

## **ESTIMER LA BIODISPONIBILITÉ DES ANTIBIOTIQUES DANS LES SOLS AGRICOLES POUR MIEUX ÉVALUER LES RISQUES ENVIRONNEMENTAUX**

Anaïs GOULAS, [anaisgoulas@gmail.com](mailto:anaisgoulas@gmail.com), UMR ECOSYS, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 1 avenue Lucien Brétignières, 78850 Thiverval-Grignon

### **Résumé**

Après épandage sur les sols agricoles de matières fertilisantes d'origine résiduaire (MAFOR) comme le fumier ou les boues d'épuration, seule la fraction biodisponible des antibiotiques peut i) être transférée vers les eaux de surface et/ou souterraines ; ii) avoir des effets sur les fonctions du sol assurées par les micro-organismes. Pour mieux comprendre ces risques, une méthode d'extraction douce a été développée au laboratoire pour évaluer la biodisponibilité de deux antibiotiques différents, le sulfaméthoxazole et la ciprofloxacine (Tableau 1), en utilisant un dispositif expérimental réaliste (Figure 1). Dans un même mélange sol/MAFOR, la fraction extractible par différentes solutions aqueuses (Tableau 3) dépend de l'antibiotique et de la solution utilisée (Figure 2). Extraite par une solution de cyclodextrines, la fraction biodisponible diminue au cours du temps et dépend de l'origine et des propriétés des MAFOR appliquées sur le sol (Tableau 2 ; Figure 3).

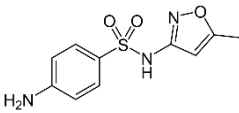
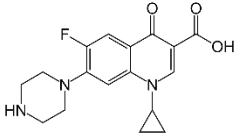
### ***BIOAVAILABILITY MEASUREMENT OF ANTIBIOTICS IN AGRICULTURAL SOILS FOR A BETTER RISK ASSESSMENT***

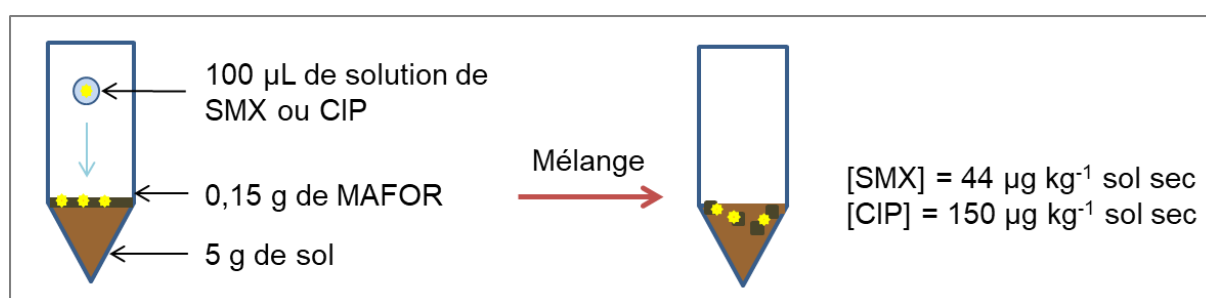
#### ***Abstract***

After the application of organic waste products such as farmyard manure or sewage sludge, agricultural soils are contaminated by antibiotic residues. The bioavailable fraction of antibiotics can (i) be transferred to surface and/or ground waters; (ii) have effects on soil functions carried by micro-organisms. To better understand these risks, an aqueous extraction method was developed in the laboratory to assess the bioavailability of sulfamethoxazole and ciprofloxacin, two antibiotics with different physicochemical properties (Table 1). A realistic experimental device was carefully chosen (Figure 1). In the soil/manure mixture, the fraction extractable by different aqueous solutions (Table 3) depended on the antibiotic and the solution used (Figure 2). Using the cyclodextrin-based extraction, the bioavailable fraction decreased over time and depended on the origin and properties of the organic waste applied to the soil (Table 2; Figure 3).

**Tableau 1.** Propriétés physicochimiques du sulfaméthoxazole et de la ciprofloxacine (Nowara *et al.*, 1997 ; Thiele-Bruhn, 2003 ; Qiang et Adams, 2004 ; Sarmah *et al.*, 2006 ; Höltge et Kreuzig, 2007 ; Girardi *et al.*, 2011 ; Lin et Gan, 2011 ; Ma *et al.*, 2015 ; DeVries et Zhang, 2016 ; Pan et Chu, 2016).

Table 1. Physicochemical properties of ciprofloxacin and sulfamethoxazole.

	Sulfaméthoxazole (SMX)	Ciprofloxacine (CIP)
Structure et masse moléculaire (M)	 M = 253,3 g mol <sup>-1</sup>	 M = 331,3 g mol <sup>-1</sup>
Constante de dissociation acide pK <sub>a</sub>	pK <sub>a1</sub> = 1,8 ; pK <sub>a2</sub> = 5,6	pK <sub>a1</sub> = 3,0 ; pK <sub>a2</sub> = 6,1 ; pK <sub>a3</sub> = 8,7 ; pK <sub>a4</sub> = 10,6
Coefficient de partage octanol/eau Log K <sub>ow</sub>	0,89	0,28
Solubilité dans l'eau	0,6 g L <sup>-1</sup>	30 g L <sup>-1</sup>
Coefficient d'adsorption dans le sol K <sub>d</sub>	Sulonamides : 0,6 - 4,9 L kg <sup>-1</sup>	Fluoroquinolones : 427 - 591 L kg <sup>-1</sup>
Coefficient de partage carbone organique/eau K <sub>oc</sub>	0,2 - 2,4 L kg <sup>-1</sup>	2,9 - 4,8 L kg <sup>-1</sup>
Dissipation : temps de demi-vie DT <sub>50</sub>	5 - 150 jours	25 - 2300 jours

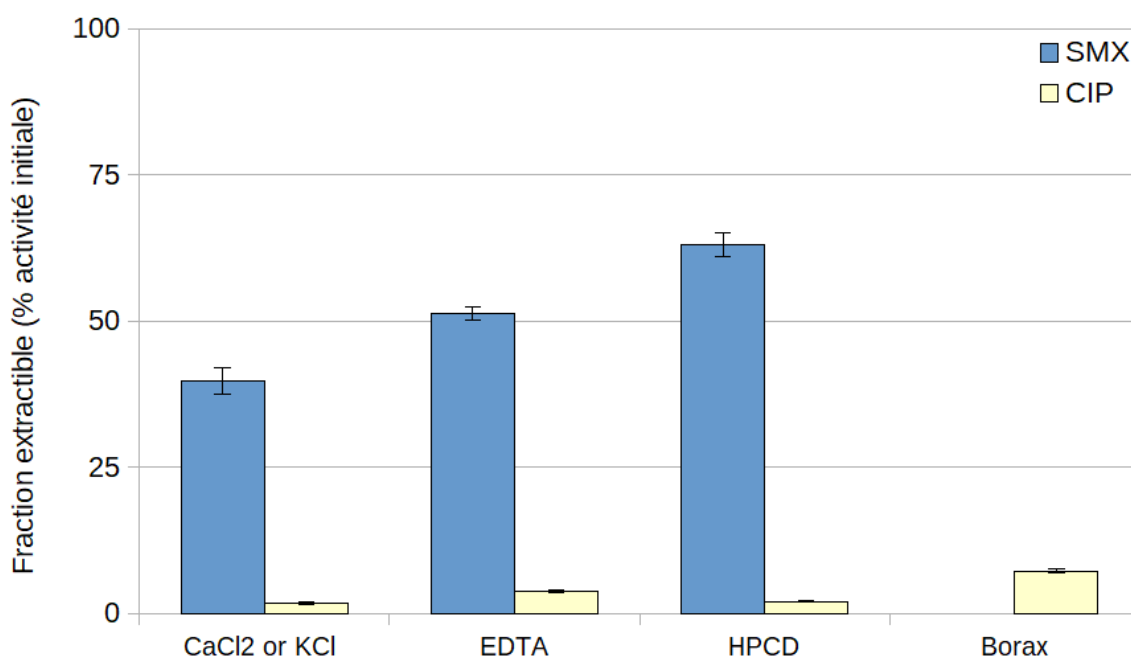


**Figure 1.** Dispositif expérimental utilisé : microcosmes de sol/MAFOR.

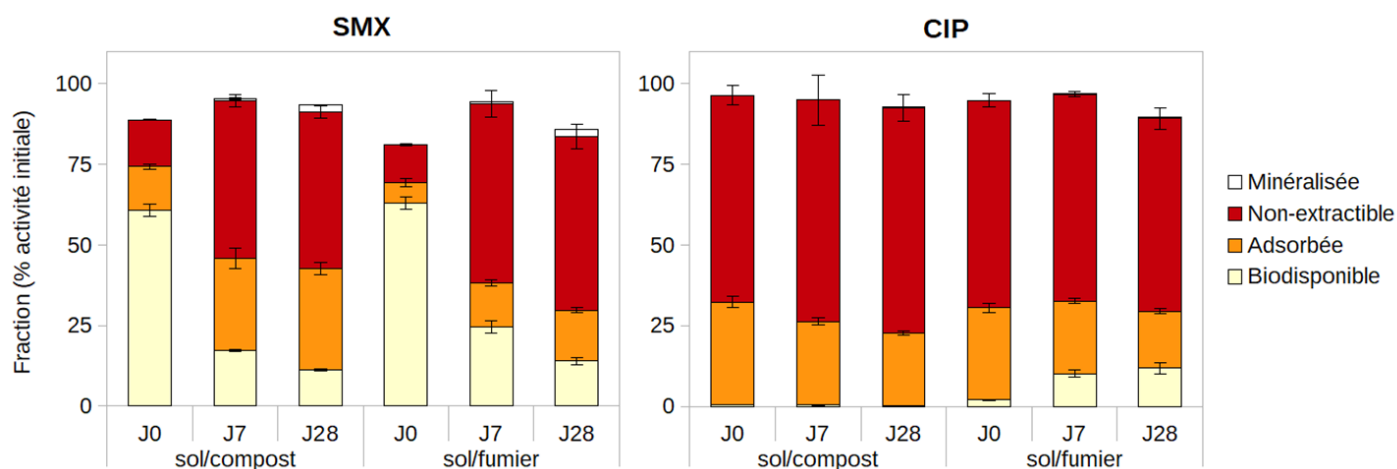
Figure 1. Experimental device: microcosms of soil/organic waste mixtures.

**Tableau 2.** Propriétés physicochimiques du fumier et du compost de boue (Rapport QualiAgro, 2014).*Table 2. Physicochemical properties of bovine manure and sludge compost.*

	<b>Compost de boue</b> (n = 3)	<b>Fumier</b> (n = 3)
Composition/origine	80% de déchets verts + 20% de boue de station d'épuration	Fumier de vaches laitières
pH (H <sub>2</sub> O)	7,7 ± 0,1	8,8 ± 0,3
% matière sèche	67,2 ± 1,3	33,9 ± 0,7
Teneur en matière organique (g kg <sup>-1</sup> )	464 ± 8	649 ± 2
Teneur en carbone organique (g kg <sup>-1</sup> )	257 ± 3	355 ± 14
Teneur en azote total (g kg <sup>-1</sup> )	25,9 ± 0,5	20,1 ± 0,7
Rapport C/N	9,9 ± 0,3	17,6 ± 0,1
Capacité d'échange cationique (cmol <sub>+</sub> kg <sup>-1</sup> )	47,3 ± 2,4	32,3 ± 3,1
Indice de stabilité de la matière organique (%)	70,3 ± 1,4	55,8 ± 1,3

**Figure 2.** Fractions extractibles (% radioactivité initiale) des composés SMX et CIP dans les mélanges sol/fumier en fonction des solutions aqueuses utilisées (n = 3).

*Figure 2. Extractable fractions (% initial radioactivity) of SMX and CIP compounds in soil/manure mixtures regarding the aqueous solutions tested (n = 3).*



**Figure 3.** Distribution des antibiotiques SMX et CIP dans les différentes fractions (% radioactivité initiale) au cours de l'incubation de mélanges sol/compost et sol/fumier (n = 3).

*Figure 3. Distribution of SMX and CIP antibiotics in the different fractions (% initial radioactivity) over incubation of soil/compost and soil/manure mixtures (n = 3).*

**Tableau 3.** Mécanismes d'extraction des solutions aqueuses testées et fractions de molécules ciblées.

*Table 3. Mechanisms of extraction of tested aqueous solutions and targeted fractions of molecules.*

Solutions aqueuses	Mécanisme d'extraction	Fractions de molécules ciblées
CaCl <sub>2</sub> , KCl	Echange ionique	Molécules dans la solution du sol
EDTA	Chélation, compétition	Molécules associées à la matière organique dissoute
HPCD, Borax	Solubilisation	Molécules faiblement adsorbées sur la phase solide

## **A. Introduction et objectif**

Les antibiotiques utilisés en santé humaine et animale pour traiter ou prévenir les infections bactériennes sont rejetés dans les eaux usées et les effluents d'élevage. Le traitement des eaux usées en station d'épuration ne permet pas d'éliminer totalement les molécules, et certains antibiotiques présentant une certaine affinité pour les matières solides vont être retrouvés dans les boues de station d'épuration. Ces boues et les effluents d'élevage (lisier, fumier) sont des déchets organiques recyclés en agriculture pour leur valeur agronomique en tant qu'amendement et/ou fertilisant en fonction du type et de la qualité de la matière organique apportée au sol (Houot *et al.*, 2014). En conséquence, les épandages des matières fertilisantes d'origine résiduaire (MAFOR) conduisent à la contamination des sols par les résidus d'antibiotiques, incluant les molécules mères, les métabolites et autres produits de transformation.

Une multitude de fonctions est assurée dans les sols, telles que la minéralisation de la matière organique, la dégradation de contaminants organiques, la libération de nutriments. Ces fonctions contribuent en particulier aux cycles biogéochimiques des éléments (par exemple carbone, azote), à la qualité physicochimique des sols et des systèmes aquatiques connexes. Au regard des activités antibactériennes des antibiotiques, ces contaminants peuvent impacter les micro-organismes des sols. En fonction du temps et du niveau d'exposition et de la fréquence d'apport, les antibiotiques peuvent avoir des effets à i) court/moyen terme, sur les activités enzymatiques, la respiration du sol ou encore la minéralisation du carbone ; ii) long terme, comme l'acquisition d'antibiorésistance (Brandt *et al.*, 2015).

Afin de mieux évaluer les risques liés à la dispersion d'antibiotiques dans l'environnement, il est nécessaire de tenir compte de la biodisponibilité, c'est-à-dire la fraction de molécules d'antibiotiques pouvant interagir avec les micro-organismes et pouvant entraîner des effets biologiques (Lanno *et al.*, 2004 ; Harmsen, 2007).

L'objectif de ce travail est de développer une méthode chimique d'extraction pour mesurer la fraction biodisponible des antibiotiques dans des sols agricoles. Pour cela, différentes solutions aqueuses d'extraction ont tout d'abord été testées pour mesurer l'extractibilité de deux composés. Puis, l'une de ces solutions aqueuses a été sélectionnée et utilisée pour suivre la biodisponibilité des antibiotiques au cours d'une incubation en conditions contrôlées de mélanges sol/MAFOR.

## **B. Développement d'une méthode chimique d'extraction pour évaluer la biodisponibilité des antibiotiques**

### **1. Sélection d'un dispositif expérimental : microcosmes de sol**

Ayant pour objectif d'utiliser la méthode avec des échantillons réels, il est essentiel de choisir un dispositif expérimental réaliste lorsque la méthode est développée au laboratoire. Ainsi, en se plaçant dans des conditions de contamination proches de celles d'une situation

réelle au champ, des microcosmes sol/MAFOR ont été préparés comme indiqué sur la Figure 1, en ayant choisi de :

- i) respecter un ratio MAFOR/sol proche des conditions d'apport de carbone au sol lors d'un épandage, soit environ 4 tonnes de carbone par hectare sur le site expérimental QualiAgro (Obriot *et al.*, 2016) ;
- iii) apporter l'antibiotique sur la MAFOR avant mélange avec le sol, pour mimer la contamination du sol lors d'un épandage ;
- iii) utiliser des scénarios de contamination représentatifs de différentes situations. Pour cela, deux antibiotiques représentatifs de deux classes d'antibiotiques ont été utilisés : la ciprofloxacine (CIP, fluoroquinolone) et le sulfaméthoxazole (SMX, sulfonamide). Ces deux composés ont des propriétés physicochimiques très différentes (Tableau 1), ce qui amène à supposer que dans un même sol, leurs fractions biodisponibles seront contrastées. Puis, deux MAFOR présentant des origines et des propriétés physicochimiques différentes ont été utilisées (Tableau 2) : un fumier de bovins et un compost de boue ;
- iv) choisir un niveau de concentration en antibiotique dans le sol proche des concentrations « environnementales » des composés retrouvés. Ainsi, les concentrations initiales des antibiotiques SMX et CIP étaient respectivement de 44 et 150  $\mu\text{g kg}^{-1}$  sol sec (DeVries et Zhang, 2016 ; Toth *et al.*, 2011).

## 2. Sélection d'une méthode chimique : extraction aqueuse

Facile à mettre en œuvre, la méthode chimique d'extraction aqueuse, dite « douce », a été choisie pour le développement d'une méthode en vue de l'évaluation de la biodisponibilité des antibiotiques dans les sols. Différentes solutions aqueuses ont été testées. Elles représentent trois principaux types de mécanismes d'extraction (Tableau 3) et sont régulièrement utilisées pour estimer la biodisponibilité de métaux, de pesticides ou encore d'hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les sols (Reid *et al.*, 2000 ; Harmsen, 2007 ; Ortega-Calvo *et al.*, 2015).

Les solutions ont été préparées par dissolution des produits dans l'eau, aux concentrations suivantes : chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) 0,01 mol  $\text{L}^{-1}$ , chlorure de potassium (KCl) 0,01 mol  $\text{L}^{-1}$ , acide éthylènediaminetétraacétique sodique (EDTA) 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  à pH 7, 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrine (HPCD) 0,05 mol  $\text{L}^{-1}$  et tétraborate de sodium (Borax) 0,02 mol  $\text{L}^{-1}$  à pH 9. L'extraction a été réalisée en ajoutant un volume de 15 mL de solution aqueuse à 5 g d'échantillon de sol, puis en agitant la mixture par retournement rotatif pendant une nuit (environ 17h) pour obtenir l'équilibre. La mixture a ensuite été centrifugée pour obtenir l'extrait aqueux (surnageant).

Ces extractions ont été testées avec des antibiotiques marqués au carbone 14 ( $^{14}\text{C}$ -SMX et  $^{14}\text{C}$ -CIP) dans des mélanges sol/fumier préparés comme indiqué sur la Figure 1. La radioactivité mesurée dans l'extrait aqueux à l'équilibre a permis de déterminer la fraction extractible (% de la radioactivité initiale). Pour la ciprofloxacine, une solution de KCl a été utilisée à la place du  $\text{CaCl}_2$  afin d'éviter la formation de ponts cationiques qui auraient pu davantage favoriser l'adsorption de la ciprofloxacine sur la matrice sol/fumier (Tolls, 2001 ; Figueroa-Diva *et al.*, 2010). Etant donné la forte capacité d'adsorption de la ciprofloxacine, des tests supplémentaires ont permis de vérifier l'absence de perte des molécules par adsorption sur le flaconnage (Goulas *et al.*, 2016a).

Les résultats présentés sur la Figure 2 montrent que les fractions extractibles dépendent de l'antibiotique et de la solution aqueuse utilisée. La ciprofloxacine est très faiblement extractible (1,7% à 7,2%) contrairement au sulfaméthoxazole (39,7% à 63,0%). Les différences entre les fractions disponibles sont en grande partie liées aux différents types de matière organique co-extraite par les solutions aqueuses, matière organique avec laquelle peuvent interagir les molécules d'antibiotiques (Goulas *et al.*, 2016a ; Goulas *et al.*, 2017).

La sélection d'une solution aqueuse pour appliquer la méthode chimique au cours d'une incubation de mélanges sol/MAFOR (section C) s'est principalement appuyée sur les mécanismes d'extraction. En effet, au vu de la structure des molécules cyclodextrines, le mécanisme d'extraction de la solution HPCD pourrait mimer le passage des molécules d'antibiotiques à travers la membrane des micro-organismes.

### **C. Suivi de la biodisponibilité des antibiotiques au cours d'une incubation de microcosmes de sol**

Le devenir des deux antibiotiques a été suivi au cours d'une incubation de 28 jours de mélanges sol/compost et sol/fumier pour déterminer l'influence du type de MAFOR apportée sur la biodisponibilité. L'utilisation de molécules marquées au carbone 14 (<sup>14</sup>C-SMX et <sup>14</sup>C-CIP) au cours de cette expérimentation a permis de déterminer les bilans de radioactivité et la distribution complète des molécules dans : i) la fraction disponible extraite par la solution aqueuse HPCD ; ii) la fraction adsorbée extraite par un solvant organique ; iii) la fraction non-extractible obtenue par combustion de l'échantillon de sol sec ; et iv) la fraction minéralisée par suivi du <sup>14</sup>C-CO<sub>2</sub> piégé dans une solution de soude. Les résultats de l'incubation présentés sur la Figure 3 et décrits dans cette section concernent la biodisponibilité.

Le sulfaméthoxazole est plus disponible que la ciprofloxacine en raison des propriétés physicochimiques (Table 1) et des mécanismes d'adsorption différents. La ciprofloxacine est sous forme de zwitterion à pH du mélange (pH des extraits autour de 7), ce qui permet des interactions ioniques entre la charge positive de la molécule et les charges négatives des surfaces solides. Le mécanisme majoritaire d'adsorption de la ciprofloxacine est la complexation par formation de ponts cationiques à la surface de la phase solide, ce qui entraîne une forte adsorption immédiate et donc une très faible biodisponibilité (0,7 à 2% d'extractibilité aqueuse). Quant au sulfaméthoxazole, le composé est sous forme anionique à pH du mélange (pH des extraits autour de 7). L'adsorption se fait majoritairement par l'intermédiaire d'interactions hydrophobes et/ou polaires, ainsi que par interactions électrostatiques entre la charge négative et les charges positives des surfaces solides. Le sulfaméthoxazole est donc initialement facilement extractible par la solution HPCD (61 à 63%). La partie aniline de la molécule peut être engagée dans la formation de liaisons covalentes avec la matière organique, responsables de la formation de résidus non-extractibles au cours du temps. La biodisponibilité diminue donc très rapidement au cours des sept premiers jours d'incubation (17 à 25% à J7).

Les deux antibiotiques sont plus disponibles dans le mélange sol/fumier que dans le mélange sol/compost car la biodisponibilité dépend du pH de la MAFOR sur laquelle est déposé l'antibiotique initialement. Le pH alcalin du fumier (Table 2) entraîne la prédominance de formes chargées négativement et donc plus disponibles par répulsion électrostatique des charges négatives. De plus, la capacité d'échange cationique du compost étant plus élevée

que celle du fumier, des interactions peuvent limiter la biodisponibilité des deux antibiotiques dans les mélanges sol/compost.

La biodisponibilité des antibiotiques diminue au cours du temps, sauf pour la ciprofloxacine dans le mélange sol/fumier. En fait, la dégradation de la matière organique plus instable dans le fumier que dans le compost (Table 2) pourrait entraîner au cours de la première semaine d'incubation, la libération de la ciprofloxacine qui interagissait avec cette matière organique (Goulas *et al.*, 2016a).

Les deux antibiotiques étaient très peu disponibles pour une biodégradation complète (minéralisation) puisqu'au bout de 28 jours d'incubation, le sulfaméthoxazole était minéralisé à hauteur de 2% et la ciprofloxacine 0,3% (Figure 3).

Lorsque la biodisponibilité est évaluée à l'aide d'une méthode chimique, il est indispensable de confronter les résultats à des mesures biologiques pour confirmer l'hypothèse que la méthode chimique peut être utilisée pour évaluer la biodisponibilité des contaminants (Lanno *et al.*, 2004 ; Harmsen, 2007). Au regard des travaux effectués (Goulas *et al.*, 2016b) et des données issues de la littérature (Kotzerke *et al.*, 2008 ; Toth *et al.*, 2011 ; Houot *et al.*, 2014) sur les effets des antibiotiques sur les activités microbiennes du sol, les sulfonamides peuvent impacter le cycle de l'azote (e.g., nitrification) contrairement aux fluoroquinolones. Ces résultats sont en accord avec l'évaluation de la biodisponibilité des deux antibiotiques par une méthode d'extraction aqueuse.

#### **D. Conclusions et perspectives associées**

L'étude de la biodisponibilité des antibiotiques dans les sols agricoles est importante puisqu'elle permet d'apprécier certains risques environnementaux comme le transfert des contaminants vers les eaux de surface et/ou souterraines ainsi que leurs effets sur les activités microbiennes. Ces travaux ont apporté des connaissances sur le devenir du sulfaméthoxazole et de la ciprofloxacine dans des sols amendés soit par un compost de boue, soit par un fumier. Ces deux antibiotiques appartiennent à des familles différentes et sont couramment utilisés en santé humaine et animale. Les résultats ont montré que la biodisponibilité dépend de la solution d'extraction utilisée, des antibiotiques considérés et des MAFOR appliquées sur le sol. La dynamique temporelle de la biodisponibilité des antibiotiques est liée à l'évolution des composants (par exemple la matière organique) avec lesquels les molécules interagissent.

L'utilisation d'un dispositif expérimental réaliste en apportant les antibiotiques sur les MAFOR avant leur mélange au sol, à des concentrations « environnementales », a permis de développer une méthode d'extraction douce. Puis, l'application de cette méthode d'extraction au cours d'une incubation de microcosmes a permis de rendre cette méthode utilisable pour le suivi au champ de la biodisponibilité d'antibiotiques de différentes familles. Que les expérimentations soient destinées à des développements analytiques ou des études d'impacts des contaminants sur les micro-organismes, il est essentiel de se placer dans des conditions expérimentales proches de situations réelles de contamination, afin de pouvoir utiliser les résultats dans l'évaluation des risques environnementaux.

Des études sont nécessaires sur la biodisponibilité des antibiotiques lors de divers traitements de MAFOR avant épandage car ils pourraient modifier le devenir des molécules dans le sol recevant ces MAFOR et donc limiter les risques environnementaux. Enfin, au regard de données sur les concentrations des antibiotiques biodisponibles et des impacts sur



les micro-organismes des sols, des valeurs maximales de concentrations en antibiotiques dans les MAFOR pourraient être déterminées afin de réglementer les épandages.

### **Références bibliographiques**

- (1) Brandt, K.K., Amézquita, A., Backhaus, T., Boxall, A., Coors, A., Heberer, T., Lawrence, J.R., Lazorchak, J., Schönfeld, J., Snape, J.R., Zhu, Y.-G., Topp, E., 2015. – Ecotoxicological assessment of antibiotics: A call for improved consideration of microorganisms. *Environ. Int.* 85, 189-205.
- (2) DeVries, S.L., Zhang, P., 2016. – Antibiotics and the terrestrial nitrogen cycle: A review. *Curr. Pollution Rep.* 2, 51-67.
- (3) Figueroa-Diva, R.A., Vasudevan, D., MacKay, A.A., 2010. – Trends in soil sorption coefficients within common antimicrobial families. *Chemosphere* 79, 786-793.
- (4) Girardi, C., Greve, J., Lamshöft, M., Fetzer, I., Miltner, A., Schäffer, A., Kästner, M., 2011. – Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *J. Hazard. Mater.* 198, 22-30.
- (5) Goulas, A., Haudin, C.-S., Bergheaud, V., Dumény, V., Ferhi, S., Néliu, S., Bourdat-Deschamps, M., Benoit, P., 2016a. – A new extraction method to assess the environmental availability of ciprofloxacin in agricultural soils amended with exogenous organic matter. *Chemosphere* 165, 460-469.
- (6) Goulas, A., 2016b. – Devenir et biodisponibilité des antibiotiques entrant dans les sols agricoles lors du recyclage des matières fertilisantes d'origine résiduaire. Université Paris-Saclay, AgroParisTech. <https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-01761568>
- (7) Goulas, A., Bourdat-Deschamps, M., Néliu, S., Jimenez, J., Patureau, D., Haudin, C.-S., Benoit, P., 2017. – Development of a soft extraction method for sulfamethoxazole and transformation products from agricultural soils: Effects of organic matter co-extraction on the environmental availability assessment. *Sci. Total Environ.* 607, 1037-1048.
- (8) Harmsen, J., 2007. – Measuring bioavailability: From a scientific approach to standard methods. *J. Environ. Qual.* 36, 1420-1428.
- (9) Höltge, S., Kreuzig, R., 2007. – Laboratory testing of sulfamethoxazole and its metabolite acetyl-sulfamethoxazole in soil. *Clean.* 35, 104-110.
- (10) Houot, S., Pons, M.-N., Pradel, M., Tibi, A. (coord.) et al., 2014. – Rapport d'expertise collective MAFOR, 2014. Valorisation des matières fertilisantes d'origine résiduaire sur les sols à usage agricole ou forestier, impacts agronomiques, environnementaux, socio-économiques. Expertise scientifique collective, rapport, INRA-CNRS-Irstea (France) 930 p.
- (11) Kotzerke, A., Sharma, S., Schauss, K., Heuer, H., Thiele-Bruhn, S., Smalla, K., Wilke, B.-M., Schloter, M., 2008. – Alterations in soil microbial activity and N-transformation processes due to sulfadiazine loads in pigmanure. *Environ. Pollut.* 153, 315-322.
- (12) Lanno, R., Wells, J., Conder, J., Bradham, K., Basta, N., 2004. – The bioavailability of chemicals in soil for earthworms. *Ecotox. Environ. Safe.* 57, 39-47.
- (13) Lin, K., Gan, J., 2011. – Sorption and degradation of wastewater-associated non-steroidal anti-inflammatory drugs and antibiotics in soils. *Chemosphere* 83, 240-246.
- (14) Ma, Y., Li, M., Wu, M., Li, Z., Liu, X., 2015. – Occurrences and regional distributions of 20 antibiotics in water bodies during groundwater recharge. *Sci. Total Environ.* 518-519, 498-506.
- (15) Nowara, A., Burhenne, J., Spittler, M., 1997. – Binding of fluoroquinolone carboxylic acid derivatives to clay minerals. *J. Agric. Food. Chem.* 45, 1459-1463.

- 
- (16) Obriot, F., Stauffer, M., Goubard, Y., Cheviron, N., Peres, G., Eden, M., Revallier, A., Vieublé-Gonod, L., Houot, S., 2016. – Multi-criteria indices to evaluate the effects of repeated organic amendment applications on soil and crop quality. *Agr. Ecosyst. Environ.* 232, 165-178.
- (17) Ortega-Calvo, J-J., Harmsen, J., Parsons, J.R., Semple, K.T., Aitken, M.D., Ajao, C., Eadsforth, C., GalayBurgos, M., Naidu, R., Oliver, R., Peijnenburg, W.J.G.M., Römbke, J., Versonnen, B., 2015. – From bioavailability science to regulation of organic chemicals. *Envir. Sci. Technol.* 49, 10255-10264.
- (18) Pan, M., Chu, L.M., 2016. – Adsorption and degradation of five selected antibiotics in agricultural soils. *Sci. Total Environ.* 545-546, 48-56.
- (19) Rapport QualiAgro, 2014. – QualiAgro : Synthèse des résultats de la campagne 2012-2013. Etude de la valeur agronomique et des impacts environnementaux de composts d'origine urbaine. Synthèse des principaux résultats 2013. Mercier, V., Cambier, P., Benoit, P., Deschamps, M., Michaud, A., Rampon, J.-N., Etievant, V., Houot, S. 2014. 125 p.
- (20) Reid, B.J., Jones, K.C., Semple, K.T., 2000a. – Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments – a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Envir. Pollut.* 108, 103-112.
- (21) Qiang, A., Adams, C., 2004. – Potentiometric determination of acid dissociation constants (pKa) for human and veterinary antibiotics. *Water Res.* 38, 2874-2890.
- (22) Sarmah, A.K., Meyer, M.T., Boxall, A.B.A., 2006. – A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere* 65, 725-759.
- (23) Thiele-Bruhn, S., 2003. – Pharmaceutical antibiotic compounds in soils - A review. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 166, 145-167.
- (24) Toth, J.D., Feng, Y., Dou, Z., 2011. – Veterinary antibiotics at environmentally relevant concentrations inhibit soil iron reduction and nitrification. *Soil Biol. Biochem.* 43, 2470-2472.
- (25) Tolls, J., 2001. – Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environ. Sci. Technol.* 35, 3397-3406.