



Projet AGROCAPI : Colloque de Clôture 31 janvier 2022

INRAE

AgroParisTech

université
PARIS-SACLAY



Quelles vigilances dans l'emploi des urino-fertilisants ? Micropolluants organiques

Marjolaine Deschamps, Anaïs Goulas, Ghislaine Delarue, Tristan Martin, Sabine Houot
Fabien Esculier
Jakob Magid, Dorette Sophie Müller-Stöver



Pourquoi rechercher les composés pharmaceutiques dans les urines et dans les sols fertilisés ?

Contexte :

- Boues d'épuration et lisier contiennent des résidus de médicaments
 - Filtration rénale = mode d'élimination de la plupart des médicaments (60-70%)
- Les urino-fertilisants peuvent donc contenir des résidus de médicaments

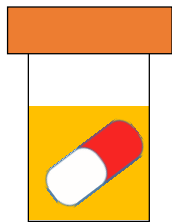
- ✓ **Quelles molécules sont présentes ? À quelles concentrations ?**
- ✓ **Les traitements des urines permettent-ils d'abaisser les teneurs ?**
- ✓ **Quels sont les risques d'accumulation dans les sols après des apports répétés ?**
- ✓ **Quels sont les risques de transfert vers les eaux et les plantes ?**

Pourquoi ? Aspects sanitaire et environnemental

- Antibiotiques : apparition et dissémination de gènes de résistance aux antibiotiques ?
→ aspect sanitaire
- Hormones : perturbateurs endocriniens → effet écotoxique et sanitaire
- Autres molécules pharmaceutiques (anti-inflammatoires...) → effets écotoxiques ?

Objectifs

- ✓ Définir une **liste de composés** à analyser dans les urines et les sols
- ✓ Identifier et mettre au point des **méthodes** d'extraction et d'analyse
- ✓ Déterminer les **concentrations** dans les urines et le sol
- ✓ Déterminer les **flux** lors de l'usage des urino-fertilisants et évaluer les **temps de demi-vie de dissipation** dans les sols
- ✓ **Comparer** les urinofertilisants à des produits résiduels organiques « usuels » (boue d'épuration, effluent d'élevage)



Matériels et méthodes



Composés

- ✓ Liste de **59 molécules** à usage humain (22), vétérinaire (15) ou les deux (22), réparties **en 11 groupes**
 - ✓ 28 **antibiotiques** de 5 familles (fluoroquinolones, tétracyclines, sulfonamides, macrolides-lincosamides, β lactamine)
 - ✓ 9 **anti-inflammatoires** / antalgiques
 - ✓ 5 **neuroleptiques**
 - ✓ Antiparasitaires, diurétique, corticoïde, β bloquants, hypolipidémiants, hormones
 - ✓ Bactéricides et désinfectant
 - ✓ Caféine

- ✓ Principes actifs ou métabolites

- ✓ 21 nouvelles molécules par rapport aux projets antérieurs ECOSYS (PROs)
- ✓ 30 à 36 molécules de plus que les études publiées sur urines
(*Winker et al. 2008, Schürmann et al. 2012, Etter et al. 2015, Jaatinen et al. 2016, Mullen et al. 2017*)

Echantillons (nature et traitement pour analyse)

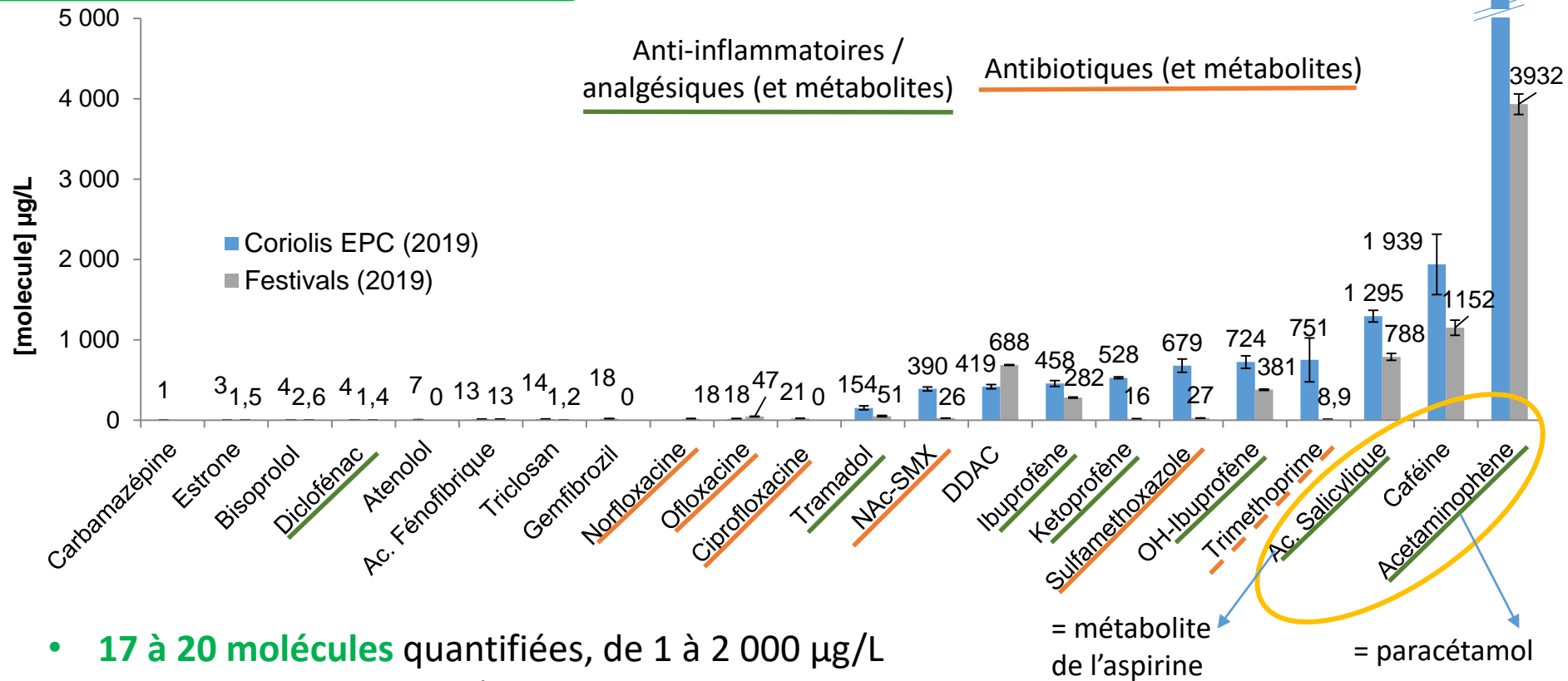
- ✓ **Urines** stockées :
 - ✓ France (2019) : Coriolis, Festivals
 - ✓ Danemark (2015, 2018, 2019)
 - ✓ **Urines** traitées (2019)
 - ✓ Fermentée
 - ✓ Aurin®
 - ✓ Granurin
- ✓ Plusieurs dilutions
(concentrations très variables
selon molécules)
✓ Analyse UPLC-MS-MS
-
- ✓ Autres **produits résiduels organiques**
 - ✓ France (2019) : lisier
 - ✓ Danemark (2018, 2020) : boue d'épuration, lisier bovin
 - ✓ **Sols** fertilisés/amendés
 - ✓ France : essai Tristan Martin
1 application en 2019
 - ✓ Danemark : essai CRUCIAL
applications annuelles depuis 2003
sols après épandage (2018 – 16 épandages),
avant et après ép. (2020 – 18 épandages)
- ✓ Extraction
✓ Purification
✓ Analyse
UPLC-MS-MS

Points délicats liés à l'analyse

- ✓ Absence de données pour certains composés notamment pour matrices solides
← méthodes pas assez performantes pour les détecter
(ex hormones, anti-parasitaires)
- ✓ Dans matrices solides (boue, lisier, sol) :
formation de résidus non extractibles
→ on ne mesure que ce qu'on arrive à extraire des échantillons

Concentrations dans les urines et autres produits résiduaux organiques

Urines après stockage - France

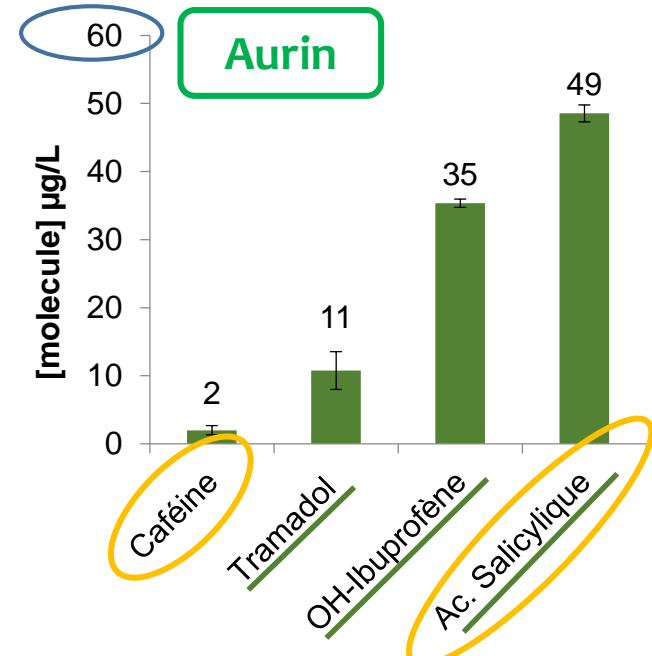
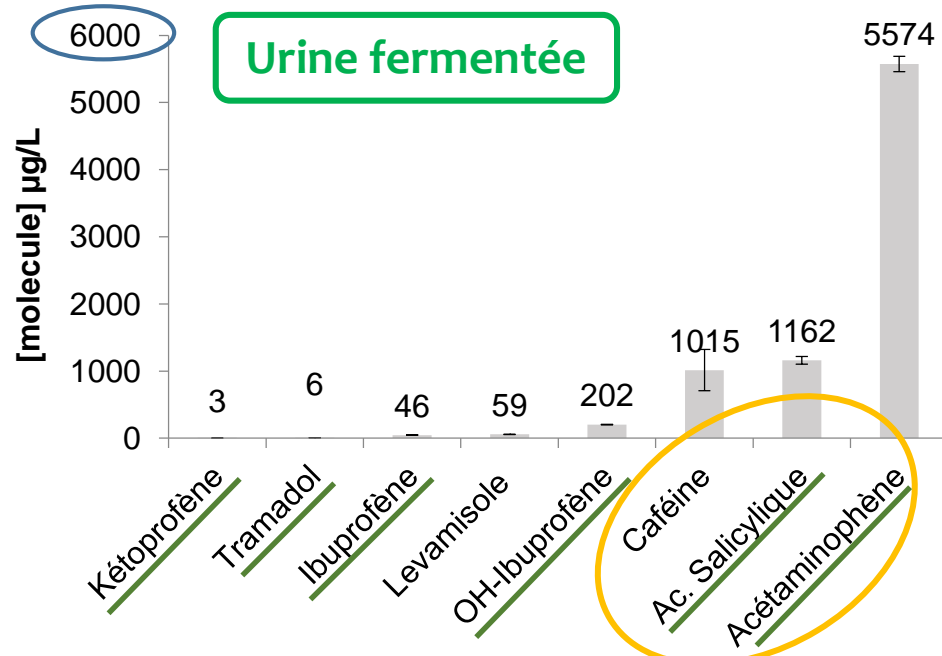
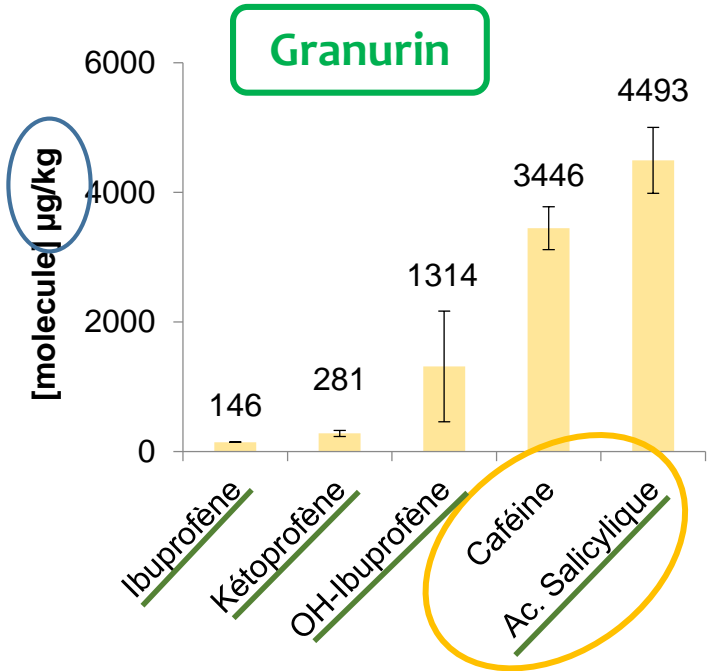


- **17 à 20 molécules** quantifiées, de 1 à 2 000 µg/L
+ **paracétamol** à 11 mg/L
 - 7 **anti-inflammatoires** - analgésiques / métabolites
 - caféine
 - 6 **antibiotiques** / métabolites : sulfonamides et fluoroquinolones

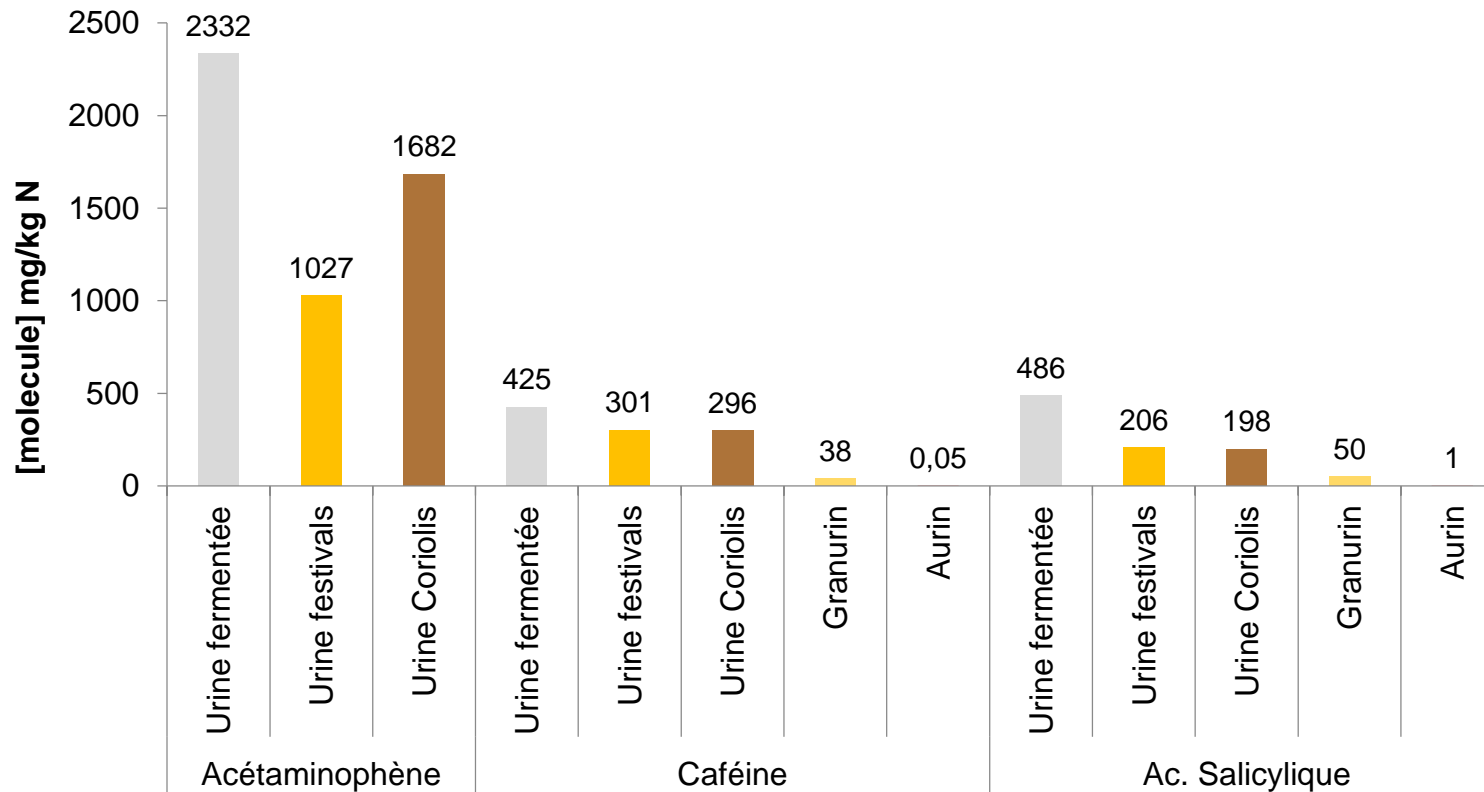
- Concentrations variables selon les origines
- Concentrations du même ordre de grandeur que littérature
(Winker et al. 2008, Schümann et al. 2012, Mullen et al. 2017)

Urino-fertilisants après traitements autres que stockage de l'urine - France

- **4 à 8 molécules** quantifiées :
anti-inflammatoires
+ **caféine**
- Concentrations les plus faibles dans Aurin®
($< 50 \mu\text{g/L}$)

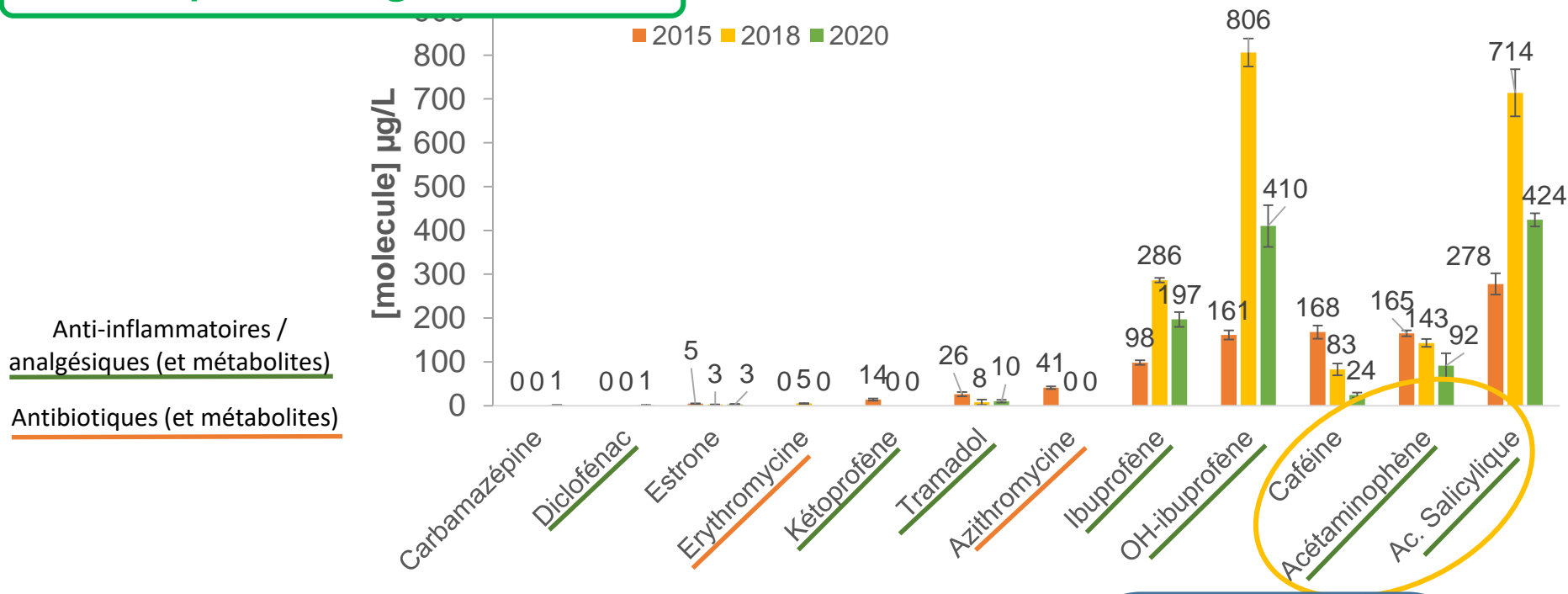


Urino-fertilisants : comparaisons des concentrations normalisées par rapport à l'azote



- **Fermentation** semble ne pas être efficace pour éliminer les composés
- **Aurin** (stabilisation + filtration charbon actif) semble être le traitement le plus efficace cf. *Etter et al. 2015 (projet VUNA)* : réduction entre 90 et 99% la concentration d'une dizaine de médicaments

Urines après stockage - Danemark



- **8 à 11 molécules** quantifiées, de 1 à 806 µg/L
 - 7 **anti-inflammatoires** – analgésiques / métabolites
 - Caféine
 - 2 **antibiotiques**

- Concentrations variables selon les années

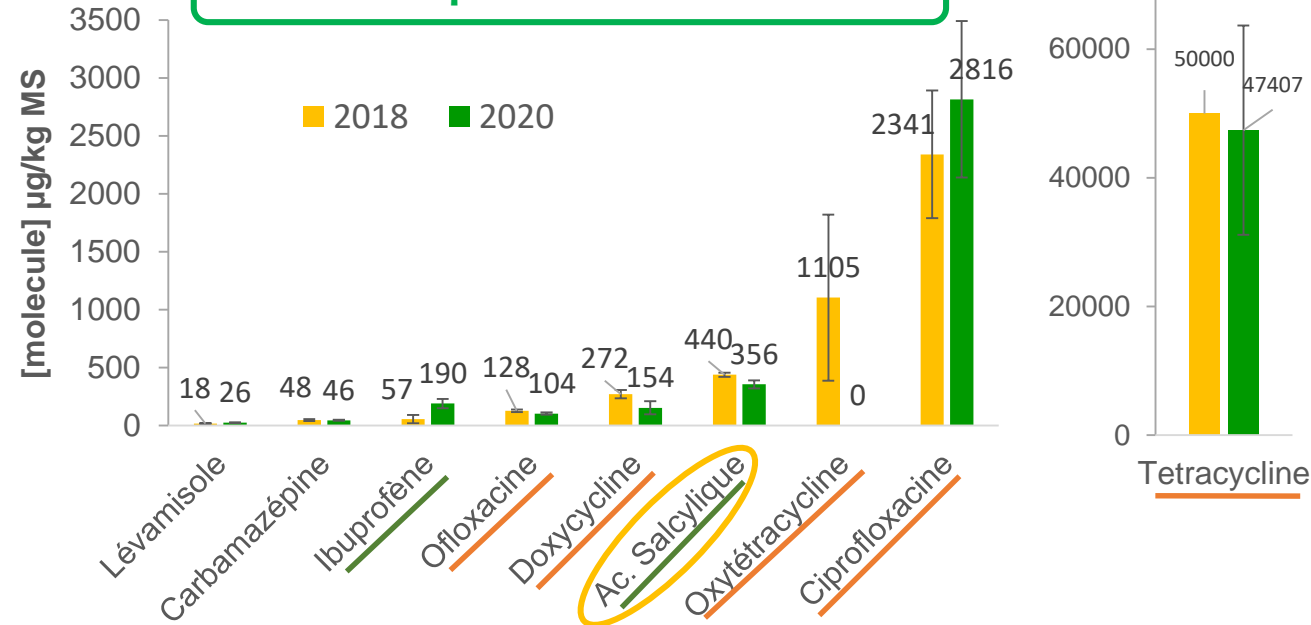
- Consommation d'un nombre limité de médicaments ou molécules recherchées adaptées à la France mais pas au Danemark ?

DK vs. FR

Nb molécules DK < FR
 mêmes molécules,
 [DK] << [FR]

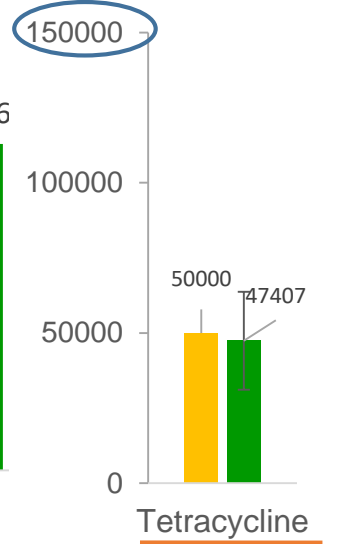
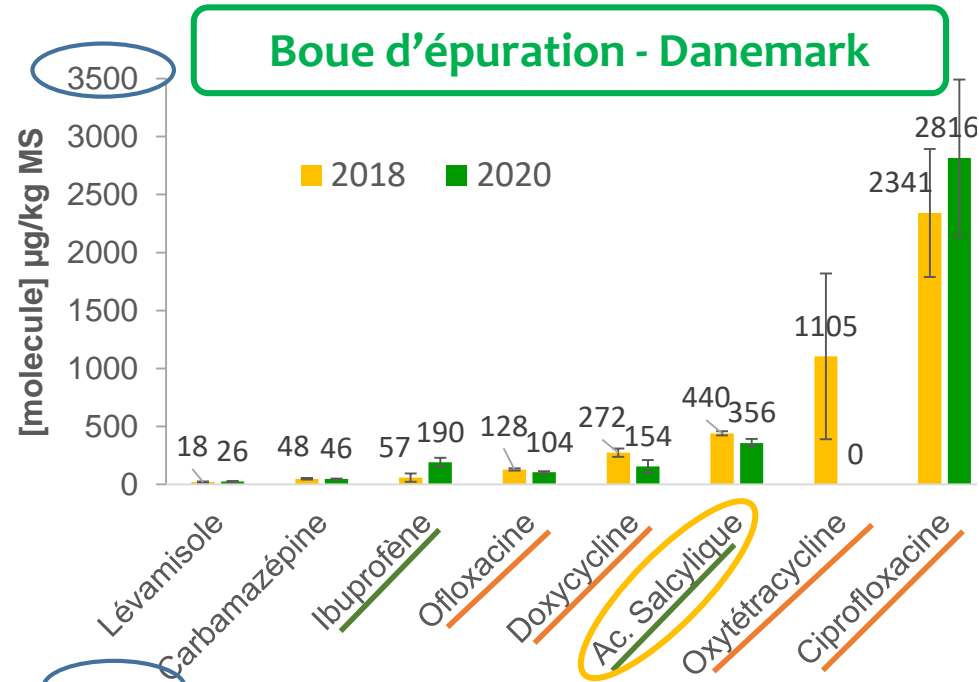
Molécules différentes
 [DK] < [FR]

Boue d'épuration - Danemark



- **8 molécules** quantifiées entre 18 et 2800 µg/kg MS + **tétracycline** > 50 mg/kg MS
 - 2 **anti-inflammatoires**
 - 5 **antibiotiques différents** de ceux trouvés dans les urines
- Profil différent boues vs. urines
 - ← Réseaux de collecte de groupes de personnes différentes
- Concentrations variables selon les années
- Concentrations similaires boues France (sauf Tétracycline)

Boue d'épuration - Danemark



Lisier DK :

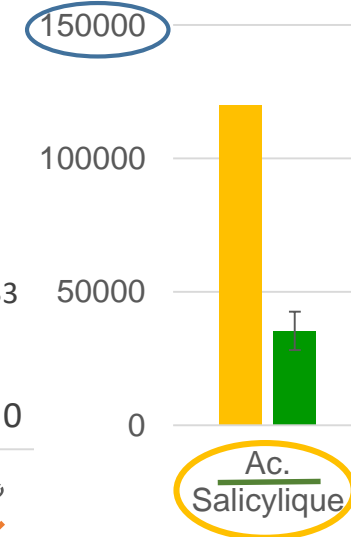
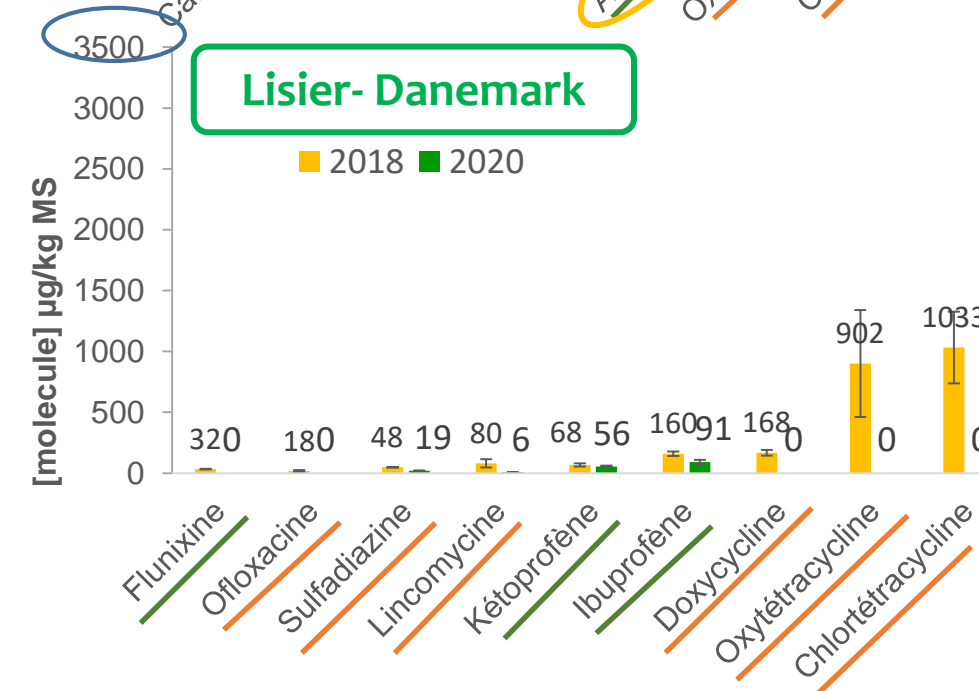
- 9 molécules quantifiées entre 6 et 1000 µg/kg MS + acide salicylique > 120 mg/kg MS

- Uniquement anti-inflammatoires (4) et antibiotiques (6)

- Certaines molécules communes avec boue

- Concentrations dans lisier < boue (sauf Ac. Sali)

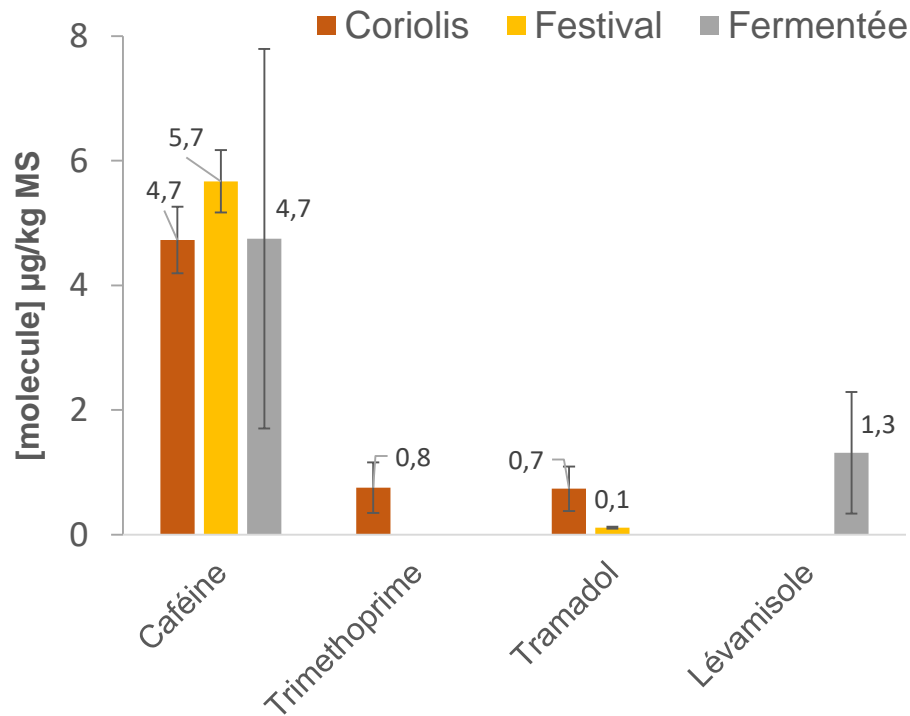
Lisier- Danemark



Concentrations dans les sols

prédites et mesurées

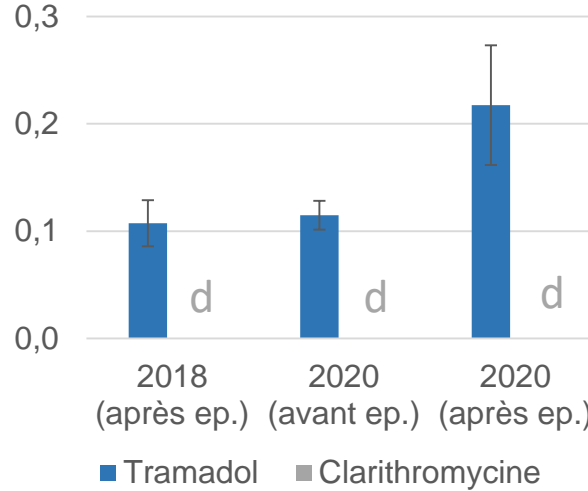
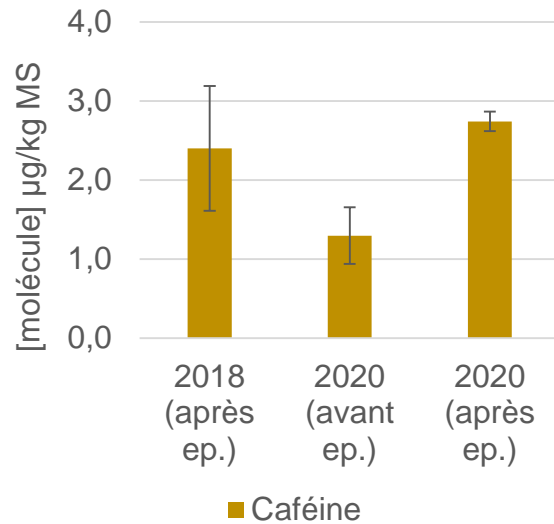
Sols + urines - France



- 1 mois après 1 épandage, 2 à 3 composés retrouvés à très faibles concentrations
- Difficile de conclure sur la persistance des molécules → nécessité d'essais longue durée

Sols + urines - Danemark

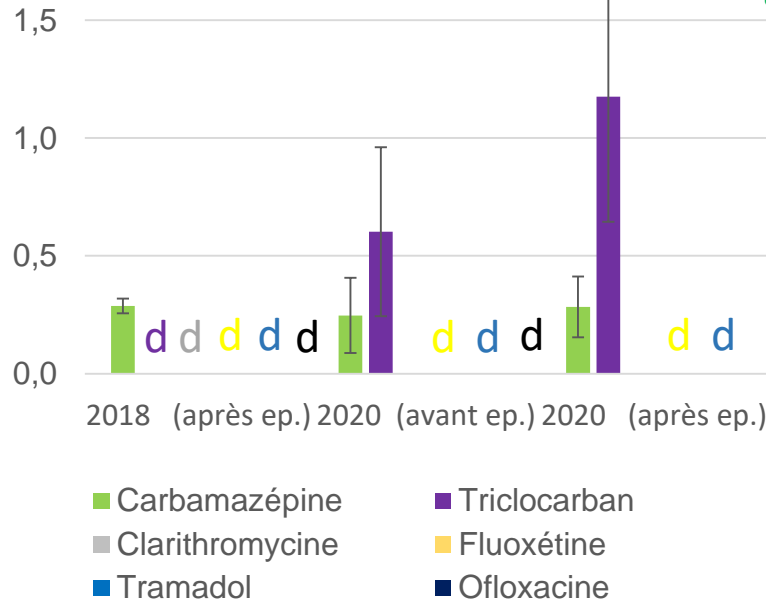
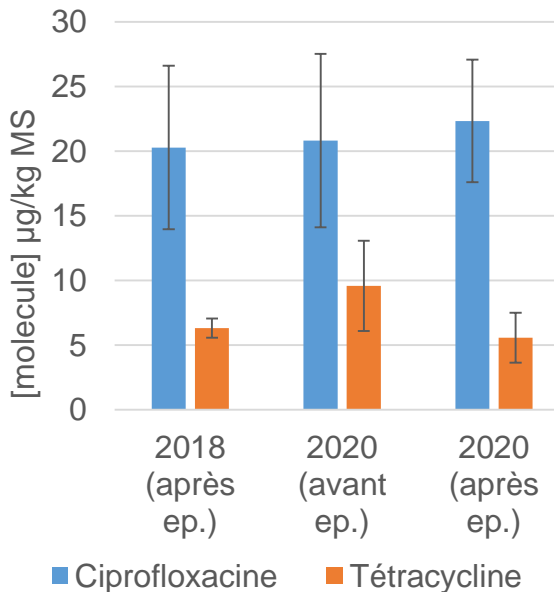
170 kg N/ha/an



- Pas de molécules détectées dans sol témoin ni sol + lisier
- **2 à 4 molécules** quantifiées entre 0,1 et 23 µg/kg MS après 16 à 18 apports d'urines ou de boues.

Sols + boues - Danemark

310 kg N/ha/an



- Sol + urine : moins de composés à plus faible concentration que sol + boue mais dose d'apport boue = 2* dose apport urine (en µg/kg N)

Sols : concentrations prédites vs. mesurées après 17 applications

	sol + urine	
	cc. Prédites	cc mesurées 2020 av. ep
Acide Salicylique	200,1	nd
Acétaminophène	56,5	nd
Caféine	38,8	>> 1,30
OH-ibuprofène	194,6	DT ₅₀ ≈ 250 j
Ibuprofène	82,2	nd
Azithromycine	5,8	nd
Tramadol	6,3	>> 0,11
Kétoprofène	2,0	DT ₅₀ ≈ 170 j
Etythromycine	0,7	nd
Estrone	1,5	nd
Diclofénac	0,1	nd
Carbamazépine	0,1	nd

	sol + boue	
	cc. Prédites	cc mesurées 2020 av. ep
Tétracycline	1663,9	>>> 9,6 DT ₅₀ ≈ 110 j
Ciprofloxacine	88,1	> 20,8 DT ₅₀ ≈ 1250 j
Oxytétracycline	18,9	DT ₅₀ ≈ 1250 j
Acide salicylique	13,6	nd
Doxycycline	7,3	nd
Ofloxacine	4,0	nd
Ibuprofène	4,2	nd
Carbamazépine	1,6	> 0,25
Lévamisole	0,8	DT ₅₀ ≈ 800 j

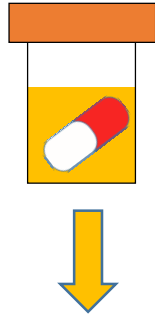
Concentration prédite la plus élevée possible
(pas de prise en compte de dissipation)

$$= [PPCP]_{sol,0} + \frac{[PPCP]_{PRO} * Tx_{appli_{PRO}} * n_{épandages}}{Profondeur_{sol} * RHO_{sol}}$$

- Conc. Prédites >> conc. Mesurées
→ prendre en compte **dissipation** pour concentrations prédites réalistes

- Dissipation : plusieurs processus
DT₅₀ calculées (cinétique 1^{er} ordre)
- Composés **+/- persistants**
- DT₅₀ ciprofloxacine et carbamazépine
≈ sites SOERE PRO

Conclusions et perspectives



- ✓ **Quelles molécules sont présentes dans les urino-fertilisants ?**
À quelles concentrations ?
- ✓ **Les traitements des urines permettent-ils d'abaisser les teneurs ?**

- ✓ Large gamme de concentrations, de $< 1 \mu\text{g/L}$ à 11 mg/L
- ✓ Jusqu'à 21 molécules/métabolites retrouvés
- ← dépend des quantités de médicaments pris et de leur métabolisation dans organisme
- ✓ Le stockage de l'urine ne permet pas d'éliminer les médicaments
- ✓ D'autres traitements permettent de diminuer le nombre de molécules et parfois les concentrations (ex. charbon actif)
- ✓ Les molécules les plus retrouvées dans les urines ne sont pas les mêmes que dans les boues (groupes de personnes différents, accumulation, sorption / dégradation / molécules excrétées par voie biliaire)
- Déterminer les taux d'élimination lors du stockage et des autres traitements (analyses avant / après traitement) ?
- Analyser plus d'échantillons d'urine ?



- ✓ Quels sont les risques d'accumulation dans les sols après des apports répétés ?
- ✓ Quels sont les risques de transfert vers les eaux et les plantes ?

- ✓ 1 mois après 1 épandage urines : 4 molécules retrouvées à très faibles concentrations
- ✓ Après une vingtaine d'épandages d'urines (essai longue durée) :
2 molécules quantifiées à très faibles concentrations
→ risque d'accumulation faible dans les sols
- ✓ Épandage de boues : plus de molécules retrouvées à des concentrations faibles
- ✓ Concentrations retrouvées << concentrations prédites
← dissipation au champ (formation résidus non extractibles, dégradation)
(composés +/- persistants)
- Évaluer le transfert vers les plantes
- Déterminer les risques écotoxicologiques
- Comparer les filières de gestion de l'urine (sép° source, STEU / avec ou sans traitement des micropolluants)

List of 59 PPCPs

	Family	Molecule	Acronym	Use
1) Antibiotic residues x 28 including 5 for humans, 12 for animals and 11 for both	Fluoroquinolones - quinolone	Norfloxacin	NORFLO	Human
		Ofloxacin	OFL	Human
		Ciprofloxacin	CIP	Human
		Enrofloxacin	ENRO	Veterinary
		Marbofloxacin	MARBO	Veterinary
		Flumequine	FLQ	Veterinary (+ Human use in the past)
	Tetracyclines	Chlortetracycline	CTC	Veterinary (+ Human in ointment)
		4-Epichlortetracycline	ECTC	Veterinary (Epimer of CTC)
		Anhydrochlortetracycline	ACTC	Veterinary Metabolite of CTC
		Doxycycline	DOX	Human + Veterinary
		Tetracycline	TC	Human + Veterinary
		Anhydrotetracycline	ATC	Human + Veterinary Metabolite of TC
		Oxytetracycline	OTC	Veterinary (+ Human only in local use)
	Sulfonamides	Sulfamethazine = Sulfadimidine = Sulfadimerazine	SMZ	Veterinary
		Sulfamerazine	SMR	Veterinary
		Sulfadiazine	SDZ	Human + Veterinary
		Sulfachloropyridazine	SCP	Veterinary
		Sulfamethoxazole	SMX	Human + Veterinary
		N ₄ -acetylsuflamethoxazole	NacSMX	Human + Veterinary Metabolite of SMX
		Trimethoprim	TMP	Human + Veterinary (associated with SMX)
	β lactamine	Amoxicillin	AMOX	Human + Veterinary
	Macrolides - lincosamides	Tylosine	TYL	Veterinary
		Tylosine B	TYLB	Veterinary
		Clarithromycine	CLARI	Human
		Azithromycine	AZI	Human
		Erythromycin	ERY	Human + Veterinary
		Spiramycin	SPI	Human + Veterinary
		Lincomycin	LIN	Human + Veterinary

List of 59 PPCPs

	Molecule	Acronym	Use
2) Anti-parasites x 3	Ivermectin	IVM	Human + Veterinary
	Eprinomectin	EPM	Veterinary
	Levamisole	LEM	Veterinary
3) Neuroleptic residues x 5	Fluoxetine	FLX	Human + Veterinary
	Norfluoxetine	NORFLX	Human + Veterinary Metabolite of FLX
	Carbamazepine	CBZ	Human
	10,11- dihydrocarbamazepine	DH-CBZ	Human Metabolite of CBZ
	10,11-epoxycarbamazepine	Ep-CBZ	Human Metabolite of CBZ
4) Analgesic/anti- inflammatory residues x 9 4 for humans, 1 for animals, 4 for both	Salicylic acid	SALI	Human + Veterinary Metabolite of aspirin
	Diclofenac	DIC	Human (+ veterinary in some countries)
	Ibuprofen	IBU	Human
	1-OH-ibuprofen	1OH-IBU	Human Metabolite of IBU
	2-OH-ibuprofen	2OH-IBU	Human Metabolite of IBU
	Ketoprofen	KET	Human + Veterinary
	Acetaminophen = Paracetamol	ACE	Human + Veterinary
	Flunixin	FLU	Veterinary
	Tramadol	TRA	Human + Veterinary

List of 59 PPCPs

	Molecule	Acronym	Use
5) Diuretic x 1	Furosemide	FURO	Human + Veterinary
6) Corticoid x 1	Prednisolone	PRED	Human + Veterinary
7) Beta-blocker x 2	Atenolol	ATE	Human
	Bisoprolol	BISO	Human
8) Hormons x 4	Levonorgestrel	LNG	Human
	17-alpha-ethinylestradiol (EE2)	17aEE2	Human
	17-beta-estradiol (E2)	17bE2	Human + Veterinary (natural)
	Estrone (E1)	E1	Human + Veterinary (natural)
9) Lipid regulator residues x 2	Gemfibrozil	GEM	Human
	Fenofibric acid	FENOAc	Human Metabolite of fenofibrate
10) Surface disinfectants and bactericides x 3	Didecyldimethylammonium chloride	DDCA	Human
	Triclosan	TRI	Human (tooth paste...)
	Triclocarban	TRC	Human
Other	Caffein	CAF	Human (+ Veterinary in solutions for calf perfusion)