

# **Biodisponibilité des polluants du sol : définition, caractérisation et utilisation potentielle dans la gestion des sites et sols pollués**

Cyril Feidt, Sébastien Denys, Adeline Floch-Barneaud, Julien Caboche, Frédéric Dor, Claire Dabin, Karine Tack

## **► To cite this version:**

Cyril Feidt, Sébastien Denys, Adeline Floch-Barneaud, Julien Caboche, Frédéric Dor, et al.. Biodisponibilité des polluants du sol : définition, caractérisation et utilisation potentielle dans la gestion des sites et sols pollués. 2. Rencontres nationales de la recherche sur les sites et sols pollués, Oct 2009, Paris, France. ADEME Editions. Angers, pp.NC, 2009. <ineris-00973361>

**HAL Id: ineris-00973361**

**<https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-00973361>**

Submitted on 4 Apr 2014

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

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

# Biodisponibilité des polluants du sol : définition, caractérisation et utilisation potentielle dans la gestion des sites et sols pollués

**Cyril Feidt<sup>1</sup>, Sébastien Denys<sup>2</sup>, Adeline Floch-Barneaud<sup>2</sup>, Julien Caboche<sup>1,2</sup>,  
Frédéric Dor<sup>3</sup>, Claire Dabin<sup>4</sup> et Karine Tack<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ENSAIA-INPL, 2 av de la Forêt de Haye - 54500 Vandoeuvre les Nancy  
cyril.feidt@ensaia.inpl-nancy.fr

<sup>2</sup> INERIS, Direction des Risques Chroniques - BP 2 - 60 550 Verneuil en Halatte

<sup>3</sup> InVS Département Santé Environnement 12 rue du Val d'osne - 94415 Saint-Maurice Cedex

<sup>4</sup> ICF, 14-30 rue Alexandre - 92 635 Gennevilliers Cedex

## **Résumé**

L'effet toxique d'un polluant du sol vis-à-vis des organismes sera fonction de la concentration totale de ce polluant dans le sol et de sa biodisponibilité. Ce dernier paramètre définit la fraction d'un contaminant qui sera réellement absorbée par un organisme. De nombreux travaux issus de la littérature internationale insistent sur l'importance de considérer la biodisponibilité d'un polluant en vue d'en évaluer l'impact réel sur un organisme. L'essentiel de ces travaux portent sur les végétaux (on parle alors de phytodisponibilité) ou les microorganismes du sol. Ces dernières années, des recherches ont également été menées pour estimer la biodisponibilité des polluants pour l'Homme via l'ingestion de terre contaminée, une des voies d'exposition majeure pour l'évaluation du risque dans ce domaine. Toutefois, en France, l'application de ce concept est relativement limitée. Ceci conduit à une estimation conservatoire de l'exposition humaine aux contaminants pour la voie « ingestion de terre ». L'objectif de cette communication est de définir la notion de biodisponibilité orale d'un polluant pour l'Homme et de présenter les méthodes de mesure disponibles pour caractériser chacun de ces paramètres. Ensuite, les possibilités et les limites d'intégration de ces notions dans la gestion des sites et sols pollués sont abordées

### **Qu'est ce que la biodisponibilité orale et comment la mesurer ?**

La biodisponibilité orale est la fraction d'un polluant qui, après ingestion, est absorbée au travers de la membrane gastro-intestinale et qui atteint la circulation systémique. Elle se définit comme le ratio de la dose absorbée sur la dose administrée. Sa mesure se fait *in vivo* et peut être absolue ou relative, c'est-à-dire ramenée à la biodisponibilité du même polluant incorporé à une matrice de référence. L'agence de protection environnementale américaine (US-EPA) a largement contribué au développement de protocoles à partir de mammifères comme des singes ou des porcelets. La biodisponibilité est déterminée soit à partir de la concentration sanguine (biodisponibilité absolue ou relative) soit à partir de la concentration du polluant dans les organes cibles (biodisponibilité relative), après administration de doses croissantes de terre contaminée. La difficulté inhérente à ce type d'expérimentations (notamment d'ordre économique ou éthique) ont toutefois conduit à développer des protocoles non invasifs, *in vitro*, permettant d'approcher la biodisponibilité par la mesure de la bioaccessibilité.

### **Qu'est ce que bioaccessibilité orale et comment la mesurer ?**

La bioaccessibilité orale est la fraction d'un polluant dissoute dans le système digestif et disponible pour l'absorption gastro-intestinale. De nombreux tests ont été établis pour caractériser la fraction bioaccessible d'un contaminant dans les sols. Ces tests consistent à extraire les polluants d'une masse de terre à l'aide de solutions qui simulent les fluides digestifs. Ces tests, avant d'être appliqués en évaluation de risque doivent répondre à un certain nombre de critères : la faisabilité, la répétabilité et la représentativité du test par rapport à la mesure de biodisponibilité. Le groupe européen BARGE ([www.bgs.ac.uk/barge/home.html](http://www.bgs.ac.uk/barge/home.html)) a mis au point un test de mesure de la bioaccessibilité et organise des essais interlaboratoires en vue de tester la reproductibilité du test. Par ailleurs, la représentativité du test est actuellement vérifiée par l'INERIS en collaboration avec l'INPL. Ces essais sont réalisés en corrélant les valeurs de bioaccessibilité obtenus sur un certain nombre de sols pour 4 éléments (Pb, Cd, As et Sb) aux valeurs de biodisponibilité pour les mêmes sols et mesurées sur des porcelets, dont le système digestif est proche de celui de l'Homme

## **Possibilité d'applications des notions de bioaccessibilité et biodisponibilité dans l'évaluation de l'exposition et des risques liés aux sites et sols pollués et limites associées**

- Améliorer l'estimation de l'exposition humaine aux sols pollués et hiérarchiser les sites

La mesure de bioaccessibilité permet d'affiner la connaissance de l'exposition humaine aux sols contaminés. En effet, la bioaccessibilité, appliquée en tant que facteur correctif de la concentration totale permet une estimation moins conservatrice de l'exposition. Par ailleurs, il a été montré que pour des sites contaminés par des activités anthropiques différentes, la caractérisation de la bioaccessibilité permettait de hiérarchiser les sites entre eux. Par exemple, pour l'arsenic, il a été montré que la bioaccessibilité de cet élément était significativement plus élevée pour des sols contaminés par des dépôts de poussières émises par une fonderie que par des activités d'extraction et traitement de minerais (Caboche et al, 2008).

- Améliorer l'estimation des niveaux de risque

Cette application est plus délicate que la précédente. En effet, le calcul d'un niveau de risque consiste à comparer une dose d'exposition à une valeur toxicologique de référence (VTR). La détermination de cette dernière se fonde sur une matrice de référence (solution ou aliment) qui sert de vecteur à l'administration du polluant considéré. Il est alors nécessaire, pour le calcul de risque, d'intégrer la biodisponibilité ou bioaccessibilité relative du polluant dans le sol par rapport à la biodisponibilité ou bioaccessibilité de ce même polluant dans la matrice de référence. Toutefois, le peu de données actuellement disponibles concernant ces dernières valeurs implique la mise en œuvre d'hypothèse pour mener à bien l'intégration de la biodisponibilité ou bioaccessibilité relatives dans le calcul de risque. Ces hypothèses et les incertitudes qu'elles engendrent seront exposées.

### **Conclusion**

Les tests de mesure de la bioaccessibilité et notamment le test mis en place par le groupe BARGE sont efficaces pour évaluer la biodisponibilité d'un polluant dans un sol contaminé. L'utilisation de ces notions dans la gestion des sites et sols pollués doit être faite avec précaution du fait de certaines lacunes, notamment dans les études à la base des valeurs toxicologiques de référence. En tout état de cause, des travaux de recherche complémentaires devront être menés en vue d'intégrer au mieux ces notions dans la gestion des sites et sols pollués. Toutefois ces limites ne doivent pas constituer un frein pour considérer ces notions étant donnée leur importance dans l'expression de la toxicité d'un polluant donné.

## **INTRODUCTION**

L'évaluation quantitative des risques sanitaires (EQRS), telle que pratiquée actuellement en France pour les sols pollués, montre que, pour des substances non volatiles, la voie d'exposition majeure est l'ingestion de terre et de poussière. Pour cette voie, on considère que c'est la concentration totale d'une substance présente dans un sol qui est susceptible de produire un effet toxique sur l'organisme humain. Plus exactement, l'estimation des niveaux de risques repose sur la comparaison directe de la dose ingérée avec le sol à la valeur toxicologique de référence (VTR) pour la voie orale. Ceci revient à négliger la différence de biodisponibilité de l'élément considéré dans le sol contaminé et la matrice utilisée pour l'établissement de la VTR.

Or les modes d'administration pris en compte dans les VTR pour la voie orale sont plutôt l'ingestion en phase dissoute et l'ingestion dans des aliments. De nombreuses études *in vitro* ont confirmé que la biodisponibilité et la toxicité à partir des sols est plus faible qu'à partir de la nourriture ou de l'eau [1, 2, 3, 4]. Ainsi, ne pas considérer la biodisponibilité conduit, dans la majorité des cas, à surestimer les niveaux de risque associés à l'ingestion de terre. Il semble ainsi fondamental de considérer ce paramètre en vue d'affiner la concentration d'exposition pour le calcul de risque. Une forte attente existe pour le développement et la prise en compte des notions de biodisponibilité des polluants dans la gestion des sols contaminés. Ces dernières années, pour approcher la biodisponibilité de façon simplifiée, et rendre compte directement de la différence de matrices discutée ci-dessus, certaines études s'intéressent à la mesure de la bioaccessibilité. Toutefois, biodisponibilité et bioaccessibilité sont employés indifféremment et une certaine confusion s'est installée. Ainsi, malgré la forte attente évoquée précédemment, les diagnostics de site n'utilisent que très rarement ces paramètres bien qu'ils soient depuis longtemps évoqués dans la littérature internationale. Les gestionnaires, face à cette confusion, et à l'absence de lignes directrices claires concernant l'utilisation de ces notions dans la gestion effective des sites, sont également réticents à les utiliser.

L'objectif de cet article est de définir la biodisponibilité et la bioaccessibilité des polluants pour la voie orale et de présenter les protocoles permettant de les caractériser. Enfin, un état des lieux concernant les développements autour de ces notions sur le plan international est réalisé.

### **1 QU'EST-CE QUE LA BIODISPONIBILITE ORALE ET COMMENT LA MESURE-T-ON ?**

La biodisponibilité orale est la fraction de composés ingérée qui est absorbée et atteint la circulation systémique [5]. En d'autres termes, la biodisponibilité absolue peut se définir comme le ratio de la dose absorbée sur la dose administrée [6,7] :

$$\text{Biodisponibilité absolue (\%)} = \frac{\text{dose absorbée}}{\text{dose administrée}} \times 100$$

La biodisponibilité intègre la solubilisation du contaminant dans le système salivaire, le tube digestif et la lumière gastro-intestinale (bioaccessibilité), le transport du contaminant au travers de la barrière gastro-intestinale et la fraction métabolisée du contaminant avant transmission à la circulation systémique.

#### **1.1 Biodisponibilité relative**

La notion de biodisponibilité relative (BR) vise à comparer l'absorption d'un composé sous deux spéciations<sup>1</sup> (tel que le carbonate de plomb vs. l'acétate de plomb), ou du même composé administré par différents milieux (tels que la nourriture, le sol ou l'eau) [8]. Ainsi, dans l'optique d'une utilisation en évaluation des risques sanitaires liés à une exposition aux

---

<sup>1</sup> La spéciation définit l'état de valence d'un élément ou l'association de cet élément avec les constituants du sol

sites et sols pollués, il sera important d'utiliser ce paramètre. En effet, un calcul de risque revient à mettre en relation les doses d'exposition et les VTR. Ces dernières sont établies à partir de matrices spécifiques (eau, alimentation) dans lesquelles la substance considérée a une biodisponibilité spécifique. Ainsi, si la biodisponibilité de l'élément considéré dans le sol est supérieure à la biodisponibilité de ce même élément dans la matrice utilisée dans l'étude toxicologique à l'origine de la VTR, alors la biodisponibilité relative sera supérieure à 1. En conséquence, le niveau de risque sera supérieur au niveau calculé sans intégrer ce paramètre.

## 1.2 Mesure de la biodisponibilité

La mesure de la biodisponibilité se fait par le biais d'expérimentation *in vivo*, le plus souvent sur des modèles animaux dont le système digestif est proche de celui de l'homme. Ces méthodes demandent un savoir faire en expérimentation animale, sont coûteuses et peuvent, dans certains cas, soulever des questions éthiques. Les modèles humains le plus souvent utilisés sont les porcs juvéniles et, dans une moindre mesure, les singes [i.e. voir 3,5 ; 9].

La mesure de la biodisponibilité absolue (BA) se fait classiquement en comparant les concentrations de l'élément mesurées dans le sang après injection intraveineuse et après absorption consécutive à une administration par voie orale. Cette méthode consiste à comparer l'aire sous la courbe (ASC) caractéristique de la cinétique d'apparition de l'élément considéré dans le sang et s'exprime selon le ratio suivant [5, 9] :

$$BA = [ASC_{\text{oral}}/\text{dose}_{\text{oral}}]/[ASC_{\text{iv}}/\text{dose}_{\text{iv}}]$$

Avec  $ASC_i$  : l'aire sous la courbe obtenue après administration de la dose par la voie  $i$ ,  $\text{dose}_i$  ;  $i$  : voie d'administration ; orale : administration de la substance par alimentation ; iv : administration de l'élément par injection intra-veineuse.

La mesure de la biodisponibilité peut également se faire à partir de la mesure de la concentration de la substance considérée dans un organe cible après une période d'exposition de plusieurs semaines. [5, 9]. Cette méthode nécessite, au préalable, l'identification des organes dans lesquels réaliser la mesure.

## 2 QU'EST-CE QUE LA BIOACCESSIBILITE ORALE ET COMMENT LA MESURE-T-ON ?

La bioaccessibilité orale est la fraction de polluant qui est extraite (mise en solution) par les fluides digestifs au niveau du système salivaire et du tractus gastro-intestinal. La fraction bioaccessible du polluant d'un sol peut s'exprimer selon le ratio suivant :

$$\text{Bioaccessibilité absolue (\%)} = \frac{\text{dose extraite de la matrice sol}}{\text{dose administrée}} \times 100$$

Le lien théorique entre biodisponibilité et bioaccessibilité peut s'exprimer selon l'équation suivante [10] :

$$B = B_a \times F_A \times F_H$$

avec:  $B$  : biodisponibilité (absolue),  $B_a$  : bioaccessibilité (absolue),  $F_A$  : taux d'absorption par le système digestif de la fraction bioaccessible (extraite),  $F_H$  : taux de transmission à la circulation systémique de la fraction absorbée.

Ainsi, en absolu, la fraction biodisponible d'un contaminant est inférieure à la fraction bioaccessible de ce même contaminant. Dans le cas des métaux, il est souvent considéré que  $F_A$  et  $F_H$  sont égales à 1 [10]. Ces hypothèses permettent, à partir de la bioaccessibilité, une estimation conservatrice de la biodisponibilité. Le lien entre bioaccessibilité absolue et biodisponibilité absolue peut également être schématiquement illustré selon la figure ci-après (Figure 1).

## 2.1 Bioaccessibilité relative

La notion de bioaccessibilité relative (BaR) vise à comparer l'extraction d'un composé sous deux spéciations (tel que le carbonate de plomb vs l'acétate de plomb), ou du même composé administré par différents milieux (tels que la nourriture, le sol ou l'eau) [11]. Cette notion est particulièrement importante pour l'utilisation de la bioaccessibilité dans un calcul de risque dans lequel il convient de distinguer la différence de bioaccessibilité entre le sol et la matrice utilisée pour l'établissement de la valeur toxicologique de référence.

## 2.2 Mesure de la bioaccessibilité

### 2.2.1 Une diversité de protocoles disponibles

La mesure de la bioaccessibilité se fait par l'utilisation de tests *in vitro*. De façon générale, ces tests consistent en une extraction séquentielle *ad hoc* de l'élément contenu dans le sol.

$$\text{Bioaccessibilité relative (\%)} = \frac{\text{Dose extraite depuis le sol}}{\text{Dose extraite depuis le milieu utilisé dans les études de toxicité}} \times 100$$

Les tests ont été développés depuis le début des années 1990, principalement par des équipes nord-américaines ou européennes. Il existe un grand nombre de tests décrits dans la littérature. Deux types de protocoles existent : les protocoles non physiologiques et les protocoles physiologiques. Les premiers consistent en une extraction simple de l'élément à partir du sol et ne simulent pas les conditions physiologiques de la digestion. Les seconds tentent de s'approcher au mieux des mécanismes physiologiques de la digestion. Ainsi, pour la plupart de ces derniers, une première extraction, acide, vise à simuler les conditions de l'estomac ; une seconde extraction, proche de la neutralité, vise à simuler les conditions intestinales. En plus de ces deux phases, certains tests comportent une phase initiale qui vise à simuler le passage de la matrice dans la salive.

Ces tests diffèrent notamment par le nombre de compartiments digestifs simulés, le ratio solide/liquide, les temps de contact entre le sol contaminé et les extractants, les conditions de pH et Eh utilisées. Six tests très souvent utilisés dans la littérature internationale sont reportés ci-dessous (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) et permettent d'illustrer les différences importantes concernant les valeurs de paramètres cités ci-avant. Une présentation plus exhaustive de ces tests est réalisée dans une norme ISO/DIS 17924-1 [12].

### 2.2.2 Le protocole unifié du groupe BARGE

Actuellement, au sein de l'Europe, le groupe de recherche BARGE (Bioaccessibility Research Group in Europe) qui fédère plusieurs laboratoires et instituts de recherche, tente de développer un test unique et reproductible de mesure de la bioaccessibilité. Ce test, basé sur la physiologie digestive humaine, comprend trois phases : buccale, stomacale et intestinale. La composition des fluides utilisés est récapitulée ci-dessous (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Tout au long du test, la température est maintenue à 37°C. 0,6 g de sol est mélangé avec 9 mL de salive (pH 6.5). La suspension est agitée pendant 5 minutes. Ensuite une solution gastrique de 13,5 mL (pH 1.0) est ajoutée à la suspension de sol. Le pH de la solution est ajusté à 1,2 à l'aide d'HCl (concentration : 37% g/g). La suspension est agitée pendant une heure. Suite à cette période, le pH est vérifié. S'il est au-dessus de 1,7 alors de l'HCl est ajouté à la suspension, dans le but d'obtenir un pH compris entre 1,2-1,7. La phase stomacale est alors extraite par centrifugation à 3 000 g pendant 5 minutes et la concentration de l'élément est déterminée dans le surnageant, permettant d'obtenir la concentration dans la phase gastrique. En parallèle, un second échantillon du même sol est mélangé avec la phase gastro-intestinale. Ce second échantillon, après avoir subi la phase d'extraction salivaire et stomacale est mis en contact de la bile et de la phase intestinale. Le pH augmente alors dans une gamme comprise entre 5,8-6,8. La suspension est agitée pendant 2 heures et centrifugée à 3 000 g. La concentration de l'élément considérée est alors mesurée dans le surnageant (phase gastro-intestinale). Pour chacune des phases, la bioaccessibilité de l'élément considérée est la concentration mesurée dans la phase extraite par centrifugation. Ce test a déjà été utilisé à l'INERIS notamment pour déterminer les bioaccessibilités absolues du plomb ou de l'antimoine à partir de sols contaminés

par des activités d'extraction minières ou des retombées atmosphériques de particules contaminées.

### **2.3 Quelques tendances observées concernant la bioaccessibilité de métaux lourds fréquemment rencontrés dans les sols pollués**

Ces tendances sont la synthèse de résultats observés pour trois éléments (plomb, arsenic et antimoine) sur les échantillons de sol étudiés par l'INERIS ces 4 dernières années et confortés par la littérature internationale. Les mesures de bioaccessibilité ont été réalisées selon le protocole du groupe BARGE décrit plus haut.

#### **2.3.1 Le plomb**

Pour cet élément, les mesures montrent des valeurs de bioaccessibilité gastrique significativement plus élevées que les valeurs de bioaccessibilité gastro-intestinale. Ceci est lié à une solubilisation accrue du plomb dans la phase gastrique où le pH est fixé aux alentours de la valeur 1,2. En phase intestinale, l'augmentation de pH entraîne une précipitation du plomb et, par conséquent, une solubilisation moindre. Pour les sols que nous avons testés, les valeurs de bioaccessibilité du plomb observées varient en général entre 10 et 70 % de la concentration totale en plomb. Les valeurs de bioaccessibilité gastrique sont fortement corrélées à la teneur en carbonates des sols [13].

#### **2.3.2 L'arsenic**

Pour ce métalloïde, les valeurs de bioaccessibilité mesurées semblent différentes entre d'une part des sols contaminés par des activités minières et d'autre part des sols contaminés par retombées atmosphérique en provenance de rejets canalisés ou diffus. Pour les premiers, les valeurs de bioaccessibilité variaient entre 7 et 8% de la concentration totale en As et pour les seconds entre 10,6 et 52% [14].

#### **2.3.3 L'antimoine**

Pour ce métalloïde, la bioaccessibilité est généralement faible. Ainsi, Denys et collaborateurs [15] ont mesuré des valeurs variant entre 1,5 et 12% à partir de sols contaminés par des activités minières.

## **3 UTILISATION POTENTIELLE DANS LA GESTION DES SOLS POLLUES**

La présentation permettra de préciser les utilisations potentielles des notions de bioaccessibilité et biodisponibilité dans la gestion des sols pollués. L'application possible de ces notions dans le cadre méthodologique de l'interprétation de l'état des milieux et de l'évaluation quantitative du risque sanitaire sera présentée.

Les limites et incertitudes associées à ces utilisations seront également précisées, pour enfin détailler quelques perspectives de recherche.

## **CONCLUSIONS**

Une intégration de la biodisponibilité des métaux pour l'homme ne évaluation quantitative des risques sanitaires permettrait d'affiner la mesure de l'exposition aux sites et sols pollués pour la voie orale. La biodisponibilité, dont la mesure nécessite des expérimentations *in vivo* peut être approchée par la bioaccessibilité. Cette dernière se caractérise par le biais de protocoles d'extraction *in vitro*. Toutefois, avant une utilisation de ces paramètres dans l'évaluation quantitative des risques sanitaires, il convient de disposer d'un test de mesure de la bioaccessibilité qui soit robuste, reproductible et représentatif des conditions physiologiques de la digestion. Par ailleurs, l'intégration des notions de biodisponibilité et bioaccessibilité dans les calculs de risque nécessite le développement de lignes directrices encadrant les conditions d'intégration et les incertitudes éventuelles associées.

## **RÉFÉRENCES**

- [1] Fries GF, Marrow GS, Somich CJ (1989) Oral bioavailability of aged polychlorinated biphenyl residues contained in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 43, 683-690.
- [2] Freeman GB, Johnson JD, Liao SC, Feder PI, Davis AO, Ruby MV, Schoof RA, Chaney RL et Bergstrom PD (1994) Absolute bioavailability of lead acetate and mining waste lead in rats. *Toxicology* 91, 151-163.
- [3] Casteel SW, Cowart RP, Weis CP, Henningsen GM, Hoffman E, Brattin WJ, Guzman RE, Starost MF, Payne JT, Stockham SL, Becker SV, Drexler JW et Turk JR (1997) Bioavailability of lead to juvenile swine dosed with soil from the smuggler mountain NPL site of Aspen, Colorado. *Fundamental and Applied Toxicology*. 36, 177-187.
- [4] Schroder JL, Basta NT, Casteel SW, Evans TJ, Payton ME et Si J (2004) Validation of the in vitro gastrointestinal model (IVG) to estimate relative bioavailable lead in contaminated soils. *Journal of Environmental Quality* 33, 513-521.
- [5] Casteel SW, Cowart RP, Weis CP, Henningsen GM, Hoffman E et Brattin WJ (2006) Estimation of relative bioavailability of lead in soil and soil-like materials using young swine. *Environmental Health Perspectives*. 114 (8) 1162-1171.
- [6] Basta N et Gradwohl R (2000). Estimation of Cd, Pb and Zn Bioavailability in smelter-contaminated soils by a sequential extraction procedure. *J. Soil Contamination*, 9 (2) :149-164.
- [7] Ruby MV, Davis A, Schoof R, Eberle S. et Sellstone CM (1996). Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. *Environmental Science & Technology*, 30, 422-430.
- [8] Kelley ME, Brauning SE, Schoof RA et Ruby MV (2002) Assessing oral bioavailability of metals in soil. Editor : Battelle Press, 124 pp.
- [9] US-EPA (2007) Estimation of relative bioavailability of lead in soil and soil-like materials using in vivo and in vitro methods. OSWER 9285, 7-77 (23 pp sans les annexes).
- [10] Oomen A, Brandon EFA, Swartjes FA et Sips AJAM (2006) How can information on oral bioavailability improve human health risk assessment for lead-contaminated soils ? RIVM Report 711701042/2006.
- [11] Ruby MV, Davis A, Link TE, Schoof R, Chaney RL, Freeman GB et Bergstrom P (1993) Development of an in vitro screening test to evaluate the in vivo bioaccessibility of ingested mine-waste lead. *Environmental Science & Technology*, 27, 2870-2877.
- [12] Norme ISO/DIS 17924-1 (2005) Soil quality assessment of human exposure from ingestion of soil and soil material. Part 1 : Guidance on the application and selection of physiologically based extraction methods for estimation of the human bioaccessibility/bioavailability of metals in soil.
- [13] Denys S, Caboche J, Tack K et Delalain P (2007) Bioaccessibility of lead in high carbonate soils. *J Environ Sci Heal A*. 42, 1331-1339.
- [14] Caboche J, Denys S, Tack K et Feidt C (2008) Bioaccessibility and speciation of As and Pb in soils contaminated by two distinct anthropic activities. Présentation orale, Congrès Consoil, 3-6 Juin 2008 Milan, Italie.
- [15] Denys S, Caboche J, Tack K et Delalain P (2008) Bioaccessibility, solid phase distribution and speciation of Sb in soils and in digestive fluids. *Chemosphere*. 74, 711-716.

## **REMERCIEMENTS**

Les auteurs remercient le MEEDDAT et l'ADEME qui ont contribué financièrement aux diverses actions menées dans le cadre de nos travaux.