations ponctuelles ou liées à la situation locale.

4. Quelques pistes pour gérer une éventuelle contamination en ETM

En situation de contamination des sols agricoles, plusieurs voies sont possibles pour gérer le risque lié aux ETM au niveau des cultures :

- en évitant de cultiver des espèces végétales plus fortement accumulatrices sur les parcelles identifiées comme présentant une forte biodisponibilité des ETM
- en privilégiant des cultures faiblement accumulatrices (maïs),
- en limitant les apports en ETM par les intrants agricoles (contrôle de la teneur en contaminants des engrais et lisiers),
- en jouant sur le matériel végétal c'est-à-dire en sélectionnant des variétés peu accumulatrices (sachant que la sélection variétale est un processus long).

Pour limiter la biodisponibilité des éléments traces, deux paramètres majeurs sont à contrôler : le pH et la teneur en matière organique. La poursuite de l'amélioration de la modélisation prédictive de la contamination des végétaux par les ETM pourra permettre d'envisager la création d'outils d'aide à la décision afin de mieux gérer le transfert sol-plante.

Un réseau de parcelles en grandes cultures (céréales et oléagineux) au niveau national et pluriannuel va être mis en place afin valider ces recommandations à l'échelle du territoire et améliorer la connaissance des paramètres jouant sur le transfert des ETM sol-plante³.

Dans les aliments des porcs, le rôle préventif des bonnes pratiques d'alimentation est important. A cet égard, le risque semble essentiellement lié aux contaminations accidentelles par des sources minérales (phosphates ou sources de zinc) non qualifiées. Les faibles contaminations liées à la situation locale et aux produits végétaux peuvent être gérées via le taux d'incorporation de ces matières dans les aliments. Enfin, le travail de sensibilisation et de surveillance effectué par les professionnels de l'alimentation animale et de l'élevage doit être poursuivi.

Références bibliographiques

- Antunes P.M.C., Berkelaar E.J., Boyle D., Hale B.A., Hendershot W., Voigt A., 2006. The biotic ligand model for plants and metals: Technical challenges for field application. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 875-882.
- AROMIS, 2005. Assessment and reduction of heavy metal input into agro-ecosystems. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft (KTBL), 232 pp.
- Bechtel Jacobs Company LLC, 1998. Empirical Models for the Uptake of Inorganic Chemicals from Soil by Plants. *In* Prepared for the U.S. Department of Energy Office of Environmental Management. 38 p.
- Brisson N., Launay M., Mary B., Beaudoin N., 2009. Conceptual basis, formalisations and parameterization of the STICS crop model. Quae, Versailles, (France). 304 p.
- Broadley M.R., Willey N.J., Wilkins J.C., Baker A.J.M., Mead A., White P.J., 2001. Phylogenetic Variation in Heavy Metal Accumulation in Angiosperms. *New Phytologist* 152, 9-27.
- Clemens S., 2006. Toxic metal accumulation, responses to exposure and mechanisms of tolerance in plants. *Biochimie Facets of Environmental Nuclear Toxicology* 88, 1707-1719.
- Commission européenne, 2000 à 2008. Staff working paper on the implementation of national residue monitoring plans in the member states. Rapports annuels, http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/index_en.htm.
- Dourmad J.-Y., Creusot A., Jumel R., Argouges A.-L., Bertrand M., Boleat B., Chosson C., Daumer M.-L., Jannot P., Lemaire N., Nalin V., Paboeuf F., Ramonet Y., Robin P., Texier C., Thomas T., 2003. Estimation des rejets d'azote - phosphore - cuivre et zinc des porcs. Influence de la conduite alimentaire et du mode de logement des animaux sur la nature et la gestion des déjections produites. CORPEN, 41p.
- Efsa, 2009. Scientific opinion on cadmium in food. *The EFSA journal* 980, 1-139.
- Efsa, 2010. Scientific opinion on lead in food. *The EFSA journal* 8 (4), 1570.
- Grant C.A., Clarke J.M., Duguid S., Chaney R.L., 2008. Selection and breeding of plant cultivars to minimize cadmium accumulation. *Science of The Total Environment* 390, 301-310.
- Greenwood D.J., Gastal F., Lemaire G., Draycott A., Millard P., Neeteson J.J., 1991. Growth rate and % N of field grown crops: theory and experiments. *Annals of Botany* 67, 181-190.
- Greger M., 2004. Metal availability, uptake, transport and accumulation in plants. *In*: M N V Prasad (Ed.) *Heavy Metal Stress in Plants. From biomolecules to ecosystems*. Springer. pp 1-27.
- Hérault J., Parat C., Bussiere S., Coriou C., Denaix L., Lespes G., Potin-Gautier M., 2010. Development of a fast method of mineralization for routine analysis of matrix of the agricultural production. *Geochimica Cosmochimica Acta* 74, 12(1), A402.

³ Projet CASDAR Multicontamination 2011-2013

- Hough R.L., Tye A.M., Crout N.M.J., McGrath S.P., Zhang H., Young S.D., 2005. Evaluating a 'Free Ion Activity Model' applied to metal uptake by *Lolium perenne* L. grown in contaminated soils. *Plant and Soil* 270, 1-12.
- Jackson B.P., Bertsch P.M., 2001. Determination of arsenic speciation in poultry wastes by IC-ICP-MS. *Environmental Science and Technology* 35, 4868-4873.
- Jackson B.P., Bertsch P.M., Cabrera M.L., Camberato J.J., Seaman J.C., Wood C.W., 2003. Trace element speciation in poultry litter. *Journal of Environmental Quality* 32, 535-540.
- Jolivet C., Boulonne L., Ratié C., 2006. Manuel du Réseau de Mesures de la Qualité des Sols, édition 2006, Unité Infosol, INRA Orléans, France, 190 p.
- Lombi E., Smith E., Hansen T.H., Paterson D., de Jonge M.D., Howard D.L., Persson D.P., Husted S., Ryan C., Schjoerring J.K., 2011. Megapixel imaging of (micro)nutrients in mature barley grains. *Journal of Experimental Botany* 62, 273-282.
- Marcato C.E., 2007. Origine, devenir, et impact du cuivre et du zinc des lisiers porcins. Rôle de la digestion anaérobie. Thèse de Doctorat, INPT, Toulouse. France
- Mircovitch C., 2005. Résidus dans la viande de porc : résultats des plans de surveillance français de 2001 à 2003. *Techniporc* 28, 23-26.
- Royer E., Lebas N., 2010a. Effet de la présence de cadmium ou de plomb dans l'alimentation du porc sur les teneurs dans les tissus comestibles. *Proceedings 13^{èmes} JSMTV*, Clermont-Ferrand (F), 19-20 oct. 2010, 159-160.
- Royer E., Lebas N., 2010b. Invloed van cadmiumconcentraties in minerale of plantaardige grondstoffen op deze gehalten in bloed en nieren van vleesvarkens. Symposium nieuwe voedselveiligheidsrisicos, Wageningen (NL), 23 juni 2010, poster.
- Simon S., Tran H., Pannier F., Potin-Gautier M., 2004. Simultaneous determination of twelve inorganic and organic arsenic compounds by LC-UV-HG-AFS". *Journal of Chromatography A* 1024, 105-113.
- Sterckeman T., Perriguet J., Cael M., Schwartz C. and Morel J.L., 2004. Applying a mechanistic model to cadmium uptake by *Zea mays* and *Thlaspi caerulescens*: Consequences for the assessment of the soil quantity and capacity factors. *Plant and Soil* 262, 289-302.
- Tudoreanu L., Phillips C.J.C., 2004. Modeling cadmium uptake and accumulation in plants. *Advances in Agronomy* 84, 121-157.
- Whiting S.N., Broadley M.R., White P.J., 2003. Applying a solute transfer model to phytoextraction: Zinc acquisition by *Thlaspi caerulescens*. *Plant and Soil* 249, 45-56.