



**LES ISOTOPES STABLES COMME TRACEURS DU TRANSFERT ET DE LA BIOACCUMULATION
DES MÉTAUX DANS LES PLANTES CULTIVÉES : VERS UNE LIMITATION DES RISQUES
SANITAIRES**

**STABLE ISOTOPES AS TRACERS OF TRANSFER AND BIOACCUMULATION OF TRACE METALS
IN SOIL-PLANTS CONTINUUM : HOW REDUCING HEALTH RISKS ?**

Établissement **UT3 - Université de Toulouse 3 Paul Sabatier**

École doctorale **SDU2E - Sciences de l'Univers, de l'Environnement et de l'Espace**

Spécialité **Surfaces et interfaces continentales, Hydrologie**

Unité de recherche **GET - Géosciences Environnement Toulouse**

Directeur de la thèse Laurence MAURICE

Co-Encadrant Eva SCHRECK

Début de la thèse le **1 octobre 2018**

Date limite de candidature **31 mai 2018**

Mots clés - Keywords

contaminants métalliques, exposition humaine, transfert sol-plantes, géochimie, isotopie, risques sanitaires

trace metals, human exposure, soil-plant transfer, geochemistry, isotopes, health risk

Profil et compétences recherchées - Profile and skills required

Profil:

- titulaire d'un Master en géochimie de l'Environnement ou en agronomie tropicale

Compétences:

- Pluridisciplinarité (biogéochimie (isotopique serait un plus), pédologie, agronomie, SIG, statistiques),
- ouverture d'esprit et capacité d'adaptation (plusieurs disciplines à mener de front),
- gestion de bases de données,
- esprit de synthèse
- Intérêt et curiosité pour l'Amérique latine et le monde rural
- travail en équipe
- travail en salle blanche
- analyses par ICPMS (connaissance ou expérience sur MC-ICPMS serait un plus)
- goût du travail de terrain (en conditions tropicales)
- pratique de l'espagnol et de l'anglais

Profile

- Master in Environmental Sciences or in Agronomic sciences
- Pluridisciplinarity (geochemistry (isotopes), soil sciences, agronom, GIS, statistical analysis)
- open minded and adaptative
- database management
- synthesis
- attraction and curiosity for Latin America and rural areas
- team work
- work in ultra-clean conditions
- (MC)ICPMS analysis
- field work in tropical environment
- Fluid in Spanish and English

Description de la problématique de recherche Project description

En Amérique Latine, la production de cacao ne cesse de croître depuis une décennie. Cependant, plusieurs études très récentes (Chavez et al., 2015 et 2016; Bertoldi et al., 2016) ont mis en évidence la présence de cadmium (Cd) dans cette plante tropicale. Après le Brésil, l'Equateur et le Pérou sont respectivement le 2ème et le 3ème producteur de cacao en Amérique Latine. La majorité de cette production (plus de 85 %) est exportée sous forme de fèves, directement en Europe (France, Allemagne et Angleterre) et aux Etats-Unis. Avec 250 000 tonnes de production annuelle, l'Equateur est le 1er producteur mondial du cacao 'fino de aroma', variété la plus appréciée sur le marché international, pour son profil aromatique très riche. Le fruit du cacao, ou cabosse, contient entre 35 et 45 graines recouvertes par une pulpe (ou mucilage) sucrée, légèrement acide qui est aussi consommée localement. La qualité des produits élaborés à partir du cacao, notamment le chocolat, est garantie par un séchage et une fermentation optimale du mucilage autour des fèves.

Notre équipe de recherche a montré que la concentration de Cd dans les fèves dépasse jusqu'à 4 fois la nouvelle norme européenne de 0,8 mg.kg-1. Des tests préliminaires de bioaccessibilité gastrique humaine des métaux ont montré que plus de 90% de la concentration de Cd dans les fèves est susceptible d'atteindre la circulation sanguine (Barraza et al., 2017).

Ces premiers résultats pointent non seulement l'importance d'un contrôle régulier des teneurs en Cd dans les fèves de cacao destinées à l'export afin de répondre à la nouvelle norme européenne, mais également à la surveillance des risques sanitaires associés. En effet, le Cd est un métal toxique, connu pour ses effets cancérigènes et nocifs sur les êtres humains en particulier au niveau du cerveau, des reins et des os. Sur la base des résultats de toxicologie, l'UE a classé le cadmium et ses dérivés chlorés, oxygénés, sulfurés et sulfatés dans la catégorie 1B, l'IARC dans le groupe 1, et l'US-EPA en catégorie B1. Chez les humains, le rein est la principale cible du cadmium avec risque de néphropathie pouvant conduire à une insuffisance rénale. Cependant les sources de ce métal toxique sont multiples et une quantification de celles-ci permettrait aux pouvoirs publics comme aux petits producteurs ou coopératives, de mettre en place des politiques pertinentes et efficaces de réduction des risques sans limiter les revenus issus de l'exploitation et de l'exportation du cacao national.

Le cadmium rejeté dans l'environnement provient à la fois de sources naturelles comme les éruptions volcaniques particulièrement fréquentes dans ces pays andins ou le lessivage des roches et l'érosion des sols, mais aussi d'activités humaines. En particulier, l'utilisation indiscriminée de fertilisants phosphatés, de pesticides ou d'autres produits phytosanitaires ou d'amendements, même organiques, ainsi que l'irrigation des cultures avec des eaux usées peuvent être des sources additionnelles de Cd. L'acidité des sols semble également jouer un rôle clé dans la mise en solution de Cd ainsi que dans sa biodisponibilité.

Les voies de transfert des contaminants entre air-sol et plantes ne sont toujours pas clairement expliquées, ce qui limite a fortiori la compréhension du processus de bioaccumulation. Reste à savoir en particulier, si la voie foliaire vient s'ajouter à l'absorption racinaire du Cd. Une étude pilote récente sur l'isotopie du Cd réalisée sur 4 géotypes de cacao cultivés en hydroponie montre qu'il y a une forte translocation de Cd entre les racines et les feuilles mais qu'elle dépend principalement de la variété de cacao (Rehkämper, 2015).

Il est donc important et urgent d'identifier les pratiques agricoles, les types de sols et de variétés de cacao les plus sensibles à ce contaminant et de comprendre les mécanismes de bioaccumulation pour pouvoir agir au niveau des étapes de production, de transformation du cacao et de fabrication du chocolat afin de réduire les risques sanitaires et répondre à la réglementation européenne. L'objectif général de ce projet doctoral est de mieux comprendre, par traçages isotopique et biogéochimique, quelles sont les sources de Cd et de suivre les processus de transfert et de bioaccumulation de ce métal dans les fèves de cacao, afin de limiter les risques sanitaires associés à la consommation de chocolat. L'impact des pratiques agronomiques mais également l'implication de chaque étape dans la fabrication du chocolat seront suivis.

Les objectifs spécifiques consistent à étudier par traçages isotopique et biogéochimique :

- i) les sources de ce contaminant (Cd) dans des exploitations agricoles d'Amérique Latine,
- ii) les processus de transfert et d'accumulation de ce contaminant depuis les sols jusqu'aux fèves de cacao,
- iii) suivre le transfert (enrichissement ou perte) de ce métal toxique en fonction des pratiques culturales (agroforesterie, amendements organiques, etc.) et à chaque étape de fabrication du chocolat (séchage des fèves, fermentation, torréfaction, élaboration de la pâte de cacao et mélange avec du beurre de cacao), et
- iv) les risques pour les populations humaines, via la consommation de cacao et de chocolat.

Une analyse des dispositions des agriculteurs à changer leurs pratiques pour réduire la vulnérabilité économique de cette filière sera également proposée au candidat. Ce volet sera traité en étroite collaboration avec une collègue sociologue, spécialiste des risques (S. Becerra, OMP-GET).

Les campagnes de prélèvement des échantillons de sols (sur 4 à 5 profondeurs de 0 à 100 cm) et de plantes (feuilles, cabosses et fèves de 2 variétés de cacao, le Nacional et le CCN-51) seront effectuées dans le cadre des actions de collaboration entre l'IRD, l'EPN (Escuela Politécnica Nacional), les entreprises productrices de cacao (Ethiquable, Kaoka et Forest Finance) sur des parcelles pilotes en Equateur et au Pérou, pour lesquelles les stratégies de conduite agricole sont contraintes (intrants biologiques caractérisés, agroforesterie, association avec des cultures de légumineuses) ainsi que chez des petits producteurs locaux. Ces actions de collaboration ont été initiées dès 2014 et validées par des accords cadre avec l'IRD. Les échantillons seront ensuite exportés en France en vue de leurs analyses géochimiques et isotopiques au laboratoire GET (Toulouse).

Les risques sanitaires par ingestion seront évalués via la mesure de la bioaccessibilité gastrique du Cd (selon le protocole UBM Unified BARGE Method) dans les sols de surface au niveau de l'horizon 0-5 cm (comportement mains-bouche des paysans et des enfants jouant dans les champs) et dans la partie consommée des cacaos (fèves toastées sans la cuticule). Des calculs d'exposition tenant compte des quantités consommées et de la corpulence des êtres humains permettront de déterminer les risques pour les populations consommant du cacao brut mais aussi transformé en chocolat noir ou au lait.

Les résultats permettront de déterminer si les fractionnements isotopiques constituent un outil performant pour suivre ces processus, et

si ces processus dépendent des types de sols et de variétés de cacao associées mais aussi des conduites agricoles en vigueur (irrigation, fertilisation, association de plantes, amendements organiques).

En dernière phase, ce projet proposera des solutions concrètes et durables ainsi que de nouvelles recommandations aux décideurs comme aux exploitants agricoles pour améliorer leur production, pour limiter la sorption de Cd dans les fèves de cacao, réduire les risques sanitaires et ainsi répondre à la nouvelle réglementation européenne, et ce, en termes de pratiques agricoles comme de fabrication du chocolat.

Plan de travail prévu :

Année 1 : Révision bibliographique ; visite des sites d'étude (Pérou et Equateur) : rencontres avec les producteurs de cacao, identification des pratiques agricoles et des dispositions à changer ces pratiques pour réduire les niveaux d'accumulation de cadmium dans les fruits, et échantillonnage (sols, eaux et plantes) ; analyses biogéochimiques ; 1ère réunion du comité de thèse

Année 2 : Révision bibliographique ; Analyses isotopiques ; rédaction du premier article ; 2ème réunion du comité de thèse

Année 3 : Visite des sites d'étude et socialisation des résultats auprès des producteurs ; Révision bibliographique ; rédaction du 2ème article ; 3ème réunion du comité de thèse ; soutenance

Cacao from South America is especially used to elaborate premium quality chocolate. Even if the European Food Safety Authority has not directly established a limit for cadmium (Cd) in raw cacao material, recent studies evidenced that Cd concentrations in cacao beans can reach higher levels than those settled for dark chocolate (0.8 mg kg⁻¹, January 1st 2019). Despite the fact that Cd presence in soils can be related to agricultural practices, other potential natural and anthropogenic sources have to be considered in Ecuador. A recent study conducted by our team (Barraza et al., 2017), coordinated by L. Maurice and E. Schreck, investigated Cd contents in soils and cacao tissues in local farms in Ecuador. Human gastric bioaccessibility was also determined in raw cacao beans and cacao mass samples following the BARGE method in order to assess the potential health risks involved. Results showed that topsoils (0-20 cm) have higher Cd concentrations than the deeper layers, exceeding the Ecuadorian legislation limit in 39% of the study sites. Cacao leaves accumulate more Cd than pod husks or beans, nevertheless 50% of the analyzed beans have Cd contents above 0.8 mg kg⁻¹. Root-to-cacao transfer seems to be the more important pathway of Cd uptake, not only regulated by physico-chemical soil properties but also by agricultural practices, including fertilizers application or the natural degradation of cocoa leaves in the topsoil. In addition, a natural Cd enrichment by volcanic inputs must not be neglected.

Assuming that Cd total contents and bioaccessible fractions in cacao raw beans and liquors (90%) is directly linked to those in chocolate final product, the associated health risk to Cd exposure largely depends on Cd transfer from soil, its bioaccumulation in leaves and beans and also on local agricultural practices.

It is therefore urgent to identify the agricultural practices and the role of soils characteristics in the bioaccumulation of this contaminant, in order to be able to act at the level of the different production stages, processing of cocoa and manufacturing chocolate to reduce health risks and to comply to new European regulations.

The aim of the proposed PhD work is to use stable isotopes and geochemical tracers:

- i) to identify and quantify the natural and anthropogenic sources of Cd in cocoa beans from two Andean countries (Ecuador and Peru) ;
- ii) to study the transfer and accumulation processes of this toxic metal in the soil-plants continuum;
- iii) to follow these processes according to the agriculture practices (agroforestry, organic crops, etc.) and at each step of the chocolate elaboration process (drying of the beans, fermentation, roasting, preparation of the cocoa paste and mixing with cocoa butter), and
- iv) to assess the human health risks, through the consumption of dry cocoa and chocolate

An analysis of the farmers' disposal to change their practices in order to reduce the economic vulnerability of this sector will also be proposed to the candidate. This component will be realized in close collaboration with a sociologist colleague, S. Becerra (OMP-GET), specialist in environmental risks.

This work will be realized in straight collaboration with small Peruvian and Ecuadorian cocoa producers thanks to the financial support of two private companies and cooperatives that transform this raw material and export to Europe.

Thématiques /Domaine /Contexte

Géochimie isotopique

Biogéochimie

Agronomie tropicale

Risques sanitaires

Surfaces et interfaces continentales

En Amérique Latine, la production de cacao ne cesse de croître depuis une décennie. Cependant, plusieurs études très récentes (Chavez et al., 2015 et 2016; Bertoldi et al., 2016) ont mis en évidence la présence de cadmium (Cd) dans cette plante tropicale. Notre équipe de recherche a montré que la concentration de Cd dans les fèves dépasse jusqu'à 4 fois la nouvelle norme européenne de 0,8 mg.kg⁻¹. Des tests préliminaires de bioaccessibilité gastrique humaine des métaux ont montré que plus de 90% de la concentration de Cd dans les fèves est susceptible d'atteindre la circulation sanguine (Barraza et al., 2017).

Après le Brésil, l'Equateur et le Pérou sont respectivement le 2ème et le 3ème producteur de cacao en Amérique Latine. La majorité de cette production (plus de 85 %) est exportée sous forme de fèves, directement en Europe (France, Allemagne et Angleterre) et aux Etats-Unis. Avec 250 000 tonnes de production annuelle, l'Equateur est le 1er producteur mondial du cacao 'fino de aroma', variété la plus appréciée sur le marché international, pour son profil aromatique très riche. Le fruit du cacao, ou cabosse, contient entre 35 et 45 graines recouvertes par une pulpe (ou mucilage) sucrée, légèrement acide qui est aussi consommée localement. La qualité des produits élaborés à partir du cacao, notamment le chocolat, est garantie par un séchage et une fermentation optimale du mucilage autour des fèves.

Plusieurs études très récentes (Chavez et al., 2015 et 2016 ; Bertoldi et al., 2016) ont mis en évidence la présence de certains éléments trace métalliques (As, Pb, Cr, Cd) dans les cacaoyers. Parmi ces éléments, le cadmium (Cd) semble s'accumuler principalement dans les fèves, posant des risques pour la santé humaine par ingestion des produits contenant un fort pourcentage de cacao, comme le chocolat noir ou la poudre de cacao destinée plus particulièrement aux enfants.

Des analyses faites par notre équipe de recherche depuis 2014, au laboratoire GET, sur différents échantillons de cacao prélevés en Equateur, en Amazonie et sur la Côte Pacifique, ont montré que la concentration de Cd dans les fèves de cacao dépasse jusqu'à quatre fois la prochaine norme européenne, fixée au 1er janvier 2019 (Règlement EC 488/2014), de 0,8 mg.kg⁻¹ (pour le chocolat noir > 50% cacao). Des tests préliminaires sur la bioaccessibilité des métaux après ingestion ont également été réalisés par notre équipe montrant que plus de 90% de la concentration totale de Cd dans les fèves est susceptible d'atteindre la circulation sanguine (Barraza et al., 2017). Ces premiers résultats pointent non seulement l'importance d'un contrôle régulier des teneurs en Cd dans les fèves de cacao destinées à l'export afin de répondre à la nouvelle norme européenne, mais également à la surveillance des risques sanitaires associés. En effet, le Cd est un métal toxique, connu pour ses effets cancérigènes et nocifs sur les êtres humains en particulier au niveau du cerveau, des reins et des os. Sur la base des résultats de toxicologie, l'UE a classé le cadmium et ses dérivés chlorés, oxygénés, sulfurés et sulfatés dans la catégorie 1B, l'IARC dans le groupe 1, et l'US-EPA en catégorie B1. Chez les humains, le rein est la principale cible du cadmium avec risque de néphropathie pouvant conduire à une insuffisance rénale. Cependant les sources de ce métal toxique sont multiples et une quantification de celles-ci permettrait aux pouvoirs publics comme aux petits producteurs ou coopératives, de mettre en place des politiques pertinentes et efficaces de réduction des risques sans limiter les revenus issus de l'exploitation et de l'exportation du cacao national.

Le cadmium rejeté dans l'environnement provient à la fois de sources naturelles comme les éruptions volcaniques particulièrement fréquentes dans ces pays andins ou le lessivage des roches et l'érosion des sols, mais aussi d'activités humaines. En particulier, l'utilisation indiscriminée de fertilisants phosphatés, de pesticides ou d'autres produits phytosanitaires ou d'amendements, même organiques, ainsi que l'irrigation des cultures avec des eaux usées peuvent être des sources additionnelles de Cd. L'acidité des sols semble également jouer un rôle clé dans la mise en solution de Cd ainsi que dans sa biodisponibilité.

Les voies de transfert des contaminants entre air-sol et plantes ne sont toujours pas clairement expliquées, ce qui limite a fortiori la compréhension du processus de bioaccumulation. Reste à savoir en particulier, si la voie foliaire vient s'ajouter à l'absorption racinaire du Cd. Une étude pilote récente sur l'isotopie du Cd réalisée sur 4 géotypes de cacao cultivés en hydroponie montre qu'il y a une forte translocation de Cd entre les racines et les feuilles mais qu'elle dépend principalement de la variété de cacao (Rehkämper, 2015). Il est donc important et urgent d'identifier les pratiques agricoles, les types de sols les plus sensibles à ce contaminant, en milieu tropical, et de comprendre les mécanismes de bioaccumulation pour pouvoir agir au niveau des étapes de production, de transformation du cacao et de fabrication du chocolat afin de réduire les risques sanitaires et répondre à la réglementation européenne.

Objectifs

L'objectif général du projet doctoral est de mieux comprendre, par traçages isotopique et biogéochimique, quelles sont les sources de métaux lourds dans les plantes cultivées et en particulier de suivre les processus de transfert et de bioaccumulation du cadmium dans les fèves de cacao. Seront étudiées les variétés cultivées en Equateur et au Pérou destinées à l'exportation en Europe, ce, afin de répondre aux nouveaux critères de la réglementation européenne et de limiter les risques sanitaires associés à la consommation régulière de chocolat (en moyenne 100 g/semaine pour un Européen). L'impact des pratiques agronomiques, du choix des variétés mais également l'implication de chaque étape dans la fabrication du chocolat seront suivis.

Notre étude se découpe en 4 objectifs spécifiques : étudier par traçages isotopique et biogéochimique :

- i) les sources de ce contaminant (Cd) dans des exploitations agricoles d'Amérique Latine,
- ii) les processus de transfert et d'accumulation de ce contaminant depuis les sols jusqu'aux fèves de cacao,
- iii) suivre le transfert (enrichissement ou perte) de ce métal toxique en fonction des pratiques culturales (agroforesterie, amendements organiques, etc.) et à chaque étape de fabrication du chocolat (séchage des fèves, fermentation, torréfaction, élaboration de la pâte de cacao et mélange avec du beurre de cacao), et
- iv) les risques pour les populations humaines, via la consommation de cacao et de chocolat.

Une analyse des dispositions des agriculteurs à changer leurs pratiques pour réduire la vulnérabilité économique de cette filière sera également proposée au candidat. Ce volet sera traité en étroite collaboration avec une collègue sociologue, spécialiste des risques (S. Becerra, OMP-GET).

Méthode

La méthodologie de travail s'articule sur les différentes tâches suivantes :

1- Prélèvements de terrain (avec l'aide des acteurs de terrain – parcelles pilotes + producteurs locaux)

Les campagnes de prélèvement des échantillons de sols (sur 3 à 4 profondeurs de 0 à 100 cm) et de plantes (feuilles, cabosses et fèves de 2 variétés de cacao, le Nacional et le CCN-51) seront effectuées dans le cadre des actions de collaboration entre l'IRD, l'EPN (Escuela Politécnica Nacional), les entreprises productrices de cacao (Ethiquable, Kaoka et Forest Finance) sur des parcelles pilotes en Equateur et au Pérou, pour lesquelles les stratégies de conduite agricole sont contraintes (intrants biologiques caractérisés, agroforesterie, association avec des cultures de légumineuses) ainsi que chez des petits producteurs locaux. Ces actions de collaboration ont été initiées dès 2014 et validées par des accords cadre avec l'IRD. Les échantillons seront ensuite exportés en France en vue de leurs analyses.

2- Analyses biogéochimiques

- 200 échantillons de sols (3 à 4 horizons par point de prélèvement : 0-5, 5-20, 20-40, 40-60, 60-100 cm de profondeur) en vue d'une caractérisation morpho-pédogénétique et physico-chimique complète des sites d'étude. Les échantillons seront lyophilisés, tamisés et broyés en vue de leur analyse.

- ~200 échantillons de cacao : 50 échantillons de végétaux sur 3 compartiments : feuilles, cabosses et fèves provenant des 2 variétés les plus cultivées sur la région et exportées : la « Nacional Fino de aroma » et la CCN-51. Une partie des échantillons sera lyophilisée et broyée dans l'azote liquide avant analyse chimique. L'autre partie sera conservée pour quantifier les processus de transfert (perte ou accumulation) de Cd au cours des différentes étapes de préparation de la pâte de cacao (séchage, fermentation, torréfaction et fabrication de la pâte).

Les analyses des concentrations totales en métaux lourds seront réalisées par ICPMS, après minéralisation des échantillons en salle blanche, et validées à partir de l'analyse de CRM correspondants à nos matrices (NIST SRM2384 « Baking chocolate », SRM1515 « apple leaves » et SRM2709 « San Joaquin Soil »).

3- Analyses isotopiques

Le cadmium étant un bon marqueur de la bioaccumulation des polluants dans les fruits (Norton et al. 2015), l'étude des fractionnements isotopiques de Cd sera réalisée en triplicat dans des échantillons issus de 2 types de sols différents (sur 4 horizons dont l'horizon le plus profond), de 2 variétés différentes de cacao, CCN-51 et Nacional 'fino de aroma' (feuilles, cabosses et fèves) identifiés comme étant les plus concentrés en Cd ainsi que des sources dues aux pratiques agricoles (engrais biologiques, feuilles en décomposition, etc.). Ces analyses permettront d'évaluer la faisabilité de l'utilisation des isotopes du Cd comme traceur de sources de contamination (intrants chimiques, engrais organiques, activités pétrolières, irrigation via des eaux usées, aérosols issus de la combustion de biomasse ou d'autres déchets non organiques, etc.). Elles nous éclaireront quant aux mécanismes de transfert et translocation de cet élément depuis le sol jusqu'à la fève et même au chocolat, mécanismes pouvant induire des fractionnements isotopiques.

Toutes les analyses isotopiques seront réalisées par MC-ICPMS, après minéralisation des échantillons puis extraction sur colonnes en salle blanche et double spike avec des isotopes stables de Cd.

4- Evaluation des risques sanitaires

Les risques sanitaires par ingestion seront évalués via la mesure de la bioaccessibilité gastrique du Cd (selon le protocole UBM Unified BARGE Method) dans les sols de surface au niveau de l'horizon 0-5 cm (comportement mains-bouche des paysans et des enfants jouant dans les champs) et dans la partie consommée des cacao (fèves toastées sans la cuticule). La mesure de bioaccessibilité consiste à simuler, via des fluides digestifs synthétiques, la digestion et déterminer la fraction de Cd ingéré susceptible de rejoindre la circulation sanguine. Cette partie du programme sera réalisée en collaboration avec la Escuela Politécnica Nacional (EPN), Departamento de Ciencias de Alimentos y Biotecnología de Quito en Equateur. Des calculs d'exposition tenant compte des quantités consommées et de la corpulence des êtres humains permettront de déterminer les risques pour les populations consommant du cacao brut mais aussi transformé en chocolat noir ou au lait.

5 – Traitement statistique et SIG.

Les variabilités individuelles des échantillons seront exploitées à l'aide d'analyses statistiques multivariées afin de mettre en évidence une chaîne de relations liant les différentes variables mesurées. L'autocorrélation spatiale des variables mesurées sera prise en compte à l'aide d'outils SIG, aussi utilisés dans la cartographie des paramètres géophysiques.

6 – Approche sensorielle et organoleptique.

Les pâtes et liqueurs de cacao issus des parcelles d'intérêt seront soumises à des analyses aromatiques (composés volatiles) et sensorielles, sur différentes variétés et types de sols. Les résultats seront alors confrontés aux données issues des analyses élémentaires et physico-chimiques.

Résultat attendu

Les résultats de ce projet ont pour objectif d'améliorer la compréhension des processus de sorption du Cd par les plantes, le cacaoyer en particulier, sa translocation dans le végétal, jusqu'à son accumulation dans la partie consommée des fèves de cacao. Les résultats permettront de déterminer si les fractionnements isotopiques constituent un outil performant pour suivre ces processus, et si ces processus dépendent des types de sols et de variétés de cacao associées mais aussi des conduites agricoles en vigueur (irrigation, fertilisation, association de plantes, amendements organiques). Ce projet a également pour ambition de connaître et si possible de quantifier, par traçage isotopique, les sources de contamination en cadmium mesuré dans les fèves de cacao, et a fortiori de répondre aux critères internationaux de certification du chocolat issu d'Equateur et du Pérou.

Ce projet présente différents aspects originaux et prometteurs, par l'utilisation du traçage isotopique de sources et de processus de transfert de Cd entre les sols et les plantes jusqu'aux fruits et produits transformés, ainsi qu'une collaboration interdisciplinaire étroite entre les petits producteurs de cacao, les géosciences et la santé.

Il permettra de proposer des solutions concrètes et durables et de nouvelles recommandations aux décideurs comme aux exploitants agricoles pour améliorer leur production, pour limiter la sorption de Cd dans les fèves et ainsi réduire les risques sanitaires, et ce, en termes de pratiques agricoles comme de préparation du chocolat.

Enfin, il est à noter que tous les petits producteurs de cacao participant à ce projet travaillent volontairement avec les équipes scientifiques proposées, et ce, dans un double intérêt : i) celui de contrôler et d'améliorer leurs pratiques agricoles (au niveau des variétés cultivées et des engrais biologiques utilisés) afin de récolter et de distribuer des fèves de cacao d'excellente qualité nutritive et aromatique tout en respectant la nouvelle réglementation européenne, et ii) permettre à un niveau institutionnel (Min. de l'Agriculture équatorien et péruvien) de donner une valeur ajoutée aux produits de l'agriculture biologique.

Ce projet permettra le transfert de compétences et de connaissances au Sud, non seulement au niveau de nos partenaires académiques et pouvoirs publics mais aussi auprès des agriculteurs participant à la production et à la transformation des fèves de cacao.

Précision sur l'encadrement

Le doctorant sera encadré par Mmes L. Maurice (DR IRD avec HDR) et E. Schreck (MC UPS) toutes deux affectées au laboratoire GET, à Toulouse, où sera également réalisée une grande partie du travail analytique. Mme L. Maurice a été encadrante principale de quatre étudiants en thèse de doctorat inscrits à l'ED SDU2E (et de 3 inscrits dans une université équatorienne) sans jamais avoir bénéficié de bourse ministérielle française ; Mme E. Schreck a co-encadré ces dernières années, 2 étudiants en thèse à cette même ED. Au minimum, une réunion hebdomadaire avec ses encadrantes sera imposée à l'étudiant et son travail de terrain sera encadré sur place par une des coordinatrices comme par nos partenaires locaux (académiques, producteurs, coopératives et partenaires privés). Modalités de suivi de la formation et d'avancement des recherches : un comité de thèse sera constitué, regroupant des chercheurs de différentes disciplines (géochimie, isotopie, agronomie, pédologie, et sociologie pour l'analyse des risques et des dispositions à un changement de pratiques) ainsi qu'un représentant des partenaires privés impliqués dans ce projet. Ce comité se réunira au minimum une fois par an avec le doctorant pour faire le point sur l'avancement de ses recherches, sur les difficultés rencontrées et les solutions à adopter seront débattues.

Conditions scientifiques matérielles (conditions de sécurité spécifiques) et financières du projet de recherches

Conditions scientifiques matérielles : le travail de terrain sera réalisé en étroite collaboration avec la Directrice de thèse qui a une parfaite connaissance de l'Amérique latine et de l'Equateur en particulier pour y avoir vécu ces 4 dernières années. Les collaborations avec les universités sur place comme certains Ministères sont validées par des accords cadre avec l'IRD.

Par ailleurs, le projet bénéficiera des supports technique et financier des entreprises productrices de cacao (Ethiquable, Kaoka, Forest Finance) et des associations de petits agriculteurs biologiques promulguant le développement durable en Amérique Latine, avec lesquelles nous travaillons en étroite collaboration et qui nous mettent à disposition les parcelles pilotes, indispensables à la mise en œuvre du projet d'un point de vue opérationnel et logistique.

Le travail analytique et de préparation des échantillons sera réalisé au GET (laboratoire Géosciences Environnement Toulouse), en salle blanche et avec le soutien des plates-formes analytiques nécessaires (ICPMS et MC-ICPMS).

Conditions financières : Deux sources de financement sont prévues pour le projet doctoral:

- 1) Une convention de soutien financier signée entre l'Institut Olga Triballat et l'IRD au programme de recherche CADCAO dont l'objectif est l'étude des processus de transfert et de bioaccumulation du cadmium dans le cacao
- 2) une convention de collaboration de recherche entre Forest Finance France et l'IRD pour réduire le facteur de transfert de Cd dans les fèves de cacao de variétés cultivées au Pérou. Des micro-parcelles seront mises à notre disposition pour réaliser une série d'expérimentations, afin d'étudier certains facteurs d'absorption du cadmium. L'avantage étant que ne sont plantées que des variétés « sélectionnées » dont la génétique est connue.

Enfin, notre projet est porté localement par une équipe de personnes compétentes et formées pour suivre un cahier des charges particulier, ce qui permet d'envisager des travaux de suivi à long terme.

La première convention est signée et les financements acquis; la seconde est en cours d'élaboration.

Laurence Maurice est la coordinatrice scientifique de ces 2 projets.

Objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant : diffusion, publication et confidentialité, droit à la propriété intellectuelle,...

Les partenaires se réuniront tous les 2 mois pour faire un bilan de l'avancement scientifique du projet doctoral et décider des orientations à adopter. L'ensemble des résultats obtenus sera valorisé sous forme d'articles scientifiques et de communications dans des congrès nationaux et internationaux.

Les résultats seront aussi transmis à plusieurs niveaux : i) au niveau local, auprès des populations et réseaux d'agriculteurs ayant participé à l'échantillonnage sous la forme d'ateliers de restitution avec propositions de recommandations et réponses à leurs interrogations et inquiétudes, ii) au niveau communal, auprès des gouvernements autonomes en charge des projets de développement durables, iii) au niveau national, auprès des institutions publiques intéressées par l'étude. Enfin, un rapport scientifique et financier sera fourni au terme des différents contrats de recherche signés dans le cadre de cette étude.

Le doctorant aura à la fin de son travail de thèse, non seulement acquis des connaissances fondamentales et appliquées en géochimie isotopique dans le cadre de son travail en laboratoire de recherche, mais aura pu aussi travailler en étroite collaboration avec des producteurs en agriculture raisonnée comme avec des industriels du chocolat, lui ouvrant la voie à plusieurs projets professionnels.

Collaborations envisagées

Avec l'entreprise coopérative française Ethiquable (<http://www.ethiquable.coop/>), basée à Quito (Equateur), spécialisée dans la vente en France de produits biologiques issus du commerce équitable, mais aussi l'entreprise française Kaoka (<http://www.kaoka.fr/nos-filieres-cacao/#.WnM5FOfjKUK>) et Forest Finance, implantées au Pérou et en Equateur, nous avons initié des collaborations visant à étudier, en coopération étroite avec les petits producteurs en agriculture biologique et sur des parcelles

Ouverture Internationale

La faisabilité et le caractère innovant du projet reposent sur des compétences solides et des collaborations durables entre les différents laboratoires et organismes de recherche impliqués : le Laboratoire 'Géosciences Environnement Toulouse' reconnu internationalement pour ses recherches innovantes en géochimie environnementale, l'IRD et sa collaboration de longue date en Amérique Latine (plus de 40 ans au Pérou et en Equateur), avec des partenaires académiques et institutionnels ainsi que des collaborations avec les producteurs de cacao à destination du marché « bio et commerce équitable ».

Références bibliographiques

Anecacao 2015. Asociación Nacional de Exportadores de Cacao- Ecuador.

Barraza, F., Schreck, E., Leveque, T., Uzu, G., Lopez, F., Ruales, J., Prunier, J., Marquet, A. and Maurice, L. (2017). 'Cadmium bioaccumulation and gastric bioaccessibility in cacao: A field study in areas impacted by oil activities in Ecuador.' *Environmental Pollution* 229: 950-963.

Bertoldi D., Barbero A., Camin F., Caligiani A., Larcher R. 2016 Multielemental fingerprinting and geographic traceability of Theobroma cacao beans and cacao products. *Food control*, 65: 46-53.

Chavez E., He Z.L, Stoffella P.J., Mylavarapu R.S., Li Y.C., Moyano B., Baligar V.C. 2015. Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in Ecuador. *Science of Total Environment*, 533: 205-214.

Chavez E., He Z.L, Stoffella P.J., Mylavarapu R.S., Li Y.C., Baligar V.C. 2016. Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plant-available cadmium in Ecuadorian soils under cacao production. *Chemosphere*, 150: 57-62.

Norton G.J., Deacon C.M., Mestrot A., Feldmann J., Jenkins P., Baskaran C., Meharg A.A., 2015. Cadmium and lead in vegetable and fruit produce selected from specific regional areas of the UK. *Science of Total Environment*, 533: 520-527.

Dernière mise à jour le 17 février 2018