



Devenir de polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatalytique sous irradiation solaire

Vanessa Maroga Mboula

► **To cite this version:**

Vanessa Maroga Mboula. Devenir de polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatalytique sous irradiation solaire. Génie des procédés. Ecole des Mines de Nantes, 2012. Français. <NNT : 2012EMNA0061>. <tel-00779791>

HAL Id: tel-00779791

<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00779791>

Submitted on 22 Jan 2013

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.

Thèse de Doctorat

Vanessa Maroga Mboula

*Mémoire présenté en vue de l'obtention
du grade de Docteur de l'École des Mines de Nantes
Sous le label de l'Université Nantes Angers Le Mans*

Discipline : Génie des procédés

Spécialité : Environnement

**Laboratoire : Génie des Procédés Environnement et Agroalimentaire
(GEPEA) UMR CNRS 6144**

Soutenue le 13 Novembre 2012

École doctorale : SPIGA

Thèse N° 2012EMNA0061

Devenir des polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatalytique sous irradiation solaire

JURY

Rapporteurs : **M. Polycarpos FALARAS**, Directeur de Recherche, National Center for Scientific Research « Demokritos »
M. Vincent GOETZ, Directeur de Recherche, Laboratoire PRocédés Matériaux et Energie Solaire (PROMES)

Examineurs : **M. Ronan COLIN**, Responsable de Laboratoire Chimie Environnement, Institut Départemental d'Analyse et de
Conseil de Loire Atlantique
M. Jérémy PRUVOST, Professeur, Université de Nantes

Directeur de thèse : **M. Yves ANDRES**, Professeur, Ecole des Mines de Nantes

Co-encadrant de thèse : **Mme. Valérie HEQUET**, Maître assistant-HdR, Ecole des Mines de Nantes

Thèse de Doctorat

Vanessa Maroga Mboula

*Mémoire présenté en vue de l'obtention
du grade de Docteur de l'École des Mines de Nantes
Sous le label de l'Université Nantes Angers Le Mans*

*Discipline : Génie des procédés
Spécialité : Environnement
Laboratoire : Génie des Procédés Environnement et Agroalimentaire
(GEPEA) UMR CNRS 6144*

Soutenue le 13 Novembre 2012

École doctorale : SPIGA
Thèse N° 2012EMNA0061

Devenir des polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatalytique sous irradiation solaire

JURY

Rapporteurs : **M. Polycarpos FALARAS**, Directeur de Recherche, National Center for Scientific Research « Demokritos »
M. Vincent GOETZ, Directeur de Recherche, Laboratoire PRocédés Matériaux et Energie Solaire (PROMES)

Examineurs : **M. Ronan COLIN**, Responsable de Laboratoire Chimie Environnement, Institut Départemental d'Analyse et de
Conseil de Loire Atlantique
M. Jeremy PRUVOST, Professeur, Université de Nantes

Directeur de thèse : **M. Yves ANDRES**, Professeur, Ecole des Mines de Nantes

Co-encadrant de thèse : **Mme. Valérie HEQUET**, Maitre assistant-HdR, Ecole des Mines de Nantes

Remerciements

Ce travail de thèse a été financé par le projet européen Clean Water qui a démarré en 2009. Clean Water est un projet collaboratif financé par la direction des recherches de la commission européenne dans le cadre des activités de recherche et de développement des technologies de l'environnement dans le cadre des thématiques prioritaires, «Environment (including climate change), Nanosciences, Nanotechnologies, Materials and New Production Technologies (NMP) ».

Je remercie,

Valérie Héquet, maitre-assistant HDR à l'Ecole des Mines de Nantes et encadrant de cette thèse, **Yves Andrès**, professeur à l'Ecole des Mines de Nantes et directeur de cette thèse, pour leur soutien scientifique, leur aide, leurs conseils et leur soutien moral. Durant toutes ces années (3 ans), ils ont su me conseiller, m'orienter. Grâce à l'aide qu'ils m'ont apporté, j'ai pu mener à bien ce travail de thèse.

Yvan Gru, ingénieur de recherche à l'Institut Départemental d'Analyse et de Conseil de Loire Atlantique, pour son aide dans les analyses par spectrométrie de masse en tandem, ses conseils et son soutien moral.

Polycarpus Falaras, directeur de recherche au Centre National de Recherche Scientifique Demokritos, **Vincent Goetz**, Directeur de Recherche au Laboratoire PRocédés Matériaux et Energie Solaire, **Ronan Colin**, Responsable du Laboratoire Chimie Environnement de l'Institut Départemental d'Analyse et de Conseil de Loire Atlantique et **Jérémy Pruvost**, Professeur à l'Université de Nantes, pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

L'équipe technique du DSEE notamment, **Eric, Thomas, Jérôme, François, Yvan et Patrick**, pour leur disponibilité et leur aide.

Les secrétaires administratives du DSEE, **Dominique et Marie-Laure**, pour leur travail et aussi pour leur gentillesse.

Claire, pour son sourire, sa gentillesse et son soutien moral.

Mes ami(e)s les doctorants et les post-doctorants, **Espérance, Luisa, Sary, Mario, Stéphane, Olivier, Ernesto, Rafat, Cristian, Carolina, Younes, Laura**, tous ceux que je n'ai pas cité.

Une dédicace spéciale à **Audrey** et à **Sévérine**. J'ai passé d'excellents moments avec eux.

Ma famille, mon chéri **Achille**, **mes frères et mes sœurs**, pour leur soutien moral. Et enfin mon père, **Mboula Cyrille** et ma mère **Biaya Jeanne** à qui je dédicace ce manuscrit, pour leur soutien et les encouragements qu'ils m'apportent depuis fort longtemps.

Productions scientifiques

Publications dans une revue internationale avec comité de lecture

- 1) Maroga Mboula V., Héquet V., Andrès Y., Pastrana-Martínez L.M., Doña-Rodríguez J.M., Silva A.M.T, Falaras P., (2012). Photocatalytic degradation of endocrine disruptor compounds under simulated solar light. *Water Research*, (soumis)
- 2) Maroga Mboula V., Héquet V., Gru Y., Colin R., Andrès Y., (2012). Assessment of the efficiency of photocatalysis on tetracycline biodegradation. *Journal of Hazardous Materials*, 209-210, 355-364.

Communications à des congrès avec de lecture

- 1) Effective catalysts under solar light for the removal of endocrine disruptors, V. Maroga Mboula, V. Héquet, Y. Andrès, J.M. Doña-Rodríguez, D.D. Dionysiou and P. Falaras, *2nd Dissemination Workshop of the Nano4water Cluster*, Thessaloniki, Greece, April 24- 25 2012.
- 2) Inactivation of E. coli and P. aeruginosa in greywater by NF-TiO₂ photocatalyst under visible light, R. Khalaphallah, V. Maroga-Mboula, M. Pelaez, V. Héquet, D.D. Dionysiou, Y. Andrès, conference WWPR 2012, Water Reclamation & Reuse, Heraklion Crete, Greece, 28-30 March 2012.
- 3) Utilisation de catalyseurs innovants pour la dégradation de perturbateurs endocriniens sous irradiation solaire, V. Maroga Mboula, V. Héquet, Y. Andrès, J.M. Doña-Rodríguez, D.D. Dionysiou, P. Falaras, *Journées scientifiques « Polluants émergents »*, Nantes 1-2 février 2012
- 4) Effet de la photocatalyse sur la biodégradation de la tétracycline, V. Maroga Mboula, V. Héquet, Y. Gru, R. Colin, Y. Andrès, *Journées scientifiques « Polluants émergents »*, Nantes 1-2 février 2012.
- 5) Novel efficient photocatalysts for effective removal of endocrine disruptors in water, V. Maroga Mboula, V. Héquet, Y. Andrès, J.M. Doña-Rodríguez, D.D. Dionysiou, P. Falaras, *The 16th International Conference on TiO₂ Photocatalysis: Fundamentals and Application (TiO₂-16)*, San Diego, California, USA, November 7-10 2011.
- 6) Approach to evaluate the efficiency of novel photocatalysts under solar light for the elimination of emerging pollutants, V. Maroga Mboula, V. Héquet, Y. Andrès, M. Pelaez, D.D. Dionysiou, *1st Dissemination Workshop of the Nano4water Cluster*, Aachen, Germany, October 26 2010.
- 7) Effet de la photocatalyse sur la biodégradation de la tétracycline, V. Maroga Mboula, V. Héquet, Y. Andrès, *Journées Information Eaux (JIE)*, Poitiers, France, 28- 30 Septembre 2010
- 8) Photocatalytic degradation for the improvement of biodegradation of emerging pollutant, V. Maroga Mboula, V. Héquet, Y. Andrès, *6th European Meeting on Solar Chemistry & Photocatalysis: Environmental Applications -SPEA6*, Prague, Czech Republic, June 13-16 2010.

Résumé et mots clés

L'industrialisation et l'utilisation dans la vie courante d'un nombre croissant de produits chimiques et médicamenteux sont responsables de la dissémination dans l'environnement de substances variées nommées « polluants émergents ». Les traitements des eaux usées existants ne sont pas conçus pour éliminer cette catégorie de pollution et les polluants émergents sont alors rejetés dans le milieu récepteur. Une possible solution pour limiter le rejet de ces composés par les effluents de station d'épuration serait l'utilisation de procédés de traitement additionnels tels que les procédés d'oxydation avancés.

C'est dans ce contexte qu'a démarré le projet Européen Clean Water en 2009 associant 7 entités dont le GEPEA-Ecole des Mines de Nantes. Le concept du projet est de développer des procédés photocatalytiques mettant en œuvre des nanomatériaux actifs sous la lumière solaire. Ces procédés visent à éliminer les polluants émergents tels que les perturbateurs endocriniens ou les produits pharmaceutiques. Le projet a pour perspectives d'ouvrir des voies additionnelles possibles de traitement et purification des eaux pour l'amélioration de la qualité des eaux de consommation ainsi que pour le respect de la qualité des eaux environnementales. Dans ce programme, le laboratoire GEPEA est concerné par l'évaluation de l'efficacité des matériaux vis-à-vis de l'élimination des polluants émergents sous irradiations UV et visibles. Pour cela, une méthodologie expérimentale a été établie de façon à exprimer les performances des catalyseurs testés en termes de constantes cinétiques de dégradation, de taux de conversion et de minéralisation des molécules étudiées mais aussi en fonction de la formation de produits intermédiaires. Ces performances sont également évaluées en termes de biodégradabilité, d'effet de toxicité et de perturbation endocrinienne des produits intermédiaires.

Dans un premier temps, la méthodologie expérimentale établie a été testée sur la dégradation de la tétracycline en utilisant un catalyseur de référence puis, elle a été appliquée sur la dégradation respective du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol en utilisant un catalyseur de référence et les catalyseurs élaborés dans le cadre du projet Clean Water. Les résultats sur la dégradation de la tétracycline ont montré que i) les intermédiaires réactionnels sont moins toxiques que la tétracycline, ii) la structure des intermédiaires réactionnelles est semblable à celle de la tétracycline ce qui explique la faible biodégradabilité de ces intermédiaires. Concernant la dégradation du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol, les résultats ont montré que i) les catalyseurs sont efficaces sous irradiation solaire simulée. Cependant, l'efficacité photocatalytique du catalyseur dépend du composé à dégrader, ii) la nature des intermédiaires réactionnels identifiés du bisphénol A dépend du catalyseur utilisé, iii) l'effet œstrogénique de la solution d'œstradiol persiste au cours du traitement photocatalytique.

Mots Clés : photocatalyse, irradiation solaire, intermédiaires réactionnels, toxicité, effet œstrogénique, tétracycline, bisphénol A, 17 β -œstradiol.

Abstract and Key words

Industrialisation, the use of numerous chemical products in domestic activities and the use of medicine drugs have led to the release in the environment of various substances named "emerging pollutants". The existing wastewater treatments are not designed to eliminate this kind of pollution and then these pollutants are released into the natural aquatic media. To limit the release of these compounds by wastewater treatment plant effluent, a solution could be the use of additional treatment processes such as advanced oxidation processes.

In this context, the European project Clean Water has started in 2009. Clean Water involves 7 entities including the GEPEA laboratory-Ecole des Mines de Nantes. The aim of the Clean Water project is to develop sustainable and cost effective water treatment and detoxification processes using TiO₂ nanomaterials with UV-visible light response under solar light. These processes act to remove emerging contaminants such as endocrine disruptors and pharmaceuticals. The final objective of the project is to provide additional ways to purify and treat water for human consumption and to lower the impacts on natural media. In this program, the GEPEA laboratory is concerned with the evaluation of the efficiency of novel photocatalysts under UV and visible irradiations for the elimination of emerging pollutants. For this purpose, an experimental methodology was established to express the efficiency of the tested catalysts in terms of degradation kinetic constants, pollutants conversion and mineralisation and also in terms of the intermediate products formed. The efficiency of photocatalysts is also evaluated in terms of intermediates biodegradability, toxicity and endocrine disruption effects.

First, the experimental methodology was tested on the degradation of tetracycline with a reference catalyst. Then, it was applied to the degradation of bisphenol A and estradiol respectively with the reference catalyst and the catalysts developed within the Clean Water Project. The results obtained on the tetracycline degradation have showed that i) tetracycline intermediate products are less toxic than tetracycline, ii) the intermediates structure is similar to that of tetracycline, this can explain the low biodegradability observed for these intermediates. For the degradation of bisphenol A and estradiol, the results showed that i) the photocatalysts are efficient under simulated solar irradiation. However, the catalyst photocatalytic efficiency depends on the compound to be degraded, ii) the nature of the bisphenol A reaction intermediates identified depends on the catalyst used, iii) the estrogenic effect of the estradiol treated solution persists during the photocatalytic treatment.

Key words: photocatalysis, solar irradiation, intermediates of reaction, toxicity, estrogenic effect, tetracycline, bisphenol A, estradiol

Table des matières

| | |
|---|----|
| Introduction générale | 31 |
| Chapitre I : Polluants émergents | 37 |
| I. Introduction | 39 |
| II. Concept de polluant émergent | 40 |
| III. Voies d'entrée et rémanence dans l'environnement | 41 |
| III.1. Aspects généraux | 41 |
| III.2. Cas des antibiotiques : exemple de la tétracycline..... | 43 |
| III.3. Cas des composés industriels : exemple du bisphénol A..... | 45 |
| III.4. Cas des hormones naturelles et de synthèse : exemple de la 17 β -œstradiol | 46 |
| III.5. Conclusion sur les voies d'entrée et rémanence dans l'environnement..... | 47 |
| IV. Impact sur les êtres vivants et l'environnement..... | 47 |
| IV.1. Effets potentiels sur la faune et la flore..... | 47 |
| IV.2. Effets potentiels sur l'homme | 49 |
| V. Méthodes de détection et d'analyse des polluants émergents | 49 |
| V.1. Méthodes physico-chimiques..... | 50 |
| V.1.1 La chromatographie en phase gazeuse | 51 |
| V.1.2 La chromatographie en phase liquide | 51 |
| V.1.3 Les modes de détection..... | 51 |
| V.1.4 Choix des méthodes pour l'analyse des molécules modèles | 53 |
| V.2. Tests biologiques..... | 54 |
| V.2.1 Bioessais de toxicité | 54 |
| V.2.2 Bioessais pour la perturbation endocrinienne..... | 54 |
| V.2.3 Conclusion sur les tests biologiques | 58 |
| V.3. Conclusion sur les méthodes d'analyse et de détection des polluants émergents..... | 58 |
| VI. Réglementation | 59 |
| VI.1. Réglementation dans l'Union Européenne (UE)..... | 59 |
| VI.2. Réglementation en France..... | 61 |
| VII. Procédés d'oxydation avancée | 61 |
| VII.1. La photocatalyse hétérogène: description et principe..... | 62 |
| VII.1.1 Facteurs influençant l'efficacité de la photocatalyse..... | 64 |

| | |
|---|-----------|
| VII.1.2 Amélioration des performances des matériaux..... | 67 |
| VII.2. Application de la photocatalyse au traitement de l'eau | 70 |
| VII.2.1 Traitement de la tétracycline par photocatalyse | 70 |
| VII.2.2 Traitement du bisphénol A par photocatalyse | 71 |
| VII.2.3 Traitement de la 17 β -œstradiol par photocatalyse..... | 74 |
| VII.2.4 Conclusion sur l'étude de l'application de la photocatalyse au traitement de la tétracycline, du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol | 74 |
| VIII. Conclusion et objectifs de l'étude | 75 |
| | |
| Chapitre II : Approche méthodologique..... | 79 |
| I. Introduction | 81 |
| II. Démarche générale | 81 |
| III. Composés modèles..... | 82 |
| IV. Caractéristiques des matériaux photocatalytiques | 83 |
| IV.1. Les catalyseurs à base de dioxyde de titane dopés à l'azote | 84 |
| IV.2. Le catalyseur à base de dioxyde de titane et d'oxyde de graphène..... | 84 |
| IV.3. Les catalyseurs à base de TiO ₂ élaboré par voie sol-gel | 85 |
| V. Tests de dégradation photocatalytique | 85 |
| V.1. Description des réacteurs photocatalytiques | 85 |
| V.1.1 Réacteur photocatalytique de laboratoire à lampe UV | 85 |
| V.1.2 Réacteur photocatalytique à irradiation solaire simulée..... | 86 |
| V.2. Caractérisation de l'intensité..... | 87 |
| V.2.1 Irradiance à 365 nm | 87 |
| V.2.2 Spectre d'émission..... | 88 |
| V.2.3 Mesure du flux photonique..... | 92 |
| VI. Méthodes de quantification et d'identification | 96 |
| VI.1. Quantification par chromatographie liquide haute performance/UV..... | 96 |
| VI.1.1 Présentation de l'appareillage et conditions d'analyse | 96 |
| VI.1.2 Validation de la méthode d'analyse HPLC/UV..... | 97 |
| VI.2. Identification des intermédiaires | 99 |
| VI.2.1 Identification des intermédiaires par HPLC/UV | 99 |
| VI.2.2 Identification des intermédiaires par CL-SM/SM | 99 |

| | |
|--|------------|
| VII. Test de biodégradabilité | 102 |
| VII.1. Principe du test de Sturm..... | 103 |
| VII.2. Préparation des boues activées | 105 |
| VII.3. Préparation des solutions constituant le media de Sturm | 105 |
| VII.4. Dispositif expérimental du test de Sturm..... | 106 |
| VIII. Effet des composés sur les êtres vivants..... | 107 |
| VIII.1. Effet sur l'activité déshydrogénase des <i>Pseudomonas</i> | 108 |
| VIII.2. Evaluation de l'effet œstrogénique..... | 109 |
| VIII.2.1 Essais de perturbation endocrinienne..... | 109 |
| VIII.2.2 Interprétation des résultats | 110 |
| IX. Conclusion..... | 111 |
| | |
| Chapitre III : Dégradation photocatalytique de la tétracycline | 115 |
| I. Contexte et objectifs | 117 |
| II. Dégradation photocatalytique de la tétracycline | 117 |
| II.1. Conditions expérimentales particulières | 117 |
| II.2. Cinétique de dégradation..... | 118 |
| III. Etude de l'impact environnemental des intermédiaires réactionnels | 119 |
| III.1. Evaluation de la biodégradabilité des intermédiaires réactionnels | 120 |
| III.1.1 Dispositif et conditions expérimentales de biodégradation | 120 |
| III.1.2 Validation du dispositif expérimental..... | 120 |
| III.1.3 Résultats et discussion sur la biodégradabilité des intermédiaires | 121 |
| III.2. Toxicité des intermédiaires réactionnels..... | 122 |
| III.2.1 Toxicité sur la biomasse | 123 |
| III.2.2 Effet sur l'activité enzymatique des bactéries de type <i>P. aeruginosa</i> | 124 |
| III.2.3 Résultats et discussion sur l'étude de la toxicité des intermédiaires réactionnels | 126 |
| III.3. Conclusion sur l'étude de l'impact environnemental des intermédiaires | 127 |
| IV. Identification des intermédiaires réactionnels : mécanisme de formation | 127 |
| IV.1. Optimisation des paramètres de la SM/SM..... | 128 |
| IV.2. Conditions chromatographiques de l'analyse CL-SM/SM | 130 |
| IV.3. Modes d'acquisitions SM/SM..... | 130 |

| | |
|--|-----|
| IV.4. Identification des intermédiaires | 130 |
| IV.5. Conclusion de l'étude sur l'identification des intermédiaires réactionnels | 138 |
| V. Conclusion sur la dégradation photocatalytique de l'hydrochlorure de tétracycline | 139 |
| Chapitre IV : Dégradation photocatalytique du bisphénol A | 143 |
| I. Contexte et objectifs | 145 |
| II. Conditions expérimentales particulières..... | 146 |
| III. Etude cinétique de la dégradation du bisphénol A sous UV | 147 |
| III.1. Comparaison des catalyseurs d'une même formulation..... | 147 |
| III.2. Modélisation des cinétiques de dégradation du BPA sous UV | 149 |
| III.2.1 Modèle cinétique d'ordre 1 | 149 |
| III.2.2 Modèle de Langmuir-Hinshelwood..... | 152 |
| III.3. Conclusion sur l'étude cinétique..... | 154 |
| IV. Efficacité des catalyseurs en termes de dégradation et de minéralisation..... | 155 |
| IV.1. Efficacité des catalyseurs sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm) | 155 |
| IV.2. Efficacité des catalyseurs sous irradiations UV | 158 |
| IV.2.1 Cinétique de dégradation sous UV | 158 |
| IV.2.2 Comparaison des efficacités obtenues sous UV et sous irradiation solaire simulée (UV-visible). | 159 |
| IV.3. Efficacité des catalyseurs sous irradiations visibles..... | 160 |
| IV.3.1 Cinétique de dégradation du BPA sous irradiation visible..... | 162 |
| IV.3.2 Comparaison des efficacités obtenues sous irradiation solaire simulée (UV-visible) et sous irradiation visible..... | 163 |
| IV.4. Conclusion sur l'efficacité des catalyseurs | 164 |
| V. Etudes des intermédiaires réactionnels..... | 164 |
| V.1. Suivi des intermédiaires réactionnels..... | 164 |
| V.2. Identification des intermédiaires réactionnels..... | 167 |
| V.3. Mécanisme réactionnel de dégradation photocatalytique du BPA | 168 |
| V.4. Conclusion sur l'étude des intermédiaires réactionnels | 169 |
| VI. Evaluation de l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels | 169 |
| VI.1. Conditions particulières spécifiques au test de perturbation endocrinienne | 170 |
| VI.2. Résultats du test évaluant l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels..... | 171 |

| | |
|---|------------|
| VI.3. Conclusion sur l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels | 173 |
| VII. Conclusion du chapitre..... | 174 |
| Chapitre V : Dégradation photocatalytique de la 17β-œstradiol..... | 177 |
| I. Contexte et objectifs | 179 |
| II. Conditions particulières d'irradiation de la 17 β -œstradiol | 179 |
| III. Efficacité des catalyseurs en termes de dégradation | 180 |
| III.1. Efficacité des catalyseurs sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μ m) | 181 |
| III.2. Efficacité des catalyseurs sous irradiations UV | 182 |
| III.2.1 Cinétique de dégradation sous UV | 183 |
| III.2.2 Comparaison des efficacités obtenues sous UV et sous irradiation solaire simulée (UV-visible) | 184 |
| III.3. Efficacité des catalyseurs sous irradiations visible | 186 |
| III.4. Conclusion sur l'efficacité des catalyseurs | 186 |
| IV. Evaluation de l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels de la 17 β -œstradiol..... | 187 |
| IV.1. Conditions particulières spécifiques du test de perturbation endocrinienne | 187 |
| IV.2. Résultats du test évaluant l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels de la 17 β -œstradiol..... | 189 |
| IV.3. Conclusion sur l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels | 193 |
| V. Etudes des intermédiaires réactionnels de la 17 β -œstradiol..... | 194 |
| V.1. Détermination des intermédiaires réactionnels par infusion..... | 195 |
| V.2. Identification des intermédiaires réactionnels..... | 196 |
| V.3. Conclusion sur l'étude des intermédiaires réactionnels de la 17 β -œstradiol..... | 200 |
| VI. Conclusion du chapitre..... | 201 |
| Conclusion générale | 205 |
| Références bibliographiques | 211 |
| Annexes | 231 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau I. 1 : Classe de polluants émergents (Barcelo, 2003) | 40 |
| Tableau I. 2 : Concentration des composés pharmaceutiques ($\mu\text{g/L}$) détectés dans les effluents des stations d'épuration (Andreozzi <i>et al.</i> , 2003)..... | 42 |
| Tableau I. 3 : Quantité d'antibiotiques vendue en Angleterre en 2000 (d'après Sarmah <i>et al.</i> , 2006)..... | 44 |
| Tableau I. 4 : Concentration en ng/L des composés phénoliques détectés dans les rivières et les sédiments des rivières de Baden-Württemberg (d'après de Bolz <i>et al.</i> , 2001)..... | 45 |
| Tableau I. 5 : Concentration en bisphénol A dans des rivières en Espagne (d'après Céspedes <i>et al.</i> , 2005)..... | 46 |
| Tableau I. 6 : Excrétion journalière des hormones stéroïdes en $\mu\text{g/L}$ (Ying <i>et al.</i> , 2002) | 46 |
| Tableau I. 7 : Concentrations en œstrone (E1), 17β -œstradiol (E2), œstriol (E3) et 17α -éthinyloœstradiol (EE2) dans quatre stations de traitement des eaux résiduaires à Paris et pourcentages d'élimination (%) (d'après Cargouët <i>et al.</i> , 2004) | 47 |
| Tableau I. 8 : Exemples d'effets avérés des polluants émergents | 48 |
| Tableau I. 9 : Exemples de méthodes d'analyse utilisées pour le bisphénol A, la 17β -œstradiol et la tétracycline | 53 |
| Tableau I. 10 : Exemples de tests biochimiques développés pour la détection des perturbateurs endocriniens (Chang <i>et al.</i> , 2009) | 55 |
| Tableau I. 11 : Exemples de tests sur les cellules développés pour la détection des perturbateurs endocriniens | 56 |
| Tableau I. 12 : Exemple d'espèces utilisées comme indicateur d'activité œstrogénique (d'après Campbell <i>et al.</i> , 2006 | 57 |
| Tableau I. 13 : Sous-produits du Bisphénol A obtenus après traitement photocatalytique | 73 |
| | |
| Tableau II. 1 : Caractéristiques des matériaux photocatalytiques | 85 |
| Tableau II. 2 : Conditions d'irradiation des catalyseurs..... | 91 |
| Tableau II. 3 : Valeurs du flux photonique émis par le simulateur solaire et reçu dans le réacteur selon les gammes d'irradiation..... | 95 |
| Tableau II. 4 : Conditions chromatographiques utilisées pour l'étude de la tétracycline, du bisphénol A et de la 17β -œstradiol..... | 97 |
| Tableau II. 5 : Test de linéarité | 98 |
| Tableau II. 6 : Limites de détection et de quantification de la tétracycline, du bisphénol A et de la 17β -œstradiol par HPLC/UV | 98 |
| Tableau II. 7 : Paramètres de nébulisation/désolvation optimisés en infusion..... | 102 |

| | |
|--|-----|
| Tableau II. 8 : Tests de biodégradation normalisés (OECD, 1993) | 104 |
| Tableau II. 9 : Composition du media de Sturm | 105 |
| Tableau II. 10 : Composition des réacteurs dans le test de Sturm | 107 |
| Tableau II. 11 : Description des échantillons lors de l'évaluation de l'effet œstrogénique ... | 110 |
| Tableau III. 1 : Conditions opératoires pour l'analyse en chromatographie liquide (HPLC/UV) | 118 |
| Tableau III. 2 : Composition des réacteurs et objectifs visés pour chacun des réacteurs | 120 |
| Tableau III. 3 : Masse (en mg) de CO ₂ produite dans chaque réacteur à la fin du test de Sturm | 122 |
| Tableau III. 4 : Masse de CO ₂ produite dans chaque réacteur à la fin du test de toxicité (15 jours) et % de biodégradation du benzoate de sodium (BS) correspondant..... | 124 |
| Tableau III. 5 : Réalisation du test sur la mesure de l'effet de la TC et de ses sous-produits sur l'activité enzymatique des bactéries <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 125 |
| Tableau III. 6 : Exemples d'études sur la tétracycline utilisant la spectrométrie de masse en tandem | 129 |
| Tableau III. 7 : Paramètres de nébulisation/désolvatation pour l'analyse CL-SM/SM..... | 129 |
| Tableau III. 8 : Ions parents présents dans les échantillons prélevés pendant la photocatalyse, ions fragments associés et énergies de collision respectives..... | 131 |
| Tableau IV. 1 : Conditions d'analyse en HPLC/UV du bisphénol A..... | 146 |
| Tableau IV. 2 : Conditions d'irradiation des catalyseurs pour la dégradation photocatalytique du BPA | 147 |
| Tableau IV. 3 : Caractéristiques des matériaux photocatalytiques utilisés pour la dégradation photocatalytique du BPA | 147 |
| Tableau IV. 4 : Pourcentages de conversion et de minéralisation du BPA sous UV après 4 heures d'irradiation avec les catalyseurs ECT | 148 |
| Tableau IV. 5 : Pourcentages de conversion et de minéralisation du BPA sous UV après 6 heures d'irradiation avec les catalyseurs dopés à l'azote (N1 et N2)..... | 148 |
| Tableau IV. 6 : Constantes du modèle de L-H pour le BPA avec les catalyseurs P25, ECT2-1023t et N1-TiO ₂ | 153 |
| Tableau IV. 7 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentage de dégradation et de minéralisation du BPA sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 µm)..... | 156 |
| Tableau IV. 8 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentages de dégradation et de minéralisation du BPA sous irradiation UV (280-400 nm)..... | 159 |
| Tableau IV. 9 : Conditions expérimentales de la dégradation photocatalytique du BPA dans le | |

| | |
|--|-----|
| visible | 161 |
| Tableau IV. 10 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentage de dégradation et de minéralisation du BPA lorsque le miroir à bande passante 420-630 nm est utilisé..... | 162 |
| Tableau IV. 11 : Intermédiaires formés en UV-visible et en UV..... | 165 |
| Tableau IV. 12 : Intermédiaires réactionnels de la dégradation photocatalytique du BPA rencontré en littérature | 168 |
| Tableau IV. 13 : Description des échantillons lors de l'évaluation de l'effet œstrogénique . | 170 |
| Tableau IV. 14 : Pourcentage de minéralisation et de conversion du BPA dans les échantillons testés pour évaluer l'effet œstrogénique..... | 171 |
| Tableau IV. 15 : Résultats du test sur l'effet œstrogénique des intermédiaires réactionnels du BPA générés lors de la dégradation photocatalytique du BPA sous UV | 174 |
| | |
| Tableau V. 1 : Conditions d'analyse en HPLC/UV de la 17β-œstradiol | 180 |
| Tableau V. 2 : Conditions expérimentales de l'irradiation de la solution l'E2..... | 180 |
| Tableau V. 3 : Caractéristiques des matériaux photocatalytiques utilisés pour la dégradation photocatalytique de l'E2..... | 180 |
| Tableau V. 4 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentage de dégradation de l'E2 sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm)..... | 182 |
| Tableau V. 5 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentage de dégradation de l'E2 sous irradiation UV (280-400 nm) | 184 |
| Tableau V. 6 : Description des échantillons lors de l'évaluation de l'effet œstrogénique..... | 188 |
| Tableau V. 7 : Concentration en E2, pourcentage de minéralisation et de conversion de l'E2 dans les échantillons testés pour évaluer l'effet œstrogénique | 189 |
| Tableau V. 8 : Résultats du test sur l'effet œstrogénique des intermédiaires réactionnels de l'E2 générés lors de la dégradation photocatalytique de l'E2 sous UV | 194 |
| Tableau V. 9 : Paramètres de nébulisation/désolvation obtenus en infusion des échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique de l'E2 | 195 |
| Tableau V. 10 : Ions parents présents dans les échantillons prélevés pendant le traitement photocatalytique de l'E2 et ions fragments majoritaires associés..... | 196 |
| Tableau V. 11 : Exemples d'intermédiaires réactionnels de la 17β-œstradiol rencontrés lors des procédés de traitement par oxydation | 197 |

Liste des figures

| | |
|---|-----|
| Figure I. 1 : Taux d'abattement de quelques classes de polluants émergents (d'après Deblonde <i>et al.</i> , 2011)..... | 43 |
| Figure I. 2 : Schéma du principe de la photocatalyse hétérogène (d'après Nakata et Fujishima, 2012)..... | 64 |
| Figure I. 3 : Influence de la concentration en polluant sur la vitesse de réaction de dégradation photocatalytique (Herrmann, 1999) | 65 |
| Figure I. 4 : Influence de l'intensité sur la vitesse de photodégradation (Ollis, 1991) | 66 |
| Figure II.1 : Démarche méthodologique générale..... | 82 |
| Figure II.2 : Structures et propriétés physico-chimiques du bisphénol A, de la tétracycline et de la 17 β -œstradiol..... | 83 |
| Figure II. 3 : Réacteur photocatalytique de laboratoire à lampe UV | 86 |
| Figure II. 4 : Réacteur photocatalytique à irradiation solaire simulée | 87 |
| Figure II. 5 : Distribution de l'irradiance à la surface du réacteur située à une distance de 23 cm (a), 26 cm (b) et 30 (c) du simulateur solaire (280-400 nm)..... | 88 |
| Figure II. 6 : Schématisation de l'angle solide fait par une source lumineuse O éclairant une surface S | 89 |
| Figure II. 7: Radiance du simulateur solaire dans les gammes de longueur d'onde d'irradiation (UV : 280-400 nm, UV-visible : 200 nm-30 μ m et visible 420-630 nm) sélectionnées en utilisant les miroirs dichroïques | 90 |
| Figure II. 8 : Comparaison du spectre d'émission du simulateur solaire dans la gamme 319-400 nm en utilisant respectivement des miroirs dichroïques à bande passante UV (280-400 nm) et à bande passante visible (420-630 nm)..... | 90 |
| Figure II. 9 : Radiance du simulateur solaire dans la gamme de longueur d'onde d'irradiation visible 420-630 nm sélectionnées en utilisant le miroir dichroïque sans le filtre à UV (visible) puis avec le filtre à UV (visible + filtre) | 91 |
| Figure II. 10 : Variation des ions Fe ²⁺ en fonction du temps dans le réacteur à lampe UV..... | 94 |
| Figure II. 11 : Variation des ions Fe ²⁺ en fonction du temps sous irradiation UV (280-400 nm), sous irradiation UV-visible (200 nm-30 μ m) (b)..... | 95 |
| Figure II. 12 : Photographie du système CL-SM/SM | 100 |
| Figure II. 13 : Schéma présentant les étapes du développement de la méthode d'analyse par CL-SM/SM..... | 100 |
| Figure II. 14 : Dispositif expérimental du test de Sturm..... | 107 |
| Figure III. 1 : Evolution de la concentration relative en tétracycline et du COD relatif au cours du traitement photocatalytique | 119 |

| | |
|--|-----|
| Figure III. 2 : Evolution du pourcentage de biodégradation du benzoate de sodium en fonction de la durée du test de Stum..... | 121 |
| Figure III. 3 : Effet de la tétracycline et de ses intermédiaires sur l'activité déshydrogénase des bactéries <i>P. aeruginosa</i> | 126 |
| Figure III. 4 : Mécanismes de formation des composés de masse molaire 460,1 | 132 |
| Figure III. 5: Fragmentation des ions parents avec m/z égale à 461,1 | 133 |
| Figure III. 6 : Mécanismes de formation des composés de masse molaire 476,1 | 134 |
| Figure III. 7 : Fragmentation des ions parents de masse m/z de 477,1 | 135 |
| Figure III. 8 : Mécanismes de formation des composés de masse molaire 458,1 | 136 |
| Figure III. 9 : Mécanisme de formation du Composé C' de masse molaire 458,1 | 136 |
| Figure III. 10 : Mécanismes de formation du composé de masse molaire 430,1 | 137 |
| Figure III. 11 : Fragmentation de l'ion parent de masse m/z égale à 431,1 | 137 |
| Figure III. 12 : Proposition d'un chemin réactionnel général de la dégradation photocatalytique de l'hydrochlorure de tétracycline dans les conditions de l'étude..... | 139 |
| | |
| Figure IV. 1 : Cinétiques de dégradation photocatalytique du BPA sous UV (280-400 nm) avec les catalyseurs ECT (a) et les catalyseurs dopés à l'azote (N-TiO ₂) (b)..... | 148 |
| Figure IV. 2 : Modélisation de la dégradation du BPA sous UV par une cinétique d'ordre 1 avec le catalyseur P25 (a), l'ECT-1023 t (b) et le N1-TiO ₂ (c)..... | 151 |
| Figure IV. 3 : Evolution de la constante cinétique apparente en fonction de la concentration initiale en BPA | 151 |
| Figure IV. 4 : Evolution de la vitesse initiale de dégradation du BPA en fonction de la concentration initiale sous UV avec les catalyseurs P25 (a), ECT-1023t (b) et N1-TiO ₂ (c) | 153 |
| Figure IV. 5 : Cinétiques de dégradation du BPA (C _i = 2 mg/L) sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 µm) | 156 |
| Figure IV. 6 : Cinétiques de dégradation du BPA (C _i = 2 mg/L) sous irradiation UV (280-400 nm)..... | 158 |
| Figure IV. 7 : Constantes cinétiques apparentes de la réaction de dégradation du BPA sous irradiation UV (280-400 nm) et sous UV-visible (200 nm-30 µm)..... | 159 |
| Figure IV. 8 : Spectre d'émission du simulateur solaire en utilisant respectivement les miroirs dichroïques à bande passante UV-visible (200 nm-30 µm) et bande passante UV (280-400 nm) | 160 |
| Figure IV. 9 : Spectre d'émission du simulateur solaire dans la gamme 320-400 nm en utilisant respectivement les miroirs dichroïques à bande passante UV-visible (200 nm-30 µm) et à bande passante visible (420-630 nm) | 161 |
| Figure IV. 10 : Cinétiques de dégradation du BPA (C _i = 2 mg/L) lorsque le miroir à bande | |

| | |
|--|-----|
| passante 420-630 nm est utilisé..... | 162 |
| Figure IV. 11 : Pourcentages de dégradation (a) et constantes cinétiques apparentes de la réaction de dégradation du BPA (b) sous UV-visible et sous le visible | 163 |
| Figure IV. 12 : Suivi de la formation des intermédiaires réactionnels du BPA sous irradiation UV-visible avec les catalyseurs P25 (a) et ECT2-1023t (b) ([BPA] _i = 2 mg/L)..... | 166 |
| Figure IV. 13 : Suivi de la formation des intermédiaires réactionnels du BPA sous irradiation UV avec les catalyseurs P25 (a) et ECT2-1023t (b) ([BPA] _i = 2 mg/L)..... | 167 |
| Figure IV. 14 : Chemin réactionnel proposé pour la dégradation photocatalytique du BPA | 169 |
| Figure IV. 15 : Fluorescence des alevins exposés aux échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique avec le catalyseur P25 échantillon pur (a) et échantillon dopé à la testostérone (b) (NS : non significatif ($p \geq 0,05$), * : significatif ($p < 0,05$), *** : extrêmement significatif ($p < 0,001$), EE2 : éthynyl-œstradiol)..... | 172 |
| Figure IV. 16 : Fluorescence des alevins exposés aux échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique avec le catalyseur ECT2-1023t, échantillon pur (a) et échantillon dopé à la testostérone (b) (NS : non significatif ($p \geq 0,05$), * : significatif ($p < 0,05$), *** : extrêmement significatif ($p < 0,001$), EE2 : éthynyl-œstradiol)..... | 173 |
| | |
| Figure V. 1 : Cinétiques de dégradation de l'E2 ($1 \text{ mg/L} \leq C_i \leq 1,2 \text{ mg/L}$) sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm) | 182 |
| Figure V. 2 : Cinétiques de dégradation de l'E2 ($1 \text{ mg/L} \leq C_i \leq 1,2 \text{ mg/L}$) sous irradiation UV (280-400 nm)..... | 183 |
| Figure V. 3 : Constantes cinétiques apparentes de la réaction de dégradation de l'E2 sous irradiation UV (280-400 nm) et sous UV-visible (200 nm-30 μm)..... | 185 |
| Figure V. 4 : Fluorescence des alevins exposés aux échantillons traités avec le catalyseur P25 échantillon pur (a) et échantillon dopé à la testostérone (b) (NS : non significatif ($p \geq 0,05$), * : significatif ($p < 0,05$), *** : extrêmement significatif ($p < 0,001$)). EE2 : éthynyl-œstradiol et PrChl : prochloraz | 190 |
| Figure V. 5 : Fluorescence des alevins exposés aux échantillons traités avec le catalyseur ECT2-1023t échantillon pur (a) et échantillon dopé à la testostérone (b) (NS : non significatif ($p \geq 0,05$), * : significatif ($p < 0,05$), *** : extrêmement significatif ($p < 0,001$)). EE2 : éthynyl-œstradiol et PrChl : prochloraz..... | 190 |
| Figure V. 6 : Structure possible pour le composé de masse molaire 288 | 198 |
| Figure V. 7 : Structure possible pour le composé de masse molaire 304 | 199 |
| Figure V. 8 : Structure possible pour le composé de masse molaire 320 | 200 |
| Figure V. 9 : Mécanisme et chemin réactionnel proposés pour la dégradation photocatalytique de la 17 β -œstradiol | 201 |

Nomenclature

Abréviations

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
APCI : « Atmospheric Pressure Chemical Ionisation »
BaCl₂ : Chlorure de baryum
BaCO₃ : carbonate de baryum
Ba(OH)₂ : Dihydroxyde de baryum
BPA : Bisphénol A
BP : butylphenol
C : Concentration
CdS : Cadmium Sulfide
CG×CG : chromatographie gazeuse multidimensionnelle
CG : Chromatographie en phase gazeuse
CGHR : Chromatographie en phase gazeuse à haute résolution
CI : Ionisation Chimique
CI : Carbone Inorganique
CID : « Collision Induced Dissociation »
CL : Chromatographie en phase Liquide
CLL : Chromatographie Liquide Liquide
CLHP : Chromatographie en phase Liquide Haute Performance
CO : Carbone Organique
COD : Carbone Organique Dissous
CO₂ : Dioxyde de carbone
DAD : Détection à barette de diodes
DBO : Demande Biochimique en Oxygène
DCO : Demande Chimique en Oxygène
DDT : DichloroDiphénylTrichloroéthane
EE2 : 17 α-Ethinylœstradiol
E2 : œstradiol
E3 : œstriol
ECD : détecteur à capture d'électron
ED : Eau Déminéralisée
EDTA : acide éthylènediaminetétraacétique
ELISA : « Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay »
ELRA : « Enzyme-linked receptor assay »
E_p : flux photonique
ERE: Evaluation du Risque Environnemental
ESI : Ionisation « ElectroSpray »
FE : facteur équivalent
Fe : Valeur de Fischer correspondant à Erreur expérimentale
Freg : Valeur de Fischer correspondant à la régression
Fem : Valeur de Fischer correspondant l'erreur du modèle
FEDESA : Fédération Européenne de la Santé Animale

FID : détecteur à ionisation de flamme
H : Hauteur du pic
 h_{\max} : Amplitude maximale du bruit
H₂O : Eau
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
Hcl : Chlorure d'hydrogène
HTP : heptylphenol
IE : Ionisation par Impact Electronique
IMS : Statistique internationale des médicaments
INT : chlorure de 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophényl)-5-phényltétrazolium
I : Intensité
 I_e : Intensité énergétique
Le : Radiance
LLE : « Liquid Liquid Extraction »
LD : Limite de détection
 $\log K_{ow}$: Coefficient de partage octanol/eau
LQ : Limite de quantification
MeOH : Méthanol
MES : Matières En Suspension
mL : millilitre
MRM : « Multi Reaction Monitoring »
N : Normalité
NP : nonylphénol
NP1EO : monoéthoxylate de nonylphénol
NP2EO : diéthoxylate de nonylphénol
NP4EO : tétraéthoxylate de nonylphénol
OP : octylphénol
O₃ : Ozone
OECD : Organisation de Coopération et de Développement Economiques
PAO : Procédé d'oxydation avancé
PE : Perturbateur Endocrinien
PID : Détecteur à photoionisation
PNSE: Plan National Santé Environnement
PNRM: Plan national sur les Résidus Médicamenteux
 P_{zc} : Point de charge nulle
REACH : « Registration, Evaluation and Authorization of Chemicals. Enregistrement »
RIANA : « River ANALysis »
SM : Spectrométrie de Masse
SMHR : Spectrométrie de Masse Haute Résolution
SM/SM : Spectrométrie de Masse en tandem
SPE : « Solid Phase Extraction »
SPME : « Solid Phase Micro Extraction »
STEP : STation d'EPuration
TiO₂ : Dioxyde de titane

TC : Tétracycline
TRIS : Trishydroxyméthylaminométhane
UV : Ultra-Violet
UE : Union Européenne
 V_e : Erreur expérimentale
 V_{em} : Variance due à l'erreur du modèle
 V_{reg} : Variance due à la régression
V : Volume
VTG : Vitellogénine
YES : «Yeast Recombination Assay»

Lettres grecques

ϕ_e : Flux énergétique,
 Ω : Angle solide
 Φ : Rendement quantique

Introduction générale

Le développement de l'industrie, de l'agriculture et la croissance de la population conduit à l'utilisation de nombreuses substances chimiques. Avec l'amélioration de la surveillance et les progrès réalisés en matière d'analyse environnementale, la présence d'un bon nombre de ces composés chimiques dits « polluants émergents » est mise en évidence dans les différentes matrices (air, eau et sol). Ainsi, certaines classes de ces polluants ont été constituées selon leur origine parmi lesquels les médicaments et résidus de médicaments, les hormones naturelles, et certains produits chimiques issus de l'activité humaine et industrielle (Barcelo, 2003). Ces polluants ont fait l'objet de recherches ces dernières années montrant des effets défavorables sur la faune et parfois sur l'Homme malgré leurs faibles concentrations. Les hormones à l'exemple de la 17β -œstradiol et les produits industriels tels que le bisphénol A peuvent causer des effets de perturbations endocriniennes chez les Hommes et les animaux. De plus, l'exposition prolongée aux antibiotiques entraîne des microbes pathogènes résistants (Birkett et Lester, 2003, Martinez, 2009).

Les voies d'entrée de ces polluants dans les compartiments environnementaux sont diverses. Elles peuvent provenir des sources ponctuelles telles que les effluents de station d'épuration, des eaux usées industrielles ou encore de lixiviats de décharge. Elles peuvent aussi provenir de sources diffuses telles que des eaux de ruissellement, le lessivage des sols ou l'infiltration de lixiviats. Les stations d'épuration reçoivent un large spectre de substances qui ne sont pas totalement éliminées tout au long de la filière des procédés de traitement. Dans les effluents, un mélange complexe de molécules, incluant les métabolites, est finalement rejeté dans le milieu récepteur. Les effluents de station d'épuration sont considérés comme une source majeure de pollution pour les polluants émergents (Cargouët *et al.*, 2004). Ainsi, de nombreuses recherches sont effectuées afin de développer des procédés de traitement additionnels efficaces et écologiques pour éliminer ces polluants émergents.

Les procédés d'oxydation avancée (POA) se sont révélés être des traitements efficaces pour l'élimination des composés récalcitrants aux traitements conventionnels des stations d'épuration. Les POAs les plus étudiés sont la photocatalyse hétérogène mettant en œuvre des catalyseurs à base de dioxyde de titane (TiO_2), l'ozonation et le procédé photo-Fenton.

La photocatalyse hétérogène mis en œuvre avec l'irradiation solaire est un domaine en développement et de nombreux travaux ont pour objet l'optimisation de systèmes utilisant la lumière solaire (Robert et Malato, 2002, Goetz *et al.*, 2009). L'effort est porté d'une part sur l'augmentation de la sensibilité des photocatalyseurs dans le domaine UV, et d'autre part sur le déplacement ou l'augmentation de la gamme d'activation spectrale de ces photocatalyseurs dans le visible.

Le présent travail de thèse fait partie intégrante du projet Européen Clean Water. Ce projet associant 7 entités dont le GEPEA-Ecole des Mines de Nantes a démarré en 2009. Le concept du projet est de développer des procédés photocatalytiques mettant en œuvre des nanomatériaux rendus actifs sous irradiations UV-Visible telles que la lumière du soleil. Dans ce programme, le laboratoire GEPEA est concerné par l'évaluation de l'efficacité des matériaux vis-à-vis de l'élimination des polluants émergents sous irradiations UV et visibles. Aussi, les travaux présentés dans ce mémoire ont pour objectifs d'établir une méthodologie expérimentale de façon à exprimer les performances des catalyseurs testés en termes de constantes cinétiques de dégradation, de taux de conversion et de minéralisation des molécules étudiées mais aussi en fonction de la formation de produits intermédiaires. Ces performances sont également évaluées en termes d'effet global tel que la toxicité, la biodégradabilité, et l'effet de perturbation endocrinienne des molécules étudiées et des intermédiaires réactionnels formés.

Ce manuscrit de thèse est divisé en cinq chapitres. Le premier chapitre présente une étude bibliographique ciblée tout d'abord sur les polluants émergents, leurs effets sur les êtres vivants et les niveaux de concentration rencontrés dans l'environnement. Puis, les méthodes utilisées pour suivre ces composés et évaluer leurs effets (méthodes physico-chimiques et biologiques) sont présentées. En fin de ce premier chapitre, la photocatalyse en tant que procédé de traitement appliqué aux polluants émergents est abordée. Les facteurs influençant le procédé sont énumérés et des exemples d'intermédiaires réactionnels rencontrés dans les procédés d'oxydation des composés modèles retenus pour ce travail de thèse sont donnés.

Le second chapitre présente la méthodologie mise en place pour évaluer l'efficacité des catalyseurs. Dans cette méthodologie, la performance des catalyseurs testés est exprimée en termes de constantes cinétiques de dégradation, de taux de conversion et de minéralisation des molécules étudiées mais aussi en fonction de la biodégradabilité et des effets (toxicité, perturbation endocrinienne) des produits intermédiaires. Ce chapitre présente également les méthodes développées et le matériel expérimental mis en œuvre pour répondre aux objectifs de la méthodologie générale. Le réacteur photocatalytique et le simulateur solaire sont décrits, les méthodes utilisées pour évaluer respectivement la biodégradabilité, la toxicité et l'effet œstrogénique des molécules étudiées et de leurs intermédiaires sont présentées. Les méthodes d'analyse de chromatographie liquides couplées respectivement au détecteur UV et à la spectrométrie de masse en tandem sont également décrites. Les méthodes analytiques notamment la chromatographie liquides couplées à la spectrométrie de masse en tandem ont

été élaborées en collaboration avec l'Institut Départemental d'Analyse et de Conseil de Loire Atlantique (IDAC).

Dans le troisième chapitre, la méthodologie mise en place est testée sur la dégradation de la tétracycline en utilisant un catalyseur de référence. La dégradation photocatalytique de ce composé est étudiée en termes de pourcentage de conversion, d'effet toxique et de la biodégradabilité des intermédiaires réactionnels. Le mécanisme réactionnel de la dégradation photocatalytique de la tétracycline est également étudié.

Dans les chapitres 4 et 5, la méthodologie pour évaluer l'efficacité des catalyseurs élaborés dans le cadre du projet Clean Water est appliquée au bisphénol A et à la 17 β -œstradiol. La dégradation photocatalytique de ces composés est étudiée en termes de constante cinétique de dégradation, de pourcentage de conversion, d'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels. Puis, l'activité photocatalytique des catalyseurs pour la dégradation du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol est comparée. Les mécanismes réactionnels de la dégradation photocatalytique respective du bisphénol et de la 17 β -œstradiol sont aussi étudiés.

Chapitre I : Polluants émergents

I. Introduction

Ce premier chapitre introduit la problématique des polluants émergents. Les voies d'entrée de ces contaminants dans l'environnement, les niveaux de concentration rencontrés dans les milieux récepteurs, ainsi que les effets probables que ces composés peuvent avoir sur les êtres vivants sont présentés. Pour la plupart des polluants émergents, il existe peu de données relatives à l'évaluation des risques pour la faune et l'Homme. Il est aussi difficile de prédire leur devenir dans l'environnement aquatique. Le développement des recherches sur le comportement et les impacts sur l'environnement de ces molécules s'est donc récemment accru. Il en ressort une présence évidente de ces produits dans les milieux terrestres et aquatiques et aussi que les effluents des stations d'épuration sont une source majeure de pollution. Aussi, pour limiter le rejet des polluants émergents, une solution serait l'utilisation de traitement additionnel tel que la photocatalyse hétérogène. Ce procédé est étudié dans ce travail de thèse partie intégrante du projet Clean water qui a pour objectif de développer des procédés photocatalytiques mettant en œuvre des nanomatériaux rendus actifs sous irradiations UV-Visible.

L'objectif de ce travail de thèse est d'évaluer l'efficacité des catalyseurs élaborés dans le cadre du projet Clean Water en utilisant une méthodologie qui exprime les performances des catalyseurs en termes de constantes cinétiques de dégradation, de taux de conversion et de minéralisation des molécules étudiées mais aussi en fonction de la formation des produits intermédiaires et de leur possible impact environnemental. Pour répondre à cet objectif, il est nécessaire de développer des méthodes d'analyse. Aussi, dans une deuxième partie de ce chapitre bibliographique, les méthodes analytiques physico-chimiques et biologiques appliquées aux polluants émergents sont également abordées. En effet, s'il est indispensable d'identifier et quantifier les polluants dans l'environnement pour estimer le niveau de contamination, il s'agit également d'être en mesure d'évaluer l'impact sur la faune et la flore ainsi que sur l'homme.

Enfin, en troisième partie de ce chapitre, la photocatalyse et son utilisation en tant que procédé de traitement sont présentées. Les facteurs influençant l'efficacité du procédé ainsi que des exemples d'études faites sur le traitement photocatalytique des polluants retenus pour la suite de ce travail sont également présentés. L'objectif ici est d'une part, identifier les facteurs qui vont influencer l'efficacité des catalyseurs élaborés dans le projet « Clean Water » et d'autre part avoir des données sur la dégradation photocatalytique des polluants émergents étudiés dans ce travail de thèse.

II. Concept de polluant émergent

Les composés dits « polluants émergents » ne sont pas pour la plupart d'utilisation récente. Ce sont très souvent des composés retrouvés dans l'environnement du fait de l'amélioration de la surveillance et du développement des techniques analytiques. En effet, grâce aux avancés technologiques et au progrès des méthodes d'analyse, de nombreux composés sont détectés dans les différentes matrices environnementales. Pour grand nombre de ces composés, il existe peu de données relatives à leur devenir, leur comportement dans l'environnement et les effets probables qu'ils peuvent avoir sur les êtres vivants ne sont pas encore bien définis.

Le terme « polluants émergents » regroupe des composés de nature chimique ou biologique qui peuvent être d'origine industrielle, agricole, domestique ou naturelle. Peuvent être classés comme polluants émergents les stéroïdes, les médicaments à usage humain ou vétérinaire, les produits de dégradation de détergents non ioniques, les désinfectants, les phtalates etc... (Tableau I. 1). La liste de polluants qualifiés d'émergent ne cesse d'évoluer ; une liste non exhaustive est également fournie sur le site du Norman Network (Norman, 2011).

Tableau I. 1 : Classe de polluants émergents (Barcelo, 2003)

| | Exemples de composé |
|---------------------------------------|---|
| Produits pharmaceutiques | |
| Antibiotiques | Triméthoprim, érythromycine, lincomycine, sulfaméthoxazole |
| Analgésiques, anti-inflammatoires | Codéine, ibuprofène, acétaminophène, aspirine, diclofénac, fénoprophène |
| Médicaments psychotiques | Diazépam |
| Régulateurs de lipide | Bézafibrate, acide clorifibrique, acide fénofibrique |
| β - bloquants | Métoprolol, propanolol, timolol |
| Stéroïdes et hormones | (Estradiol, œstrone, œstriol, diéthylstilbestrol |
| Produits à usage ménager | |
| Parfums | Polycyclique, macrocyclique |
| Produits solaires | Benzophénone, méthylbenzylidène |
| Insecticides | N,N-diéthyltoluamide |
| antiseptiques | Triclosan, chlorophène |
| Les tensioactifs et leurs métabolites | Ethoxylates d'alkylphénol, 4-nonylphénol, 4-octylphénol, carboxylates d'alkylphénol |
| Produits à retard de flamme | Ethers diphényliques polybromés, tétrabromobisphénol A |
| Additifs industriels | Agents chélatant (EDTA), sulfate aromatique |
| Additifs d'essence | Dialkyl d'éther, méthyl-ter-butyl éther (MTBE) |

III. Voies d'entrée et rémanence dans l'environnement

III.1. Aspects généraux

Les polluants entrent dans l'environnement par deux grandes voies qui sont les sources ponctuelles et les sources diffuses :

- Les sources ponctuelles sont des points d'entrée fixes des contaminants ; elles sont plus faciles à maîtriser. Les sources ponctuelles peuvent être : des effluents des stations d'épuration, des eaux usées industrielles, des eaux usées domestiques et des lixiviats des décharges.
- Les sources diffuses quant à elles ne constituent pas des points fixes d'entrée, elles sont ainsi moins faciles à contrôler. Les voies d'entrées dites sources diffuses sont par exemple, les eaux de ruissellement, le lessivage des sols et les eaux souterraines.

Les effluents des stations d'épuration ont été identifiés comme une des voies majeures d'entrée des polluants émergents (Farré *et al.*, 2008, Mompelat *et al.*, 2009). En effet, les traitements conventionnels des stations d'épuration ne permettent pas une élimination complète des polluants émergents. Ces derniers se retrouvent donc dans les effluents et sont rejetés dans l'environnement.

Andreozzi *et al.*, (2003) ont fait des analyses sur les effluents de stations d'épuration de différents pays en Europe (France, Grèce, Italie, Suisse). Plusieurs composés ont été détectés avec des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g/L}$. On retrouve les régulateurs des lipides, les antiphlogistiques, les antibiotiques, les antiépileptiques (Tableau I. 2).

Dans une autre étude, Deblonde *et al.*, (2011) ont collecté des données sur les concentrations en polluants émergents dans les eaux usées, dans les eaux affluant dans les STEP s et les concentrations dans les effluents de ces STEP s. Les composés visés étaient les phtalates, les produits pharmaceutiques et le bisphénol A. Les taux d'abattement pour les polluants trouvés en entrée et en sortie des STEP s sont présentés Figure I. 1. D'après les résultats présentés, la caféine est le composé le plus présent en entrée de la STEP (56,63 $\mu\text{g/L}$) et son taux d'abattement est environ de 97%. L'ofloxacin est le composé le moins présent en entrée, la concentration de ce composé varie de 0,007 à 2,275 $\mu\text{g/L}$. Le di-(2-éthylhexyle) phtalate est le phtalate le plus utilisé et ainsi le plus détecté, il a un taux d'abattement de 90%. Les analgésiques et les anti-inflammatoires ont les taux d'abattement les plus faibles, entre 30% et 40%. Les taux d'abattement des antibiotiques et du bisphénol A sont respectivement de 50% et 71% (Deblonde *et al.*, 2011). L'utilisation continue de ces

composés fait qu'ils sont fréquemment rencontrés en entrée, en sortie des STEPs, dans les eaux de surface et sont ainsi qualifiés de « pseudo-persistants ».

Tableau I. 2 : Concentration des composés pharmaceutiques ($\mu\text{g/L}$) détectés dans les effluents des stations d'épuration (Andreozzi *et al.*, 2003)

| | France | | Grèce | Italie | | | Suisse |
|-------------------------------|--------|------|-------|--------|-------|------|--------|
| | F1 | F2 | G1 | I1 | I2 | I3 | S1 |
| Régulateurs de lipide | | | | | | | |
| Gemfibrozil | 1,34 | 0,06 | 0,71 | 0,81 | 0,84 | 4,76 | 2,07 |
| Fenofibrate | 0,12 | 0,02 | 0,16 | 0,16 | 0,1 | 0,16 | nd |
| Bezafibrate | nd | 1,07 | n.d | nd | nd | 0,91 | nd |
| Clofibrate | nd | nd | 0,8 | nd | nd | nd | nd |
| Acide clorofibrique | nd | nd | nd | 0,68 | nd | 0,23 | 0,46 |
| Antiphlogistiques | | | | | | | |
| Ibuprofène | 1,82 | 0,02 | 0,05 | 0,18 | 0,02 | 0,02 | 7,11 |
| Fénoprophène | 0,28 | 0,19 | nd | nd | nd | nd | nd |
| Diclofénac | 0,41 | 0,25 | 0,89 | 0,47 | 1,48 | 5,45 | nd |
| Phénazone | nd | nd | nd | nd | 0,37 | nd | nd |
| Aminopyrine | 0,43 | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| β -Bloquants | | | | | | | |
| Acébutolol | 0,13 | 0,08 | 0,01 | 0,04 | 0,02 | 0,11 | <0,01 |
| Métoprolol | 0,08 | 0,08 | 0,1 | 0,01 | 0,01 | 0,1 | 0,39 |
| Oxprénolol | 0,05 | 0,02 | 0,01 | 0,01 | <0,01 | 0,03 | n.d |
| Propranolol | 0,01 | 0,04 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,09 | 0,01 |
| Bétaxolol | n.d | nd | nd | nd | nd | nd | nd |
| Antiépileptiques | | | | | | | |
| Carbamazépine | 0,98 | 1,20 | 1,03 | 0,30 | 0,34 | 0,50 | 0,87 |
| Antibiotiques | | | | | | | |
| Triméthoprime | 0,04 | 0,02 | 0,08 | 0,04 | 0,03 | 0,13 | 0,05 |
| Sulfaméthaxazole | 0,09 | 0,07 | 0,09 | 0,01 | n.d | 0,03 | 0,02 |
| Antibiotique-fluoroquinolones | | | | | | | |
| Oflaxacine | 0,33 | 0,51 | 0,46 | 0,58 | 0,29 | 0,31 | 0,12 |
| Lomefloxacin | 0,18 | 0,19 | 0,29 | 0,32 | 0,18 | 0,22 | 0,13 |
| Enoxacine | 0,03 | 0,01 | 0,03 | 0,03 | 0,01 | 0,03 | 0,01 |
| Norfloxacin | 0,05 | 0,08 | 0,07 | 0,07 | 0,06 | 0,06 | 0,03 |
| Ciprofloxacin | 0,06 | 0,06 | 0,07 | 0,07 | 0,06 | 0,04 | 0,03 |

F1 : station Chatillon-sur-Chalaronne, 6000 habitants nord-est de Lyon, F2 : station Pierre bénite, 475000 habitants sud de Lyon, G1 : station Iraklion, 164000 habitants Iraklion, I1 : station Latina 45000 habitants Lazio, I2 : station d'épuration au nord de Rome 400000 habitants, I3 : station d'épuration au nord-est de Naples, 900000 habitants, S1 : station Kyaverket 57500 habitants Göteborg, nd : non détecté

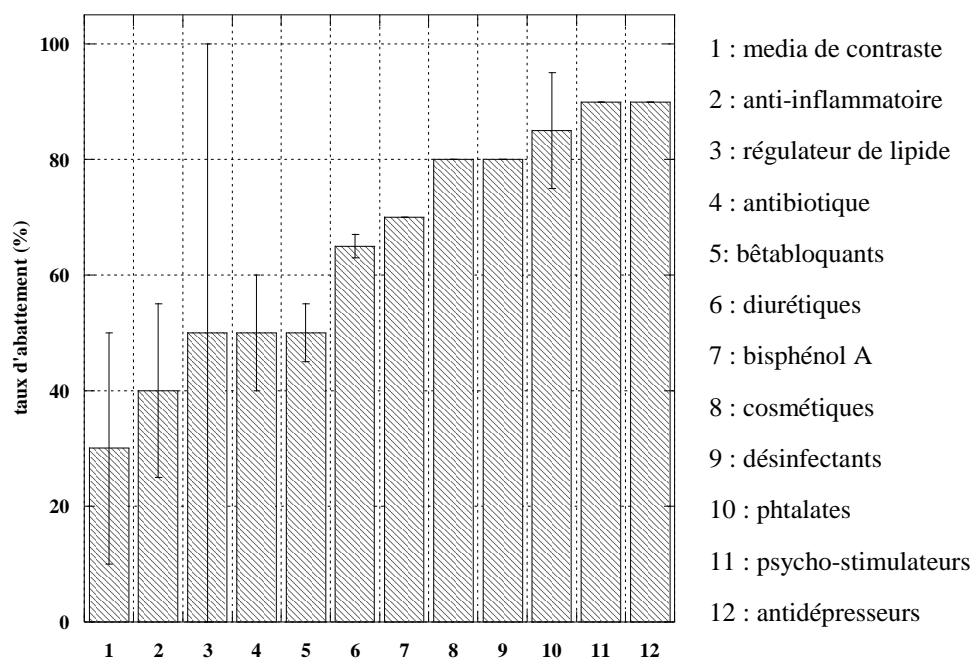


Figure I. 1 : Taux d'abattement de quelques classes de polluants émergents (d'après Deblonde *et al.*, 2011)

En plus des effluents des stations d'épuration, il existe d'autres voies d'entrée des polluants émergents dans l'environnement. Ces dernières sont souvent liées à l'utilisation des composés et à leur mode d'application. Par exemple, les antibiotiques à usage vétérinaire peuvent être dispersés par les excréments des animaux, les composés contenus dans les produits à usage ménager peuvent entrer dans l'environnement par les lixiviats des décharges municipales. Il est donc nécessaire de considérer la nature et l'utilisation des composés afin d'identifier leurs différentes voies d'entrée.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à trois grandes catégories de polluants émergents et pour chacune d'elle il a été choisi un composé modèle ; la tétracycline pour les produits pharmaceutiques, plus précisément pour les antibiotiques, le bisphénol A pour les produits industriels et la 17β -œstradiol pour les hormones. Ces composés ont été choisis pour leur niveau de rémanence dans l'environnement et leurs effets probables sur les êtres vivants.

III.2. Cas des antibiotiques : exemple de la tétracycline

Les antibiotiques sont des médicaments à usage humain et vétérinaire. Après ingestion, la plupart des antibiotiques ne sont pas complètement assimilés dans l'organisme, ils peuvent ainsi être excrétés dans les urines ou les selles en molécule-mère ou sous une forme métabolisée. Les antibiotiques utilisés pour les animaux de rente sont rejetés

directement dans le sol lorsque les animaux sont en pâturage. Ensuite, les eaux de ruissellement font office de source de propagation et de contamination.

La quantité d'antibiotique excrétée par les animaux dépend de la nature de l'antibiotique, de la dose administrée, de l'animal et de la fréquence d'utilisation de l'antibiotique. En 1999, la quantité d'antibiotique utilisée en Europe a été estimée à 13288 tonnes, 29% de ce chiffre représentant les médicaments utilisés en élevage soit environ 4000 tonnes (FEDESA, 2001). Une classification des antibiotiques à usage vétérinaire les plus utilisés en 2000 en Angleterre a été faite par Sarmah *et al.*, (2006) les données étant tirées des Statistiques Internationales des Médicament (IMS) (Tableau I. 3). Selon cette étude, les antibiotiques les plus vendus étaient : les tétracyclines, les sulfamides, les β -lactams, les macrolides, les aminoglycosides et les fluoroquinolones (Sarmah *et al.*, 2006).

Tableau I. 3 : Quantité d'antibiotiques vendue en Angleterre en 2000 (d'après Sarmah *et al.*, 2006)

| Groupe | Composés | Quantité vendue (Kg) |
|-----------------------|----------------------------|----------------------|
| Tétracyclines | Oxytétracycline | 8495 |
| | Chlorotétracycline | 6256 |
| | Tétracycline | 1517 |
| Sulfamides | Sulfadiazine | 1422 |
| | Sulfadimidine | 4933 |
| | Formosulphathiazole | 859 |
| | Sulfadoxine | 545 |
| β -lactams | Amoxicilline | 1743 |
| | Procaïne pénicilline | 7223 |
| | Procaïne benzylpénicilline | 2811 |
| | Acide clavulique | 2194 |
| | Ampicilline | 487 |
| | Benzathine pénicilline | 1363 |
| | Cloxacilline | 1324 |
| | Cephalexine | 310 |
| | Benzylpénicilline | 1273 |
| | Phénoxyéthylpénicilline | 834 |
| Aminoglycosides | Ihydrostreptomycine | 59789 |
| | Néomycine | 107 |
| | Apramycine | 466 |
| Macrolides | Tylosine | 5144 |
| Fluoroquinolones | Enrofloxacin | 799 |
| 2,4-Diaminopyrimidine | Triméthoprime | 2955 |
| Pleuromutilines | Tiamuline | 1435 |
| Lincosamides | Lincomycine | 721 |
| | Clydamycine | 688 |

En ce qui concerne la France, la quantité d'antibiotique à usage vétérinaire vendue en 2007 a été estimée à 1348,87 tonnes ; les tétracyclines sont encore les antibiotiques les plus

utilisés, elles constituent plus de la moitié des ventes (Chevance et Moulin, 2009). Du fait de leur grande utilisation, les tétracyclines se retrouvent dans l'environnement. Comme exemple des niveaux de concentration pouvant être rencontrés, environ 28 ng/l de tétracycline ont été mesurés dans les eaux du détroit Victoria Harbour à Hong Kong (Minh *et al.*, 2009), 0,33 ng/l d'oxytétracycline dans la rivière Arc en France (Feitosa-Felizzola *et al.*, 2009) et 3 ng/l dans des eaux de surface en Australie (Watkinson *et al.*, 2009).

III.3. Cas des composés industriels : exemple du bisphénol A

Les produits industriels, à l'exemple du bisphénol A (BPA), sont en général produits en grande quantité ; environ 14 milliards de kg de BPA sont produits annuellement dans le monde (Erler *et al.*, 2010). Le BPA est utilisé pour la production des polycarbonates, des résines époxydes, des résines de polyester-styrène et des retardateurs des flammes. Ce composé peut entrer dans l'environnement par pertes durant sa fabrication, par relargage des produits finis (Fromme *et al.*, 2002) et par les effluents des stations d'épuration car il n'est pas complètement dégradé dans les filières de traitement des STEP (Staples *et al.*, 2000).

Le BPA se retrouve dans l'environnement (eau, sol, sédiment) à des concentrations variables de l'ordre du ng/L. Bolz *et al.* (2001) ont détecté ce composé dans plusieurs ruisseaux, rivières et sédiments d'une région du sud est de l'Allemagne, le Baden-Württemberg. Une étude faite par Céspedes *et al.*, (2005) a révélé la présence du BPA dans les eaux de différentes rivières en Espagne. Les concentrations obtenues dans les différents milieux récepteurs sont présentées dans les Tableaux I. 4 et I. 5.

Tableau I. 4 : Concentration en ng/L des composés phénoliques détectés dans les rivières et les sédiments des rivières de Baden-Württemberg (d'après de Bolz *et al.*, 2001)

| | Eaux de rivière | | Sédiments | |
|-------------------|----------------------|--------------|----------------------|--------------|
| | Nombre d'échantillon | [BPA] (ng/L) | Nombre d'échantillon | [BPA] (ng/L) |
| Körsch | 8 | <72 | 3 | 3-7 |
| Krähenbach | 9 | <50 | 2 | nd/2 |
| Danube | 3 | <68 | 1 | nd |
| Erns | 2 | <50 | nd | nd |
| Neckar | 1 | <50 | 2 | 6/15 |

nd : non déterminé, BPA: bisphénol A.

Tableau I. 5 : Concentration en bisphénol A dans des rivières en Espagne (d'après Céspedes *et al.*, 2005)

| | Llobregat | Cardener | Anoia | R. de Rubí |
|---------------------|------------------|-----------------|--------------|-------------------|
| [BPA] (mg/L) | 0,09- 2,97 | < 0,09 | 0,09- 0,12 | 0,85 |

III.4. Cas des hormones naturelles et de synthèse : exemple de la 17 β -œstradiol

Les hormones stéroïdes sont des composés biologiquement actifs synthétisés à partir du cholestérol. Ces hormones sont sécrétées par le cortex adrénale, les testicules, les ovaires, le placenta. Les êtres humains aussi bien que les animaux peuvent excréter les hormones via les urines ou les fèces. Pour l'œstrone (E1) et la 17 β -œstradiol (E2), environ 3 à 20 et 2 à 12 μ g/personne, sont excrétées respectivement par les femmes (Tableau I. 6, Ying *et al.*, 2002).

Tableau I. 6 : Excrétion journalière des hormones stéroïdes en μ g/L (Ying *et al.*, 2002)

| | E2 | E1 | E3 | EE2 |
|---------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Hommes | 1,6 | 3,9 | 1,5 | - |
| Femmes | 3,5 | 8 | 1,5 | - |
| Femmes ménopausées | 2,3 | 4 | 1 | - |
| Femmes enceintes | 259 | 600 | 6000 | - |

E2 : 17 β -œstradiol, E1 : œstrone, E3: œstriol, EE2: 17 α -éthynylœstradiol

L'œstrone (E1), la 17 β -œstradiol (E2), l'estriol (E3) et la 17 α -éthynylestradiol (EE2) ne sont pas complètement éliminées dans les filières de traitement des stations d'épuration, elles se retrouvent alors rejetées dans l'environnement par les effluents de ces stations. Ainsi, Cargouët *et al.*, (2004) ont fait une étude sur le devenir des hormones stéroïdes dans les stations d'épuration situées en région parisienne (Evry, Colombes, Achères, Valenton). L'œstrone (E1), la 17 β -œstradiol (E2), l'œstriol (E3) et la 17 α -éthynylestradiol (EE2) furent détectées en entrée, en sortie des stations dans tous les échantillons. Les taux d'abattement varient selon les stations et n'atteignent pas les 70% (Tableau I. 7). Les rejets des stations de traitement constituent donc une voie d'entrée dans l'environnement pour les hormones.

Outre les effluents des stations d'épuration, d'autres sources de contamination par des hormones stéroïdes peuvent être citées telles que les excréments d'animaux (les moutons, les bovins, les porcs, les volailles). Une fois excrétées sur le sol, ces hormones peuvent se propager par ruissellement et par infiltration atteindre d'autres compartiments comme les eaux souterraines.

Tableau I. 7 : Concentrations en œstrone (E1), 17 β -œstradiol (E2), œstriol (E3) et 17 α -éthynylœstradiol (EE2) dans quatre stations de traitement des eaux résiduaires à Paris et pourcentages d'élimination (%) (d'après Cargouët *et al.*, 2004)

| | | E1 (ng.L ⁻¹) | E2 (ng.L ⁻¹) | E3 (ng.L ⁻¹) | EE2 (ng.L ⁻¹) |
|---|----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Entrée de station | Évry | 17,6 | 11,1 | 14,9 | 5,4 |
| | Valenton | 15,2 | 17,4 | 15,2 | 7,1 |
| | Colombes | 9,6 | 11,6 | 12,3 | 4,9 |
| | Achères | 11,2 | 17,1 | 11,4 | 6,8 |
| Sortie de station (élimination en %) | Évry | 7,2 (55,8 %) | 4,5 (59,5 %) | 7,3 (51,0 %) | 3,1 (42,6 %) |
| | Valenton | 6,5 (57,2 %) | 7,2 (58,6 %) | 5,0 (67,1 %) | 4,4 (38,0 %) |
| | Colombes | 4,3 (55,2 %) | 6,6 (43,1 %) | 5,7 (53,7 %) | 2,7 (44,9 %) |
| | Achères | 6,2 (44,6 %) | 8,6 (49,7 %) | 6,8 (40,3 %) | 4,5 (33,8 %) |

E2 : 17 β -œstradiol, E1 : œstrone, E3: œstriol, EE2: 17 α -éthynylœstradiol

III.5. Conclusion sur les voies d'entrée et rémanence dans l'environnement

Les polluants émergents se retrouvent dans l'environnement à des concentrations variables allant de l'ordre du ng/L au μ g/L. Ces derniers entrent dans l'environnement par les effluents des stations d'épuration, par les excréments des animaux (médicaments), par l'épandage des boues et aussi par les lixiviats des eaux des décharges.

Les êtres vivants se retrouvent ainsi exposés à une multitude des composés qui peuvent avoir des effets néfastes sur eux. Il est alors nécessaire de pouvoir identifier les effets potentiels que ces composés peuvent avoir sur l'Homme, la faune et la flore.

IV. Impact sur les êtres vivants et l'environnement

IV.1. Effets potentiels sur la faune et la flore

La présence des contaminants dans l'environnement entraîne des interrogations notamment sur les effets qu'ils peuvent avoir sur l'écosystème. Ainsi, de nombreuses études sont effectuées afin d'identifier les effets probables sur la flore et la faune. Dans la littérature, les études de toxicité les plus rencontrées sont les évaluations d'effet de toxicité aiguë. Cette dernière est étudiée *in vivo*, chez l'animal après exposition à des doses relativement élevées ou *in vitro*, avec des tests sur des cultures cellulaires. Des exemples d'effets mis en évidence dans les études au laboratoire sont présentés dans le Tableau I. 8.

Tableau I. 8 : Exemples d'effets avérés des polluants émergents

| Produits | Effets | Organismes | Références |
|---|---|---------------------------------------|---|
| Anti-inflammatoires (ibuprofène, diclofenac...) | Cytotoxicité Inhibition de la bioluminescence | Truite arc en ciel Vibrio Fischeri | Schnell <i>et al.</i> , 2009 Farré <i>et al.</i> , 2001 |
| Antibiotique (tétracycline) | Inhibition de la croissance | Algues | Ferreira <i>et al.</i> , 2007 |
| Produits industriel (Bisphénol A) | Perturbateur endocrinien : baisse de la qualité du sperme, développement du cancer de sein et de la prostate etc. | Rat, souris, cellules | Staples <i>et al.</i> , 2000 Birkett et Lester, 2003 Richter <i>et al.</i> , 2007 |
| Hormone stéroïde (17 β -œstradiol) | Perturbateur endocrinien : Baisse de fécondité, effet sur la différenciation sexuelle | poissons | Russo <i>et al.</i> , 2002 Bjerselius <i>et al.</i> , 2002, Birkett et Lester, 2003 |

En plus des effets mis en évidence dans les études en laboratoires, il existe des observations d'effet dans le milieu naturel. Un des exemples d'effet observé dans le milieu naturel, qui fut également largement médiatisé, est celui observé sur la reproduction des alligators du lac Apopka en Floride. Dans les années 90, ce lac fut l'objet d'une contamination accidentelle par des insecticides organochlorés (DDT en particulier). La présence de ces organochlorés a entraîné une démasculinisation des alligators mâles. La taille de leur pénis comparée à celle des alligators vivants dans des lacs non pollués avait considérablement diminué. Le rapport œstradiol/testostérone avait augmenté, il était de 2 pour les alligators mâles du lac Apopka et de 0,5 pour les alligators vivant dans les lacs non pollués. Les chercheurs ont également observé un faible taux de reproduction et une baisse de la capacité de maturation des œufs des oiseaux se nourrissant des poissons du lac Apopka (Crisp *et al.*, 1997). Le DDT a agit en perturbant le système endocrinien des alligators et a conduit ainsi à leur féminisation. Cet exemple est l'un de ceux qui a permis de mettre en évidence la perturbation endocrinienne.

Un autre exemple mettant en évidence la présence de perturbateurs endocriniens dans l'environnement est la production de vitellogénine (VTG) par les poissons mâles exposés aux effluents des stations d'épuration. Purdon *et al.*, (1994) ont mesuré la concentration en vitellogénine (protéine naturellement produite chez les poissons femelles sous le contrôle d'œstrogènes) après trois semaines d'exposition des truites arc en ciel aux effluents d'une station d'épuration d'Angleterre. Les résultats obtenus ont montré une forte augmentation de

la vitellogénine chez les mâles ; elle était de 33 $\mu\text{g/mL}$ après une semaine d'exposition et de 373 $\mu\text{g/mL}$ après trois semaines d'exposition.

IV.2. Effets potentiels sur l'homme

Les effets des contaminants sur les Hommes sont difficiles à étudier car l'expérimentation sur l'Homme est limitée. L'impact des polluants sur les Hommes est, en général, mis en évidence par des études épidémiologiques ou estimé en fonction des tests sur les animaux et les cellules.

Par exemple, l'exposition aux substances à action endocrine qui induit une baisse de la reproduction chez les animaux est également soupçonnée de provoquer une baisse de la reproduction chez les humains (Viguera-Villaseñor *et al.*, 2006). Les perturbateurs endocriniens comme le bisphénol A et la 17β -œstradiol sont soupçonnés de participer au développement du cancer du sein, du cancer des testicules et de la prostate (Damgaard *et al.*, 2002 ; Mendes *et al.*, 2002). Des études réalisées sur des cultures de MCF-10F (cellule responsable du cancer du sein) montrent qu'en présence des concentrations diverses en 17β -œstradiol, ces cellules se multiplient et prolifèrent (Russo *et al.*, 2002).

Par ailleurs, au cours de ces dernières années, de nombreuses études dénonçant le déclin spermatique ont été publiées. En effet, Carlsen *et al.*, (1992) ont fait une analyse des études publiées entre 1940 et 1991 traitant des caractéristiques du sperme d'environ 15000 hommes normaux. Les résultats ont montré une baisse globale d'environ 50 % de la numération spermatique. Une autre étude faite par Auger *et al.*, (1995) a révélé que chez les donneurs répertoriés dans la banque de sperme de Paris, il y a eu entre 1973 et 1992, une diminution de la concentration en spermatozoïde de 2,1% par an et une diminution de la mobilité de ces spermatozoïdes de 0,6 % par an. Cette étude a également révélé une diminution de 0,5 % par an du nombre de spermatozoïdes morphologiquement normaux par millilitre. Selon les auteurs, ce déclin spermatique pourrait être causé par l'exposition des hommes à divers contaminants présents dans l'environnement. En effet, l'exposition aux composés reconnus comme perturbateurs endocriniens pourrait altérer la qualité du sperme. Toutefois, le lien entre le déclin spermatique chez l'homme et les perturbateurs endocriniens dans l'environnement n'est pas clairement établi.

V. Méthodes de détection et d'analyse des polluants émergents

Les outils et méthodes analytiques se sont largement développés de façon à identifier et quantifier les polluants émergents se trouvant dans les différents compartiments

environnementaux (air, eau et sol). Ces méthodes sont également mises en œuvre de façon à évaluer l'efficacité des traitements appliqués à ces derniers et d'autres enfin d'évaluer les effets de ces contaminants sur la santé et l'écosystème. Tous ces outils et toutes ces méthodes développés peuvent être classés et divisés en deux groupes : les méthodes physico-chimiques et les tests biologiques. Les méthodes physico-chimiques permettent de quantifier, d'identifier les composés. Les tests biologiques mesurent l'effet global d'une molécule ou d'un mélange de composé sur un modèle biologique et permettent ainsi de mesurer des effets à court et à long terme. Certains tests biologiques permettent aussi de détecter spécifiquement une substance (immunochimie).

Dans cette partie, une analyse de la littérature permettant de sélectionner les méthodes d'analyse adaptées à la partie expérimentale de ce travail de thèse est menée. Les différents types de méthodes, physico-chimiques comme biologiques utilisés pour les polluants retenus dans ce travail de thèse, sont décrites afin de présenter leur spécificités.

V.1. Méthodes physico-chimiques

Les méthodes physico-chimiques développées pour l'analyse des contaminants organiques dans des matrices données servent à identifier et à quantifier précisément ces contaminants. En général, les étapes de l'analyse physico-chimique sont : l'extraction, la séparation des composés et enfin, la détection et la quantification des polluants cibles. L'extraction sert à préparer l'échantillon. Elle permet d'augmenter la sensibilité de la méthode d'analyse et d'atteindre des limites basses par élimination des composés pouvant interférer avec les composés cibles et permet ainsi la pré-concentration de ces composés. Cette étape est nécessaire pour les matrices complexes telles que les sols et lorsque les composés à analyser sont à l'état des traces. Les procédés d'extraction sont divers. Le choix du type d'extraction dépend de la matrice, de l'objectif de l'analyse et des propriétés physico-chimiques des composés visés. Par exemple pour les eaux, l'extraction en phase solide et la micro-extraction en phase solide sont les plus utilisées. Pour les boues, les sols et les sédiments, ce sont l'extraction liquide-liquide, Soxhlet, la sonification, l'extraction liquide sous pression, l'extraction assistée par micro-onde et l'extraction en fluide supercritique qui sont les plus utilisés.

La séparation, la détection et la quantification se font par chromatographies en phase gazeuse ou liquide couplées à des détecteurs spécifiques ou universels. Ces deux techniques chromatographiques ainsi que les détecteurs associés sont présentés ci-après.

V.1.1 La chromatographie en phase gazeuse

En chromatographie en phase gazeuse (CG), la séparation des composés est basée sur la distribution des composés entre la phase mobile qui est un gaz appelé gaz vecteur et la phase stationnaire qui peut être un liquide ou un solide adsorbant (alumine, silice,...). Comme types de colonne, les colonnes capillaires sont les plus utilisées, les plus efficaces, en particuliers les colonnes narrow-bore (David *et al.*, 1999). Quatre modes d'injection peuvent être utilisés : split, splitless, on column et à température de vaporisation programmée. La CG est utilisée préférentiellement pour l'analyse des composés thermostables, volatiles ou semi-volatiles, non ou moyennement polaires et pour les composés facilement dérivables (Guitard et Readman, 2010). Le développement de la chromatographie gazeuse multidimensionnelle (CG×CG) a favorisé l'analyse de matrices très complexes. La CG×CG permet une meilleure séparation des composés et conduit à une diminution du temps d'analyse (Santos et Galceran, 2002 ; Dallüge *et al.*, 2003). Du fait du coût élevé pour son acquisition, son entretien et sa maintenance, la CG×CG est utilisée par très peu de la laboratoire (Poliak *et al.*, 2008).

V.1.2 La chromatographie en phase liquide

En la chromatographie en phase liquide (CL) la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvant introduit dans la colonne à débit constant. Des phases stationnaires de nature diverse sont utilisées. Ces phases déterminent le type de chromatographie liquide. Ainsi, on distingue la chromatographie d'adsorption, la chromatographie ionique, la chromatographie d'exclusion, la chromatographie liquide/liquide et la chromatographie liquide/phase greffée.

La polarité de la phase greffée peut être modifiée. Cette modification conduit à la chromatographie à polarité de phase inversée qui est l'une des plus utilisées. En effet, elle est adaptée à quasiment tous les composés solubles dans les solvants organiques. La chromatographie liquide est souvent préférée à la chromatographie en phase gazeuse car celle-ci ne nécessite pas la dérivation des composés.

V.1.3 Les modes de détection

Après séparation dans la colonne chromatographique, les composés sont détectés. Les systèmes de détection diffèrent selon le type de chromatographie. En chromatographie liquide, les détecteurs les plus utilisés sont le détecteur ultraviolet (UV), les détecteurs de fluorescence et en chromatographie gazeuse les détecteurs à ionisation de flamme (FID), à capture d'électron (ECD), à photoionisation (PID) sont les plus couramment utilisés.

Cependant, tous ces détecteurs ne permettent pas d'identifier précisément et de caractériser la structure des composés. De ce fait, la spectrométrie de masse (SM) et la spectrométrie de masse en tandem (SMⁿ) sont de plus en plus utilisées pour détecter les composés et déterminer leur structure.

V.1.3.1 La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse (SM) permet de caractériser les analytes par la mesure des rapports masse sur charge (m/z) des molécules ionisées et de leurs produits de fragmentation. Elle peut être associée aussi bien à la chromatographie en phase liquide qu'à la chromatographie en phase gazeuse. Le couplage CG/SM existe depuis 1960, c'est bien plus tard en 1974 que s'est fait le couplage CL/SM. Ce couplage a été rendu possible grâce à l'évolution technologique des interfaces CL/SM. En couplage CL/SM, l'ionisation se fait par électrospray (ESI) ou par ionisation chimique sous pression atmosphérique (APCI). L'ionisation par électrospray est adaptée aux composés polaires, ioniques et produits parfois des composés multichargés permettant ainsi l'analyse des composés avec des poids moléculaires élevés. L'ionisation chimique sous pression atmosphérique est quant à elle adaptée aux composés peu polaires (Cléon *et al.*, 2000). Ces deux types d'ionisation peuvent être utilisés en mode positif ou négatif. Pour le couplage CG/SM les modes d'ionisation sont l'impact électronique et l'ionisation chimique.

L'ionisation achevée, les molécules ioniques formées sont introduites dans des analyseurs où elles seront séparées selon le rapport m/z puis ensuite détectées. Les différents types d'analyseurs existants sont : l'analyseur magnétique, l'analyseur quadripolaire, les trappes (trappe ionique de Paul, trappe linéaire, trappe ionique associée à une analyse par Transformée de Fourier), le temps de vol.

V.1.3.2 La spectrométrie de masse en tandem

La spectrométrie de masse en tandem (SMⁿ) permet une meilleure caractérisation des molécules même à l'état de trace. Elle peut être réalisée en couplant deux analyseurs ou plus ou être réalisée avec la trappe d'ions. L'analyse en tandem se réalise dans un premier temps par sélection d'un ion caractéristique de la substance à analyser (« ion précurseur »). Cet ion piégé va ensuite se fragmenter par collision et donner des « ions fils » qui pourront à leur tour être sélectionnés et donner des générations supérieures d'ion (« ions petits fils »). Ce processus est noté SMⁿ, n étant le nombre de générations d'ions. En couplage quadripolaire (triple quadripôle), n est limité à 2.

V.1.4 Choix des méthodes pour l'analyse des molécules modèles

Des exemples de méthodes d'analyses utilisées pour l'analyse du bisphénol A, la 17 β -œstradiol et la tétracycline sont donnés dans le Tableau I. 9. Les couplages chromatographie liquide/UV et chromatographie liquide/spectrométrie de masse, apparaissent comme les méthodes les plus utilisées. Elles seront utilisées dans les parties expérimentales de ce travail de thèse.

Tableau I. 9 : Exemples de méthodes d'analyse utilisées pour le bisphénol A, la 17 β -œstradiol et la tétracycline

| Molécule | Séparation | Détection | LD | Références |
|-----------------------|------------|------------|-----------------|--------------------------------------|
| Bisphénol A | CGHR | SMFR | 10-50 ng/L | Boltz <i>et al.</i> , 2001 |
| | CLHP | UV | n.p. | Ohko <i>et al.</i> , 2001 |
| | CG | SM | 0,5 ng/L | Jeannot <i>et al.</i> , 2002 |
| | CL | ESI-SM | n.p. | Watanabe <i>et al.</i> , 2003 |
| | CL | ESI-SM | n.p. | Zhou <i>et al.</i> , 2004 |
| | CG | SM | n.p. | Lee <i>et al.</i> , 2004 |
| | CL | ESI-SM, UV | 0,09 mg/L | Cespedes <i>et al.</i> , 2005 |
| | CL | ESI-SM | 6,30 ng/L | Rodriguez-Mozaz <i>et al.</i> , 2005 |
| 17 β -œstradiol | GC | SM-SM | 0,004 μ g/L | Ternes <i>et al.</i> , 2001 |
| | GC | SM | 2 ng/L | Jeannot <i>et al.</i> , 2002 |
| | CL | SM | n.p. | Irmak <i>et al.</i> , 2005 |
| | GC | SM | n.p. | Vigano <i>et al.</i> , 2008 |
| Tétracycline | CL | SM | n.p. | Reyes <i>et al.</i> , 2006 |
| | CL | DAD | 0,01 mg/L | Babic <i>et al.</i> , 2006 |
| | CL | SM | n.p. | Dalmazio <i>et al.</i> , 2007 |
| | CLHP | UV | 0,03 mg/L | Smyrniotakis <i>et al.</i> , 2007 |
| | CLHP | UV | n.p. | Jiao <i>et al.</i> , 2008 |

SMFR: spectrométrie de masse à faible résolution, CGHR : chromatographie gazeuse à haute résolution, CL : chromatographie liquide, CG : chromatographie gazeuse, SM : spectrométrie de masse, UV : ultraviolet, CLHP : chromatographie liquide à haute performance, ESI : ionisation par électrospray, DAD : détecteur à barrette de diodes, n.p : non précisé

V.2. Tests biologiques

Les méthodes d'analyse physico-chimiques permettent de détecter les contaminants mais ne permettent pas de mettre en évidence leurs effets sur les organismes vivants. Face à cela, les tests biologiques se montrent être une approche complémentaire à celle de l'analyse physico-chimique pour l'étude des contaminants. En effet, les tests biologiques permettent à la fois de mettre en évidence la présence des polluants et d'avoir accès aux effets des contaminants sur les êtres vivants. Potentiellement ils indiquent les effets synergiques. Les tests biologiques sont développés pour mettre en évidence des effets de toxicité, des effets génotoxiques et des effets de perturbation endocrinienne.

En relation avec les polluants retenus dans ce travail de thèse (tétracycline, bisphénol A et 17 β -œstradiol), la revue réalisée sur les tests biologiques s'est limitée aux effets toxiques et aux effets de perturbation endocrinienne.

V.2.1 Bioessais de toxicité

Les bioessais de toxicité ont été développés pour évaluer l'effet des substances xénobiotiques sur des organismes biologiques. Ces tests peuvent être réalisés sur une seule espèce ou plusieurs espèces d'organisme et sur des cellules ou des tissus. Par ailleurs, ils peuvent être des tests de toxicité aigues, subaiguës, chroniques ou des essais sur la reproduction. Il est généralement fait mention de toxicité aigue pour un essai avec une courte durée d'exposition (maximum 96 heures) et une concentration en polluant plutôt élevée, de toxicité subaiguë lorsque l'organisme exposé pendant une courte durée aux contaminants survit, de toxicité chronique pour une exposition prolongée à de faible concentration et d'essai sur la reproduction lorsque un cycle de vie complet est observé (exemple du cycle de vie des poissons).

Les bioessais les plus utilisés pour la surveillance de l'environnement utilisent les daphnies (*Daphnia magna*), les micro-algues (*Skeletonema costatum* et *Selenastrum capricornotum*), les bactéries marines (*Vibrio fischeri* et *Photobacterium phosphoreum*). Ces tests sont normés et commercialisés (Martinez *et al.*, 2008).

V.2.2 Bioessais pour la perturbation endocrinienne

De nombreux bioessais ont été développés pour la détection des perturbateurs endocriniens (PE). Parmi ces tests, on distingue des tests biochimiques, des tests utilisant des cellules et des tests sur des organismes (faune).

V.2.2.1 Tests biochimiques

Ces tests se font avec les anticorps, les récepteurs d'œstrogènes prélevés sur des cellules animales ou sur des cellules humaines. Ils ne requièrent pas l'utilisation de la cellule entière et permettent ainsi d'éviter certaines difficultés liées à la perméabilité des membranes cellulaires, au fonctionnement des cellules et aux différentes étapes de croissance des organismes vivants. Ils peuvent être spécifiques à des composés et dans ce cas quantitatifs. Les tests développés les plus utilisés et leur fonctionnement respectif sont présentés dans le Tableau I. 10.

Tableau I. 10 : Exemples de tests biochimiques développés pour la détection des perturbateurs endocriniens (Chang *et al.*, 2009)

| Type de test | Fonctionnement |
|---|---|
| ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assays) | Dosage immuno-enzymatique couplé à une réaction catalysée par une enzyme qui libère un composé coloré dont l'absorbance peut être mesurée |
| ELRA (Enzyme-linked receptor assay) | Test mesurant la capacité d'un composé à effet œstrogénique à se lier à un récepteur (récepteur humain ER α) en comparaison avec la 17 β -œstradiol |
| Endotect™ | Test mesurant la fluorescence émise lorsque le polluant se lie au récepteur couplé au composé fluorescent |
| RIANA (River analysis) | Un composé dérivé de la molécule cible est greffé à un transducteur. Des anticorps spécifiques et la molécule cible sont mis en présence du transducteur. Lorsque le transducteur se lie aux anticorps, celui-ci fluoresce. Le signal de fluorescence est mesuré et corrélé à la concentration de la molécule cible |
| Biacore™ | Détecte les variations de masse sur un capteur. Le ligand est immobilisé sur le capteur, l'analyte est injecté grâce à une cartouche microfluidique avec des anticorps |

V.2.2.2 Tests sur les cellules

Ces tests utilisent des cellules humaines (des cellules cancéreuses, des cellules de reins en particulier) ou des levures. Ils sont basés sur la mesure de la réponse œstrogénique liée à la liaison entre le récepteur œstrogénique et la molécule. Ils sont sensibles et permettent de suivre l'activité œstrogénique (Tableau I. 11). L'inconvénient de ces tests est le manque de répétabilité et le manque de spécificité dans un environnement complexe (présence de plusieurs PE) (Chang *et al.*, 2009).

V.2.2.3 Tests sur les organismes vivants

Les tests sont effectués sur des amphibiens, des poissons, des oiseaux, des insectes. Les effets observés diffèrent selon les espèces (voir Tableau I. 12). L'avantage de ces tests est

de pouvoir être réalisés *in vivo* et de donner les caractéristiques des effets des PE ainsi que les éventuels effets synergiques liés aux conditions d'environnement. Cependant, dans le cas d'un mélange de composés, les effets observés ne permettent pas de déterminer la ou les molécules qui agissent sur le système endocrinien.

Tableau I. 11 : Exemples de tests sur les cellules développés pour la détection des perturbateurs endocriniens

| Tests | Fonctionnement | Exemple de composé (FE) | Références |
|--|---|---|--------------------------------|
| E-SCREEN | Ce test utilise des cellules cancéreuses (MCF-7). En présence de composé œstrogénique, les cellules prolifèrent grâce à des mitoses consécutives | 4-t-BP ($5,12 \cdot 10^{-5}$) 4-t-OP ($5,07 \cdot 10^{-5}$), 4-n-HTP ($1,83 \cdot 10^{-5}$) 4-NP ($8,12 \cdot 10^{-5}$) 4-n-OP ($6,45 \cdot 10^{-7}$) BPA ($5,43 \cdot 10^{-5}$) | Oh <i>et al.</i> , 2009 |
| Yeast Estrogen Screen (YES) | Un récepteur d'œstrogène est greffé sur la cellule, ce récepteur contient le gène qui code pour la production de la β -galactosidase. La liaison récepteur/composé œstrogénique conduit à la production de l'enzyme. Il s'ensuit la formation d'un produit coloré (CRPG) dosable par colorimétrie | 17- β -œstradiol (1) Cimétidine ($1,9 \cdot 10^{-8}$) Fénofibrate ($1,94 \cdot 10^{-7}$) Furosémide ($9,09 \cdot 10^{-8}$) Paracétamol ($5,05 \cdot 10^{-9}$) Phénozone ($2,94 \cdot 10^{-8}$) Tamoxifen ($7,13 \cdot 10^{-5}$) | Fent <i>et al.</i> , 2006 |
| ER-callux (biodetection system, Amsterdam, Pays-bas) | La cellule nerveuse humaine T47D est modifiée pour coder pour la production de la luciférase. En présence de composé œstrogénique, la luciférase sera luminescente | 17- β -œstradiol (1) 4-NP ($2,3 \cdot 10^{-5}$) 4-octylphénol ($1,4 \cdot 10^{-8}$) NP1EO ($3,8 \cdot 10^{-6}$) NP2O ($1,1 \cdot 10^{-6}$) NP4EO ($1,1 \cdot 10^{-7}$) | Legler <i>et al.</i> , 2002 |

BP : butylphenol, HTP : heptylphenol, OP : octylphénol, NP : nonylphénol, BPA : bisphénol A, NP1EO : monoéthoxylate de nonylphénol, NP2EO : diéthoxylate de nonylphénol, NP4EO : tétraéthoxylate de nonylphénol, 4-t-BP : 4-n-butylphénol, 4-n-HTP : 4-n-heptylphénol, FE : facteur équivalent

Tableau I. 12 : Exemple d'espèces utilisées comme indicateur d'activité œstrogénique (d'après Campbell *et al.*, 2006)

| Espèces utilisées | Effet perturbateur observé |
|------------------------------------|---|
| Grenouille léopard | Anomalies gonosomiques |
| Tortue peinte | Production de la vitellogénine |
| Truite arc-en-ciel | Baisse de la reproduction, développement des œufs, production de la vitellogénine |
| Poisson Fathead minnow | Perturbation du développement des gonades, baisse de la reproduction, perturbation de la croissance, production de la vitellogénine |
| Poisson sheepshead minnow | Production de la vitellogénine |
| Poisson zèbre | Perturbation du développement des gonades et du développement physiologique, production de la vitellogénine, la luciférine |
| Poisson medaka | Perturbation du développement des gonades, protéine verte de fluorescence (GFP) |
| Alevin de medaka génétique modifié | Perturbation de l'activité de l'aromatase, protéine verte de fluorescence (GFP) |
| Poisson Flet | Perturbation du développement des gonades et du développement physiologique, production de la vitellogénine |
| Saumon | Production de la vitellogénine |
| Pygargue à tête blanche | Perturbation de la reproduction et effets teratogéniques observés |
| Caille | Changement du caractère sexuel, perturbation du développement embryonnaire, changement de l'épaisseur des œufs |
| Poulet | Perturbation du développement embryonnaire, changement de l'épaisseur des œufs |

V.2.3 Conclusion sur les tests biologiques

Les tests biologiques présentés dans les paragraphes précédents permettent de mettre en évidence la présence et les effets des polluants émergents. Il a été vu qu'avec des tests utilisant des anticorps ou des récepteurs, les difficultés liées à la perméabilité des membranes cellulaires, au fonctionnement des cellules et aux différentes étapes de croissance des organismes peuvent être évitées et rend ainsi l'analyse d'effet moins complexe. Cependant, ces tests sont en général spécifiques (développés pour un certain nombre de composé ; par exemple le test RIANA détecte l'atrazine, l'isoproturon et l'estrone) et de ce fait ne conviennent pas pour une étude de l'effet global des composés de nature inconnue. Par ailleurs, tout comme les résultats obtenus avec les tests utilisant les cellules, les résultats obtenus avec les tests biologiques n'illustrent pas les effets sur un être vivant dans son fonctionnement intégral.

Ainsi, les tests sur les organismes vivants apparaissent plus adaptés pour représenter au mieux les effets dans l'environnement. En effet, ces tests sont des tests *in vivo* et représentent ainsi au mieux ce qui se passe dans l'environnement.

V.3. Conclusion sur les méthodes d'analyse et de détection des polluants émergents

La détection, l'identification, la quantification et l'évaluation de l'impact des contaminants dans l'environnement fait appel aux analyses physico-chimiques et aux bioessais. Ces deux approches sont complémentaires. Par les méthodes physico-chimiques, les polluants peuvent être quantifiés et caractérisés structuralement. Cependant, l'approche par mesures physico-chimique reste limitée du fait que pour la plupart des détecteurs mis en œuvre, la mesure ne permet de quantifier que les molécules déjà identifiées. La précision ou encore la sensibilité des méthodes est en relation directe avec les détecteurs utilisés. Par ailleurs, les méthodes physico-chimiques ne renseignent pas sur les effets probables des polluants sur les êtres vivants. Inversement, les bioessais renseignent sur la toxicité des composés et les possibles effets de synergie ou d'antagonisme liés à la multiplicité des substances présentes dans un environnement donné. Toutefois, les bioessais ne permettent pas d'identifier la nature ou la structure du polluant responsable de l'effet observé. Ainsi, les approches intégrant à la fois les méthodes d'analyse physico-chimiques et les bioessais permettent d'avoir une information complète sur la pollution, c'est-à-dire, la structure du polluant, la concentration et l'effet sur un système biologique donné. Comme méthodes physico-chimiques, les couplages chromatographie liquide/UV et chromatographie liquide/spectrométrie de masse apparaissent comme étant les méthodes les plus utilisées pour

les polluants retenus pour ce travail de thèse. Concernant les bioessais, les tests sur les organismes semblent les plus adaptés pour représenter les effets dans l'environnement.

VI. Réglementation

VI.1. Réglementation dans l'Union Européenne (EU)

Afin de protéger l'Homme, la faune et la flore, l'Union Européenne a mis en place des stratégies et des normes. Le 1^{er} juin 2007, le règlement européen REACH concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des produits chimiques est entré en vigueur. Ce règlement a pour but de mieux protéger la santé humaine et l'environnement contre les risques que peuvent présenter les produits chimiques. La réglementation REACH exige des industriels une évaluation des risques engendrés par les produits chimiques qu'ils utilisent. Elle exige des industriels de mettre sur le marché et de fournir à leurs utilisateurs toutes les informations relatives à ces produits (EC 1907/2006).

Deux catégories de substances ont été définies dans l'Union Européenne : les substances prioritaires et les substances dangereuses. Une substance prioritaire est un composé qui présente des risques pour le milieu aquatique ; les concentrations des substances dites prioritaires doivent être surveillées dans les eaux de surface et répondre aux normes de qualité environnementale. Les substances dangereuses sont des substances prioritaires qui sont toxiques, persistantes et bioaccumulables ; la directive cadre prévoit que ces composés ne doivent plus être présents dans les eaux de surface 20 ans après avoir été déclarés substance dangereuse.

La liste des substances prioritaires n'est pas définitive, la norme prévoit une révision de cette liste tous les 5 ans. Selon la fréquence, les concentrations et les effets dans l'environnement, un composé peut se voir être ajouté dans la liste des substances prioritaires. Ainsi, l'Union Européenne finance plusieurs travaux de recherche sur les polluants émergents afin de déterminer leur rémanence dans l'environnement et les effets toxiques. Après examen des résultats des études de recherche sur ces polluants, l'UE a proposé en 2012, d'ajouter 15 composés dont la 17 β -œstradiol à la liste des substances prioritaires. Récemment, les biberons contenant du bisphénol A ont été interdits de vente et d'utilisation au sein de l'Union Européenne.

Pour les produits pharmaceutiques, il existe un système de régulation des médicaments. Ce système a pour but de garantir l'efficacité et la sécurité du médicament. Tout médicament est donc soumis à une étude pour obtenir l'autorisation de mise sur le marché (AMM). La sûreté du médicament doit garantir l'absence d'effets néfastes sur le patient et sur

l'environnement. Le risque pour l'environnement dans l'AMM a été introduit récemment. Pour les médicaments à usage humain, elle a été introduite en 2004 (directive 2004/27), pour les médicaments à usage vétérinaires en 1992 (directive 92/18). Cette prise en compte du risque sur l'environnement reste aujourd'hui très sélective. En effet, elle est obligatoire pour les médicaments destinés à être administrés collectivement dans un cheptel d'animaux de rente (Guidelines VICH 6-CVMP/VICH/592/98), par contre, les médicaments à usage humain sont exempts de l'évaluation des risques pour l'environnement. Quels que soient les effets potentiels sur l'environnement, l'AMM d'un médicament à usage humain ne peut être refusé pour cette raison. Le risque sur l'environnement est estimé par une démarche dite « évaluation du risque environnemental (l'ERE) ». Cependant, comme l'application de l'ERE est récente (1999 et 2006 pour respectivement les médicaments à usage vétérinaire et humain), il n'existe pas de données relatives aux effets environnementaux pour la plupart des médicaments mis sur le marché avant ces dates dans les bases de données des agences des médicaments. Les seules données disponibles sont fournies par quelques études écotoxicologiques financées sur deniers publics. Ainsi, il s'avère fastidieux d'établir une liste prioritaire des résidus médicamenteux à surveiller dans l'environnement.

Pour les composés soupçonnés d'être des perturbateurs endocriniens, l'UE a établi une stratégie basée sur le court terme, le moyen terme et le long terme. Les objectifs définis sont les suivants :

- à court terme, il s'agit d'établir une liste prioritaire de substances afin d'évaluer leur rôle dans la perturbation endocrinienne, communiquer avec le public, coopérer au niveau international, établir des programmes permettant d'estimer les voies d'exposition et les effets des substances de la liste prioritaire et mettre en place des programmes de recherche sur la présence de perturbateurs endocriniens dans l'eau potable ;
- à moyen terme, il s'agit d'identifier les perturbateurs endocriniens, évaluer leur toxicité et lancer un important dispositif de recherche et développement ;
- à long terme, il s'agit d'instaurer une législation et une régulation vis-à-vis des perturbateurs endocriniens (Commission Européenne, 2004).

Pour le court terme, 575 substances ont été évaluées. Sur ces 575 composés, 320 ont présenté des effets avérés de perturbation endocrinienne, 109 composés n'ont pas été retenus pour manque de données suffisantes et 147 composés ont été exclus de l'évaluation.

VI.2. Réglementation en France

Il n'existe pas de réglementation particulière sur les polluants émergents en France. Cependant, le gouvernement a déjà pris certaines mesures au travers des plans et des programmes nationaux de recherche.

- Le Programme National de Recherche sur les Perturbateurs Endocriniens (PNRPE) mis en place en 2005 par le Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement Durable et de l'Aménagement du Territoire vise à soutenir des recherches fondamentales et appliquées à caractère pluridisciplinaire selon les axes prioritaires suivants : méthodologies de criblage, mécanismes d'action, recherche de biomarqueurs d'effets, devenir dans l'organisme et dans les milieux des perturbateurs endocriniens, identification des dangers, évaluation des risques, surveillance et processus politiques et sociaux à l'œuvre sur cette thématique.
- L'Action n° 11 du Plan National Santé Environnement 1 (PNSE 1, 2004-2008) avait pour objectif de limiter les pollutions des eaux et des sols dues aux pesticides et à certaines substances potentiellement dangereuses, notamment les perturbateurs endocriniens et les substances médicamenteuses.
- L'Action n° 12 du Plan National Santé Environnement 2 (PNSE 2) mis en place en 2009, vise à : « *Améliorer la connaissance et réduire les risques liés aux rejets de médicaments dans l'environnement* ». Il a conduit à la mise en place en 2011 d'un Plan National sur les Résidus de Médicaments dans l'Eau (PNRM) dont les enjeux sont : l'évaluation et la gestion des risques relatifs à la présence, au devenir et aux effets des résidus de médicaments sur l'environnement et la santé humaine ; la réduction des pollutions de l'environnement par les micropolluants.

En somme, la réglementation (en Europe et en France) vise à connaître les effets probables des composés, à réduire à la source l'apport des composés et à réduire, voir éliminer, les composés dans l'environnement. La commission Européenne vise au bon rétablissement et au maintien du bon état écologique des eaux souterraines et de surface pour 2015. Elle préconise des procédés de traitement additionnels tels que les procédés d'oxydation avancés pour une meilleure qualité des eaux au sortir des stations d'épuration.

VII. Procédés d'oxydation avancés

Les traitements conventionnels ne permettent pas une élimination complète des polluants émergents. Initialement, les stations de traitement des eaux usées ont été construites

pour l'abatement du phosphore, de l'azote, des composés carbonés arrivant à des concentrations de l'ordre du mg/L. Les traitements conventionnels des STEP s ne sont pas adaptés aux micropolluants.

Avec pour objectifs de réduire les effets sur l'environnement causés par les polluants rejetés par les effluents des stations d'épuration, différents procédés dits «Procédés d'Oxydation Avancés (POA)» ont été plus spécifiquement étudiés et développés. Le principe des POA repose sur la formation d'espèces radicalaires oxydantes réactives, les radicaux hydroxyles (OH^\bullet), qui pourront décomposer les molécules biorécalcitrantes et les rendre potentiellement plus biodégradables ou les transformer en composés minéraux (CO_2 , H_2O , $\text{NO}_3\dots$). Parmi les POA, peuvent être identifiés les procédés d'oxydation chimique en phase homogène ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ et $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_3$), les procédés couplés avec les rayonnements UV en phase homogène ou hétérogène ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$, O_3/UV , $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ et TiO_2/UV), les procédés d'oxydation sonochimique et les procédés d'oxydation électrochimique.

Dans ce travail de thèse, la photocatalyse hétérogène mettant en œuvre des photocatalyseurs à base de dioxyde de titane est abordée. Aussi, la partie de l'étude bibliographique suivante détaille le principe photocatalytique et se focalise plus particulièrement sur son utilisation pour le traitement de la tétracycline, du bisphénol A et de la 17β -œstradiol. L'objectif est d'une part, identifier les facteurs influençant l'efficacité du traitement photocatalytique, ce qui permet d'avoir des éléments d'explication de l'efficacité des catalyseurs et d'autre part, d'avoir des données sur la nature et l'impact environnemental des intermédiaires formés et déjà identifiés en littérature.

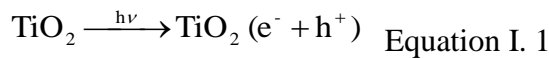
VII.1. La photocatalyse hétérogène: description et principe

La photocatalyse hétérogène est un procédé faisant intervenir un catalyseur et un rayonnement électromagnétique. Le principe de ce procédé repose sur l'absorption par le catalyseur, qui est en général un semi-conducteur, d'une radiation lumineuse d'énergie supérieure à la bande interdite du semi-conducteur. Plusieurs oxydes métalliques peuvent être utilisés comme catalyseurs, ZrO_2 , SnO_2 , TiO_2 , WO_3 , Fe_2O_3 , CdS , par exemple. Cependant, du fait de sa disponibilité sur le marché, de son faible coût et de sa stabilité chimique, le dioxyde de titane est le semi-conducteur le plus utilisé en traitement photocatalytique (Kaneko et Okura, 2002).

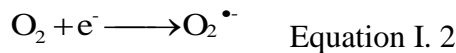
Le dioxyde de titane existe naturellement sous trois formes cristallines : l'anatase, la brookite, et le rutile. L'anatase et le rutile sont les formes cristallines actives en photocatalyse.

La structure électronique du TiO₂ se présente sous forme de bandes séparées par une bande interdite. La bande de basse énergie est la bande de valence, elle est formée par les orbitales 2p de l'oxygène et la bande à haute énergie est la bande de conduction, elle est formée par les orbitales 3d de l'atome de titane (Figure I. 2).

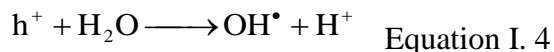
En présence de dioxyde de titane (TiO₂), d'un accepteur d'électron tel que le dioxygène (O₂) et sous éclairage, les composés organiques peuvent être minéralisés. La première étape de la réaction est l'absorption du rayonnement et la génération des paires électrons/trous au sein des particules de TiO₂ (Figure I. 2); un électron (e⁻) de la bande de valence est promu vers la bande de conduction et ainsi un trou (h⁺) se crée dans la bande de valence (équation I. 2).



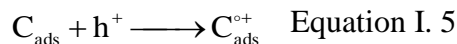
Les paires électrons/trous vont migrer vers la surface du catalyseur avec des possibilités de recombinaison entre eux. La présence du dioxygène va limiter le phénomène de recombinaison ; l'électron créé va être capté par l'oxygène dissout et créer l'ion surperoxyde (équation I. 2).



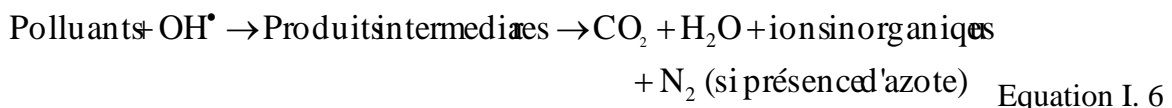
A la surface du TiO₂, il se produit une réaction entre les trous formés et les ions hydroxydes (OH⁻) ou les molécules d'eau (H₂O) et ainsi, le radical hydroxyle (OH[•]) est généré en solution (équations I. 3 et I. 4).



Selon le potentiel d'oxydoréduction, les trous formés peuvent aussi réagir avec un composé C donneur d'électron adsorbé à la surface du catalyseur (équation I. 5).



Les composés organiques présents dans la solution vont être principalement oxydés par le radical hydroxyle. La réaction d'oxydation passe par la formation de produits intermédiaires puis peut aboutir à la minéralisation (équation I. 6).



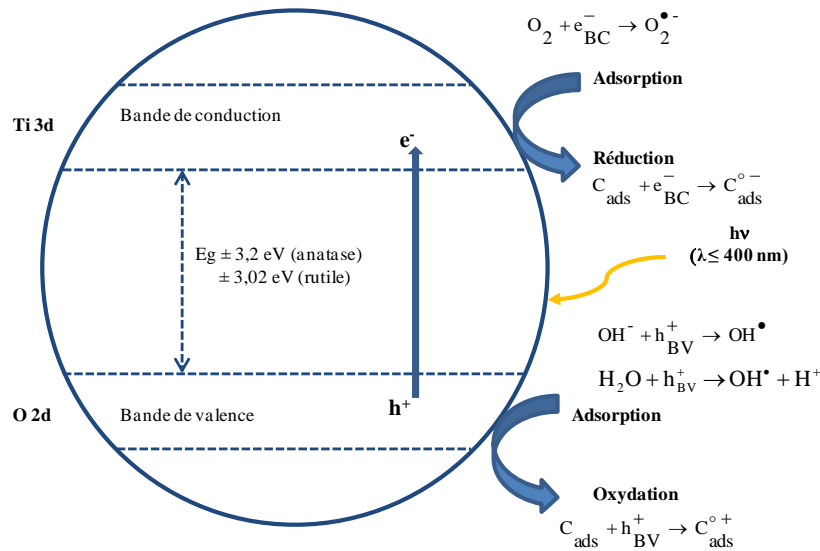


Figure I. 2 : Schéma du principe de la photocatalyse hétérogène (d'après Nakata et Fujishima, 2012)

VII.1.1 Facteurs influençant l'efficacité de la photocatalyse

VII.1.1.1 Le type de catalyseurs

L'activité photocatalytique d'un catalyseur dépend des propriétés liées au matériau lui-même et de sa composition. Son activité dépend ainsi de sa surface spécifique, de la taille et la distribution en taille des particules, de la nature de la phase cristalline, de sa porosité, et des fonctions de surface du catalyseur.

VII.1.1.2 Quantité du catalyseur mis en œuvre

La quantité de catalyseur mise en œuvre affecte le rendement de dégradation des polluants lors des procédés de traitement photocatalytique. Plusieurs études ont montré une augmentation du taux de dégradation d'un composé avec l'augmentation de la quantité du catalyseur. Puis il est observé une décroissance de ce taux du fait d'une part de la difficulté de pénétration du rayonnement et d'autre part d'une possible diminution des sites d'adsorption disponibles à la surface des catalyseurs. En effet, lorsque la quantité en catalyseur est élevée, les particules de catalyseur auraient tendance à s'agglomérer et ainsi moins de sites d'adsorption seraient disponibles (Ahmed *et al.*, 2009).

VII.1.1.3 Concentration initiale de polluant

L'influence de la concentration initiale en polluant est prise en compte par les modèles cinétiques classiques de catalyse hétérogène tel que le modèle de Langmuir-Hinshelwood. Ce modèle, exprimé ici par l'équation I. 7 pour les temps initiaux, indique que les cinétiques de

réaction évoluent (augmentent) avec la concentration initiale du polluant. Cette relation entre la cinétique et la concentration initiale en polluant est définie par l'équation l'équation I. 7.

$$r_0 = \frac{kKC_0}{1 + KC_0} \text{ Equation I. 7}$$

où r_0 est la vitesse initiale de dégradation du polluant, C_0 est la concentration initiale en polluant, k , la constante cinétique de réaction et K est la constante d'équilibre d'adsorption.

Lorsque la concentration initiale tend vers 0, la relation entre la vitesse de dégradation et la concentration est linéaire : le nombre de sites existants à la surface du catalyseur est suffisant pour que l'ensemble des molécules puissent se dégrader. Au-delà d'une certaine concentration initiale, tous les sites actifs du catalyseur sont occupés et la vitesse de réaction devient constante (Figure I. 3) (Herrmann, 1999).

Il est utile, afin de comparer les cinétiques de dégradation entre elles, de préciser la quantité de catalyseur et la concentration initiale en polluant. La comparaison est alors possible pour un même ratio (concentration en polluant sur masse de catalyseur), les conditions d'irradiations étant égales par ailleurs.

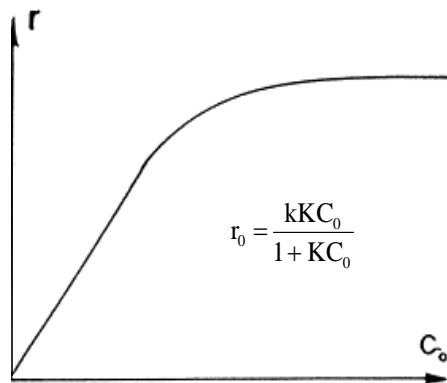


Figure I. 3 : Influence de la concentration en polluant sur la vitesse de réaction de dégradation photocatalytique (Herrmann, 1999)

VII.1.1.4 Intensité de l'irradiation

Ollis, 1991, Terzian et Serpone, 1991 ont montré qu'il existe une relation entre la vitesse de la réaction de dégradation photocatalytique et l'intensité lumineuse reçue par le catalyseur. Cette relation est définie par l'équation I. 8

$$r = kI^n \text{ Equation I. 8}$$

où r est la vitesse de la réaction, I l'intensité lumineuse, K la constante de la réaction et n l'ordre de la réaction par rapport à l'intensité.

n peut prendre les valeurs 1 ; 0,5 et 0 (Figure I. 4). Lorsque n= 1, la vitesse de la réaction augmente avec l'intensité lumineuse, les paires e^-/h^+ sont plus rapidement consommées par les réactions que par les phénomènes de recombinaison. Pour n= 0,5, le taux de formation des paires e^-/h^+ excède le taux d'oxydation, il ya recombinaison des paires e^-/h^+ et pour n= 0, la réaction photocatalytique n'est plus dépendante de la radiation incidente, (Ollis, 1991).

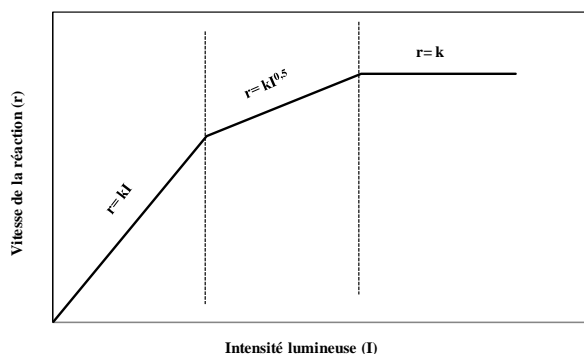


Figure I. 4 : Influence de l'intensité sur la vitesse de photodégradation (Ollis, 1991)

VII.1.1.5 pH

La spéciation de bon nombre de composés organiques portant des fonctions acides bases, est affectée par le pH du milieu dans lequel ils se trouvent. En effet, en fonction du pH du milieu, un composé peut être protonné, déprotonné ou être neutre.

Le pH affecte également la charge des groupements présents à la surface du catalyseur. Il affecte ainsi l'attraction électrostatique catalyseur/polluant, l'adsorption du composé sur le catalyseur et au final, le rendement de la réaction de photocatalyse.

Les groupements hydroxyles se trouvant à la surface du catalyseur, ont des propriétés amphotères. Ces groupements peuvent être protonnés ou déprotonnés. Dans le cas où ils sont protonnés, la charge de surface du catalyseur est positive et quand ils sont déprotonnés, la charge de surface est négative. Ainsi, selon le pH du milieu, la charge du catalyseur peut être positive ou négative.

Le point de charge nulle (P_{zc}) correspond à la valeur de pH où les charges de surface dues aux ions H_3O^+ et OH^- sont en nombre équivalent, la charge globale de la surface devient nulle. L'ionisation de la surface du catalyseur se fait selon les conditions suivantes :

Pour $pH < P_{zc}$ (condition 1), la surface se charge positivement : $TiOH + H^+ \rightarrow TiOH_2^+$

Pour $pH > P_{zc}$ (condition 2), la surface se charge négativement : $TiOH + OH^- \rightarrow TiO^- + H_2O$

Par exemple, pour le P25, le P_{zc} est d'environ 6,3 (Pastrana-Martínez *et al.*, 2012). Pour un $pH < 6,3$, la charge de surface du P25 est positive et pour un $pH > 6,3$, la charge de surface est négative.

Dans le cas où la charge des groupements présents à la surface du catalyseur est la même que la charge du polluant, il y a répulsion électrostatique, l'adsorption des polluants n'est pas favorisée, ce qui impacte le taux de dégradation. Une charge de surface des catalyseurs différente de celle du polluant est donc a priori plus favorable à la dégradation du polluant.

En somme, l'efficacité du procédé photocatalytique dépend de plusieurs paramètres. Elle dépend du catalyseur (propriétés intrinsèques) et des conditions opératoires lors de la réaction (température, pH, ratio polluant/catalyseur par exemple.). Le rendement du procédé peut ainsi être amélioré en jouant sur ces paramètres. Lorsque les conditions opératoires sont fixées, le rendement du procédé de traitement photocatalytique dépend essentiellement du catalyseur utilisé.

VII.1.2 Amélioration des performances des matériaux

Cette partie présente les paramètres intrinsèques aux matériaux qui peuvent influencer les performances des photocatalyseurs. Plus spécifiquement, en s'appuyant sur la bibliographie, elle présente les points qui peuvent affecter les performances des photocatalyseurs utilisés dans ce travail de thèse.

VII.1.2.1 Procédés de synthèse

Afin d'optimiser les propriétés des matériaux les plus influentes (surface spécifique, taille et distribution des particules, phase cristalline, porosité, etc.) sur l'activité photocatalytique, de nombreuses études ont été rapportées en littérature concernant l'optimisation des méthodes de synthèse. Ces méthodes sont principalement les méthodes dites sol-gel, la synthèse hydrothermale, la synthèse solvothermale, la synthèse par micelle inverse et les méthodes électrochimiques. Parmi ces méthodes, la synthèse par voie sol-gel apparaît comme une technique relativement simple à mettre en œuvre car elle est réalisée à basse température et permet d'obtenir des matériaux de grande pureté. Elle permet le contrôle de la composition et les propriétés résultantes des matériaux en faisant varier les paramètres principaux de synthèse (quantité d'eau, nature du solvant et des surfactants par exemple) (Ahmed *et al.*, 2011).

Des études comparant l'activité de différents photocatalyseurs ont montré une relation entre l'activité photocatalytique et la taille des particules des catalyseurs (Almquist *et al.*, 2002, Tian *et al.*, 2009). Par exemple, Wang *et al.*, (1997) ont comparé l'activité photocatalytique des catalyseurs préparés par voie sol-gel (tailles de particules de 6 à 21 nm). Ils ont trouvé que le catalyseur ayant des tailles de particules de 11 nm et une surface spécifique de 150 m²/g était le plus efficace vis-à-vis de la dégradation du chloroforme dissout. Pour des particules de TiO₂ de tailles inférieures à 11 nm, l'activité photocatalytique décroissait malgré une surface spécifique supérieure à 150 m²/g et pour des catalyseurs ayant des tailles de particules supérieures à 11 nm, l'activité photocatalytique décroissait également. D'après les auteurs, lorsque la taille des particules atteint 11 nm, la structure du catalyseur présente moins de défauts ce qui génère moins de recombinaison de paires e⁻/h⁺. Lorsque la taille des particules dépasse 11 nm, la surface spécifique des catalyseurs diminue avec l'augmentation de la taille des particules, moins de sites actifs à la surface sont disponibles et l'adsorption des composés diminue. Il est donc nécessaire de trouver un bon compromis entre taille des particules et surface du catalyseur lors de la synthèse des catalyseurs.

Les groupements de surface des catalyseurs (groupements hydroxyles) affectent également le rendement des réactions de photocatalyse. En effet, ces derniers sont des piègeurs de trous photogénérés. Plus il y a de groupements hydroxyles mieux se fera la séparation des paires e⁻/h⁺. De plus, les groupements hydroxyles présents à la surface peuvent aussi former des radicaux hydroxyles d'où une augmentation du rendement de la réaction. Yu *et al.*, (2006) ont comparé l'activité photocatalytique du P25 Degussa avant et après traitement hydrothermal. Ils ont observé une augmentation de l'activité photocatalytique due à une augmentation, après le traitement hydrothermal, des groupements hydroxyles à la surface du catalyseur.

Comme la présence de groupements hydroxyles à la surface des catalyseurs, le couplage des catalyseurs avec des supports tels que les zéolites, les matériaux mésoporeux ou des matériaux à base de carbone (graphène) est également utilisé pour favoriser la séparation des charges. Par ailleurs, ces matériaux à l'exemple du graphène, présentent aussi l'avantage de favoriser l'adsorption des polluants à la surface des catalyseurs.

Le graphène est un cristal bidimensionnel de carbone lié par des liaisons π et des liaisons σ . Il présente une grande surface spécifique (2630 m²/g) et la délocalisation des électrons au niveau des liaisons π du carbone assure une excellente conductivité au sein de ce matériau (Zhu *et al.*, 2010). Ainsi, les composites Graphène-TiO₂ sont des matériaux

présentant une bonne activité photocatalytique du fait du transport des électrons qui évite la recombinaison des paires électrons/trous (Guo *et al.*, 2011, Khoa *et al.*, 2012). Les oxydes de graphène ont des propriétés semblables au graphène (matériaux conducteurs d'électrons) et en plus de ces propriétés, ils permettent une meilleure adsorption des composés organiques avec une tendance à former des liaisons hydrogène du fait de la présence des groupements hydroxyles à leur surface. De ce fait, les matériaux composites oxyde de graphène-TiO₂ peuvent générer un meilleur rendement photocatalytique que les composites graphène-TiO₂ (Nguyen-phan *et al.*, 2011, Khao *et al.*, 2012).

VII.1.2.2 Dopage des semi-conducteurs

La bande interdite du dioxyde de titane est de 3,2 eV pour l'anatase et de 3,02 eV pour le rutile. De ce fait, l'anatase, par exemple, absorbe les ultraviolets pour des longueurs d'onde inférieures à 385 nm. Par ailleurs, les radiations UV représentent moins de 3-5 % du spectre solaire, alors que la part du visible correspond à 45% du spectre (si l'on considère les UV, le visible et l'infrarouge). Aussi, la photocatalyse solaire est un domaine en plein développement et de nombreux travaux ont pour objet l'optimisation de systèmes utilisant la lumière solaire (Goetz *et al.*, 2009). L'effort est porté, d'une part sur l'augmentation de la sensibilité des photocatalyseurs dans la gamme UV (Anpo et Takeuchi, 2003), et d'autre part sur le déplacement ou l'augmentation de la gamme d'activation spectrale de ces photocatalyseurs dans le visible (Yap *et al.*, 2010).

Les premiers photocatalyseurs actifs dans l'UV et le visible ont été obtenus en introduisant des métaux de transition dans la structure électronique de la bande interdite (Navio *et al.*, 1999, Anpo *et al.*, 2003). Cependant le dopage par les métaux présente quelques inconvénients. En effet, les matériaux dopés avec des métaux sont thermiquement instables et le dopage par les métaux crée des centres de recombinaison qui augmentent la recombinaison des charges (Asahi *et al.*, 2001). De plus, les métaux de transition sont coûteux. Le dopage par les hétéroatomes a alors été envisagé (Salto *et al.*, 1986) et parmi les hétéroatomes utilisés pour le dopage, l'azote apparaît comme un dopant prometteur (Asahi *et al.*, 2001).

Le dioxyde de titane dopé à l'azote peut être obtenu par divers procédés de synthèse qui peuvent être regroupés en trois catégories. La première catégorie de dopage conduit à la modification du TiO₂ par bombardement ionique, par exemple le bombardement du TiO₂ par un mélange gazeux N₂/Ar. La deuxième catégorie de dopage conduit à la modification du TiO₂ par imprégnation de produits chimiques en phase gazeuse et enfin la troisième catégorie conduit à la croissance du matériau TiO_{2-x}N_x en partant de précurseurs liquides ou gazeux

(Yates *et al.*, 2006). Au cours de ces procédés de synthèse, l'azote peut être incorporé en substitution à l'oxygène et formé des nitrites (Ti-N) (Saha *et al.*, 1992) ou des oxynitrites (O-Ti-N) (Wang *et al.*, 2007). Il peut également se trouver dans les sites interstitiels et formé des oxoanions (Di Valentin *et al.*, 2005). Lorsque l'azote est en substitution, il se crée des états d'énergie au dessus de la bande de valence (+ 0,14 eV) et lorsque l'azote est dans les sites interstitiels, il se crée des états d'énergies dans l'intergap (+ 0,7 par rapport à la bande de valence). Dans les deux cas, de nouveaux états sont introduits dans la bande interdite, la bande d'absorption est réduite d'où l'activité photocatalytique du TiO₂ dopé sous éclairage visible (Di Valentin *et al.*, 2007).

VII.2. Application de la photocatalyse au traitement de l'eau

Dans leur étude publiée en 1977, Franck et Bard furent les premiers à proposer d'utiliser le dioxyde de titane sous irradiation UV pour la purification de l'eau via la décomposition photocatalytique des polluants (Franch et Bard, 1977 ; Fujishima *et al.*, 2008). Depuis lors, les études sur l'utilisation de la photocatalyse comme procédé de dépollution en phase aqueuse ne cessent d'augmenter et les résultats obtenus montrent que le procédé photocatalytique peut conduire à la dégradation d'un bon nombre de contaminants organiques. Cependant, ce procédé présente encore certaines limitations ; la recombinaison des paires e^-/h^+ qui limite l'efficacité du procédé photocatalytique, les UV qui ne représentent que 3 à 5 % des irradiations solaires et la formation d'intermédiaires réactionnels qui peuvent être plus néfastes que les composés de départ.

Dans les parties qui suivent, est présenté une revue bibliographique synthétique des travaux réalisés concernant les intermédiaires réactionnels rencontrés lors de la dégradation des polluants retenus pour ce travail de thèse à savoir la tétracycline, le bisphénol A et la 17 β -œstradiol.

VII.2.1 Traitement de la tétracycline par photocatalyse

La tétracycline (TC) comme la plupart des antibiotiques est un composé biorécalcitrant. En effet, les traitements biologiques ne permettent pas une minéralisation complète de ce composé. Les traitements d'oxydation avancés tels que la photocatalyse peuvent être utilisés comme technique de traitement pour l'élimination, la minéralisation complète de ces composés récalcitrants aux traitements biologiques ou encore comme prétraitement oxydatif (Klavarioti *et al.*, 2009, Oller *et al.*, 20011, Arslan-Alaton *et al.*, 2004). Lorsque les POAs sont utilisés en prétraitement oxydatif, le principe est de transformer les

composés réfractaires aux traitements biologiques en intermédiaires plus biodégradables et ensuite d'appliquer un traitement biologique. Reyes *et al.*, (2006) ont évalué la biodégradabilité des intermédiaires formés lors de la photocatalyse de la tétracycline par la mesure du ratio de la demande biochimique en oxygène et la demande chimique en oxygène et ont conclu à une augmentation de la biodégradabilité des composés contenus dans l'eau traitée. Cependant, la structure chimique de ces composés n'a pas été déterminée.

Certains auteurs ont tenté d'élucider le mécanisme de dégradation photocatalytique de la tétracycline. Palominos *et al.*, (2009) ont montré, en utilisant des piègeurs à radicaux, que le mécanisme prépondérant était l'oxydation de la TC par les lacunes électroniques présentes à la surface du catalyseur. Cependant, ils n'ont pas identifié les intermédiaires et n'ont pas établi de chemin réactionnel. Dans la même étude, l'activité antibactérienne des intermédiaires a également été évaluée. Il a été observé une baisse de l'activité antibactérienne sur *staphylococcus aureus* (Palominos *et al.*, 2009). Cette baisse de l'activité antibactérienne fut également observée par Reyes *et al.*, (2006) dans l'étude citée précédemment.

VII.2.2 Traitement du bisphénol A par photocatalyse

Les études sur l'élimination du bisphénol A par photocatalyse s'articulent autour de l'optimisation des paramètres expérimentaux les plus influents tels que le pH, la concentration initiale en BPA, l'effet des ions présents dans la matrice aqueuse (nitrates, carbonates etc.), l'intensité de l'irradiation ainsi que sur l'utilisation du dioxyde de titane modifié pour l'usage de la lumière solaire. Des études de suivi de la dégradation du BPA en milieux aqueux ont montré que le taux de minéralisation du BPA variait selon les pH. Par exemple, Chiang *et al.*, (2004) ont étudié la dégradation du BPA à pH 3 et à pH 10 sous UV (lampe à fluorescence, $\lambda=355$ nm). Les résultats ont montré qu'à pH 3, le BPA est complètement minéralisé au bout de 2 heures de traitement alors qu'à pH 10, le BPA était minéralisé seulement entre 20 et 30 % pour une même durée de traitement. D'après les auteurs, il y a plus d'ions hydroxyde (OH^-) en milieu basique ; la photooxydation de ces ions hydroxydes (OH^-) par les trous formés à la surface du TiO_2 génère plus de radicaux OH^\bullet . Ces radicaux accélèrent la dégradation du bisphénol A (Tsai *et al.*, 2009) et les produits de dégradation obtenus après oxydation sont principalement les acides carboxyliques. Les acides sont déprotonnés et acquièrent une charge négative. Ils sont ainsi adsorbés difficilement à la surface du dioxyde de titane chargée négativement et ne sont pas minéralisés (Chiang *et al.*, 2004). Une autre explication à la faible minéralisation du bisphénol A à pH basique peut être la présence des ions carbonates. Les

auteurs dans leur étude ont montré qu'une partie du BPA est transformée en ions carbonates lors de la photocatalyse. Ces ions carbonates peuvent piéger les radicaux hydroxyles et former des radicaux carbonates moins réactifs que les radicaux hydroxyles (Chiang *et al.*, 2004). En milieu acide, le bisphénol A est sous sa forme non ionisée (pK_{a1} 9,59 ; pK_{a2} 10,2). Ainsi, il est mieux adsorbé sur le TiO_2 . Les trous formés à la surface du semi-conducteur réagissent avec le BPA ainsi que les radicaux hydroxyles. Par conséquent, la minéralisation du composé peut être obtenue (Tsai *et al.*, 2009, Chiang *et al.*, 2004).

La dégradation photocatalytique sous irradiation solaire du BPA a été observée avec mise en œuvre de divers types de catalyseurs ; des catalyseurs non modifiés (Kaneco *et al.*, 2004, Rodriguez *et al.*, 2010), des catalyseurs dopés (Yap *et al.*, 2010, Subagio *et al.*, 2010) ou encore des catalyseurs sous forme supportée sur des anodes en dioxyde de titane (Frontistis *et al.*, 2011). La formation des intermédiaires, leurs effets œstrogéniques et la toxicité ont été regardés dans certaines de ces études. Rodriguez *et al.* (2010) ont observé une augmentation de la toxicité sur *Vibrio fischeri* de la solution de BPA traitée par photocatalyse sous irradiation solaire. Par contre Frontistis *et al.*, (2011) ont observé que les intermédiaires dus à l'oxydation du BPA obtenus lors du traitement photocatalytique sous irradiation solaire simulée (simulateur solaire Oriel modèle 96000 avec une lampe au Xénon) présentaient une faible toxicité sur les *Vibrio fischeri* en comparaison au BPA. Ils ont également observé une baisse de l'effet œstrogénique au cours du traitement. Neamtu et Frimmel (2006) ont aussi observé la diminution de l'effet œstrogénique lors d'une de leur étude sur la photolyse du BPA sous irradiation UV (lampe à vapeur de mercure à basse pression, puissance 15 W). Ces différents résultats sur la toxicité suggèrent, d'une part, la possibilité que les intermédiaires du BPA soient différents d'une étude à l'autre et que, d'autre part, l'effet des intermédiaires sur les organismes vivants devrait être systématiquement évalué.

Cependant, ces études se rejoignent sur un point ; le mécanisme de la réaction d'oxydation. Les intermédiaires réactionnels majoritaires se forment par l'attaque du radical hydroxyle sur le carbone reliant les groupements phényles. Puis les composés aromatiques obtenus sont oxydés en acides par ouverture du cycle aromatique. Les intermédiaires majoritaires retrouvés dans la littérature ainsi que la méthode d'analyse utilisée pour l'identification de ces intermédiaires avec ses conditions opératoires sont présentés dans le Tableau I. 13.

Tableau I. 13 : Sous-produits du Bisphénol A obtenus après traitement photocatalytique

| Méthodes d'analyse | Type de colonnes et phases mobiles | Intermédiaires réactionnels | Références |
|---|--|--|--------------------------------|
| UV, HPLC, GC/SM | HP-5 colonne capillaire | 4-hydroxyacétophénone, p-hydroquinone, phénol, méthylbenzofurane, p-quinone | Fukahori <i>et al.</i> , 2003 |
| GC/SM | HP-5MS | 1-1-éthényldenebis-benzène, 4-tert-butylphénol, 4-isopropylphénol, phénol | Lee <i>et al.</i> , 2004 |
| HPLC. Comparaison des t_r des sous-produits obtenus avec ceux de la littérature | - | 4-hydroxyacétophénone, 4-isopropenylphénol | Chiang <i>et al.</i> , 2004 |
| HPLC-UV, GC/SM | HP-5 colonne capillaire | 4-hydroxyacétophénone, p-hydroquinone, phénol Méthylbenzofurane, p-quinone | Katsumata <i>et al.</i> , 2004 |
| HPLC, GC-EI/SM | Chromospher 5 poly C18, ACN/H ₂ O 1:1 HP-capillary | Phénol, Acétophénone, 4-hydroxyacétophénone méthylbenzofurane | Kaneco <i>et al.</i> , 2004 |
| HPLC-UV, RMN ¹ H, ESI/LC/MSD | Crestpak C18S | Phénol, Acétophénone, 4-hydroxyacétophénone 4-isopropylphénol etc. | Watanabe <i>et al.</i> , 2003 |
| UV, HPLC, LC-ESI/SM | Zorbax SB-C18, ACN/H ₂ O 50 :50 v/v CH ₃ COOH/ACN 60/40 v/v | 1-1-éthényldenebis-benzène 4-tert-butylphénol 4-isopropylphénol, phénol | Zhou <i>et al.</i> , 2004 |
| HPLC, UV, Comparaison des t_r et spectre UV avec ceux de la littérature | Zorbax RX-C18, ACN/H ₂ O 50 :50 | Phénol, 1,4-dihydroxylbenzène 1,4-benzoquinone | Neamtu et Frimmel., 2006 |
| HPLC, EI-GC/SM | Colonne HP-5 C18, ACN/H ₂ O 60 :40 v:v | 4-hydroxyacétophénone 4-isopropenylphénol | Zhan <i>et al.</i> , 2006 |
| HPLC-UV, GC/SM | HP-capillary Chromospher 5 poly C18, ACN/H ₂ O 1:1 | Phénol, Acétophénone 4-hydroxyacétophénone, méthylbenzofurane | Inoue <i>et al.</i> , 2007 |
| HPLC, LC/ESI-MS-MS, GC-EI/MS-MS | Colonne capillaire en silice C18, ACN/H ₂ O, 7 :3 v/v | p-isopropenylphénol, p-isopropylphénol 4-isopropanolphénol, styrène, p-hydroxyacétophénone (1-phenyl-1 butenyl)benzène | Li <i>et al.</i> , 2008 |

VII.2.3 Traitement de la 17 β -œstradiol par photocatalyse

Plusieurs auteurs ont étudié l'élimination de la 17 β -œstradiol (E2) par traitement photocatalytique et, comme pour le bisphénol A, les résultats de ces études ont montré que l'oxydation de la 17 β -œstradiol en milieu aqueux dépend du pH du milieu. L'étude réalisée par Zhang *et al.*, (2007) sur la dégradation photocatalytique de l'E2 (238 nm \leq λ \leq 579 nm, puissance de la lampe 15 W) a révélé que le taux de dégradation de la 17 β -œstradiol augmentait avec le pH pour atteindre son optimum à une valeur de pH égale à 7,6. Ce même résultat a été obtenu par Coleman *et al.*, (2000) dans leur étude (300 nm \leq λ \leq 400 nm, I = 8. 10⁻⁸ einsteins.s⁻¹.cm⁻²) .Ces derniers ont obtenu une augmentation de la constante de vitesse de réaction en augmentant le pH de 1 à 7 puis une baisse de celle-ci.

Mai *et al.* (2008) ont également montré que le chemin réactionnel de la dégradation photocatalytique de l'E2 différait selon le pH. Les intermédiaires obtenus en milieu alcalin sont différents de ceux obtenus en milieu acide et à pH neutre. En milieu basique les intermédiaires identifiés sont l'2-hydroxy-œstradiol, le 10 ϵ -17 β -dihydroxy-1,4-œstradien-3-one, le 10 ϵ -hydroperoxide-17 β -hydroxy-1,4-œstradien-3-one et à pH neutre, en plus des intermédiaires identifiés en milieu basique, un intermédiaire de plus a été identifié, le 17 β -hydroxy-1,4-œstradien-3-one.

Peu d'études sur la dégradation photocatalytique de l'E2 sous irradiations solaires ont été menées. Zhang *et al.*, (2008) ont étudié la dégradation photocatalytique de l'E2 contenu dans les effluents d'une station d'épuration d'Horsham en Angleterre sous irradiation solaire. Au bout de 100 heures d'éclairement, seulement 50% de la concentration initiale en E2 a disparu.

En ce qui concerne l'effet œstrogénique, Ohko *et al.* (2002), Coleman *et al.*, (2004) ont observé une baisse de l'activité œstrogénique au cours du traitement photocatalytique sous UV en utilisant le « Yeast recombination assay ». Selon les auteurs, le cycle aromatique de l'E2 est le site qui se lie au récepteur œstrogénique et lors du procédé photocatalytique, ce cycle est oxydé d'où la baisse de l'activité œstrogénique (Ohko *et al.*, 2002).

VII.2.4 Conclusion sur l'étude de l'application de la photocatalyse au traitement de la tétracycline, du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol

La revue bibliographique réalisée sur le procédé photocatalytique appliqué respectivement au traitement de la tétracycline, du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol a été

menée afin de mieux cerner les intermédiaires réactionnels potentiellement formés. Les principales conclusions de cette revue sont les suivantes.

Les études sur le bisphénol A et la 17 β -œstradiol ont montré que ces composés peuvent être minéralisés en utilisant la photocatalyse comme procédé de traitement. Selon ces études, la nature des intermédiaires formés pour chacun d'eux (BPA et l'E2) est différente et ces intermédiaires peuvent avoir un effet toxique plus important ou être moins toxiques que les composés de départ (BPA et E2). Les intermédiaires du BPA et de l'E2 peuvent également présenter un effet œstrogénique moins important que les composés de départ ou encore être plus œstrogéniques. Par ailleurs, le mécanisme de la dégradation photocatalytique du BPA se fait par l'attaque du carbone reliant les groupements phényles suivi de l'oxydation des composés aromatiques résultants qui eux-mêmes forment des acides par ouverture du cycle aromatique. Celui de la dégradation photocatalytique de l'E2 commence par l'oxydation du groupement phénol puis aboutit à la formation d'acide.

En ce qui concerne la tétracycline, peu d'études ont évalué l'impact environnemental en termes de biodégradabilité des intermédiaires formés lors de la photocatalyse. De plus, dans ces études, bien que les effets toxiques des intermédiaires réactionnels aient été évalués, les structures chimiques de ces intermédiaires n'ont pas été déterminées.

VIII. Conclusion et objectifs de l'étude

Les polluants émergents sont rencontrés dans les divers compartiments de l'environnement (air, eau et sol). Ces composés proviennent de plusieurs sources : des rejets de l'activité industrielle, des rejets de l'activité domestique et des activités agricoles. Les stations d'épurations équipées de traitements conventionnels ne permettent pas une élimination complète de ces contaminants. Une réponse possible à cette problématique est d'intégrer au traitement de cette pollution la mise en œuvre de procédés d'oxydation avancés (POA).

Parmi les POAs, la photocatalyse utilisant la lumière solaire est le procédé de traitement qui fait l'objet de ce travail de thèse. Si de nombreuses études montrent que ce procédé de traitement est particulièrement prometteur surtout s'il peut être développé sous irradiations solaires, celui-ci présente encore certains inconvénients. Notamment, le matériau photocatalytique, la recombinaison des charges générées sous irradiation qui limitent l'efficacité du procédé de traitement. Cette efficacité pourrait être augmentée si les matériaux pouvaient être actifs non seulement dans l'ultraviolet mais aussi dans le spectre visible. Enfin,

la formation d'intermédiaires réactionnels reste problématique si ceux-ci se montrent plus néfastes que les polluants de départ. Ainsi, l'application de la photocatalyse en tant que traitement de la pollution à grande échelle, nécessite, d'une part, le développement de catalyseurs qui soient plus actifs sous un spectre plus large, d'autre part, une meilleure compréhension des mécanismes mis en jeu lors du processus de dégradation et enfin une meilleure connaissance de l'impact environnemental du aux possibles intermédiaires. Ainsi, dans l'optique de répondre à ces limitations, dans le cadre du projet Européen « Clean Water », des photocatalyseurs actifs sous irradiation solaire ont été synthétisés par différents partenaires du projet. Plus spécifiquement, l'objectif de ce travail de thèse est de mettre en place une méthodologie expérimentale afin d'évaluer l'efficacité de ces catalyseurs. Cette méthodologie est appliquée à la dégradation photocatalytique de trois composés modèles, la tétracycline, le bisphénol A et la 17 β -œstradiol. Les paramètres observés pour l'évaluation de l'efficacité des catalyseurs sont le pourcentage de dégradation, le pourcentage de minéralisation, les constantes cinétiques de dégradation ainsi que le potentiel impact environnemental (biodégradabilité, effets toxiques, effets œstrogéniques) des intermédiaires réactionnels majoritairement formés.

La revue bibliographique a montré que la chromatographie liquide est une des méthodes d'analyse la plus utilisée, en effet elle est bien adaptée à l'analyse des micropolluants de l'eau. De plus en couplage avec la spectrométrie de masse en tandem, l'utilisation de cette méthode d'analyse permet l'identification de la structure chimique des composés. Les intermédiaires formés au cours d'un procédé de traitement peuvent être alors identifiés et un mécanisme réactionnel peut être établi. Ainsi, au travers de la revue bibliographique, les mécanismes réactionnels mis en jeu lors de dégradation photocatalytique respective du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol ont été identifiés.

Par ailleurs, d'autres méthodes d'analyse ont été abordées dans cette revue ; il s'agit des méthodes biologiques. Ces méthodes, notamment les bioessais sur les organismes vivants, permettent d'évaluer les effets probables des composés sur les être vivants dans leur environnement. Afin de compléter les informations obtenues au travers des analyses physico-chimiques, les méthodes biologiques sont également intégrées dans la démarche générale de ce travail.

Dans le chapitre suivant, est présentée la démarche générale développée pour évaluer l'efficacité des catalyseurs élaborés dans le cadre du projet Clean Water. Cette démarche s'appuie sur les connaissances acquises lors de la revue bibliographique et elle est appliquée à la tétracycline, au bisphénol A et à la 17 β -œstradiol.

Chapitre II : Approche méthodologique

I. Introduction

Dans la plupart des études rencontrées en littérature, l'efficacité photocatalytique des catalyseurs est évaluée sur la dégradation et la minéralisation des contaminants (Nepollian *et al.*, 2002, Sakthivel *et al.*, 2003, Habibi *et al.*, 2005 et Wang *et al.*, 2012). Or, lors du procédé de traitement par photocatalyse hétérogène, les mécanismes de dégradation des polluants induisent la formation d'intermédiaires réactionnels. Il s'avère que l'impact environnemental de ces intermédiaires réactionnels, c'est-à-dire la biodégradabilité ou l'effet sur les êtres vivants, peut être différent de celui causé par les composés de départ (Bozzi *et al.*, 2004, Antignoni *et al.*, 2010, Rizzo, 2011). Pour cette raison, il semble judicieux d'associer l'évaluation des impacts potentiels des intermédiaires réactionnels aux études menées pour comparer les efficacités de dégradation des catalyseurs.

Par ailleurs, peu d'études sur les efficacités de dégradation des photocatalyseurs cherchent à identifier les intermédiaires générés ou tiennent compte de leur potentiel effet (Hathway *et al.*, 2008, Hathway *et al.*, 2009). Dans ce chapitre, une méthodologie mise en place pour évaluer l'efficacité des catalyseurs est présentée. Cette méthodologie prend en compte aussi bien les pourcentages de conversion, de minéralisation des polluants que l'effet des intermédiaires générés ainsi que leur structure et les mécanismes de formation de ces intermédiaires réactionnels.

II. Démarche générale

La démarche générale de l'évaluation de l'efficacité des catalyseurs est présentée Figure II. 1. En plus des critères couramment évalués en littérature c'est-à-dire les pourcentages de conversion ou encore les constantes cinétiques de dégradation, l'efficacité photocatalytique des catalyseurs est évaluée sur la biodégradabilité des intermédiaires générés lors du traitement photocatalytique ainsi que sur les effets potentiels de ces intermédiaires sur les êtres vivants, en termes de toxicité et de perturbation endocrinienne.

La démarche générale, présentée ici, comprend le choix de composés modèles à étudier avec des propriétés physico-chimiques et des impacts sanitaires et environnementaux différents. Comme évoqué dans la partie bibliographique de ce travail, ces composés représentent trois catégories de polluants émergents (antibiotiques, produits industriels et hormones). Puis l'étude de la dégradation photocatalytique de ces composés en mettant en œuvre les catalyseurs élaborés par les partenaires du projet Clean Water ainsi qu'un photocatalyseur de référence à base de dioxyde de titane (TiO₂ P25, AEROXIDE®) est

effectuée. Des cinétiques de dégradation sont réalisées, les constantes cinétiques évaluées. Les pourcentages de dégradation et de minéralisation sont déterminés. L'impact environnemental des intermédiaires (biodégradabilité, toxicité, perturbation endocrinienne) est aussi déterminé puis comparé à celui des composés de départ (composés modèles). Les intermédiaires réactionnels sont identifiés dans le but de lier les effets aux composés et aussi dans le but d'établir les mécanismes réactionnels.

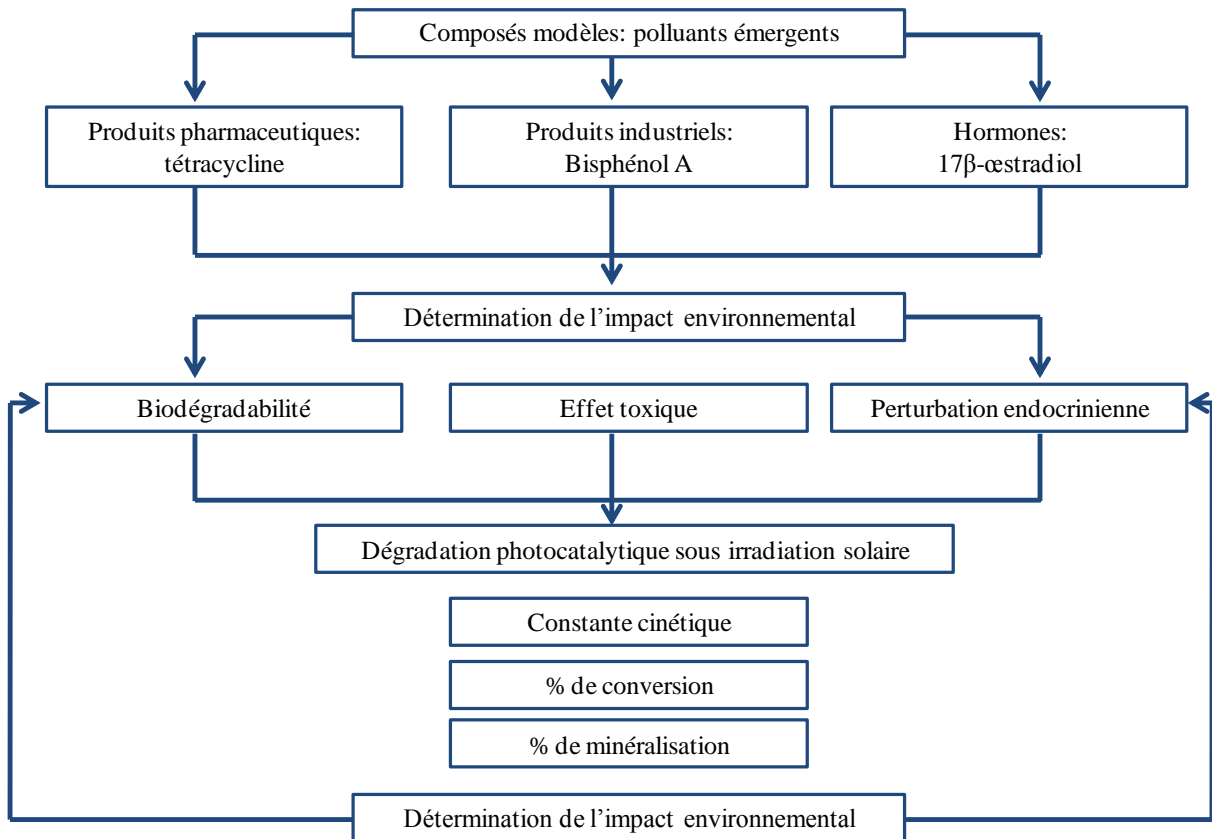


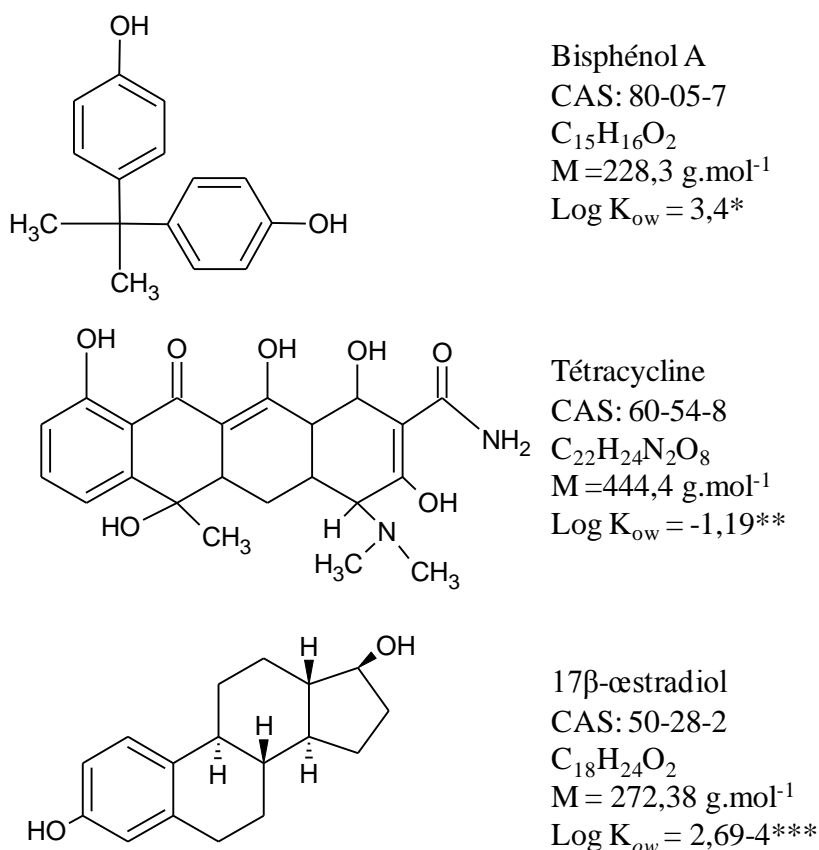
Figure II.1 : Démarche méthodologique générale

Les composés modèles, les catalyseurs, le dispositif expérimental mis en œuvre pour réaliser les tests photocatalytiques sont présentés dans les paragraphes suivants. Les méthodes analytiques et les méthodes utilisées pour évaluer respectivement la biodégradabilité, l'effet toxique et l'effet de perturbation endocrinienne sont également présentées.

III. Composés modèles

Les composés retenus pour cette étude font partis de trois grandes catégories de polluants émergents : la tétracycline pour les produits pharmaceutiques, le bisphénol A pour les produits industriels et la 17β-œstradiol pour les hormones. Ces composés ont été choisis

pour leur niveau de rémanence dans l'environnement et leurs effets probables sur les êtres vivants. La tétracycline est un antibiotique peu biodégradable (Prado *et al.*, 2009, Gartiser *et al.*, 2007), le bisphénol A et la 17 β -œstradiol sont des perturbateurs endocriniens et sont des composés biodégradables (Birkett et Lester, 2003, Stavaskakis *et al.*, 2008). Les structures chimiques de ces composés ainsi que leurs propriétés physicochimiques sont présentées Figure II. 2.



*Fiche toxicologique du bisphénol A établie par INERIS (2010), ** Wollenberger *et al.*, 2000, *** Beausse, 2004

Figure II.2 : Structures et propriétés physico-chimiques du bisphénol A, de la tétracycline et de la 17 β -œstradiol

IV. Caractéristiques des matériaux photocatalytiques

Les matériaux photocatalytiques ont été fournis par les laboratoires partenaires. Ces matériaux se trouvent sous forme de poudre. L'efficacité de ces catalyseurs est comparée à celle du dioxyde de titane P25 commercialisé par la société Evonik (TiO₂ P25, AEROXIDE®). Des descriptions détaillées de tous les catalyseurs utilisés dans ce travail de thèse sont présentées dans les paragraphes suivants et les principales caractéristiques de ces catalyseurs sont résumées dans le Tableau II. 1.

IV.1. Les catalyseurs à base de dioxyde de titane dopés à l'azote

Ces catalyseurs ont été fournis par l'Institut de Chimie Physique du Centre National de Recherche Demokritos. C'est du dioxyde de titane dopé à l'azote. Ils ont été préparés par un traitement chimique basé sur la calcination d'une solution alcoolique acidifiée et mélangée avec de l'urée. Ils sont notés N1-TiO₂ et N2-TiO₂. N2-TiO₂ a été obtenu après un traitement thermique réalisé sur N1-TiO₂. Les poudres obtenues sont caractérisées par diffraction des rayons X, par micro-Raman, par spectroscopie UV-Visible et par spectrométrie photoélectronique X. Aucun signal relatif à la liaison Ti-N n'est observée en micro-Raman. Cette absence de signal indique que l'azote apparaît comme un défaut dans le réseau de TiO₂ et réside principalement à la surface des particules de TiO₂ (kontos *et al.*, 2008).

IV.2. Le catalyseur à base de dioxyde de titane et d'oxyde de graphène

Ce catalyseur est du dioxyde de titane mis en œuvre avec de l'oxyde de graphène (GO-TiO₂). Il a été fourni par le Laboratoire de Catalyse et Matériaux de la Faculté d'Ingénierie de l'Université de Porto. La synthèse de ce catalyseur s'est faite en deux étapes. La première étape a été la préparation de la suspension d'oxyde de graphène et la seconde, la préparation du composite oxyde de graphène réduit/TiO₂ (GO-TiO₂) (Pastrana-Martínez *et al.*, 2012). Le GO-TiO₂ a été caractérisé par microscopie à force atomique, par analyse thermogravimétrique différentielle, par microscopie électronique à balayage à haute résolution, par spectroscopie UV-Visible, par micro-Raman et à l'aide du prosimètre à mercure.

Les résultats des analyses ont révélé la présence de deux feuilles d'oxyde de graphène avec une hauteur d'environ 1,7 nm. La proportion d'oxyde de graphène dans le composite GO-TiO₂ est environ 4 % en masse. Une bonne distribution du TiO₂ sur les deux côtés des nanofeuillets d'oxyde de graphène est observée dans le composite GO-TiO₂. Dans GO-TiO₂, les particules de TiO₂ sont sous formes sphériques avec une taille moyenne de 4-5 nm. Le TiO₂ est présent uniquement sous la forme anatase. Aucun atome de carbone n'a été introduit dans les sites de substitution et les sites interstitiels du TiO₂ : le TiO₂ obtenu n'est pas dopé en carbone. Le composite GO-TiO₂ absorbe dans le visible. Son gap est de 2,95 eV. Ce rétrécissement du gap du GO-TiO₂ comparé à celui du TiO₂ (3,13 eV) est dû à la liaison chimique qui s'est formée entre le TiO₂ et les sites spécifiques de carbone (Ti-OC) (Pastrana-Martínez *et al.*, 2012b).

IV.3. Les catalyseurs à base de TiO₂ élaboré par voie sol-gel

Ces catalyseurs proviennent du groupe CIDIA-FEAM du département de chimie de l'université de Las Palmas de Gran Canaria. Ces catalyseurs sont du dioxyde de titane fabriqués via la méthode sol-gel avec du butoxyde d'éthanol de titane comme précurseur. Une sélection des agrégats a été réalisée avant le traitement thermique. Ils sont nommés ECT (pour éthanol citrique et tetrabutoxyde) suivi de la température à laquelle le traitement thermique a été effectué puis de t pour tamisage. Pour les catalyseurs testés, le traitement thermique a été effectué respectivement à 823° K et 1023° K. Ainsi les catalyseurs reçus des partenaires sont ECT-823t et ECT-1023t. Pour ECT-1023t, il y a deux catalyseurs, ECT1-1023t et ECT2-1023t. ECT2-1023t a été obtenu après un post traitement réalisé sur ECT1-1023t (Araña *et al.*, 2010). Les poudres d'ECT ont été caractérisées par diffraction des rayons X, par microscopie électronique à balayage à haute résolution, par spectroscopie UV-Visible et par spectroscopie à transformé de fourrier. Les catalyseurs obtenus sont tous constitués des deux phases anatase et rutile. Ils présentent une morphologie bipyramidale tronquée à base carrée. Peu de défauts sont présents à la surface des catalyseurs (Araña *et al.*, 2010).

Tableau II. 1 : Caractéristiques des matériaux photocatalytiques

| Catalyseur | Anatase/Rutile | Taille des cristallites (nm) (A) | Taille des cristallites (nm) (R) | Surface spécifique (m ² /g) | Gap (eV) |
|---------------------|----------------|----------------------------------|----------------------------------|--|----------|
| N1-TiO ₂ | 100/0 | 7,9 | - | 140 | 2,31 |
| ECT-873t | 100/0 | 36,9 | - | 27,8 | 3,19 |
| ECT-1023t | 89-94/11-6 | 57,0 | 86,3 | 18,3 | 2,97 |
| GO-TiO ₂ | 100/0 | 4-5 | - | 147 | 2,95 |
| P25 | 80/20 | 25 | 85 | 50,0 | 3,18 |

V. Tests de dégradation photocatalytique

V.1. Description des réacteurs photocatalytiques

V.1.1 Réacteur photocatalytique de laboratoire à lampe UV

Ce réacteur est de forme annulaire (Figure II. 3). Il a une capacité d'un litre. La source d'émission est une lampe à vapeur de mercure (TQ 718 Z1, 700 W) fournie par Heraeus. Cette source est située au centre du réacteur et elle est entourée d'une gaine de

refroidissement en verre Duran. Outre le refroidissement de la lampe, la gaine en verre Duran permet de filtrer les irradianations de longueur d'onde inférieures à 290 nm.

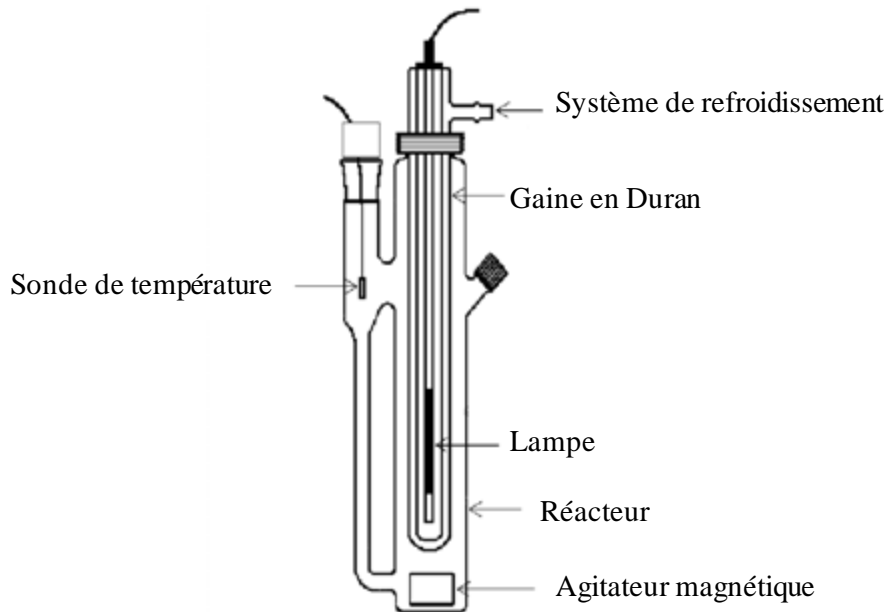


Figure II. 3 : Réacteur photocatalytique de laboratoire à lampe UV

V.1.2 Réacteur photocatalytique à irradiation solaire simulée

Le réacteur est de forme cylindrique, de volume 1 litre et à double paroi. Il est irradié par le haut par une lampe au xénon 450 W fournie par Newport (N° 6277) (Figure II. 4). La lampe est contenue dans un boîtier qui contient également des lentilles permettant d'avoir en sortie un rayonnement collimaté. Il est aussi conçu pour l'accueil de miroirs dichroïques et d'un filtre de masse AM1,5 en sortie du faisceau lumineux. Le filtre de masse permet d'obtenir un spectre d'irradiation semblable au spectre solaire et les miroirs dichroïques de sélectionner des gammes de longueur d'onde. Pour les expériences de photocatalyse, l'irradiation se fait dans trois gammes de longueurs d'onde: 280-400 nm, 420-630 nm et 200 nm-30 μ m.

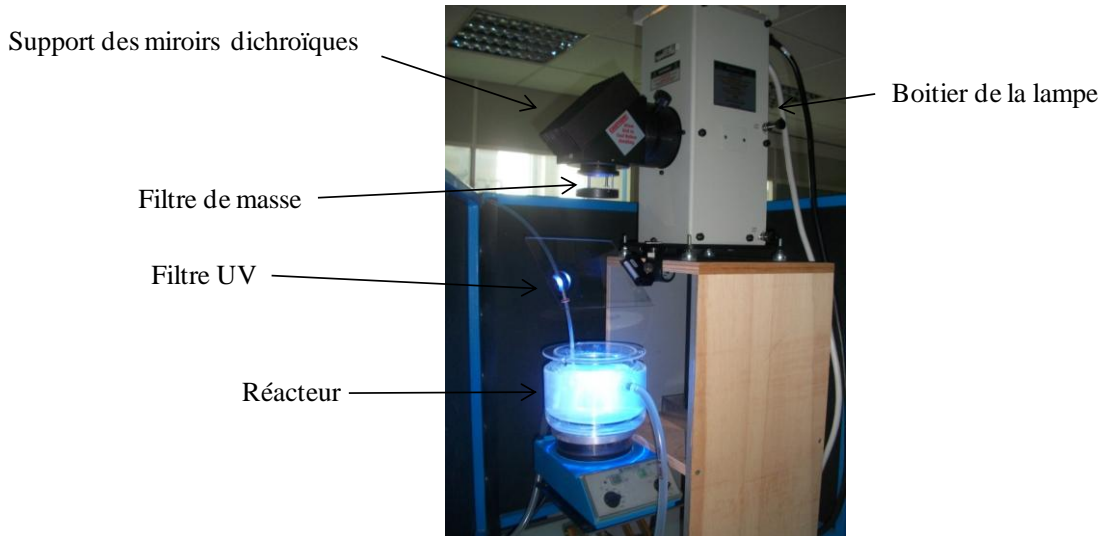


Figure II. 4 : Réacteur photocatalytique à irradiation solaire simulée

V.2. Caractérisation de l'intensité

La connaissance de l'intensité émise par la source et celle reçue dans le réacteur est indispensable pour pouvoir comparer les essais de photodégradation entre eux. Elle est utile pour évaluer les efficacités de catalyseurs en fonction des conditions d'irradiation similaires à l'intensité solaire ceci en vue d'une éventuelle utilisation des catalyseurs sous irradiation solaire. Dans cette étude, le rayonnement émis par les sources lumineuses est caractérisé par la mesure de l'irradiance à 365 nm, par la mesure l'irradiance en fonction de la longueur d'onde et par la mesure par actinométrie chimique de l'intensité reçue au sein du réacteur.

V.2.1 Irradiance à 365 nm

La mesure de l'irradiance à 365 nm est réalisée pour vérifier la stabilité de l'intensité des deux lampes (UV et simulateur solaire) au cours des expériences et aussi pour positionner le réacteur à une distance du simulateur solaire qui permet d'avoir une irradiation la plus uniforme possible au dessus du réacteur. En effet, selon la distance entre le réacteur et le simulateur solaire, la distribution de l'intensité à la surface du réacteur diffère. Plus le réacteur est proche de la sortie du faisceau, plus l'irradiance au centre du réacteur est élevée et celle-ci diminue rapidement lorsque que l'on s'éloigne du centre. Ainsi pour trouver un bon compris sur la distribution de l'intensité à la surface du réacteur, plusieurs distances entre la sortie du faisceau et la surface du réacteur ont été testées. Les résultats sur la distribution de l'irradiance à la surface du réacteur selon la distance au simulateur solaire sont présentés Figure II. 5.

La distance retenue du simulateur solaire au réacteur est de 26 cm. Car à cette distance, la distribution de l'irradiance est plus uniforme en comparaison aux autres distances testées (Figure II. 5 (b))

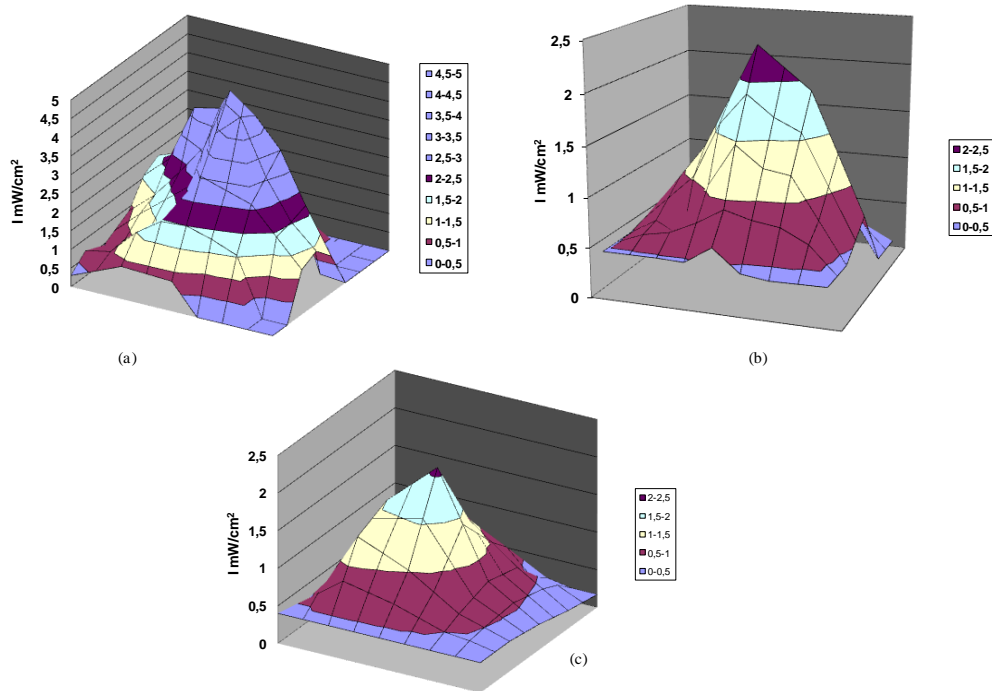


Figure II. 5 : Distribution de l'irradiance à la surface du réacteur située à une distance de 23 cm (a), 26 cm (b) et 30 (c) du simulateur solaire (280-400 nm)

V.2.2 Spectre d'émission

Le spectre d'émission du simulateur solaire dans les trois gammes de longueur d'onde d'irradiation (UV : 280-400 nm, UV-visible : 200 nm-30 µm et visible 420-630 nm) sélectionnées en utilisant les miroirs dichroïques, a été déterminé en utilisant un radiomètre RAMSES-ARC-Hyperspectral UV-VIS Radiance Sensor-320-950 nm. Ce radiomètre mesure la radiance par longueur d'onde.

La radiance (L_e) d'une source lumineuse en un point d'une surface et dans une direction donnée, est le quotient de l'intensité énergétique d'un élément de la surface par l'aire de la projection orthogonale de cette surface dans un plan perpendiculaire à la surface et l'intensité énergétique (I_e) est le quotient du flux énergétique quittant la source dans l'élément d'angle solide contenant la direction par l'angle solide de l'élément (Cornet, 2007).

$$I_e = \frac{d\Phi_e}{d\Omega} \text{ (W/Sr)} \quad \text{Equation II. 1}$$

$$L_e = \frac{dI_e}{dS \cos\theta} \text{ (W/m}^2\text{/Sr) Equation II. 2}$$

ϕ_e étant le flux énergétique, $d\Omega$ l'élément d'angle solide, dS l'élément de surface éclairée.

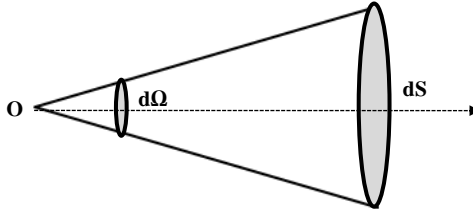


Figure II. 6 : Schématisation de l'angle solide fait par une source lumineuse O éclairant une surface S

La radiance du simulateur solaire dans les trois gammes de longueurs d'onde (UV : 280-400 nm, UV-visible : 200 nm-30 μ m et visible : 420-620 nm) sélectionnées en utilisant les miroirs dichroïques est présentée Figure II. 7.

D'après la Figure II. 7, les principales observations sont les suivantes :

- En comparant le spectre d'émission du simulateur solaire avec les miroirs dichroïques à bande passante UV (courbe UV) et bande passante 200 nm-30 μ m (courbe UV-visible), la radiance a baissé dans la gamme 320-369 nm de la courbe UV-visible.
- Le miroir dichroïque utilisé pour couper les UV n'élimine pas complètement les radiations ultraviolettes (figure 8, courbe visible). Le spectre d'émission de la lampe dans les deux configurations, irradiations dans l'UV-visible (200 nm-30 μ m) et irradiations dans le visible (420-630 nm), et dans la gamme 319-400 nm a été représenté Figure II. 8. Ceci permet de visualiser la différence dans la partie UV entre les deux spectres d'émission. Il est observé en comparaison avec le spectre d'émission obtenu avec le miroir à bande passante UV-visible, une forte diminution de la radiance dans l'intervalle 280-365 nm et une diminution plus faible de la radiance dans l'intervalle 365-390 nm. Cette radiance baisse de 60 % à 352 nm et de 27 % à 379 nm entre l'UV-visible et le visible (Figure II. 8).

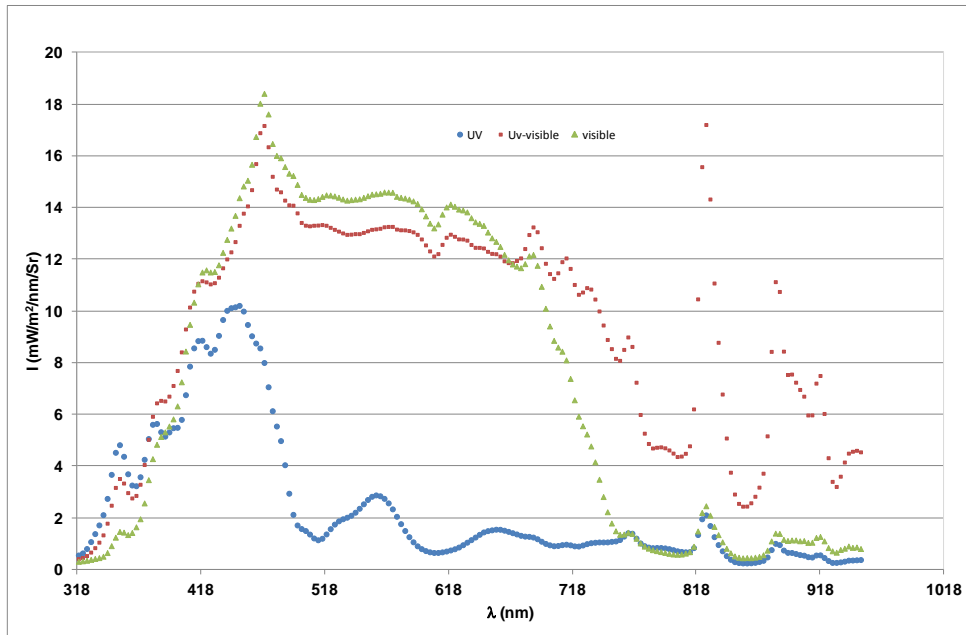


Figure II. 7: Radiance du simulateur solaire dans les gammes de longueur d'onde d'irradiation (UV : 280-400 nm, UV-visible : 200 nm-30 μm et visible 420-630 nm) sélectionnées en utilisant les miroirs dichroïques

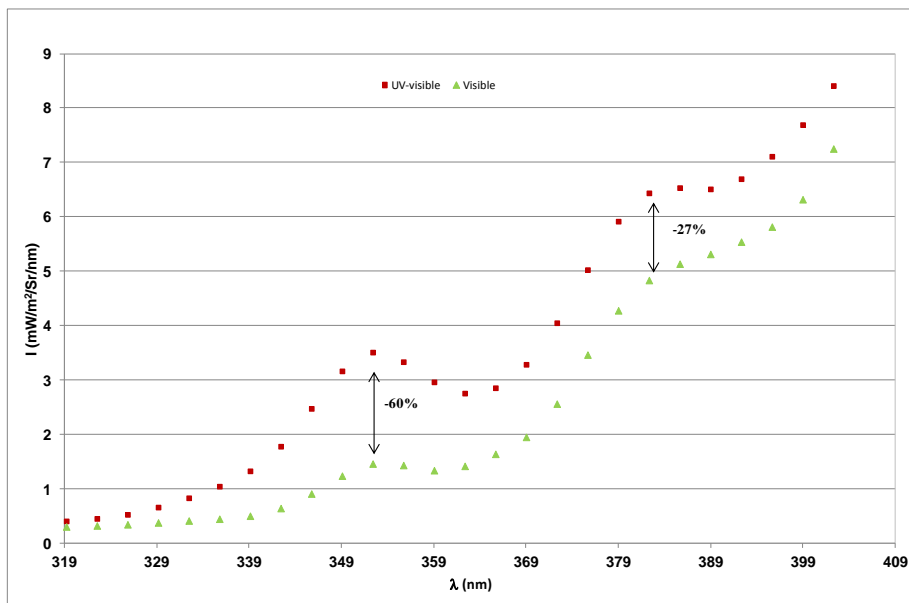


Figure II. 8 : Comparaison du spectre d'émission du simulateur solaire dans la gamme 319-400 nm en utilisant respectivement des miroirs dichroïques à bande passante UV-visible (200 nm-30 μm) et à bande passante visible (420-630 nm)

Etant donné que les UV ne sont pas complètement éliminés en utilisant le miroir dichroïque à bande passante visible (420-630 nm), un filtre à UV est utilisé en support au miroir dichroïque à bande passante visible. Avec ce filtre, les UV sont complètement éliminés (Figure II. 9).

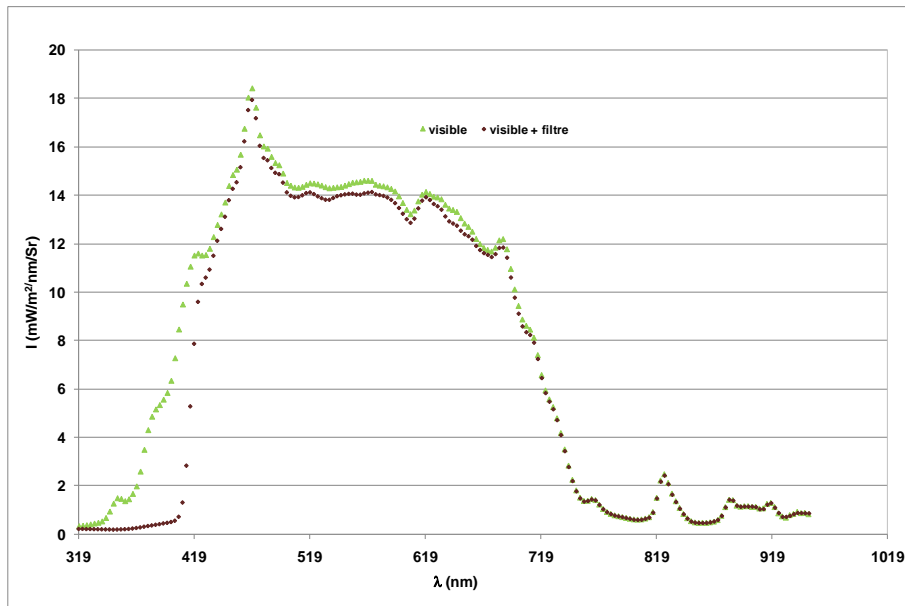


Figure II. 9 : Radiance du simulateur solaire dans la gamme de longueur d'onde d'irradiation visible 420-630 nm sélectionnées en utilisant le miroir dichroïque sans le filtre à UV (visible) puis avec le filtre à UV (visible + filtre)

En conclusion, en plus des conditions d'irradiation précédemment établies (miroirs dichroïques à bande passante : UV 280-400 nm, UV-visible 200 nm-30 μm et visible 420-620 nm), l'efficacité des catalyseurs sera testée en utilisant le miroir dichroïque à bande passante visible et le filtre à UV. Toutes les conditions d'irradiation des catalyseurs sont résumées dans le Tableau II. 2.

Tableau II. 2 : Conditions d'irradiation des catalyseurs

| Nom | Conditions | Intensité mesurée à $\lambda = 365 \text{ nm}^*$ |
|-----------------|--|--|
| UV-visible | (1) Miroir dichroïque bande passante 200 nm-30μm | 2,35 mW/cm ² |
| UV | (2) Miroir dichroïque bande passante 280-400 nm | 1,85 mW/cm ² |
| Visible | (3) Miroir dichroïque bande passante 420-630 nm | 0,97 mW/cm ² |
| Visible+ filtre | (4) Miroir dichroïque bande passante 420-630 nm, filtre à UV | < 0,01 mW/cm ² |

*mesurer à 26 cm de la sortie du faisceau lumineux

Les expériences réalisées dans les conditions présentées dans le Tableau II. 2 permettent :

Condition 1 (UV-visible) : d'évaluer l'efficacité des catalyseurs sous irradiation solaire simulée ;

Condition 2 (UV) : d'évaluer l'efficacité des catalyseurs sous irradiation UV ;

Condition 3 (visible) : d'évaluer l'impact de la baisse de la radiance dans les intervalles 280-365 nm et 365-390 nm sur l'efficacité des catalyseurs lorsque l'on utilise le miroir à bande passante visible en comparaison à l'efficacité sous UV-visible et ainsi de voir si les catalyseurs sont plus efficaces entre 280-365 nm ou 365-390 nm ;

Condition 4 (Visible+filtre) : d'évaluer si les catalyseurs présentent une activité photocatalytique strictement dans le visible.

V.2.3 Mesure du flux photonique

Le flux photonique reçu dans les réacteurs est mesuré afin de connaître la part du rayonnement émis par les sources arrivant dans les réacteurs. De plus, dans le cas du simulateur solaire, il est mesuré pour le comparer aux conditions naturelles en vue d'une application à grande échelle.

Dans cette étude, le flux photonique est mesuré par actinométrie chimique. Cette méthode permet de déterminer la quantité de photon réellement absorbée dans le réacteur car elle tient compte de la géométrie et du volume du réacteur. Le principe de la méthode est de transformer par photolyse des composés appelés actinomètres. Il s'agit ensuite de suivre la disparition de l'actinomètre ou la formation du produit obtenu lors de la photolyse qui dépendent du flux photonique reçu (Kuhn *et al.*, 2004 ; Yang *et al.*, 2004).

Du fait de la facilité d'utilisation et de l'absorption du rayonnement dans une large gamme de longueur d'onde (250-577 nm), le ferrioxalate de potassium est l'un des actinomètres chimiques les plus utilisés (Goldstein et Rabani, 2008). Il a été étudié et utilisé, pour la première fois en tant qu'actinomètre par Parker et Hatchard (Calvert et Pitts, 1973).

La photolyse du ferrioxalate de potassium conduit d'une part à la réduction du fer III en fer II et d'autre part à l'oxydation des ligands oxalates en dioxyde de carbone. En déterminant le nombre de mole d'ion ferreux formé lors de la photolyse, le flux photonique reçu par le ferrioxalate de potassium peut être déterminé. Cet actinomètre est utilisé dans cette étude pour déterminer le flux photonique dans les réacteurs.

V.2.3.1 Photolyse de l'actinomètre

L'actinomètre est une solution de $K_3Fe(C_2O_4)_3 \cdot 3H_2O$ à 0,006 mol/L dans H_2SO_4 à 1 N.

2,937 g de $K_3Fe(C_2O_4)_3 \cdot 3H_2O$ sont introduits dans une fiole jaugée de 1 L suivi de 800 L d'eau distillée. La solution est maintenue sous agitation jusqu'à dissolution complète puis 100 mL d'une solution d'acide sulfurique à 1 N sont rajoutés. Le trait de jauge est ensuite atteint par ajout d'eau distillée puis la solution est stockée à l'abri de la lumière après avoir recouvert au préalable la fiole avec du papier d'aluminium. Selon cette procédure, 3 L de solution d'actinomètre sont préparés.

Pour éviter l'absorption de la lumière du jour, les réacteurs sont recouverts de papier d'aluminium. Puis, dans chacun des réacteurs et pour des gammes d'irradiation respectives de 280-420 nm et 200 nm-30 μm pour le simulateur solaire, 950 mL (V_1) de la solution d'actinomètre sont introduits. L'irradiation est effectuée pendant dix minutes. Toutes les deux minutes, 2 mL (V_2) de solution d'actinomètre sont prélevées puis introduites dans des fioles de 25 mL (V_3) préalablement recouvertes de papier d'aluminium. 2 mL de solution de phénanthroline à 0,1% et 5 mL de solution d'acétate de sodium sont rajoutés successivement au 2 mL d'actinomètre prélevés au cours de l'irradiation ; le trait de jauge est atteint par ajout d'eau distillée. Une autre solution est préparée par ajout de 2 mL d'actinomètre non irradié, 2 mL de solution de phénanthroline à 0,1% et 5 mL de solution d'acétate de sodium. Cette dernière servira de blanc (référence) pour la mesure de l'absorption des solutions. Les solutions sont ensuite stockées à l'abri de la lumière pendant une heure.

L'ajout de la phénanthroline permet la formation du complexe $Fe(o-Phen)_3^{2+}$ dont l'absorbance est mesurée à 510 nm. Les solutions obtenues précédemment sont très concentrées, un volume de 2 mL (V_4) est alors prélevé pour une dilution supplémentaire dans une fiole de 25 mL (V_5) puis l'absorbance du complexe $Fe(o-Phen)_3^{2+}$ à 510 nm est lue.

V.2.3.2 Démarche de calcul du flux photonique

La formation des ions Fe^{2+} (noté Fe II) est proportionnelle au flux de photon absorbé. Cette réaction se traduit par la relation suivante :

$$\frac{dn_{FeII}}{dt} = \phi E_p \quad \text{Equation II. 3}$$

Avec, n_{FeII} , le nombre de moles de Fer II formées (mole), ϕ , le rendement quantique (mole.einstein⁻¹), E_p , le flux photonique (einstein.s⁻¹).

Le nombre de mole d'ions Fe^{2+} formé est calculé selon l'équation 4 et en traçant la variation de cette quantité en fonction du temps, la vitesse de formation peut être déterminée.

$$n_{FeII} = \frac{C_5 \cdot V_5 \cdot V_3}{V_2 \cdot V_4} \cdot V_1 \quad \text{Equation II. 4}$$

Avec, V_1 le volume de la solution d'actinomètre irradié dans le réacteur (950 mL), V_2 le volume prélevé au cours de l'irradiation (2 mL), V_3 le volume après ajout de solution de phénanthroline, de solution d'acétate de sodium et d'eau distillée (25 mL), V_4 le volume prélevé pour la dilution (2 mL), V_5 le volume après la dilution (25 mL) et C_5 la concentration du complexe $\text{Fe}(\text{o-Phen})_3^{2+}$ dans la solution de volume V_5 .

Dans la gamme de longueur d'onde 250-500 nm, le rendement quantique (ϕ) du ferrioxalate de potassium a une valeur moyenne de $1,24 \text{ mole.einstein}^{-1}$ (Yang *et al.*, 2004). Le flux photonique est alors calculé selon l'équation 5

$$E_p = \frac{dn_{\text{FeII}}}{dt} \cdot \frac{1}{\phi} \quad \text{Equation II. 5}$$

V.2.3.3 Flux photonique dans le réacteur à lampe UV

La courbe présentant la formation des ions Fe^{2+} lors de la photolyse du ferrioxalate de potassium est présentée Figure II. 10.

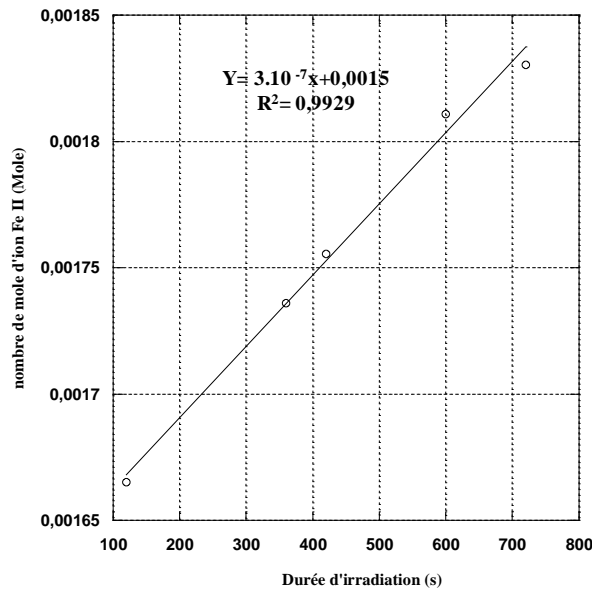


Figure II. 10 : Variation des ions Fe^{2+} en fonction du temps dans le réacteur à lampe UV

A partir de cette droite, la vitesse de formation des ions Fe^{2+} est déterminée, cette valeur est de $3.10^{-7} \text{ mole.s}^{-1}$. En utilisant l'équation II. 5, le flux photonique dans le réacteur est calculé. La valeur trouvée est la suivante : $E_p = 2,42.10^{-7} \text{ einstein.s}^{-1}$.

V.2.3.4 Flux photonique reçu du simulateur solaire

Les courbes présentant la formation des ions Fe^{2+} lors de la photolyse du ferrioxalate de potassium sous irradiations UV (280-400 nm) et UV-visible (200 nm-30 μm) sont présentées Figure II. 11.

A partir de cette droite, la vitesse de formation des ions Fe^{2+} est déterminée, cette valeur est de $1,8 \cdot 10^{-7}$ mole. s^{-1} sous irradiation UV (280-400 nm) et de $1,44 \cdot 10^{-6}$ mole. s^{-1} sous irradiation UV-visible (200 nm-30 μm). En utilisant l'équation II. 5, le flux photonique dans le réacteur est calculé. Les valeurs trouvées sont présentées Tableau II. 3.

Tableau II. 3 : Valeurs du flux photonique émis par le simulateur solaire et reçu dans le réacteur selon les gammes d'irradiation

| | UV (280-400 nm) | UV-visible (200 nm-30 μm) |
|---|----------------------|---------------------------------|
| Flux photonique (Ep, einstein. s^{-1}) | $1,45 \cdot 10^{-7}$ | $1,16 \cdot 10^{-6}$ |

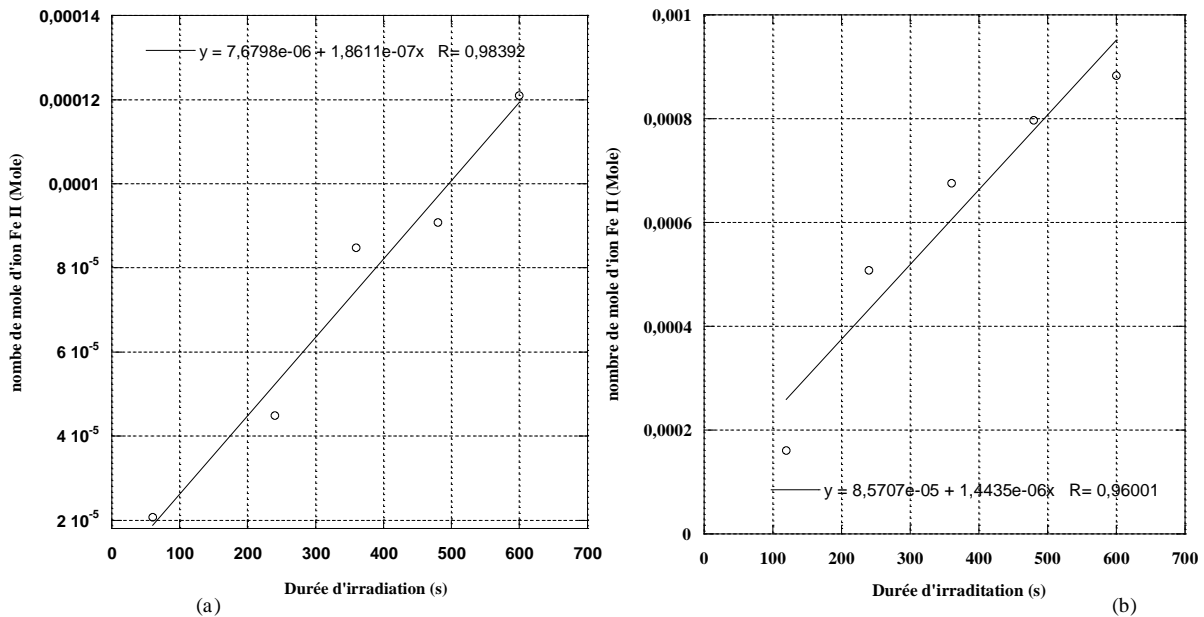


Figure II. 11 : Variation des ions Fe^{2+} en fonction du temps sous irradiation UV (280-400 nm), sous irradiation UV-visible (200 nm-30 μm) (b)

Les simulateurs solaires sont souvent utilisés pour l'étude de la dégradation des contaminants sous irradiations proches de celle du soleil. Espinoza *et al.*, ont utilisé un simulateur solaire à UV (Oriel Corp., Stratford, CT) équipé d'une lampe au xénon 1000 w pour l'étude de la dégradation du bisphénol A en présence du fer et du bicarbonate. Ils ont mesuré le flux photonique reçu dans le réacteur en utilisant l'acide phénylglyoxylique comme

actinomètre et la valeur du flux photonique trouvé fut $1,48.10^{-7}$ einstein.s⁻¹ dans la gamme 290-400 nm (Espinoza *et al.*, 2007). Arslan-alaton *et al.*, ont aussi mesuré le flux photonique émis par un simulateur solaire de chez Oriol équipé du lampe au Xénon 1000 W en utilisant le ferrioxalate de potassium comme actinomètre, ils ont trouvé comme valeur $7,2.10^{-9}$ einstein.s⁻¹ (Arslan-alaton *et al.*, 2002).

En somme, le flux photoniques reçu dépend des conditions expérimentales, c'est à dire de la géométrie du réacteur, du volume irradié, de la distance entre la source et la surface ou volume irradiés. Lorsque les conditions expérimentales changent, le flux énergétique doit être recalculé.

VI. Méthodes de quantification et d'identification

Dans ce travail de thèse, l'utilisation d'une méthode d'analyse a pour objectifs de suivre les composés modèles et les intermédiaires réactionnels pendant la dégradation photocatalytique ainsi que d'identifier ces intermédiaires réactionnels formés. La revue bibliographique (chapitre I) a montré que la chromatographie liquide couplée au détecteur UV et la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem sont des méthodes très utilisées pour l'analyse de la tétracycline (TC), du bisphénol A (BPA) et de la 17 β -œstradiol (E2). Ainsi, ces deux méthodes d'analyse sont également utilisées dans cette étude pour suivre respectivement la TC, le BPA et l'E2 au cours des traitements par photocatalyse et aussi pour suivre les intermédiaires réactionnels formés et les identifier. L'appareillage de chromatographie liquide couplée respectivement au détecteur UV et à la spectrométrie de masse en tandem utilisé dans ce travail ainsi que les conditions d'analyse sont présentés ci-après.

VI.1. Quantification par chromatographie liquide haute performance/UV

VI.1.1 Présentation de l'appareillage et conditions d'analyse

L'appareil de chromatographie liquide haute performance est de fabrication Waters (modèle 600E). Il est équipé d'une pompe munie d'un contrôleur de gradient (modèle 600), d'un injecteur manuel d'échantillon (Rheodine modèle 7725i) avec une boucle d'injection de 20 μ L. Le détecteur UV est le modèle Waters 486. La colonne utilisée est une colonne à phase inverse C18. Dans la littérature, les colonnes C18 sont très utilisées pour l'analyse de la TC, du BPA et de l'E2 (chapitre I). Les conditions d'analyse des composés sont présentées dans le Tableau II. 4.

Tableau II. 4 : Conditions chromatographiques utilisées pour l'étude de la tétracycline, du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol

| | Colonne | Phase mobile | Longueur d'onde du détecteur |
|-----------------------|---|--|------------------------------|
| Bisphénol A | Nova Pack C18 150 mm \times 3,9 mm I.D., 4 μ m | H ₂ O/ACN: 55/45 | λ = 226 nm |
| 17 β -œstradiol | Nova Pack C18 150 mm \times 3,9 mm I.D., 4 μ m | H ₂ O/CAN (55/45) | λ = 197 nm |
| Tétracycline | Nova Pack C18 150 mm \times 3,9 mm I.D., 4 μ m | EDTA 10 ⁻³ M/MeOH: 72/28, pH=6,6 | λ = 357 nm |

ACN: acétonitrile, EDTA : acide éthylènediaminetétraacétique

VI.1.2 Validation de la méthode d'analyse HPLC/UV

V.1.2.1 Courbe d'étalonnage

Elle sert à relier la concentration à l'aire des pics par un modèle mathématique. Le modèle utilisé ici est un modèle linéaire. Pour chaque concentration des solutions étalons, cinq solutions sont préparées et analysées. Puis la linéarité de la courbe est vérifiée par un test d'erreur d'adéquation au modèle (lack-of-fit-test).

Ce test est basé sur l'analyse des variances dues à la régression (V_{reg}), à l'erreur du modèle (V_{em}), à l'erreur pure encore appelée erreur expérimentale (V_e) (Feinberg, 1996). A partir de ces variances les valeurs de Fisher (F_{reg} , F_{em}) correspondantes sont calculées puis comparées à celles lues dans la table de Fischer pour un risque de 1%.

$$F_{reg} = \frac{V_{reg}}{V_e} \quad \text{Equation II. 6}$$

$$F_{em} = \frac{V_{em}}{V_e} \quad \text{Equation II. 7}$$

Si la valeur F_{reg} calculée est supérieure à celle lue dans la table de Fischer, le modèle linéaire utilisé fournit une réponse proportionnelle à la concentration dans un large domaine. Si la valeur F_{em} calculée est inférieure à celle lue dans la table, il n'y a pas de courbure dans la gamme de concentration utilisée, si toute fois elle est supérieure, il y a courbure. Dans ce cas, il existe deux possibilités : réduire la gamme de concentrations ou utiliser un autre modèle mathématique. Les valeurs obtenues pour chaque molécule sont présentées dans le Tableau II. 5.

Tableau II. 5 : Test de linéarité

| | Domaine d'étalonnage | Valeurs de Fischer calculées | Valeurs de Fischer lues |
|------------------------|----------------------|------------------------------|-------------------------|
| Bisphénol A | 0-5 mg/L | $F_{reg} = 6,95 \times 10^4$ | $F_{reg} = 8,09$ |
| | | $F_{em} = 0,4$ | $F_{em} = 4,94$ |
| 17- β -œstradiol | 0-1 mg/L | $F_{reg} = 921$ | $F_{reg} = 7,41$ |
| | | $F_{em} = 0,79$ | $F_{em} = 4,93$ |
| Tétracycline | 0-70 mg/L | $F_{reg} = 10,1 \times 10^4$ | $F_{reg} = 7,49$ |
| | | $F_{em} = 10,32$ | $F_{em} = 3,42$ |

Pour le BPA et l'E2, le modèle linéaire peut être utilisé car la valeur de F_{reg} calculée est supérieure à celle de F_{reg} lue dans la table de Fischer et F_{em} calculée est inférieure à F_{em} lue dans la table de Fischer. Par contre, pour la tétracycline sur tous les domaines de concentration testés, la linéarité n'a pas été obtenue, toutes les valeurs de F_{reg} calculées sont supérieures à celles lues dans la table de Fischer. Ainsi pour la tétracycline, le modèle quadratique a été utilisé. Les courbes d'étalonnage sont présentées en annexe.

V.1.2.2 Limite de détection (LD) et limite de quantification (LQ)

La limite de détection est la plus petite concentration que l'appareil peut détecter et la limite de quantification est la plus petite concentration qui peut être quantifiée en utilisant la méthode d'analyse. La LQ et la LD sont déterminées en utilisant la méthode signal sur bruit.

Selon la méthode signal sur bruit, la LD et la LQ sont définies par :

$$LD = 3 \times h_{max} \times C/H \quad \text{Equation II. 8}$$

$$LQ = 10 \times h_{max} \times C/H \quad \text{Equation II. 9}$$

Avec : h_{max} définie comme l'amplitude du bruit maximale sur un intervalle égale à 10 fois la largeur à mi-hauteur du pic de part et d'autre du temps de rétention du composé, C ; la concentration de l'échantillon, H ; la hauteur du pic de l'échantillon. Les différentes valeurs de la LD et de la LQ obtenues pour chacun des composés sont données Tableau II. 6.

Tableau II. 6 : Limites de détection et de quantification de la tétracycline, du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol par HPLC/UV

| | LD (mg/L) | LQ (mg/L) |
|-----------------------|-----------|-----------|
| Bisphénol A | 0,01 | 0,03 |
| 17 β -œstradiol | 0,012 | 0,04 |
| Tétracycline | 0,07 | 0,3 |

LD : limite de détection, LQ : limite de quantification

Chaque condition d'analyse des polluants modèles a été établie et la méthode d'analyse validée. L'HPLC/UV dans les conditions présentées dans le Tableau II. 4 est donc utilisée pour le suivi respectif des composés modèles au cours des tests de dégradation photocatalytique avec les catalyseurs élaborés par les partenaires et avec le P25.

VI.2. Identification des intermédiaires

Lors des traitements des contaminants par photocatalyse, la disparition ou la minéralisation des composés implique la formation d'espèces intermédiaires. Pour la compréhension des mécanismes et pour établir des schémas réactionnels, il est nécessaire de connaître la structure de ces intermédiaires réactionnels.

Dans ce travail de thèse, deux méthodes d'analyse sont utilisées pour identifier les produits de transformation des composés modèles. Ces méthodes d'analyse sont la chromatographie liquide haute performance couplée au détecteur UV (HPLC/UV) et la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (CL-SM/SM). Les analyses par HPLC/UV ont été réalisées à l'Ecole des Mines de Nantes et les analyses par CL-SM/SM ont été réalisées à l'Institut d'Analyse Départemental d'Analyse et de Conseil de Loire Atlantique. Ces deux méthodes sont décrites ci-après.

VI.2.1 Identification des intermédiaires par HPLC/UV

L'examen de la littérature a permis d'établir une liste des intermédiaires formés au cours du traitement des composés modèles par les procédés d'oxydation avancés. Les standards commercialisés de ces intermédiaires sont analysés dans les mêmes conditions que celles utilisées lors du suivi de la dégradation photocatalytique des composés modèles. Il s'agit par la suite de comparer les temps de rétention obtenus avec les composés standards à ceux obtenus lors de la dégradation photocatalytique des composés modèles. Cette méthode permet de poser des hypothèses d'identification, elle ne permet pas une identification de façon certaine.

VI.2.2 Identification des intermédiaires par CL-SM/SM

V.2.2.1 Matériel

L'identification des composés est effectuée sur un système Thermo Electron (Figure II. 13) comprenant :

- un chromatographe liquide haute performance muni d'une pompe quaternaire pouvant travailler à faible débit, *LC PumpSurveyor* ;

- un spectromètre de masse avec source d'ionisation de type *électrospray* (ESI), un analyseur triple quadripolaire et un détecteur photomultiplicateur d'électrons, *TSQ Quantum DiscoveryFinnigan*.



Figure II. 12 : Photographie du système CL-SM/SM (IDAC)

V.2.2.2 Méthodologie expérimentale pour l'identification des intermédiaires par CL-SM/SM

Le protocole expérimental est présenté Figure II. 13. Tout d'abord, les paramètres de spectrométrie de masse sont déterminés puis optimisés. Les conditions chromatographiques sont ensuite optimisées à partir de la colonne choisie.

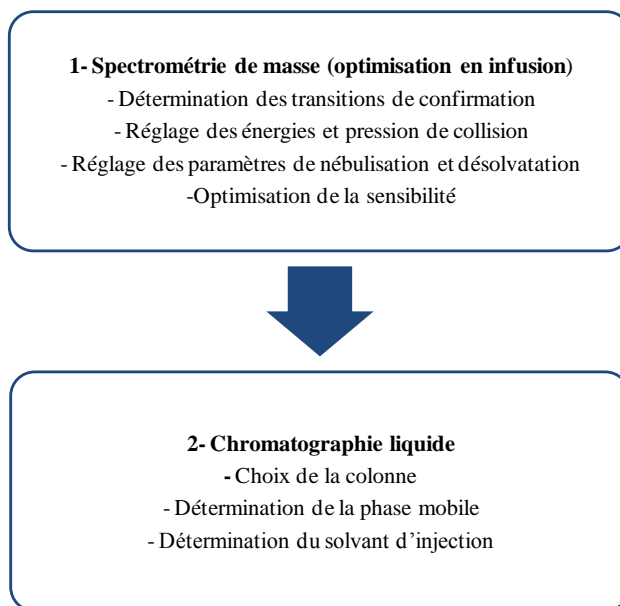


Figure II. 13 : Schéma présentant les étapes du développement de la méthode d'analyse par CL-SM/SM

V.2.2.2.1 Optimisation du spectromètre de mass

- La calibration

La calibration est effectuée afin de régler l'appareil de façon très précise en termes de résolution et de repérage des masses. Elle se fait en injectant un composé connu : la 1,3,6-polytyrosine. Lorsque la polytyrosine est injectée, trois ions caractéristiques sont repérés et le rapport signal sur bruit doit être suffisamment intense pour assurer une bonne calibration. Une fois les ions repérés, la calibration est automatique et de nombreux réglages sont effectués au niveau des lentilles pour permettre la focalisation des ions dans le spectromètre de masse.

- Optimisation en infusion

L'optimisation est réalisée après le choix du mode d'ionisation. Pour les composés modèles, les deux modes d'ionisation (positif et négatif) ont été testés afin de déterminer le plus adéquat. Le choix du mode d'ionisation est surtout fonction des molécules d'intérêt et de leur capacité à céder (mode négatif) ou accepter (mode positif) un atome d'hydrogène : la molécule est alors déprotonée ou protonée. La tétracycline pouvant facilement être protonée, le mode positif a alors été choisi. Pour le bisphénol A et la 17 β -œstradiol, c'est le mode négatif qui a été retenu.

Pour réaliser l'optimisation, une solution concentrée en produit pur (100 $\mu\text{g.L}^{-1}$) est directement infusée dans le spectromètre de masse (pour les intermédiaires réactionnels, les échantillons prélevés pendant le traitement photocatalytique sont dilués puis infusés). L'influence de différents paramètres est alors observée sur le courant ionique total (celui-ci permettant d'apprécier la sensibilité de l'appareil vis-à-vis des molécules étudiées), soit en optimisation manuelle, soit en optimisation automatique. Il convient ainsi de déterminer les valeurs optimales des :

- transitions et énergies de collision associées,
- paramètres de nébulisation/désolvation,
- paramètres d'affinement de la sensibilité.

Pour déterminer les transitions, un spectre de masse des échantillons prélevés aux différents intervalles de temps pendant le traitement photocatalytique des composés modèles est réalisé puis la masse des composés présents est déterminée. Une fois les masses connues, les transitions sont déterminées. Ceci se fait par filiation sur le spectromètre de masse. Le premier quadripôle permet de sélectionner l'ion parent, le deuxième quadripôle fragmente cet ion et ainsi le spectre de fragmentation de l'ion parent est disponible grâce au balayage du troisième quadripôle. Cette étude de filiation permet dans un même temps de déterminer les énergies de

collision spécifiques à chaque molécule pour sa fragmentation ainsi que la pression de collision qui elle est fixée pour la méthode et est appliquée à toutes les molécules.

Les paramètres de nébulisation/désolvation ainsi que leur fonction sont présentés dans le Tableau II. 7. Ces paramètres ont un impact direct sur la qualité du nébulisât (*spray*) formé et donc sur la sensibilité du signal obtenu. Ils sont optimisés pour les composés modèles et pour leurs intermédiaires réactionnels.

Tableau II. 7 : Paramètres de nébulisation/désolvation optimisés en infusion

| Paramètres de nébulisation/désolvation | Fonction |
|---|---|
| Tension électrique du spray (V) | Ionisation des molécules, dépend surtout du débit de la phase mobile |
| Pression en azote (unité arbitraire) | Formation du spray, dépend également du débit de la phase mobile |
| Pression auxiliaire en azote (unité arbitraire) | Désolvation des molécules, dépend exclusivement du débit et de la qualité de phase mobile |

VII. Test de biodégradabilité

Une molécule non biodégradable peut être persistante dans le milieu naturel. Ainsi, déterminer si un composé est biodégradable apparaît comme une nécessité pour prévenir son devenir. Selon la nature de la molécule à tester, la biodégradabilité peut être évaluée en déterminant le taux d'élimination du carbone organique dissout, en mesurant la demande biologique en oxygène, ou en mesurant la quantité de dioxyde de carbone formée au cours de la biodégradation.

Les approches utilisées pour déterminer la biodégradabilité sont normalisées et hiérarchisées selon le système de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OECD, 1993). La hiérarchie du système OECD comporte 3 niveaux de test :

- Les tests de la biodégradation dite « facile » (301). Dans ces tests l'inoculum n'est pas adapté à la molécule cible et la possibilité de biodégradation et d'acclimatation sont limitées dans le temps. Un composé donnant un résultat positif à ces types de test pourra être biodégradé dans l'environnement naturel.
- Les tests de biodégradation dite « inhérente » (302). Ces tests sont prévus pour les composés n'ayant pas de biodégradation dite « facile » ; la quantité d'inoculum est plus élevée et le ratio molécule cible/cellule bactérienne plus faible. Du fait des conditions favorables à la biodégradation employées dans ce test, un résultat positif à

ce dernier ne garantit pas la biodégradation du composé dans les conditions naturelles de l'environnement.

- Les tests de simulation (303). Ces tests mettent en place une simulation de l'environnement réel (lac, rivière, sol, etc.) et nécessitent la connaissance de constantes qui permettent de prédire le devenir des composés dans l'environnement.

Une description des méthodes employées pour déterminer la biodégradabilité des composés organiques et leur niveau de hiérarchisation respectif dans le système OECD sont présentés Tableau II. 8.

Pour évaluer la biodégradabilité des composés dans la présente étude, le test de Sturm est retenu. En effet, cette méthode est facile à mettre en œuvre et applicable à tous types de composés non volatils, adsorbables et peu solubles.

VII.1. Principe du test de Sturm

Le test de Sturm sert à évaluer la biodégradabilité des composés organiques. Le principe est de faire circuler de l'air exempt de CO₂ à travers un réacteur contenant une concentration connue de la substance à étudier (seule source de carbone) et ensuite de piéger dans une solution de dihydroxyde de baryum (Ba(OH)₂) le CO₂ produit lors de la biodégradation de la substance.

Le CO₂ piégé forme, avec le dihydroxyde de baryum, le carbonate de baryum (BaCO₃) (équation II. 10). La quantité de CO₂ produite est alors déterminée par dosage du Ba(OH)₂ restant avec une solution d'acide chlorhydrique (HCl) à 0,05 N en présence de la phénolphtaléine (équation II. 11).

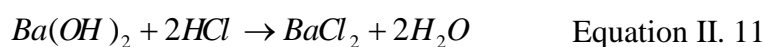
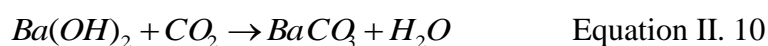


Tableau II. 8 : Tests de biodégradation normalisés (OECD, 1993)

| Niveau | Méthodes | Natures des composés | Description | Norme |
|--|--|---|--|---|
| Tests de biodégradabilité dite « facile » | <ul style="list-style-type: none"> - Disparition du COD - Essai du screening modifié de l'OECD-Disparition du COD - Dégagement du CO₂ (essai de Sturm modifié) - Respirométrie manométrique - MITI (Ministère de l'Industrie et du Commerce international-Japon) Fiole fermée | <ul style="list-style-type: none"> - Composés non volatils et peu adsorbables - Composés non volatils, adsorbables et peu solubles - Composés peu volatils, adsorbables et peu solubles - Composés, volatils, adsorbables et solubles | <ul style="list-style-type: none"> - Test statique, aérobie, aquatique, standardisées - Test statique et aquatique, standardisées, peu d'inoculum - Test statique, aérobie, aquatique, standardisées - Test statique, aérobie, aquatique, standardisées, mesure de la DBO5 par un respiromètre fermé - Test qui requiert un inoculum et des analyses spécifiques - Test statique, aérobie, aquatique, standardisées, mesure de la DBO5, peu d'inoculum | <ul style="list-style-type: none"> - ISO 7827, OECD 301 A - ISO 7827, OECD 301 E - ISO 9439, OECD 301 B - ISO 9408, OECD 301 F - OECD 301 C - ISO 10707, OECD 301 D |
| Tests de biodégradabilité dite « inhérente » | <ul style="list-style-type: none"> - Test modifié de SCAS - Test Zahn-Wellens/Empa - Test modifié de MITI (II) | <ul style="list-style-type: none"> - Composés non volatils, peu adsorbables, solubles et facilement biodégradables - Composés organiques non volatils et solubles - Composés peu volatils, adsorbants et faiblement solubles | <ul style="list-style-type: none"> - Test semi-statique, aérobie, aquatique. Mesure du COD. - Test statique et aérobie, conditions standardisées; fort concentration en substance et en inoculum. Mesure du COD. Test qui requiert un inoculum et des analyses spécifiques. | <ul style="list-style-type: none"> - ISO 9887, OECD 302 A - ISO 9888, OECD 302 B - OECD 302 C |
| Test de simulation | <ul style="list-style-type: none"> - Test à unités couplées | <ul style="list-style-type: none"> - Composés organiques non volatils, solubles et facilement biodégradables | <ul style="list-style-type: none"> - Test en système continu, aérobie, aquatique. Mesure du COD. | <ul style="list-style-type: none"> - ISO 11733, OECD 303 |
| Tests de biodégradation aérobie et anaérobie | <ul style="list-style-type: none"> - Respirométrie, radiomarquage et analyse chimique, bilan massique | <ul style="list-style-type: none"> - Composés légèrement volatils, non volatils, solubles ou peu solubles dans l'eau; transformation dans l'eau et les sédiments aquatiques | <ul style="list-style-type: none"> - Test réalisé dans un incubateur, à l'obscurité, à T° constante (10 - 30°C), ratio volumique eau / sédiments de 3:1 à 4:1; tient compte des sous-produits de réaction (volatils ou solubles) | <ul style="list-style-type: none"> - OECD 308 |

OECD : Organisation de Coopération et de Développement Economiques, COD : carbone organique dissout, DBO5 : demande biologique en oxygène mesurée au bout de 5 jours, SCAS : méthode semi-continue en présence de boues activées

VII.2. Préparation des boues activées

Les boues activées ont été collectées dans la station de traitement des eaux usées domestiques de Nantes. Ces boues sont lavées avant utilisation afin d'éliminer la matière organique présente dans celle-ci. Environ 1000 g des boues activées sont centrifugées à 8500 tr.min^{-1} pendant 10 minutes. Le surnageant est retiré et les boues centrifugées sont ensuite lavées avec une solution de sulfate de magnésium (MgSO_4) à 0,01 M dans le but d'éviter l'éclatement des cellules par pression osmotique. Pour une meilleure concentration des boues, le protocole est répété trois fois. Après le lavage, les boues sont resuspendues dans le MgSO_4 et sont placées au réfrigérateur. Le taux de matières en suspensions (MES) est mesuré par séchage. 20 mL de boues activées lavées sont placées dans un bécher préalablement taré puis l'ensemble est mis à sécher à 105°C pendant 12 heures. Ce taux de matière en suspension est alors estimé selon l'équation II. 12:

$$\text{MES (g/L)} = \left(\frac{M2 - M1}{V} \right) \times 1000 \quad \text{Equation II. 12}$$

M2 est la masse du bécher et des boues après séchage, M1 est la masse du bécher et V est le volume prélevé des boues (20 mL). La valeur de MES trouvée est 9 mg/mL. Etant donné que la concentration en MES dans les réacteurs doit être égale à 30 mg/L, le volume des boues à prélever est calculé. Ce volume a été estimé à 3,5 mL. Ainsi, dans chaque milieu d'essai, 3,5 mL de boue activée ont été ajoutés.

VII.3. Préparation des solutions constituant le media de Sturm

Le « media de Sturm » correspond aux nutriments nécessaires au développement des microorganismes. Il est constitué de quatre solutions salines dont les compositions et les quantités ajoutées dans chaque réacteur sont données Tableau II. 9.

Tableau II. 9 : Composition du media de Sturm

| Solution | Réactifs | Concentration (g.L ⁻¹) | Volume ajouté dans chaque réacteur (mL) |
|----------|---|------------------------------------|---|
| a | KH_2PO_4 K_2HPO_4 $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2 \text{H}_2\text{O}$ NH_4Cl | 8,50 21,75 33,40 17,80 | 10 |
| b | CaCl_2 | 27,50 | 1 |
| c | $\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$ | 22,50 | 1 |
| d | $\text{FeCl}_3, 6 \text{H}_2\text{O}$ | 0,25 | 1 |

VII.4. Dispositif expérimental du test de Sturm

Il comporte trois parties distinctes : le système d'élimination du CO₂ de l'air injecté dans les réacteurs, les 6 réacteurs tests, et trois pièges en série par réacteur contenant du Ba(OH)₂ (Figure II. 14). Le débit de l'air arrivant dans les pièges à CO₂ est d'environ une bulle par seconde. La composition de chaque réacteur est donnée dans le Tableau II. 10.

Pendant la première semaine du test, le piège le plus proche du réacteur est quotidiennement retiré, remplacé par le deuxième piège et ensuite dosé. Le deuxième piège est à son tour remplacé par le troisième et le troisième piège est renouvelé par une nouvelle solution d'hydroxyde de baryum préalablement dosée. Par la suite, la fréquence des dosages est estimée selon la formation du précipité de carbonate de baryum.

Grâce aux dosages, la quantité de CO₂ dégagée dans les réacteurs peut être estimée. Le nombre de mole de CO₂ (n_{CO_2}) produit dans les réacteurs tests et la masse de CO₂ (m_{CO_2}) correspondante sont alors calculés selon les équations II. 13 et II. 14.

$$n_{CO_2} = \left(C_{Ba(OH)_2} \cdot 100 \right) - \left(0,05 \cdot \frac{4 \times V_{HCl}}{2} \right) \quad \text{Equation II. 13}$$

$$m_{CO_2} = \left[\left(C_{Ba(OH)_2} \cdot 100 \right) - \left(0,05 \cdot \frac{4 \times V_{HCl}}{2} \right) \right] \times 44 \quad \text{Equation II. 14}$$

Avec $C_{Ba(OH)_2}$: la concentration en hydroxyde de baryum, elle est mesurée avant tout changement des pièges car la solution stockée capte le CO₂ de l'air. V_{HCl} : le volume équivalent versé pour le dosage de 25 mL de dihydroxyde de baryum des pièges. 100 est le volume des pièges et 0,05 est la molarité de la solution d'acide chlorhydrique.

La masse de CO₂ produite dans les réacteurs tests ainsi que dans le témoin de biodégradation (réacteurs 1, 2, 3 et 6), est corrigée de la masse de CO₂ produite dans les témoins abiotiques et inoculum. Le pourcentage de biodégradation est ensuite calculé selon l'équation II. 15.

$$\text{Biodégradation (\%)} = \frac{m_{cor CO_2} \cdot 100}{m_{Ci} \cdot 44/12} \quad \text{Equation II. 15}$$

m_{Ci} est la masse initiale de carbone dans les réacteurs, m_{corCO_2} est la différence entre la masse de CO₂ produite dans les réacteurs 1,2, 3, 4 et la masse de CO₂ produite dans les réacteurs 5 et 6.

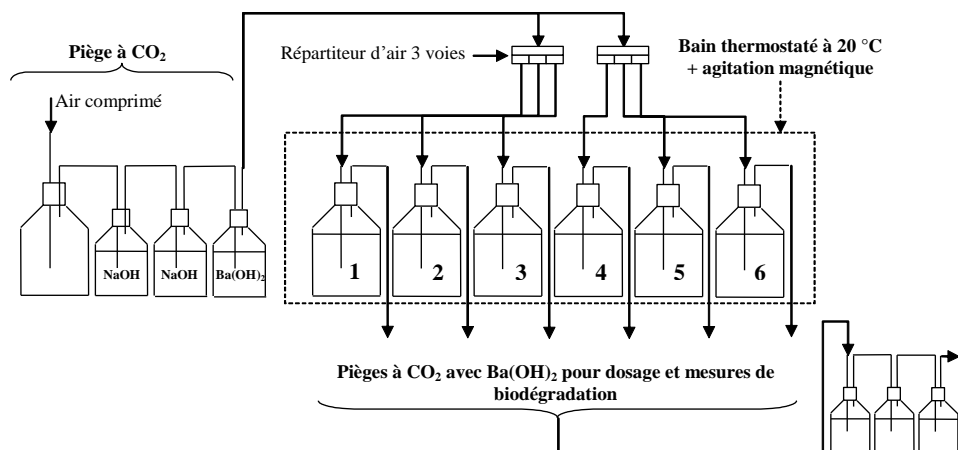


Figure II. 14 : Dispositif expérimental du test de Sturm

Tableau II. 10 : Composition des réacteurs dans le test de Sturm

| Réacteurs | Rôle | Composition |
|-----------|---|--|
| 1, 2 et 3 | Test de biodégradation de la substance cible | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, $V = 13 \text{ mL}$), - Substance cible (40 mg L^{-1} de carbone), - Inoculum : boues activées lavées ($[\text{MES}] = 30 \text{ mg L}^{-1}$). |
| 4 | Test de biodégradation d'un polluant de référence, connu pour être facilement biodégradable (benzoate de sodium). | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, $V = 13 \text{ mL}$), - Polluant de référence (40 mg L^{-1} de carbone), - Inoculum : boues activées lavées ($[\text{MES}] = 30 \text{ mg L}^{-1}$). |
| 5 | Témoin inoculum afin d'évaluer la production de CO_2 si aucune source de carbone n'est ajoutée. | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, $V = 13 \text{ mL}$), - Inoculum : boues activées lavées ($[\text{MES}] = 30 \text{ mg L}^{-1}$). |
| 6 | Témoin abiotique afin d'évaluer la production de CO_2 si aucune source de microorganismes n'est ajoutée. | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, $V = 13 \text{ mL}$), - Substance cible (40 mg L^{-1} de carbone), - Hypochlorite de sodium (désinfectant). |

VIII. Effet des composés sur les êtres vivants

Les intermédiaires formés lors du traitement des contaminants par des procédés d'oxydation peuvent avoir un effet sur les êtres vivants plus important que les composés de départ (Rizzo, 2011). Antignoni *et al.*, ont évalué l'effet toxique des composés obtenus après la photolyse du diclofenac sur les Daphnies magnas. Ils ont observé qu'à l'inverse du diclofenac, les produits de photolyse du diclofenac étaient toxiques pour les Daphnies magnas (Antignoni *et al.*, 2010). Dans une autre étude, Zhang *et al.*, ont mesuré l'évolution de l'effet œstrogénique pendant un traitement par photocatalyse d'un effluent secondaire d'une station

de traitement d'eaux usées dopé en œstradiol, éthinyloœstradiol, octylphénol et en bisphénol A. Ils ont observé une augmentation puis une disparition de l'effet œstrogénique sur des « yeast cell » au cours du traitement photocatalytique (Zhang *et al.*, 2012).

Etant donné que l'effet des intermédiaires sur les êtres vivants peut être différents et parfois plus important que celui des composés de départ, il semble judicieux d'évaluer l'effet des intermédiaires formés lors du procédé de traitement. Cette évaluation devrait faire partie des critères de choix pour un procédé. Un procédé de traitement pourrait être reconnu efficace s'il permet l'élimination de l'effet, c'est-à-dire sans systématiquement chercher à éliminer l'ensemble des composés intermédiaires ou sans atteindre la minéralisation des molécules initialement ciblées.

VIII.1. Effet sur l'activité déshydrogénase des *Pseudomonas*

En littérature, la toxicité des intermédiaires réactionnels formés au cours des traitements par photocatalyse est en général évaluée en utilisant les Daphnies magna, les micro-algues et les bactéries marines (*Vibrio fischeri*, *Photobacterium phosphoreum*) (Antigoni *et al.*, 2010, Pereira *et al.*, 2011, Postigo *et al.*, 2001 et Sationgo-morales *et al.*, 2012). Dans cette présente étude, la toxicité des intermédiaires réactionnels formés au cours du traitement photocatalytique est évaluée sur des cellules de *Pseudomonas Aeruginosa* puis comparée à celle des composés modèles. Le but est de vérifier si lors du traitement photocatalytique, l'effet toxique disparaît ou résiderait encore en solution.

Les *Pseudomonas* sont des bactéries ubiquitaires que l'on rencontre dans les sols, sur les végétaux et surtout dans les eaux douces, les eaux marines. Elles sont très peu utilisées pour évaluer l'effet toxique des composés organiques (Hirsch *et al.*, 2010) mais très utilisées pour évaluer l'effet toxique des métaux. L'effet observé est la croissance des biofilms (Benka-Coker et Ekundayo, 1998, Hassen *et al.*, 1998, Chen *et al.*, 2006). A contrario, dans cette présente étude, l'effet toxique des composés est évalué sur l'activité déshydrogénase des *Pseudomonas*. Les enzymes déshydrogénases sont impliquées dans le transport d'électron dans la chaîne respiratoire, elles sont localisées au niveau de la membrane plasmique. Toute altération du métabolisme bactérien perturbe le flux d'électron jusqu'au niveau de l'accepteur terminal. Ainsi, une mesure du flux d'électron renseigne sur le niveau de perturbation du métabolisme et donc sur une toxicité cellulaire globale.

Certaines molécules organiques accepteur d'électron, telles que le chlorure de 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophényl)-5-phényltétrazolium (INT), sont utilisées pour mesurer le flux d'électron généré dans la chaîne respiratoire des bactéries (Smith *et al.*, 1997). En présence

d'électron, l'INT est réduit en un composé, le sel de formazan de couleur rouge, insoluble dans l'eau. Plus l'activité respiratoire des bactéries est perturbée, moins les électrons sont libérés et donc la quantité de formazan est moins importante et la couleur rouge plus faible. C'est la quantité de formazan obtenue après exposition des cultures de *Pseudomonas* aux échantillons prélevés au cours de l'irradiation qui renseigne sur l'effet toxique des composés.

VIII.2. Evaluation de l'effet œstrogénique

Le test « Yeast Estrogen Screen » est très utilisé pour évaluer l'effet œstrogénique des composés (Chiang *et al.*, 2004; Neamtu et Frimmel, 2006; Frontistis *et al.*, 2011). Ce test se fait « in vitro » et permet de détecter les agonistes et les antagonistes de l'œstrogène. Cependant, les perturbateurs endocriniens n'agissent pas seulement en tant qu'agonistes et antagonistes aux œstrogènes mais peuvent aussi agir sur les réactions de catalyse enzymatique.

La société « WatchFrog » a développé un test qui, en plus d'évaluer les effets œstrogéniques sur un organisme entier dans son environnement (test *in vivo*), permet d'élargir le spectre d'identification des antagonistes et agonistes des œstrogènes aux composés qui agissent sur les réactions de catalyse enzymatique. Ce test a été utilisé dans notre étude pour évaluer l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires formés au cours du traitement par photocatalyse du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol en comparaison à l'effet de perturbation endocrinienne avant le traitement.

La technologie du test mis en place par WatchFrog est basée sur l'utilisation des alevins de médaka génétiquement modifiés (Médaka ChgH-GFP, green florescent protein). Les poissons de cette lignée ont le promoteur du gène de la choriogénine couplé au gène codant la protéine fluorescente GFP. Ainsi les alevins présentent une fluorescence en réponse à un perturbateur endocrinien et le niveau de fluorescence détecté est proportionnel au niveau de transcription du gène GFP donc à la quantité de perturbateur endocrinien en contact avec les alevins. Dans le test, la signalisation œstrogénique est révélée par une augmentation du niveau de fluorescence de base établie sur une eau minérale naturelle (Evian).

VIII.2.1 Essais de perturbation endocrinienne

Les tests sont réalisés dans des plaques contenant 96 puits et placés à 26°C. Chaque puits contient des alevins (20) et 8 mL d'échantillon. Au bout de 24 heures, le milieu est renouvelé avec 8 mL d'échantillon. Puis 24 h plus tard, la fluorescence des alevins est déterminée. La durée totale de contact alevins/échantillon est de 48 heures.

Un contrôle interne d'activation de l'axe œstrogénique est réalisé pour chaque série de test en mettant en contact les alevins avec 8 mL de solution d'éthinyl-œstradiol (EE2) à 150 ng/L. Ce niveau de concentration correspond à la concentration pour laquelle la perturbation œstrogénique est avérée.

Le niveau de fluorescence des alevins en présence respectivement de la testostérone, des échantillons prélevés pendant le traitement photocatalytique et dopés en testostérone est également déterminé. Ceci se fait dans le but de détecter les composés qui perturbent l'activité de l'enzyme aromatasase. L'aromatasase est une enzyme essentielle pour la production endogène d'œstradiol à partir de la testostérone. Elle contrôle l'équilibre entre œstrogènes et testostérone dans l'organisme. La présence des composés altérant l'activité de cette enzyme entraîne un niveau de fluorescence des alevins différent de celui des alevins en contact avec la testostérone. Ce changement du niveau de fluorescence indique la présence de composés agissant sur la réaction de catalyse enzymatique.

Dans le Tableau II. 11, un descriptif des expériences réalisées dans le test de WachFrog ainsi que les objectifs respectifs sont présentés.

Tableau II. 11 : Description des échantillons lors de l'évaluation de l'effet œstrogénique

| | Composition | Objectifs |
|---|---|---|
| Contrôle négatif | Alevins, 8 mL d'eau pure (Evian) | Indique le niveau de base de fluorescence des alevins |
| Contrôle positif 1 | Alevins, 8 mL d'EE2 à 150 ng/L | Indique le niveau de fluorescence des alevins mis en contact avec un perturbateur endocrinien |
| Contrôle positif 2 | Alevins, 8 mL de testostérone à 30 µg/L | Indique le niveau d'activité de l'aromatasase dans un échantillon témoin |
| Echantillon brut | Alevins, échantillon prélevé au cours de l'irradiation | Indique l'effet œstrogénique de l'échantillon traité |
| Echantillon dopé à la testostérone | Alevins, échantillon prélevé au cours de l'irradiation, 30 µg/L de testostérone | Indique l'effet de l'échantillon traité sur l'activité enzymatique de l'aromatasase |

VIII.2.2 Interprétation des résultats

La fluorescence des alevins est quantifiée à l'aide du logiciel Image J et les résultats sont ensuite analysés suivant les directives de l'OCDE pour l'analyse statistique des expériences d'écotoxicité (« Document on the Statistical Analysis of Ecotoxicity Data », OCDE 2003).

Chaque groupe expérimental est analysé pour déterminer si la répartition des valeurs suit une loi normale. Dans ce cas, on réalise un test sur la variance (ANOVA) suivi d'un post-test paramétrique par paires pour comparer les groupes deux à deux (test de Tukey). Si un ou plusieurs groupes expérimentaux ne suivent pas une répartition normale, un test sur la variance est réalisé (Kruskal-Wallis) suivi d'un post-test non-paramétrique par paires pour comparer les groupes entre eux (test de Dunn) ; (* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; ns : non significatif $p > 0,05$).

Selon l'intensité de la fluorescence, une échelle de risque allant de 0 à 2 a été définie comme suit :

- Niveau 0: l'échantillon brut ne diffère pas significativement du contrôle négatif, il est classé comme inerte.
- Niveau 1: l'échantillon diffère significativement du contrôle négatif, il est classé comme suspect.
- Niveau 1 bis : l'échantillon co-traité avec la testostérone diffère significativement du contrôle positif 2, il est classé comme suspect.
- Niveau 2 : l'échantillon diffère significativement du contrôle négatif 1 et du contrôle positif 2, il est considéré comme perturbateur œstrogénique.

IX. Conclusion

La méthodologie pour évaluer l'efficacité des catalyseurs a été établie et présentée. La démarche prend en compte aussi bien des critères de dégradation tels que les pourcentages de conversion, de minéralisation des polluants ou les constantes cinétiques d'élimination que les effets des intermédiaires générés. Cette méthodologie intègre également l'identification des intermédiaires réactionnels majoritaires ainsi que les mécanismes supposés de formation de ces intermédiaires.

Ce chapitre a décrit les méthodes développées et le matériel expérimental mise en œuvre pour répondre aux objectifs de la méthodologie générale. Un réacteur de forme cylindrique, irradié par le haut avec une lampe au xénon 450 W (Newport N° 6277), a été mis en place pour réaliser la dégradation photocatalytique des composés modèles. En plaçant le filtre de masse AM1,5 à la sortie du faisceau lumineux, un spectre d'irradiation semblable au spectre solaire est obtenu et en utilisant des miroirs dichroïques, des gammes de longueurs d'onde d'irradiation sont choisies. Par ailleurs, la caractérisation de l'intensité émise par le simulateur solaire a permis de définir les domaines d'irradiation et les conditions d'irradiation avec le simulateur solaire. Ainsi, pour la dégradation photocatalytique des composés modèles

les conditions d'irradiation sont : UV (miroir dichroïque à bande passante 280-400 nm), UV-visible (miroir dichroïque à bande passante 200 nm-30 μ m), visible (miroir dichroïque à bande passante 420-620 nm), visible + filtre (miroir dichroïque à bande passante 420-620 nm avec un filtre coupant les UV).

Cette partie a également présenté les méthodes d'analyse des composés modèles et de leurs intermédiaires réactionnels sélectionnés et les conditions expérimentales retenues. Les tests permettant d'évaluer l'impact environnemental des intermédiaires ont été également sélectionnés et présentés. Notamment le test de Sturm pour évaluer la biodégradabilité, l'utilisation des Médaka ChgH-GFP et les *Pseudomonas* pour évaluer respectivement l'effet perturbateur endocrinien et l'effet toxique sur l'activité déshydrogénase ont été sélectionnés. La méthodologie présentée dans ce chapitre est ensuite appliquée aux polluants modèles. Dans un premier temps, elle est testée sur la tétracycline afin de valider l'approche méthodologique mise en place. Le catalyseur utilisé ici est un photocatalyseur de référence (TiO_2 P25, AEROXIDE[®]) et les paramètres observés sont les pourcentages de conversion et de minéralisation, la biodégradabilité et la toxicité des intermédiaires réactionnels. Le mécanisme réactionnel de la dégradation photocatalytique de la tétracycline est également étudié. Puis, la méthodologie est appliquée respectivement au bisphénol A et à la 17 β -œstradiol. Il s'agit ici d'évaluer et de comparer l'efficacité des catalyseurs élaborés dans le cadre du projet Clean Water. Les paramètres observés sont les pourcentages de conversion et de minéralisation, l'effet œstrogénique des intermédiaires réactionnels ainsi que les mécanismes et chemins réactionnels de la dégradation photocatalytique respective du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol.

Chapitre III :
Dégradation photocatalytique de la
tétracycline

I. Contexte et objectifs

Dans ce présent chapitre, il est décrit comment la méthodologie précédemment établie au chapitre II est testée sur la tétracycline afin de valider l'approche mise en place. Les tétracyclines sont des antibiotiques très utilisés en élevage pour le traitement des infections bactériennes (Sarmah *et al.*, 2006). Dans les traitements conventionnels des stations d'épuration, elles ne sont pas complètement éliminées et les tétracyclines se retrouvent alors dans les effluents des stations d'épuration et aussi dans les compartiments environnementaux à des concentrations de l'ordre du ng/L (Feitosa-Felizzola *et al.*, 2009, Minh *et al.*, 2009, Watkinson *et al.*, 2009). Les études de biodégradabilité réalisées respectivement par Gartiser *et al.*, (2007) et Prado *et al.*, (2009) sur ces composés ont montré que tout comme la plupart des antibiotiques, les tétracyclines sont peu biodégradables.

Dans ce contexte, le travail effectué et présenté dans ce chapitre consiste à évaluer l'utilisation de la photocatalyse pour la dégradation de l'hydrochlorure de tétracycline. Dans un premier temps, un traitement photocatalytique est appliqué à une solution de tétracycline. Puis l'impact environnemental des intermédiaires réactionnels formés au cours du traitement est évalué. Les paramètres observés sont la biodégradabilité et la toxicité des intermédiaires réactionnels en comparaison à la biodégradabilité et à la toxicité de l'hydrochlorure de tétracycline. La biodégradabilité est examinée en utilisant le test de Sturm, l'effet toxique est évalué sur des bactéries du type *Pseudomonas* et sur la biomasse prélevée dans une station d'épuration. La nature des intermédiaires réactionnels est également étudiée. Enfin, les résultats sont discutés en considérant l'impact environnemental et la structure des intermédiaires réactionnels.

II. Dégradation photocatalytique de la tétracycline

II.1. Conditions expérimentales particulières

Le traitement photocatalytique est appliqué à un litre de solution aqueuse d'hydrochlorure de tétracycline à 70 mg/L en tétracycline (TC) dans le réacteur de laboratoire à lampe UV décrit au chapitre II. Cette quantité initiale de TC est nettement supérieure à celle rencontrée dans l'environnement (ng/L) (Ternes, 2001, Mompelat *et al.*, 2009). Dans cette étude le traitement photocatalytique est réalisé sur une solution à forte concentration initiale en TC (70 mg/L) afin de pouvoir détecter et analyser les intermédiaires réactionnels. Un traitement par photolyse est également appliqué à la TC pour évaluer la part de celui-ci dans le procédé de traitement photocatalytique.

Le dioxyde de titane utilisé ici est le TiO₂ P25, AEROXIDE® et la quantité introduite

dans le réacteur est de 30 mg. Toutes les dix minutes, 5 mL de la solution sont prélevés puis filtrés à l'aide d'un microfiltre en fibre de verre (GF/B, D= 1µm, Whatman). Des mesures du carbone organique dissous (COD) et des analyses en HPLC sont effectuées pour le suivi de la cinétique. Les conditions analytiques de l'HPLC sont rappelées dans le Tableau III. 1.

Lorsque la concentration en TC dans la solution traitée devient inférieure à 1 mg/L, le traitement photocatalytique est stoppé, la solution traitée d'hydrochlorure de tétracycline est filtrée puis stockée pour l'évaluation de la biodégradabilité des composés présents en solution.

Tableau III. 1 : Conditions opératoires pour l'analyse en chromatographie liquide (HPLC/UV)

| Colonne | Phase mobile | Longueur d'onde du détecteur | LD (mg/L) | LQ (mg/L) |
|--|---|------------------------------|-----------|-----------|
| Nova Pack C18 150 mm × 3,9 mm I.D., 4 µm | EDTA 10 ⁻³ M/MeOH 72/28, pH=6,6 | λ= 357 nm | 0,07 | 0,3 |

EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique, MeOH : méthanol, LD : limite de détection, LQ : limite de quantification

II.2. Cinétique de dégradation

Au cours des traitements, un suivi de la disparition de la TC en solution et de la formation des intermédiaires réactionnels est réalisé. Les cinétiques de dégradation obtenues sont présentées Figure III. 1.

Sur la Figure III. 1, il est possible d'observer une diminution considérable (93 %) de la concentration en tétracycline au cours du traitement par photocatalyse et une faible diminution (24 %) du carbone organique dissous. En effet, après 1h20 d'irradiation, la concentration en tétracycline chute de 70 mg/L à 5 mg/L alors que le carbone organique dissous varie de 41 mg/L à 31 mg/L. Ce résultat suggère que la tétracycline n'est qu'en partie minéralisée. Elle est transformée en intermédiaires réactionnels.

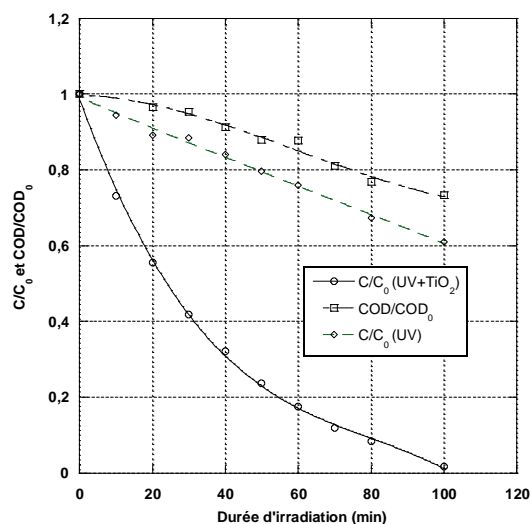


Figure III. 1 : Evolution de la concentration relative en tétracycline et du COD relatif au cours du traitement photocatalytique

III. Etude de l'impact environnemental des intermédiaires réactionnels

Lors de la dégradation photocatalytique, la molécule de TC se transforme en intermédiaires réactionnels avant d'être minéralisée. L'impact environnemental en termes de toxicité des intermédiaires formés au cours du traitement des tétracyclines par les procédés d'oxydation (UV, UV/H₂O₂, ozonation, photocatalyse), a été étudié et les résultats diffèrent d'une étude à l'autre. Par contre, la biodégradabilité des intermédiaires réactionnels est peu étudiée. Reyes et ses co-auteurs ont constaté une augmentation de la biodégradabilité d'une solution de tétracycline après un traitement par photocatalyse. Contrairement à la tétracycline, les composés issus de son oxydation ne présentent pas une activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* (Reyes *et al.*, 2006). Or Jiao et ses co-auteurs ont étudié la photolyse de la tétracycline et ont remarqué une augmentation de la toxicité sur *Vibrio fischeri* avec la durée de l'irradiation (Jiao *et al.*, 2008). Les mêmes auteurs ont aussi étudié la photolyse de l'oxytétracycline et l'effet toxique de ses produits de photolyse. Les résultats ont à nouveau montré une augmentation de la toxicité avec la durée de l'irradiation (Jiao *et al.*, 2008). Dans une autre étude, López-Peñalver et ses co-auteurs ont aussi constaté une augmentation de la toxicité lors de l'oxydation de la tétracycline en utilisant d'une part les UV et d'autre part les UV et une solution du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Ces résultats indiquent qu'il n'est pas aisé de tirer une tendance générale et laissent à penser que l'impact environnemental des intermédiaires réactionnels doit être évalué au cours l'évaluation de traitements appliqués pour l'élimination des tétracyclines.

III.1. Evaluation de la biodégradabilité des intermédiaires réactionnels

III.1.1 Dispositif et conditions expérimentales de biodégradation

La biodégradabilité des intermédiaires réactionnels est évaluée en utilisant le test de Sturm présenté dans le chapitre II. La composition des réacteurs dans le test de Sturm mis en place pour estimer la biodégradabilité des intermédiaires de la TC, est indiquée dans le Tableau III. 2.

Tableau III. 2 : Composition des réacteurs et objectifs visés pour chacun des réacteurs

| Réacteur | Rôle | Composition |
|----------|---|---|
| 1 | Test de biodégradation de la tétracycline. | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, V = 13 mL), - Tétracycline (41,83 mg/L de carbone), - Inoculum : boues activées lavées ([MES] = 30 mg/L). |
| 2 et 3 | Test de biodégradation de la tétracycline et de ses sous-produits. | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, V = 13 mL), - Intermédiaires : COD (2) = 30,09 mg/L, COD (3) = 32,51 mg/L - Inoculum : boues activées lavées ([MES] = 30 mg/L). |
| 4 | Test de biodégradation d'un polluant de référence, connu pour être facilement biodégradable (benzoate de sodium). | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, V = 13 mL), - benzoate de sodium (45,72 mg L ⁻¹ de COD), - Inoculum : boues activées lavées ([MES] = 30 mg/L). |
| 5 | Témoin inoculum afin d'évaluer la production de CO ₂ si aucune source de carbone n'est ajoutée. | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, V = 13 mL), - Inoculum : boues activées lavées ([MES] = 30 mg/L). |
| 6 | Témoin abiotique afin d'évaluer la production de CO ₂ si aucune source de microorganismes n'est ajoutée. | - Média de Sturm (solutions a, b, c et d, V = 13 mL), - Sous-produit (31,09 mg/L de carbone), - Hypochlorite de sodium (désinfectant). |

III.1.2 Validation du dispositif expérimental

La biodégradation du benzoate de sodium est évaluée afin de vérifier le fonctionnement du dispositif expérimental, c'est un contrôle de procédure. Dans la Figure III. 2, l'évolution du pourcentage de biodégradation benzoate de sodium au cours du test est présentée. Au bout du 15^{ème} jour, ce composé est minéralisé à 63 % et à la fin du test de Sturm il est biodégradé à 70%. La valeur de 100 % ne peut pas être atteinte car une partie du carbone est consommée par les microorganismes et utilisée pour le développement des cellules (Calmon *et al.*, 2000). Ainsi, la valeur de 70 % est considérée comme correspondant à la biodégradation complète du benzoate de sodium. Un autre critère de contrôle du dispositif expérimental est le CO₂ formé dans le témoin inoculum. Selon la norme ISO 9439, la quantité

de gaz libérée dans ce témoin doit être inférieure ou égale à 70 mg. Dans cette expérience, 66 mg de CO₂ a été formé dans le témoin inoculum. Etant donné que le benzoate de sodium utilisé pour vérifier le dispositif expérimental a été minéralisé et que la quantité de CO₂ produite dans le témoin inoculum répond aux exigences de la norme, le dispositif expérimental ainsi que l'ensemble de l'expérience peuvent être validés.

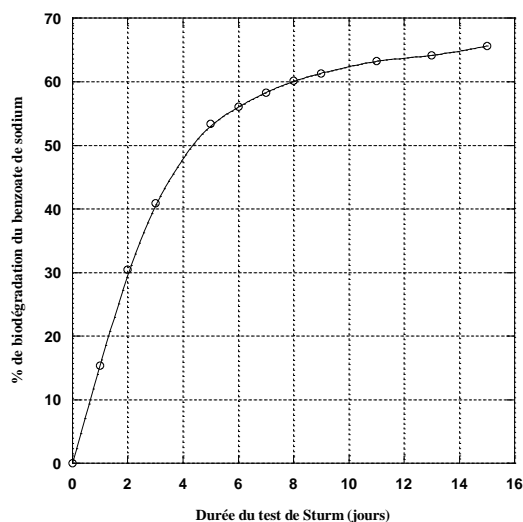


Figure III. 2 : Evolution du pourcentage de biodégradation du benzoate de sodium en fonction de la durée du test de Sturm

III.1.3 Résultats et discussion sur la biodégradabilité des intermédiaires

Le Tableau III. 3 présente les valeurs de CO₂ obtenues dans chacun des réacteurs à la fin du test. Dans le réacteur 1, la biodégradation de la TC est évaluée. La quantité de CO₂ dans ce réacteur est de 96 mg/L. Cette quantité de CO₂ correspond au CO₂ issu respectivement de la biodégradation, de la respiration endogène des bactéries (estimée dans le réacteur 5) et des réactions abiotiques (estimée dans le réacteur 6). Cependant, la somme des quantités de CO₂ produites dans les réacteurs 5 (66 mg/L) et 6 (59 mg/L) est supérieure à la quantité de CO₂ obtenue dans le réacteur 1. De ce fait, il peut être conclu que seule la respiration endogène des bactéries et le processus abiotique ont conduit à la production de CO₂ dans le réacteur 1 et donc que la tétracycline n'a pas été biodégradée. Ce résultat a été également obtenu par Gartiser *et al.*, (2007) et Prado *et al.*, (2009). Ces auteurs ont examiné la biodégradation de la tétracycline respectivement par le test de Zahn–Wellens et le test de Sturm et ils n'ont pas observé de biodégradation de la TC.

Tableau III. 3 : Masse (en mg) de CO₂ produite dans chaque réacteur à la fin du test de Sturm

| | Réacteurs | | | | | |
|----------------------|-----------|----|----|-----|----|----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| CO ₂ (mg) | 96 | 77 | 78 | 170 | 66 | 59 |

Dans les réacteurs 2 et 3, la biodégradabilité des intermédiaires formés au cours du procédé photocatalytique est évaluée. La quantité de CO₂ obtenue dans ces réacteurs est respectivement de 77 et 78 mg/L. Comme dans le réacteur 1, cette quantité de CO₂ correspond au CO₂ issu respectivement de la biodégradation, de la respiration endogène des bactéries (estimée dans le réacteur 5) et des réactions abiotiques (estimée dans le réacteur 6). Ici aussi, la somme des quantités de CO₂ produites dans les réacteurs 5 et 6 est supérieure à la quantité de CO₂ obtenue respectivement dans les réacteurs 2 et 3. Ainsi, il peut être conclu que tout comme l'hydrochlorure de tétracycline, les intermédiaires réactionnels obtenus par dégradation photocatalytique dans les conditions expérimentales de cette étude ne sont pas biodégradables.

Des travaux antérieurs menés par d'autres chercheurs ont montré qu'en appliquant des procédés d'oxydation avancés tels que le photo-Fenton, l'ozonation, la photocatalyse, ou l'UV/H₂O₂, la biodégradabilité des composés pouvait être améliorée. Selon ces auteurs, les intermédiaires réactionnels sont plus oxydés et ils peuvent ainsi être facilement biodégradés (Klavarioti *et al.*, 2009 ; Arslan-Alaton *et al.*, 2004). Par exemple, dans l'étude où Reyes et ses co-auteurs ont évalué l'augmentation de la biodégradabilité au cours de la photodégradation de la tétracycline, ils ont utilisé comme indicateur le rapport DBO/DCO (DBO : Demande Biochimique en Oxygène, DCO : Demande Chimique en Oxygène) et ont observé une augmentation de ce rapport DBO/DCO. Dans leur étude, ce rapport indique la capacité du traitement photocatalytique à améliorer la biodégradabilité. La principale explication à la différence entre leurs conclusions et celles de cette présente étude peut être attribuée au fait que les méthodes utilisées pour évaluer la biodégradabilité sont différentes.

III.2. Toxicité des intermédiaires réactionnels

L'objectif est de savoir si l'effet toxique de l'hydrochlorure de tétracycline est éliminé au cours du traitement par photocatalyse. Pour cela, la toxicité des intermédiaires réactionnels formés lors de la dégradation photocatalytique est examinée et comparée à celle de l'hydrochlorure de tétracycline. Cette toxicité est examinée en utilisant respectivement la biomasse utilisée pour le test de Sturm et une culture de *Pseudomonas aeruginosa*.

III.2.1 Toxicité sur la biomasse

Dans le test de Sturm réalisé sur les intermédiaires de la réaction de dégradation photocatalytique de l'hydrochlorure de tétracycline, il n'y a pas eu production de CO₂ due à la biodégradation. La conclusion établie est que les intermédiaires ne sont pas biodégradables. Une des explications à l'absence de biodégradation peut être un effet toxique des intermédiaires ou de la TC sur la biomasse. Pour vérifier cette hypothèse, il a été évalué si à la fin du test de Sturm, la biomasse présentait encore une activité de biodégradation. Pour cela, le benzoate de sodium a été utilisé comme composé à biodégrader par la biomasse utilisée dans le test de Sturm.

A l'issue du test de Sturm, 100 mL de solution de benzoate de sodium à 400 mg/L en COD sont ajoutés dans les réacteurs 1, 2, 3 et 4 pour déterminer si la biomasse peut encore avoir une activité de biodégradation. Les solutions constituant le milieu de Sturm sont rajoutées dans tous les réacteurs et pour avoir un même volume dans les réacteurs, 100 mL d'eau distillée sont ajoutés dans les réacteurs 5 et 6. Les dosages et le changement des pièges sont effectués comme décrit dans la partie expérimentale du test de Sturm (chapitre II).

III.2.1.1 Résultats du test de toxicité sur la biomasse

La quantité de CO₂ formé dans les réacteurs et les pourcentages de biodégradation correspondant sont donnés dans le Tableau III. 4. Dans les réacteurs 2 et 3 qui contiennent les intermédiaires de la TC, le benzoate de sodium est minéralisé à 64 et 56 % et dans le réacteur 1 qui contient la tétracycline, il est minéralisé à 90 %. Le pourcentage de biodégradation du benzoate au bout de 15 jours dans le test de Sturm était de 63 % (paragraphe III.1.2). Ce pourcentage de biodégradation est comparable à celui obtenu dans le test de toxicité sur la biomasse excepté pour le pourcentage dans le réacteur 1 (90%). La valeur élevée de 90 % peut être attribué à un co-métabolisme. La présence de la tétracycline ou de ses intermédiaires réactionnels n'a donc *a priori* pas d'effet sur l'activité de biodégradation de la biomasse. En effet, le benzoate de sodium rajouté dans les réacteurs contenant la TC et ses intermédiaires a été biodégradé. En conclusion, la tétracycline et ses intermédiaires réactionnels ne présentent pas d'effet toxique pour la biomasse utilisée dans le test de Sturm.

Tableau III. 4 : Masse de CO₂ produite dans chaque réacteur à la fin du test de toxicité (15 jours) et % de biodégradation du benzoate de sodium (BS) correspondant

| | Réacteurs | | | | | |
|---------------------------|-----------|-----|-----|-----|-----|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| CO ₂ (mg) | 157 | 113 | 104 | 118 | 6.8 | 13,1 |
| % de biodégradation du BS | 90 | 64 | 54 | 76 | - | - |

BS : benzoate de sodium

III.2.2 Effet sur l'activité enzymatique des bactéries de type *P. aeruginosa*

L'utilisation des bactéries *P. aeruginosa* en tant qu'indicateur de la toxicité des composés a été présentée au chapitre II. Dans ce travail les bactéries *P. aeruginosa* sont utilisées pour évaluer la toxicité des intermédiaires réactionnels de l'hydrochlorure de tétracycline en comparaison à l'effet toxique avant le traitement photocatalytique.

III.2.2.1 Incubation

L'effet des intermédiaires de la TC sur des cellules de *P. aeruginosa* est évalué en mettant en contact une suspension de *P. aeruginosa* et les échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique dans des tubes à hémolyse placés à 30°C. Les volumes mis en contact dans les tubes à hémolyse sont de 3 mL pour la suspension de *P. aeruginosa*, de 0,5 mL pour les échantillons et la durée d'exposition est de 19 heures. Les *P. aeruginosa* sont également exposées à une solution ne contenant que la TC afin d'évaluer l'effet toxique de la TC puis le comparer à celui des intermédiaires.

III.2.2.2 Mesure de l'activité enzymatique

Après exposition des bactéries *P. aeruginosa* aux échantillons traités et à la solution de TC, le volume dans chaque tube à hémolyse est ajusté à 6 mL avec une solution tampon, solution de trishydroxyméthylaminométhane (TRIS, 0,1 M) à pH 8,4, puis 1 mL de solution de chlorure de 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophényl)-5-phényltétrazolium (INT, 2 g/L) est ajouté dans les tubes. Une solution dite « blanc » est préparée. Elle contient 3 mL de suspension de *P. aeruginosa* et 6 mL de solution tampon TRIS. D'autres solutions dites « témoins positifs » sont préparées (duplicata), elles contiennent la suspension de *P. aeruginosa*, le tampon TRIS et l'INT. Les solutions « témoins positifs » servent à estimer l'activité déshydrogénase des bactéries *P. aeruginosa* avant contact avec les échantillons de la solution de TC traitée et la solution de TC. Les proportions de chaque constituant des tubes au cours du test sont

présentées dans le Tableau III. 5.

Tableau III. 5 : Réalisation du test sur la mesure de l'effet de la TC et de ses sous-produits sur l'activité enzymatique des bactéries *Pseudomonas aeruginosa*

| | Blanc | Témoin positif | | Durée d'irradiation du traitement photocatalytique (min) | | | | | | | |
|-----------------------------|-------|----------------|-----|--|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | | | 0 | 0 | 10 | 30 | 60 | 80 | 100 | |
| Suspension de bactérie (mL) | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Solution traitée (mL) | - | - | - | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 |
| TRIS (mL) | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| INT (mL) | - | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| ED (mL) | 1,5 | 0,5 | 0,5 | - | - | - | - | - | - | - | - |

INT : chlorure de 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophényl)-5-phényltétrazolium,
TRIS : trishydroxyméthylaminométhane, ED : eau déminéralisée

Une fois l'INT ajouté dans les solutions, les mélanges sont laissés pendant 30 minutes à 30°C, puis dans chaque tube, 8 mL de méthanol sont ajoutés afin d'extraire le formazan formé. Dix minutes plus tard ces solutions sont centrifugées à 1000 tr/min. Les surnageants sont récupérés et les absorbances sont lues à 480 nm avec comme référence le blanc préparé précédemment.

III.2.2.3 Résultats du test de toxicité sur l'activité enzymatique des bactéries *P. aeruginosa*

La Figure III. 3 montre l'évolution de la formation du formazan dans chaque échantillon traité en fonction de la concentration résiduelle en Tétracycline dans la solution. La moyenne de formazan obtenue dans les témoins positifs est de 51 µmol/L. En présence d'une solution d'hydrochlorure de tétracycline seulement, la concentration en formazan est d'environ 32 µmol/L, ce qui correspond à une diminution de 40% par rapport à la concentration obtenue dans le témoin positif. Cette diminution de la production de formazan est attribuée à une perturbation du métabolisme bactérien. La tétracycline présente en solution agit sur l'activité déshydrogénase des bactéries *P. aeruginosa*, moins d'électrons circulent alors dans la chaîne respiratoire et moins de formazan se forme. Lorsque la concentration en

tétracycline diminue, plus de formazan se forme. Après 80 minutes de traitement photocatalytique, 93 % de tétracycline est dégradé ($[TC] < 5 \text{ mg/L}$) et seulement 24% du COD initial est minéralisé relativement à la présence de composés organiques encore en solution. Cependant, en comparaison avec le début du traitement photocatalytique ($[TC] = 70 \text{ mg/L}$), la concentration en formazan a augmenté. Ce résultat suggère qu'en comparaison à la tétracycline, les intermédiaires formés au cours de la photocatalyse sont moins toxiques pour les bactéries *P. aeruginosa*.

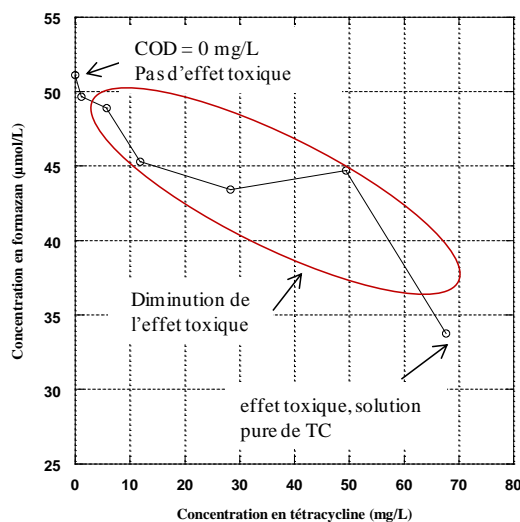


Figure III. 3 : Effet de la tétracycline et de ses intermédiaires sur l'activité déshydrogénase des bactéries *P. aeruginosa*

III.2.3 Résultats et discussion sur l'étude de la toxicité des intermédiaires réactionnels

Les effets toxiques de la TC et de ses intermédiaires ont été examinés en utilisant respectivement la biomasse d'une station d'épuration et une culture de *P. aeruginosa*. Les résultats obtenus sur l'étude de la toxicité sur la biomasse ont montré que la TC et ses intermédiaires n'avaient pas d'effet sur l'activité de biodégradation de la biomasse. Les résultats du test sur l'étude de l'effet sur l'activité déshydrogénase des bactéries *P. aeruginosa* ont montré que les intermédiaires avaient un effet moins toxique sur les bactéries *P. aeruginosa* que la tétracycline elle-même.

Des résultats similaires sur la baisse de la toxicité lors du traitement par photocatalyse ont été trouvés par Reyes et ses co-auteurs (Reyes *et al.*, 2006). A contrario, les résultats de cette présente étude diffèrent de ceux trouvés par Jiao et ses co-auteurs et López-Peñalver et co-auteurs (Jiao *et al.*, 2008a, Jiao *et al.*, 2008b, López-Peñalver *et al.*, 2010). Au vu de ces différents résultats sur la toxicité, il en ressort que :

- i) la toxicité des intermédiaires réactionnels dépend du procédé d'oxydation. En effet d'un procédé à l'autre, les mécanismes réactionnels diffèrent, la nature des intermédiaires peut également différer et comme l'effet dépend du composé auquel l'organisme est exposé, la toxicité dépend du procédé d'oxydation.
- ii) la toxicité des intermédiaires dépend des organismes utilisés (*P. aeruginosa*, *vibrio fischeri*, *Daphnies* etc.) pour le test de toxicité.

III.3. Conclusion sur l'étude de l'impact environnemental des intermédiaires

Lors du traitement de l'hydrochlorure de tétracycline par photocatalyse, des intermédiaires réactionnels sont formés. L'impact environnemental de ces intermédiaires réactionnels a été évalué en terme de biodégradabilité par le test de Sturm et en terme de toxicité sur d'une part, une culture de *P. aeruginosa* et d'autre part, sur la biomasse d'une station d'épuration.

Les résultats concernant la toxicité ont montré que la TC et ses intermédiaires n'avaient pas d'effet toxique sur la biomasse et que les intermédiaires réactionnels présentaient une plus faible toxicité sur les *P. aeruginosa* que l'hydrochlorure de tétracycline elle-même. Aussi il est possible de dire que le traitement photocatalytique, dans les conditions expérimentales utilisées dans cette étude, a permis de réduire la toxicité initiale de la solution.

Les résultats du test de Sturm ont montré que les intermédiaires réactionnels étaient aussi peu biodégradables que l'hydrochlorure de tétracycline. Les travaux menés par Arslan-Alaton *et al.*, (2004) et par Reyes *et al.*, (2006) ont montré que le traitement des composés peu biodégradables par des procédés d'oxydation (UV/H₂O₂, ozonation, photocatalyse etc...) peut augmenter la biodégradabilité ; les produits issus de l'oxydation sont plus oxydés que les produits initiaux et plus biodégradables. Néanmoins dans les conditions expérimentales de cette présente étude, les résultats n'ont pas conduit à la même conclusion. Ainsi en considérant ce résultat, il a semblait judicieux d'orienter les recherches vers l'étude de la structure des intermédiaires réactionnels.

IV. Identification des intermédiaires réactionnels : mécanisme de formation

Afin de mieux comprendre la persistance du mélange des intermédiaires, l'étude a été étendue à l'identification des principaux intermédiaires de la TC formés au cours de la dégradation photocatalytique. Pour cela, les échantillons prélevés au cours de la réaction photocatalytique ont été analysés par CL-SM/SM sur l'appareillage Thermo Fischer décrit au chapitre II. Ces analyses ont été réalisées en collaboration avec l'IDAC.

IV.1. Optimisation des paramètres de la SM/SM

Le choix du mode d'ionisation s'est fait en fonction de la tétracycline. Il a été vu que cette molécule peut être facilement protonée (chapitre II). Le mode positif a donc été sélectionné pour l'ionisation de la tétracycline et de ses intermédiaires réactionnels.

Pour l'optimisation des paramètres, les échantillons prélevés pendant le traitement photocatalytique sont dilués puis directement injectés dans le spectromètre de masse en tandem avec un débit de phase mobile de 0,2 mL/min. La phase mobile est ajoutée pendant l'infusion pour se mettre dans les conditions d'analyse liées à la chromatographie. Les phases mobiles utilisées par d'autres auteurs sont présentées dans le Tableau III. 6. Les phases généralement utilisées sont les mélanges eau/acétonitrile, eau/méthanol, parfois acidifiées. Selon ces auteurs, ces solvants facilitent l'ionisation des composés. Dans notre étude, c'est un mélange eau/acétonitrile acidifié à 0,1 % d'acide formique (50/50 en v/v) qui est utilisé pour l'infusion.

Après l'infusion, les ions parents des composés présents dans les échantillons traités sont identifiés ($[M+H]^+$). Puis, les paramètres de nébulisation/désolvatation sont déterminés et optimisés dans les conditions optimales pour l'ensemble des ions parents présents dans les échantillons. En effet, les paramètres de nébulisation/désolvatation sont fixés pour la méthode et ils sont appliqués à toutes les molécules. Une fois les paramètres de nébulisation/désolvatation fixés, les transitions ainsi que les énergies de collision relatives à chaque ion parent sont déterminées. Contrairement aux paramètres de nébulisation/désolvatation, les énergies de collision sont spécifiques à chacun des ions parents. Ainsi, en appliquant des énergies de collisions appropriées, la fragmentation des ions parents en ions fils est obtenue. Les valeurs des paramètres de nébulisation/désolvatation obtenues après optimisation sont présentées dans le Tableau III. 7. Les ions parents présents dans les échantillons traités, les énergies de collision associées ainsi que les ions fils obtenus sont donnés dans le Tableau III. 8.

Tableau III. 6 : Exemples d'études sur la tétracycline utilisant la spectrométrie de masse en tandem

| Ionisation | Phase mobile | Débit | Colonne | Référence |
|-------------------|--|--------------|--|-----------------------------------|
| ESI+ | Eau (0,1% acide acétique)/ acétonitrile | 1 mL/min | Kromasil 100 C ₁₈ (25,0×0,46 cm) | Reverté <i>et al.</i> , 2003 |
| ESI+ | acétonitrile/acide oxalique 0,01 mol/L | 0,5 mL/min | - | Dalmazio <i>et al.</i> , 2007 |
| APCI+ | acétonitrile/acide oxalique 0,01 mol/L | 0,5 mL/min | Hypersil C18 column (250 mm, 4,6 mm I.D., 5 µm) | Dalmazio <i>et al.</i> , 2007 |
| ESI+ | Eau et méthanol acidifiés à 10mM acide formique | 0,2 mL/min | C ₁₈ (100 × 2,1 mm I.D., 3,5 µm) | Blasco <i>et al.</i> , 2009 |
| ESI+ | Eau/acétonitrile/méthanol acidifiés à 0,1% d'acide acétique | 0,15 mL/min | Pursuit™ C18 RS (100 mm × 2 mm I.D., 3 µm, 200 Å) | Spisso <i>et al.</i> , 2009 |
| ESI+ | Acétonitrile/Eau (0,1% acide formique) | 0,2 mL/min | Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (1,7 µm ; 2,1 mm × 100 mm) | Jia <i>et al.</i> , 2009 |
| ESI+ | 20 µM formate d'ammonium dans l'acide formique à 0,3%/acétonitrile | 0,4 mL/min | Agilent SB-C18 (50 mm, 4,6 mm I.D, 1,8 µm) | Khan <i>et al.</i> , 2010 |
| ESI+ | Acide formique 0,1 % dans l'eau et acide formique 0,1 % dans le méthanol | 0,2 mL/min | Sunfire C ₁₈ (4,6 mm × 150 mm, 3,5 µm) | Vazquez-Roig <i>et al.</i> , 2011 |
| ESI+ | Acide formique 0,2% et acétate d'ammonium à 2 mM/ acétonitrile | 0,3 mL/min | Agilent Eclipse Plus-C18 (100 mm × 2,1 mm, 1,8 µm) | Zhou <i>et al.</i> , 2012 |
| ESI- | Eau/acétonitrile | 0,3 mL/min | Agilent Eclipse Plus-C18 (100 mm × 2,1 mm, 1,8 µm) | Zhou <i>et al.</i> , 2012 |

Tableau III. 7 : Paramètres de nébulisation/désolvation pour l'analyse CL-SM/SM

| Paramètres de nébulisation/désolvation | Valeurs |
|---|----------------|
| Tension électrique du spray | 3500 V |
| Pression en azote de nébulisation | 40 psi |
| Pression auxiliaire en azote de désolvation | 15 psi |

IV.2. Conditions chromatographiques de l'analyse CL-SM/SM

La colonne utilisée pour la séparation chromatographique est une Uptisphere ODB 120 Å (150 mm x 2,1 mm ID, 3 µm, Interchim) et la phase mobile est un mélange 0,1% acide formique dans l'eau et 0,1% acide formique dans l'acétonitrile. Pour obtenir une séparation des composés présents dans le mélange, diverses proportions du mélange de la phase mobile ont été testées. Les conditions testées étaient 50/50, 30/70 et 80/20 en v/v d'acide formique dans l'eau à 0,1% et d'acide formique dans l'acétonitrile à 0,1%. Les paramètres pris en compte pour le choix de la composition de la phase mobile étaient la séparation des composés et l'intensité du signal. Pour l'analyse en CL-SM/SM, la composition de la phase mobile retenue est le mélange acide formique dans l'eau à 0,1% /acide formique dans l'acétonitrile à 0,1% 80/20 en v/v.

IV.3. Modes d'acquisitions SM/SM

Il existe plusieurs modes d'acquisition en SM/SM : le mode « full scan », le mode « product ion scan », le mode « multi reaction monitoring », le mode « perte neutre » et le mode « parent ». Pour cette présente étude, les modes d'acquisition du signal retenus sont le mode « full scan » (mode balayage), le mode « product ion scan » (mode balayage des ions de fragmentation) et le mode « multi reaction monitoring (MRM)». Notre choix s'est porté sur ces derniers car ils permettent respectivement de :

- voir tous les composés présents dans les échantillons traités,
- observer tous les ions fragments des composés présents dans les échantillons traités puis de choisir les transitions pour la MRM,
- suivre les composés présents dans les échantillons traités en sélectionnant deux transitions. Ce sont les transitions avec la plus grande intensité qui sont sélectionnées.

IV.4. Identification des intermédiaires

Dans le Tableau III. 8, les ions parents des composés présents dans les échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique de la TC ainsi que leurs ions fragments respectifs sont présentés. D'après ce tableau, les composés majoritairement formés ont pour masse molaire respective 430,1 ; 460,1 ; 476,1 et 458,1. Pour l'analyse CL-SM/SM en mode MRM, les deux ions fragments les plus abondants de chaque ion parent sont sélectionnés. Les résultats des analyses CL-SM/SM en mode MRM sont donnés en annexes 2. Sur les chromatogrammes, plusieurs pics relatifs aux ions parents de masse m/z 461,1 ; 477,1 et

459,1 sont observés. La présence de ces nombreux pics avec des temps de rétention différents indiquent qu'il existe dans les échantillons traités plusieurs composés ayant des masses molaires identiques 460,1, 476,1 et 458,1. Dans d'autres études où la TC a été traitée par des procédés d'oxydation, les composés avec pour masse molaire 460,1 et 476,1 ont été identifiés comme intermédiaires réactionnels. Par exemple, Khan et ses co-auteurs ainsi que Damalzio et ses co-auteurs ont trouvé au cours de l'ozonation de la TC des intermédiaires des masses molaires 460,1 et 476,1 (Khan *et al.*, 2010 ; Dalmazio *et al.*, 2007). Dans une autre étude, Jeong et ses co-auteurs ont trouvé un autre composé de masse molaire 460,1. Ce dernier s'était formé lors de la radiolyse de la TC (Jeong *et al.*, 2010). Tous les composés identifiés comme intermédiaires de la TC dans les études présentées ci-dessus ont pu aussi être formés au cours de la photocatalyse de la TC dans les conditions expérimentales de cette présente étude. Les mécanismes de formation possibles de ces composés sont décrits ci-après.

Tableau III. 8 : Ions parents présents dans les échantillons prélevés pendant la photocatalyse, ions fragments associés et énergies de collision respectives

| Composé (masse g/mol) | Ion parent [M+H] ⁺ (m/z) | Ion fragment (m/Z) | Energie de collision (eV) | Intensité relative |
|--------------------------|--|-----------------------|------------------------------|--------------------|
| Tétracycline (444,1) | 445,1 | 410,1* | 20 | 100 |
| | | 427,2* | 13 | 28 |
| | | 98,1 | 39 | 25 |
| | | 225,9 | 56 | 20 |
| | | 241,0 | 41 | 18 |
| Produit 1 (430,1) | 431,1 | 257,1* | 30 | 100 |
| | | 242,0* | 39 | 62 |
| | | 396,1 | 20 | 58 |
| | | 413,0 | - | - |
| | | 414,0 | - | - |
| Produit 2 (460,1) | 461,1 | 426,1* | 23 | 100 |
| | | 444,1* | 16 | 55 |
| | | 153,9 | 29 | 34 |
| | | 443,0 | 11 | 10 |
| | | 98,0 | 39 | 10 |
| Produit 3 (476,1) | 477,1 | 459,9* | 17 | 100 |
| | | 442,0* | 26 | 68 |
| | | 419,0 | 24 | 30 |
| | | 414,2 | 26 | 10 |
| | | 154,1 | 32 | 20 |
| Produit 4 (458,1) | 459,1 | 442,1* | 100 | 100 |
| | | 203,1 | 10 | 10 |
| | | 239,0 | 5 | 5 |
| | | 254,8 | 3 | 3 |
| | | 282,9 | 2 | 2 |

* : ions fragments retenus pour l'analyse CL-SM/SM en mode MRM

- Mécanismes proposés pour la formation des composés de masse molaire 460,1

L'ion parent de la tétracycline a une masse m/z de 445,1. Entre cet ion parent et l'ion parent m/z 461,1, il existe une différence de 16 unités. Cette différence de masse pourrait provenir d'un adduit du groupe hydroxyle sur la molécule de la tétracycline. Par commodité, les structures possibles des composés avec pour ion parent m/z 461,1 sont notées A, B, C.

La molécule de tétracycline présente plusieurs sites de réactivité: des doubles liaisons, un groupement cétone, un groupement aminocétone et un groupement céto-énol. Le radical OH^\bullet peut réagir avec tous ces sites. Ainsi, si le radical OH^\bullet réagit avec le groupement céto-énol, le composé noté A est obtenu et s'il réagit avec le carbone C_2 de la tétracycline, le composé B se forme. Quant au composé C, il se forme après adduit de OH^\bullet sur le cycle aromatique (Figure III. 4).

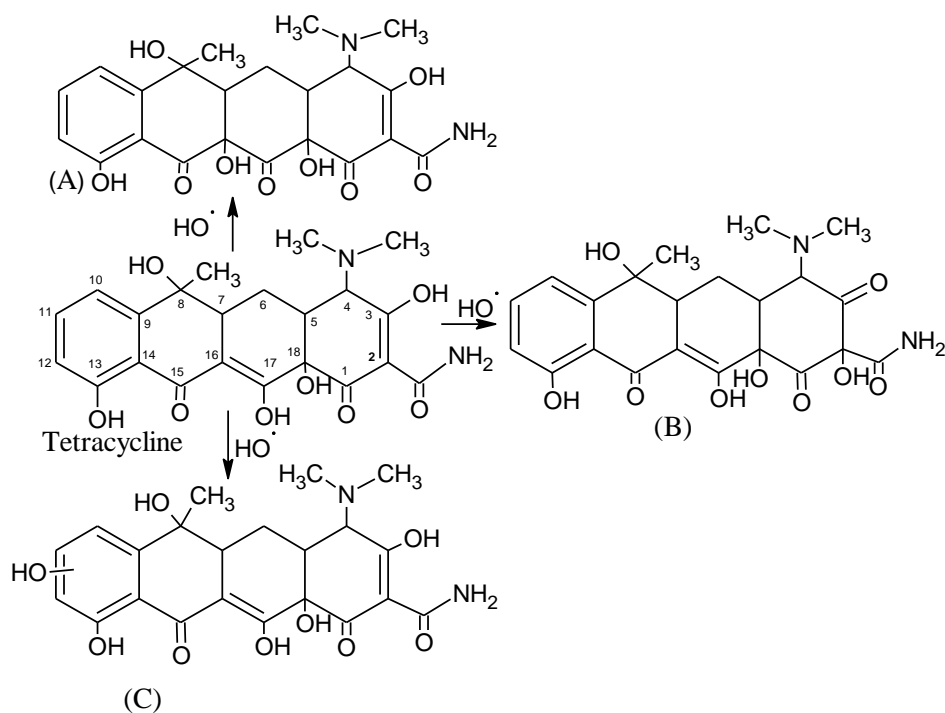


Figure III. 4 : Mécanismes de formation des composés de masse molaire 460,1

Pour justifier les structures proposées pour les composés de masse molaire 460,1, l'analyse SM/SM en mode « product ion scan » a été faite et les ions produits obtenus sont présentés dans le Tableau III. 8.

En fragmentation, l'ion parent de m/z égale à 461,1 perd une molécule de NH_3 ou une molécule d' H_2O et donne respectivement les ions produits de masses m/z de 444,1 et m/z de 443,0. L'ion fragment de masse m/z de 426,1 provient d'une perte d' H_2O sur l'ion avec une

masse m/z de 444,1. Cet ion peut également provenir d'une perte de NH₃ sur l'ion avec une masse m/z de 443,0 (Figure III. 5).

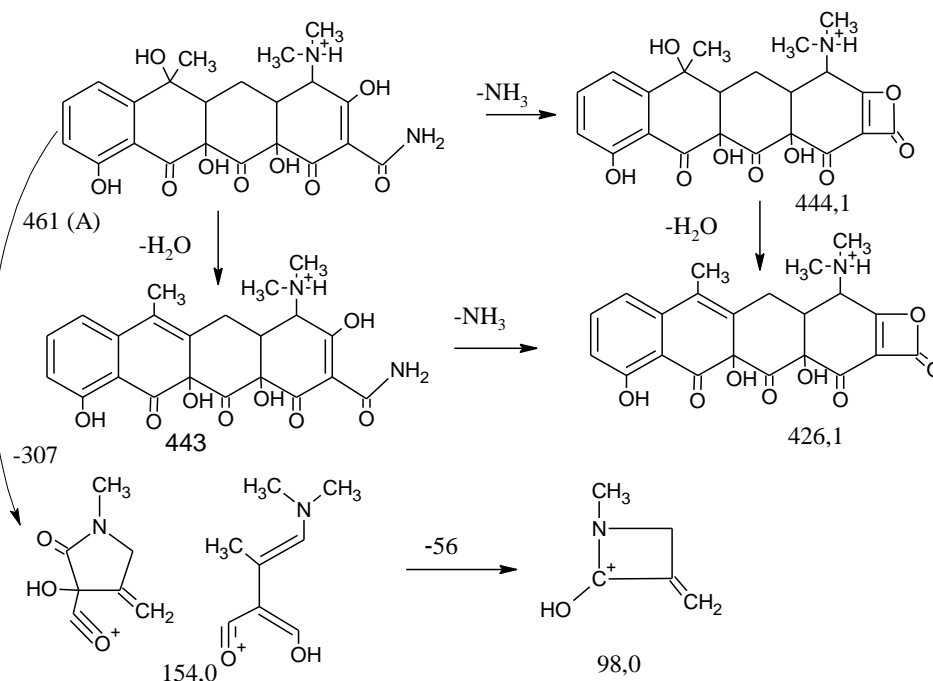


Figure III. 5: Fragmentation des ions parents avec m/z égale à 461,1

Les structures proposées pour les ions de masses m/z de 98 et de 154 sont tirées de l'étude de Vartanian et ses co-auteurs (Vartanian *et al.*, 1998). Ces derniers ont étudié le modèle de fragmentation de la tétracycline et ils ont proposé des structures pour les ions avec pour masses m/z égales à 98 et 154. Ce sont donc ces structures qui sont utilisées ici pour les ions avec des masses m/z de 98 et 154.

Ainsi, la fragmentation des composés avec une masse de 460,1 obtenue en « product ion scan » justifie les structures proposées pour ces composés. Dans l'exemple de la Figure III. 5, seul l'ion parent du composé A est présenté mais la fragmentation est la même pour les ions parents des composés B et C.

- Mécanismes proposés pour la formation des composés de masse molaire 476,1

Ces composés proviennent d'une hydroxylation des composés ayant pour masse 460,1. Par commodité, les structures possibles pour ces composés sont notées D, D₁, D₂ et D₃. Le composé D peut être obtenu après addition du radical OH• sur le carbone C₂ du composé A ou sur le carbone C₁₆ du composé B. Les composés D₁ et D₂ peuvent respectivement être formés après addition de OH• sur le carbone C₁₆ du composé C et sur la carbone C₂ du

composé C. Le composé D₃ peut être formé après addition de OH[•] sur le cycle aromatique du composé C. Le mécanisme de formation de ces composés est présenté sur la Figure III. 6.

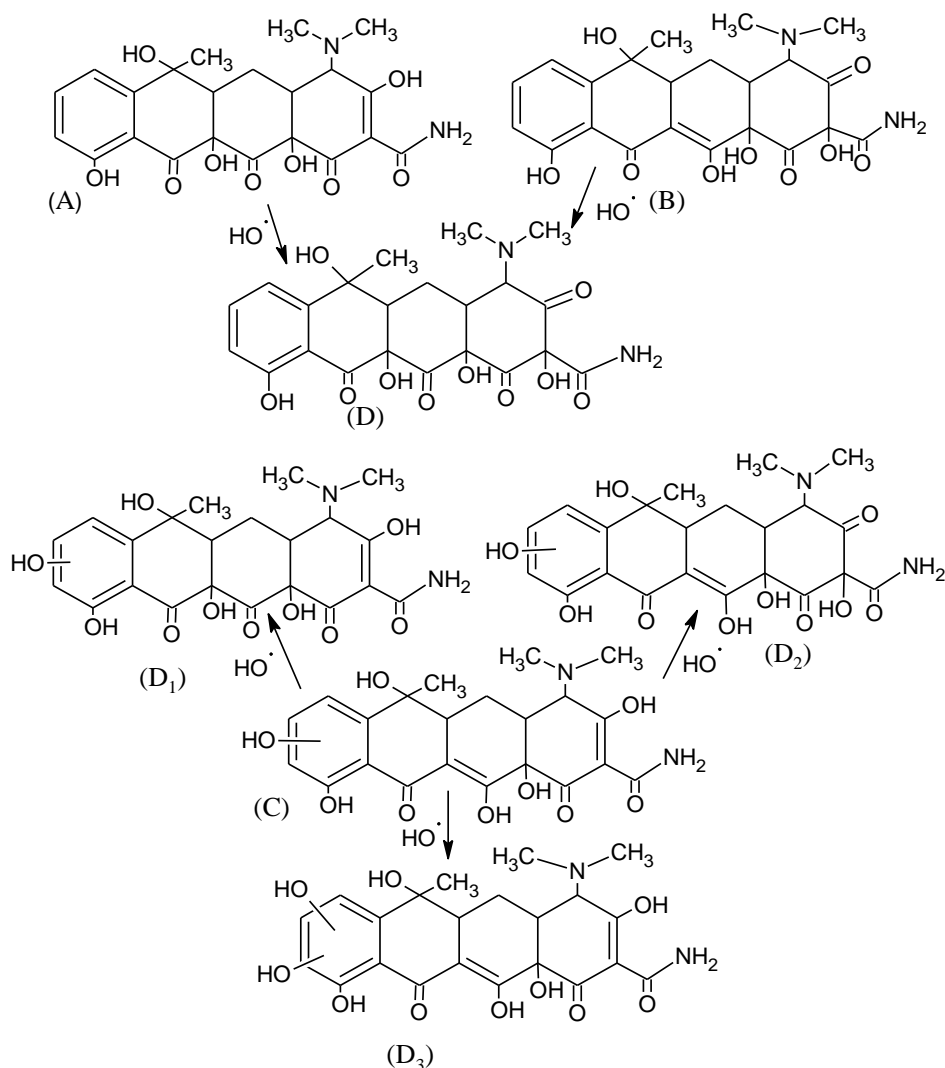


Figure III. 6 : Mécanismes de formation des composés de masse molaire 476,1

Les composés ayant un ion parent de masse m/z de 477,1 ont été également analysés en mode « product ion scan » pour justifier les structures proposées pour ces derniers. Les ions fragments sont présentés dans le Tableau III. 8.

Lors de la fragmentation, l'ion parent de masse m/z égales à 477,1 perd une molécule NH_3 , l'ion avec une masse m/z de 459,9 se forme. Puis, cet ion perd une molécule d' H_2O pour former un ion avec une masse m/z de 442,0. L'ion avec masse m/z de 442 perd à son tour une molécule de CO pour former l'ion avec une masse m/z de 414,2 (Figure III. 7). L'exemple de fragmentation dans la Figure III. 7 est proposé pour le composé D, cette fragmentation est la même pour tous les autres composés (D_1 , D_2 et D_3).

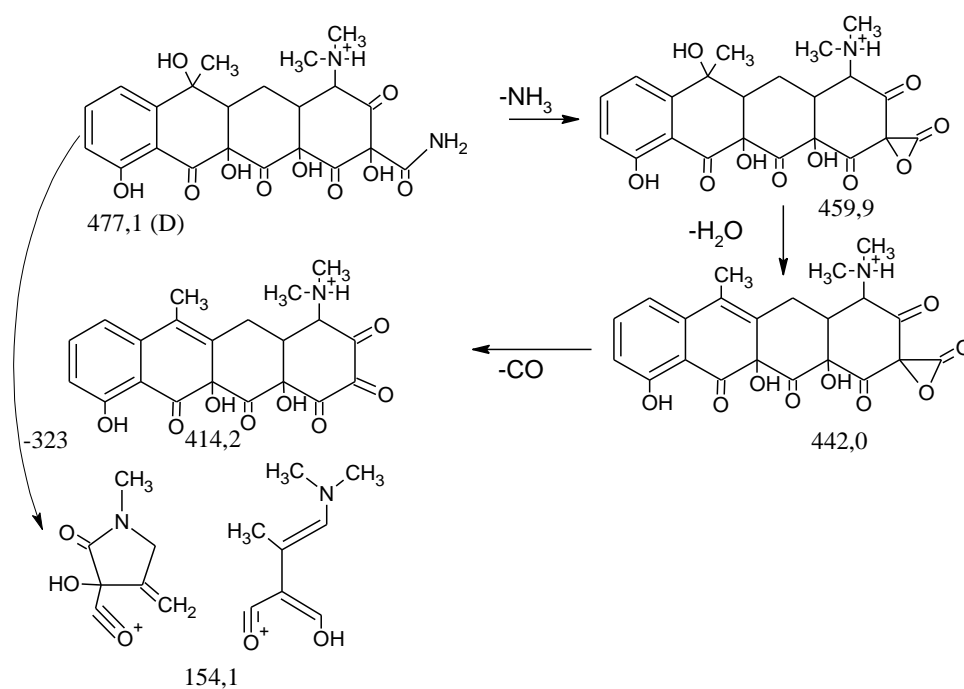


Figure III. 7 : Fragmentation des ions parents de masse m/z de 477,1

- Mécanismes proposés pour la formation des composés de masse molaire 458,1

Ces composés ont pu être formés après une réaction d'abstraction de l'hydrogène du carbone C₇ des composés B, D₂ ou D₃ par le radical OH[•]. Le mécanisme de la réaction peut être expliqué comme suit : le carbone tertiaire stabilisé par la délocalisation de la double liaison se forme. Ce carbone tertiaire est ensuite attaqué par l'oxygène pour produire un radical peroxyde. Puis, le radical hydroperoxyde est éliminé et les composés de masse 458,1 notés E, E₁ et E₂ sont obtenus (Jeong *et al.*, 2007).

Le mécanisme de réaction proposé pour E₁ est présenté sur la Figure III. 8. Il est le même pour E et E₂ qui proviennent respectivement de la réaction de abstraction de l'hydrogène sur B et D.

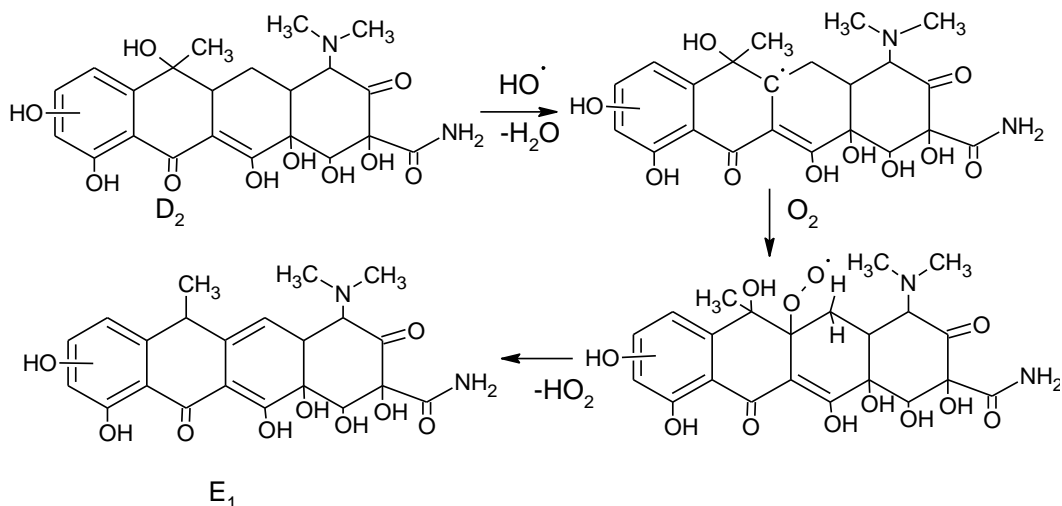


Figure III. 8 : Mécanismes de formation des composés de masse molaire 458,1

Un autre mécanisme de formation des composés avec pour masse 458,1 pourrait être l'oxydation du composé C qui formerait un composé C' (Figure III. 9) avec un groupement quinone (Jeong *et al.*, 2007). Cependant, cette hypothèse est moins probable. En effet, si on avait le composé C' en solution, la fragmentation des ions parents avec une masse m/z de 459,1 aurait donné une perte de la molécule H_2O . Or, parmi les ions fragments observés en mode « product ion scan », aucun n'est issu d'une perte de molécule H_2O (Tableau III. 8). Ainsi, il peut être conclu que dans la présente étude les composés de masse 458,1 sont principalement formés par la réaction d'abstraction de l'hydrogène par le radical OH^\bullet .

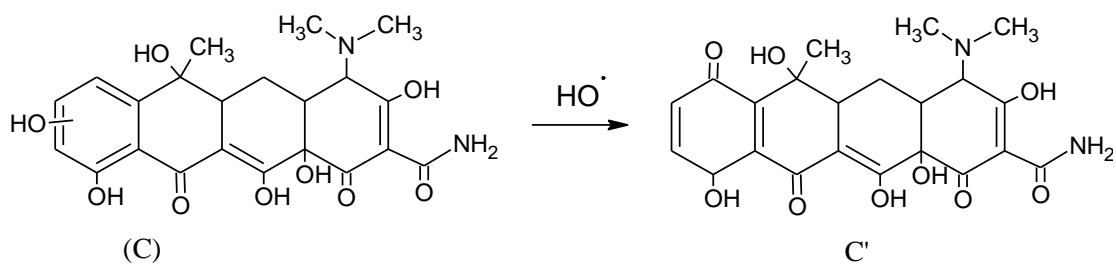


Figure III. 9 : Mécanisme de formation du Composé C' de masse molaire 458,1

- Mécanismes proposés pour la formation du composé de masse molaire 431,1

Le suivi en LC-MS/MS de ce composé en mode MRM (annexe 2) présente un seul pic. Ainsi, contrairement aux autres intermédiaires, il y a dans les échantillons traités un seul composé de masse 430,1. Le mécanisme de formation probable pour ce composé est la N-déalkylation de la tétracycline. En effet, la N-déalkylation des composés avec des groupes amines est généralement observée dans les procédés d'oxydation et serait due à l'énergie de la

liaison N-C qui est faible (Patro *et al.*, 2005, Jiao *et al.*, 2008 et 2008 et Balci *et al.*, 2009).

En présence d'un radical hydroxyle, la première étape de la réaction de N-déalkylation est l'abstraction de l'atome d'hydrogène. Un ion radicalaire se forme et par rebond du groupe hydroxyle le composé noté F' se forme. Puis, F' est hydrolysé et le composé d'ion parent de masse m/z 431,1 est obtenu (Figure III. 10). Les ions fragments observés en « product ion scan » (Tableau III. 8) et le modèle de fragmentation (Figure III. 11) justifient la structure proposée pour le composé avec pour ion parent celui de masse m/z égale à 431,1.

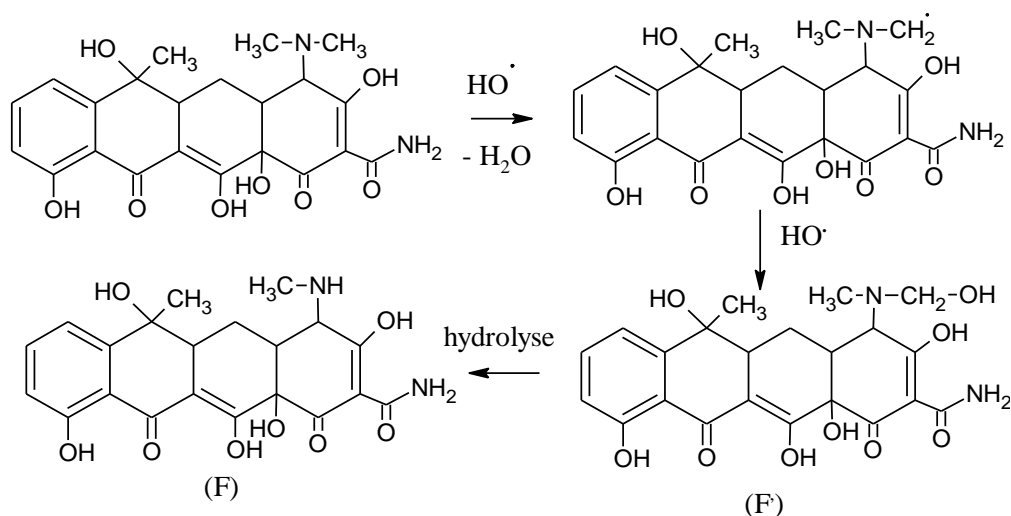


Figure III. 10 : Mécanismes de formation du composé de masse molaire 430,1

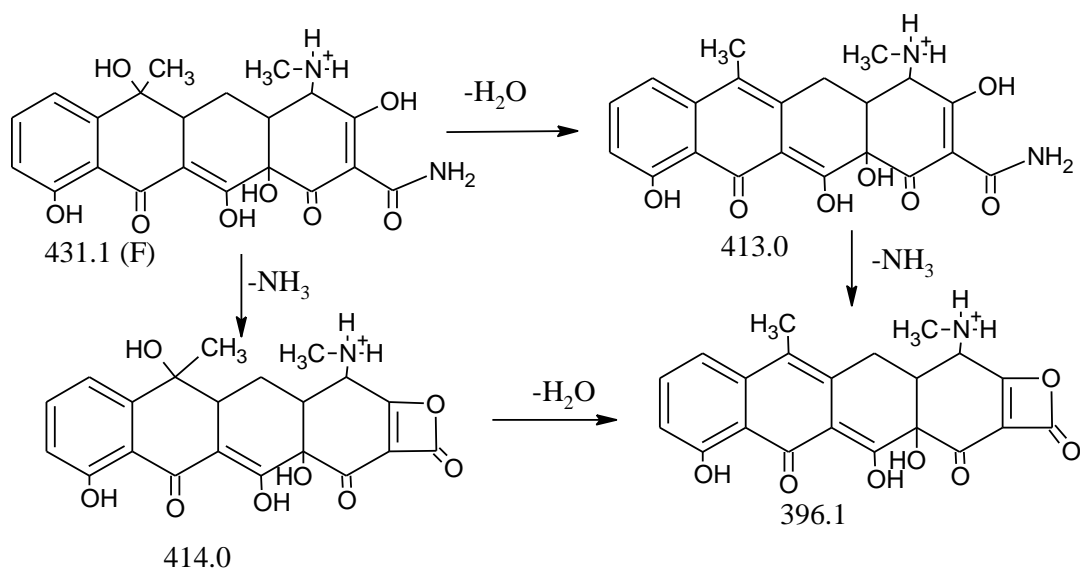


Figure III. 11 : Fragmentation de l'ion parent de masse m/z égale à 431,1

IV.5. Conclusion de l'étude sur l'identification des intermédiaires réactionnels

Les échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique de l'hydrochlorure de tétracycline ont été analysés par CL-SM/SM pour identifier les intermédiaires présents en solution. Quatre produits majoritaires ont été identifiés et les mécanismes de formation de ces intermédiaires réactionnels comprennent :

- l'addition du radical OH^\bullet sur les sites actifs de l'hydrochlorure de tétracycline,
- l'addition du radical OH^\bullet sur les sites actifs de l'hydrochlorure de tétracycline suivi d'une réaction d'abstraction des atomes d'hydrogène par le radical OH^\bullet ,
- la réaction de N-déalkylation de l'hydrochlorure de tétracycline.

Ainsi, les cycles aromatiques de la tétracycline n'ont pas été ouverts et les structures proposées pour les intermédiaires réactionnels sont semblables à celle de la tétracycline. En conclusion, les conditions expérimentales des essais de photodégradation n'ont pas conduit à une transformation notable de la structure de l'hydrochlorure de tétracycline. Le schéma général du chemin réactionnel dans les conditions de l'étude est présenté Figure III. 12.

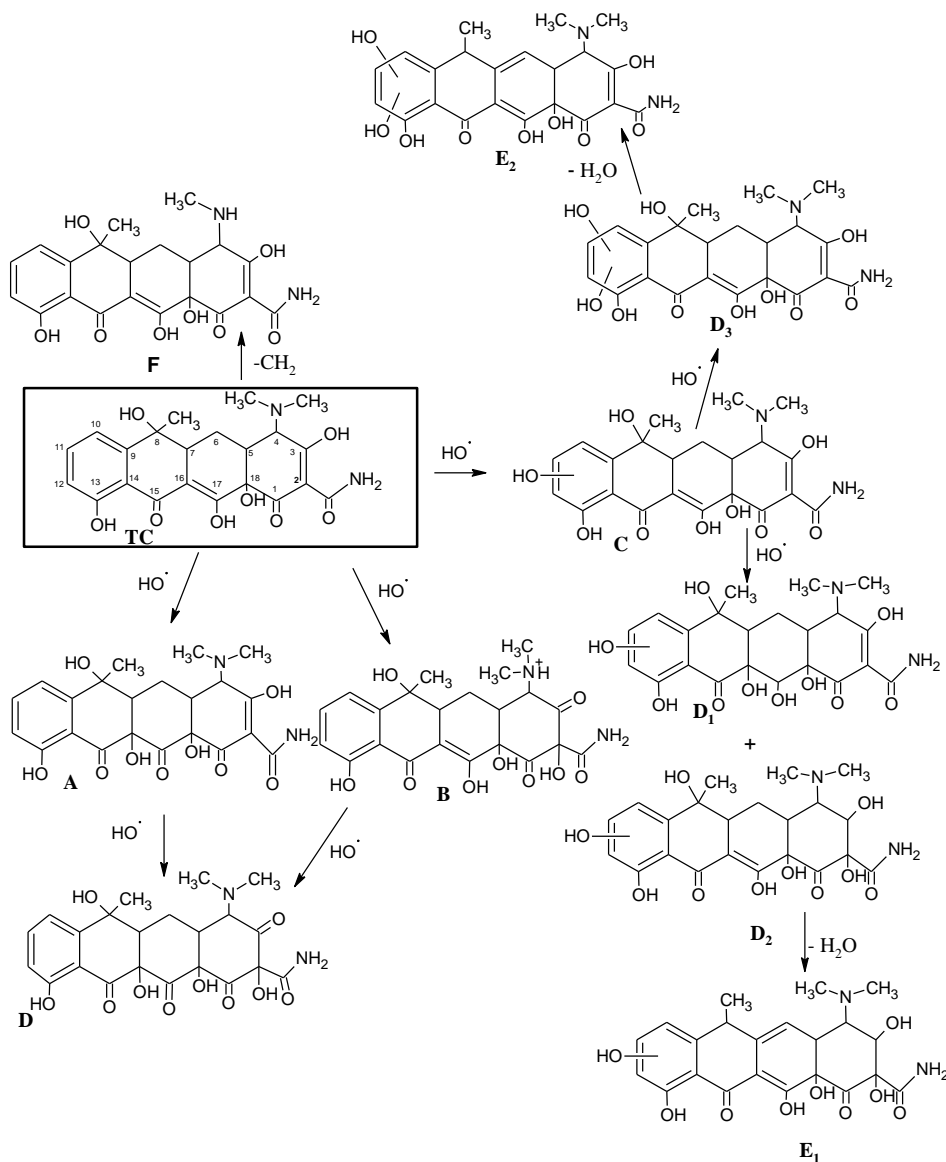


Figure III. 12 : Proposition d'un chemin réactionnel général de la dégradation photocatalytique de l'hydrochlorure de tétracycline dans les conditions de l'étude

V. Conclusion sur la dégradation photocatalytique de l'hydrochlorure de tétracycline

La méthodologie pour évaluer l'efficacité des catalyseurs établie au chapitre II a été testée sur l'hydrochlorure de tétracycline pour validation. Le catalyseur évalué dans ce test a été le dioxyde de titane TiO₂ P25, AEROXIDE[®] (Evonik Degussa GmbH). Ainsi, selon l'approche méthodologique présentée au chapitre II, l'efficacité photocatalytique du P25 a été évaluée sur le pourcentage de conversion et de minéralisation de l'hydrochlorure de tétracycline et sur l'impact environnemental (biodégradabilité et toxicité) des intermédiaires réactionnels. La biodégradabilité a été examinée en utilisant le test de Sturm et l'effet toxique

examiné sur la bactérie *Pseudomonas* et sur la biomasse prélevée dans une station d'épuration. Enfin, les intermédiaires majoritaires ont été identifiés. Les résultats obtenus dans les conditions expérimentales testées sont les suivants :

- lors du traitement par photocatalyse, l'hydrochlorure de tétracycline n'est que peu minéralisé, elle est transformée en intermédiaires réactionnels,
- la dégradation photocatalytique n'a pas amélioré la biodégradation de l'hydrochlorure de tétracycline, les intermédiaires réactionnels obtenus sont aussi peu biodégradables que l'hydrochlorure de tétracycline elle-même,
- les intermédiaires réactionnels n'ont pas d'effet de perturbation sur l'activité de biodégradation de la biomasse de la station d'épuration,
- les intermédiaires réactionnels ont un effet moins toxique que l'hydrochlorure de tétracycline sur la bactérie *P. aeruginosa*,
- la dégradation photocatalytique conduit à des intermédiaires réactionnels qui proviennent principalement de l'addition du radical OH^\bullet sur les sites les plus réactifs de l'hydrochlorure de tétracycline, de la réaction d'abstraction des atomes d'hydrogène par le radical OH^\bullet et de la réaction de N-déalkylation. Les cycles aromatiques de la TC n'ont pas été ouverts et les structures des intermédiaires réactionnels sont semblables à celle de l'hydrochlorure de tétracycline.

En conclusion des résultats, la dégradation photocatalytique de l'hydrochlorure de tétracycline dans les conditions expérimentales de cette étude, conduit à la formation d'intermédiaires réactionnels moins toxiques qu'elle-même mais peu biodégradables. L'efficacité photocatalytique du catalyseur P25 a été ainsi évaluée en utilisant la méthodologie mise en place au chapitre II. Cette approche méthodologique est utilisée dans la suite de ce travail pour évaluer l'efficacité des catalyseurs élaborés par les partenaires au projet Clean Water et présentée dans les chapitres suivants.

Chapitre IV : Dégradation photocatalytique du bisphénol A

I. Contexte et objectifs

La dégradation photocatalytique du bisphénol A (BPA) est réalisée afin d'évaluer l'efficacité des catalyseurs élaborés par les partenaires du projet Clean Water vis-à-vis de la dégradation de polluants émergents. Comme discuté au chapitre I, le BPA est un perturbateur endocrinien reconnu (Richter *et al.*, 2007, Rubin *et al.*, 2001, Flint *et al.*, 2012). Ce composé n'est pas complètement dégradé par les filières de traitement classiques des STEPs (Staples *et al.*, 2000). Il se retrouve alors rejeté dans l'environnement via les effluents des stations d'épuration avec des risques potentiels pour les êtres vivants. Pour ces raisons, l'utilisation des procédés d'oxydation avancés tels que la photocatalyse peut être envisagée pour une élimination plus efficace de ce composé. En effet, lors des processus mis en œuvre en photocatalyse hétérogène, des espèces oxygénées réactives sont créées et sont capables de réagir avec la plupart des composés organiques notamment avec le BPA (Frontistis *et al.*, 2011).

Pour répondre aux objectifs généraux du projet Clean Water, les catalyseurs des partenaires sont testés sous différents types d'irradiation. En effet, il s'agit de tester ces catalyseurs pour connaître leur efficacité sous irradiation dans la gamme spectrale UV-visible en comparaison à leur réactivité générée par la gamme spectrale ultraviolette. Pour cela, la méthodologie développée et présentée au chapitre II est appliquée. Une étude de cinétique de dégradation respectivement sous irradiations UV-visible (280 nm-30 μm), sous irradiations UV (280-400 nm), sous irradiations visibles (420-630 nm) et sous irradiation visibles avec un filtre à UV est réalisée avec les catalyseurs élaborés par les partenaires du projet et avec le catalyseur de référence, le dioxyde de titane P25 (TiO_2 P25, AEROXIDE[®]). Les constantes cinétiques sont ensuite déterminées et comparées entre elles.

Outre la comparaison des constantes cinétiques, l'efficacité des catalyseurs est évaluée en termes de pourcentage de dégradation, de minéralisation du bisphénol A et de l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels formés au cours du traitement photocatalytique. Les intermédiaires réactionnels sont ensuite identifiés et un chemin réactionnel de la dégradation photocatalytique du BPA est proposé.

Les mécanismes de dégradation photocatalytique du bisphénol A ont déjà été étudiés. Les intermédiaires réactionnels diffèrent d'un auteur à l'autre (Gültekin et Ince, 2007). Par exemple, Kaneco *et al.*, (2004) ont identifié des intermédiaires tels que le phénol, l'acétophénone, le 4-hydroxyacétophénone et le méthylbenzofurane et Lee *et al.*, (2004) ont trouvé des intermédiaires tels que le 1-1-éthylènebis-benzène, le 4-tert-butylphénol, le 4-isopropylphénol et le phénol. Bien que les intermédiaires réactionnels soient différents, le

mécanisme général de dégradation du BPA proposé par les auteurs est le même : les premiers intermédiaires sont formés après l'attaque du carbone reliant les deux groupes phényles par le radical OH^\bullet , puis, les composés aromatiques obtenus sont oxydés en acides par ouverture du cycle aromatique (Watanabe *et al.*, 2003, Horikoshi *et al.*, 2004, Kaneco *et al.*, 2004, Lee *et al.*, 2004). Par ailleurs, aucun des auteurs n'a comparé le chemin réactionnel de dégradation en fonction des catalyseurs ou en fonction de la gamme d'irradiation. Dans cette présente étude, il a été cherché de mettre en relation le mécanisme et le chemin réactionnel de dégradation du BPA avec les catalyseurs ainsi que les gammes d'irradiation.

L'objectif de cette partie de la thèse est de comparer l'efficacité des catalyseurs en termes de constantes cinétiques, de pourcentage de dégradation, de minéralisation du bisphénol A en fonction de la gamme d'irradiation ainsi qu'en termes de structure et d'effet des intermédiaires réactionnels.

II. Conditions expérimentales particulières

La dégradation photocatalytique du BPA est réalisée avec 40 mg/L de catalyseur et 2 mg/L en concentration initiale de BPA pour un volume total d'un litre. Pendant toute la durée de l'irradiation, la solution est maintenue sous agitation et à intervalles de temps réguliers, des échantillons de la solution irradiée sont prélevés puis filtrés avec un microfiltre en fibre de verre (GF/B, D= 1 μm , Whatman). Les échantillons filtrés sont ensuite analysés par HPLC/UV et par COT-mètre (TOC analyzer 5000) pour déterminer respectivement la concentration résiduelle en BPA et la concentration en carbone organique dissout. Les conditions d'analyse en HPLC/UV sont rappelées dans le Tableau IV. 1, les conditions d'irradiation et les caractéristiques des catalyseurs utilisés dans cette étude sont rappelées respectivement dans les Tableaux IV. 2 et IV. 3.

Tableau IV. 1 : Conditions d'analyse en HPLC/UV du bisphénol A

| | Colonne | Phase mobile | Longueur de détection LD, LQ |
|--------------------|---|---|---|
| Bisphénol A | Nova Pack C18 150 mm \times 3,9 mm I.D., 4 μm | $\text{H}_2\text{O}/\text{ACN}$: 55/45 | $\lambda = 226 \text{ nm}$ 0,01 mg/L ; 0,03 mg/L |

LD : limite de détection, LQ : limite de quantification

Tableau IV. 2 : Conditions d'irradiation des catalyseurs pour la dégradation photocatalytique du BPA

| Nom | Conditions | Intensité mesurée à $\lambda = 365 \text{ nm}^*$ |
|-----------------|--|--|
| UV-visible | Miroir dichroïque à bande passante 200 nm-30 μm | 1,85 mW/cm ² |
| UV | Miroir dichroïque à bande passante 280-400 nm | 2,35 mW/cm ² |
| Visible | Miroir dichroïque à bande passante 420-630 nm | 0,97 mW/cm ² |
| Visible+ filtre | Miroir dichroïque à bande passante 420-630 nm, filtre à UV | < 0,01 mW/cm ² |

* Mesuré à 26 cm de la sortie du faisceau lumineux

Tableau IV. 3 : Caractéristiques des matériaux photocatalytiques utilisés pour la dégradation photocatalytique du BPA

| Catalyseur | Anatase/Rutile | Taille des cristallites (nm) (A) | Taille des cristallites (nm) (R) | Surface spécifique (m ² /g) | Gap (eV) |
|---------------------|----------------|----------------------------------|----------------------------------|--|----------|
| N-TiO ₂ | 100/0 | 7,9 | - | 140 | 2,31 |
| ECT-873t | 100/0 | 36,9 | - | 27,8 | 3,19 |
| ECT-1023t | 89-94/11-6 | 57,0 | 86,3 | 18,3 | 2,97 |
| GO-TiO ₂ | 100/0 | 4-5 | - | 147 | 2,95 |
| P25 | 80/20 | 25 | 85 | 50,0 | 3,18 |

III. Etude cinétique de la dégradation du bisphénol A sous UV

L'étude cinétique de la dégradation du BPA est réalisée afin de choisir un modèle simple et approprié pour la modélisation des cinétiques de dégradation. Avant cette étude cinétique, les catalyseurs d'une même formulation sont comparés entre eux. Le plus efficace en termes de pourcentage de dégradation et de minéralisation du BPA est sélectionné pour la modélisation de la cinétique de dégradation puis pour comparaison avec les catalyseurs des autres partenaires et avec le catalyseur de référence.

III.1. Comparaison des catalyseurs d'une même formulation

Les catalyseurs de la même formulation sont les catalyseurs à base de dioxyde de titane fabriqués via la méthode sol-gel avec une sélection des agrégats avant le traitement

thermique (ECT) d'une part et les catalyseurs dopés à l'azote (N-TiO₂) d'autre part. Ainsi, les catalyseurs ECT sont comparés entre eux et les catalyseurs dopés à l'azote sont comparés entre eux. Le plus efficace des catalyseurs de la même formulation en termes de pourcentage de dégradation et de minéralisation du BPA est sélectionné pour la suite de l'étude. Les cinétiques obtenues avec les catalyseurs ECT et celles obtenues avec les catalyseurs dopés à l'azote sont présentées respectivement Figure IV. 1 (a) et IV. 1 (b). Les pourcentages de conversion et de minéralisation respectifs sont donnés dans les Tableaux IV. 4 et IV. 5.

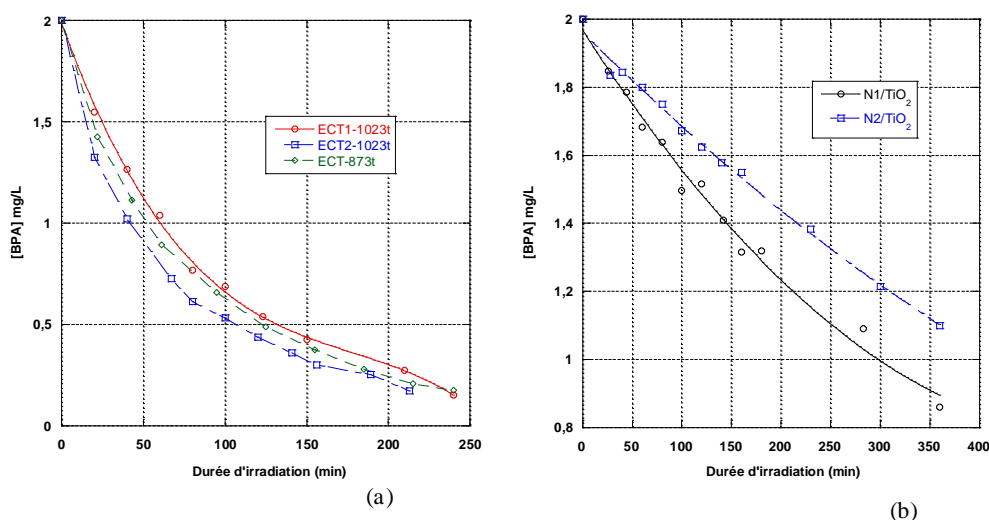


Figure IV. 1 : Cinétiques de dégradation photocatalytique du BPA sous UV (280-400 nm) avec les catalyseurs ECT (a) et les catalyseurs dopés à l'azote (N-TiO₂) (b)

Tableau IV. 4 : Pourcentages de conversion et de minéralisation du BPA sous UV après 4 heures d'irradiation avec les catalyseurs ECT

| | ECT-873t | ECT2-1023t | ECT1-1023t |
|---------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| Conversion (%) | 89 | 93 | 86 |
| Minéralisation (%) | 37 | 40 | 28 |

Tableau IV. 5 : Pourcentages de conversion et de minéralisation du BPA sous UV après 6 heures d'irradiation avec les catalyseurs dopés à l'azote (N1 et N2)

| | N1-TiO₂ | N2-TiO₂ |
|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Conversion (%) | 57 | 45 |
| Minéralisation (%) | 20 | nd |

nd : non déterminé

D'après les Tableaux IV. 4 et IV. 5, le catalyseur ECT2-1023t est le plus efficace en comparaison avec les catalyseurs ECT et le catalyseur N1-TiO₂ est le plus efficace en

comparaison avec les catalyseurs dopés à l'azote.

Les catalyseurs ECT ont été préparés via la méthode sol gel avec le même précurseur (chapitre II). La différence entre les catalyseurs ECT-873t et ECT-1023t se situe au niveau de la température de calcination. L'ECT-873t a été obtenu après un traitement thermique à 302 K/h pour atteindre une température de 873° K qui a été ensuite maintenue pendant 3 heures et les catalyseurs ECT-1023t ont été obtenus par un traitement thermique à 302 K/h pour atteindre une température de 1023° K. Dans la suite, les catalyseurs ECT ont été caractérisés par microscopie électronique en transmission. Il a été observé une augmentation de la taille des particules d'anatase avec l'augmentation de la température de calcination. Pour des tailles de particules d'anatase allant jusqu'à 57 nm, ils ont observé une augmentation de l'efficacité des catalyseurs pour le traitement du phénol avec la taille des particules anatase (Araña *et al.*, 2010). Ces auteurs montrent que lorsque la taille des particules augmente, il y a peu de défauts dans la structure du catalyseur, moins de recombinaison des paires e^-/h^+ d'où l'augmentation de l'efficacité des catalyseurs (Araña *et al.*, 2010).

Le catalyseur N2-TiO₂ a été obtenu après un traitement thermique de N1-TiO₂. Au vu des résultats obtenus pour la dégradation du BPA, il semblerait que le traitement thermique n'a pas permis une augmentation de l'efficacité du catalyseur N1-TiO₂.

Etant donné que les catalyseurs ECT2-1023t et N1-TiO₂ sont les plus efficaces en comparaison respectivement aux catalyseurs ECT et aux catalyseurs dopés à l'azote. Ces catalyseurs sont utilisés pour modéliser la cinétique de dégradation du bisphénol A et pour être comparés au P25, ainsi qu'aux catalyseurs des autres partenaires.

III.2. Modélisation des cinétiques de dégradation du BPA sous UV

Un modèle cinétique de premier ordre est utilisé pour comparer les catalyseurs à une même concentration initiale de bisphénol A et le modèle de Langmuir-Hinshelwood est utilisé pour prendre en compte le mécanisme hétérogène de la réaction photocatalytique.

III.2.1 Modèle cinétique d'ordre 1

La dégradation photocatalytique des composés peut être modélisée par une cinétique de premier ordre (Kuo *et al.*, 2010, Elmolla *et al.*, 2010). Dans cette étude, il a été vérifié si ce modèle pouvait être appliqué à la dégradation photocatalytique du BPA dans nos conditions expérimentales.

Lors du procédé de traitement photocatalytique, les polluants réagissent avec les espèces oxygénées réactives et les trous photogénérés. Les espèces réactives et les trous

photogénérés étant considérés comme étant photostationnaires, la vitesse de la réaction de dégradation photocatalytique peut être exprimée en fonction de la concentration en polluant seulement (Equation IV. 1).

$$v = k_{app} C_1^n \quad \text{Equation IV. 1}$$

Dans cette équation, k_{app} est la constante cinétique apparente de la réaction, C la concentration en polluant et n est l'ordre de la réaction. Pour une réaction d'ordre 1 ($n=1$), l'équation 1 peut être intégrée et donnée l'équation IV. 2 :

$$\ln\left(\frac{C_0}{C}\right) = k_{app} t \quad \text{Equation IV. 2}$$

Ainsi, pour une cinétique d'ordre 1, $\ln(C_0/C)$ varie linéairement avec la durée de l'irradiation et la pente de la droite est la constante cinétique apparente de la réaction.

L'évolution de $\ln(C_0/C)$ en fonction du temps avec différentes concentrations initiales en BPA a été tracée. Les courbes obtenues avec chacun des catalyseurs sont présentées Figure IV. 2. Les constantes cinétiques apparentes des réactions (k_{app}) ont été déterminées par régression linéaire. Les coefficients de détermination des régressions varient de 0,97 à 0,99 exceptés pour les régressions obtenues avec le catalyseur N1-TiO₂. Les cinétiques, pour chaque concentration initiale peuvent donc être modélisées par un modèle cinétique d'ordre 1.

Cependant, pour une cinétique d'ordre 1, la constante cinétique de la réaction ne dépend pas de la concentration initiale en composé. Or, sur la Figure IV. 2, il peut être observé que les constantes cinétiques apparentes de la réaction dépendent de la concentration initiale en BPA. Pour mettre en évidence l'influence de la concentration initiale du BPA sur la cinétique de sa dégradation photocatalytique, les constantes cinétiques apparentes sont présentées en fonction des concentrations initiales en BPA (Figure IV. 3).

Sur la Figure IV. 3, il est observé que lorsque que la concentration initiale en BPA augmente, la constante cinétique diminue. Ce résultat montre que même si chaque cinétique de dégradation du BPA peut être modélisée par un ordre 1, le mécanisme de dégradation du BPA est plus complexe.

La diminution de la constante de vitesse de dégradation du BPA avec l'augmentation de la concentration initiale en BPA a aussi été observé par d'autres auteurs (Tsai *et al.*, 2009 ; Kaneco *et al.*, 2004). Lorsque la concentration initiale en BPA augmente, la constante cinétique apparente diminue (Tsai *et al.*, 2009).

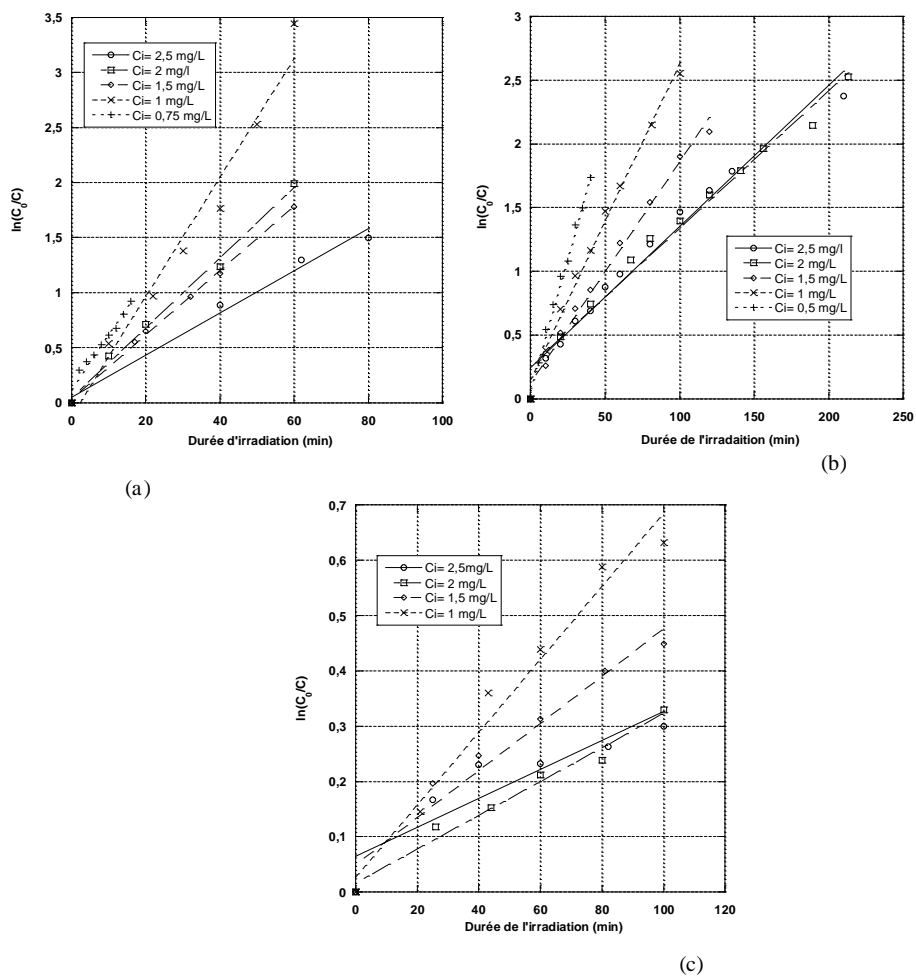


Figure IV. 2 : Modélisation de la dégradation du BPA sous UV par une cinétique d'ordre 1 avec le catalyseur P25 (a), l'ECT-1023 t (b) et le N1-TiO₂ (c)

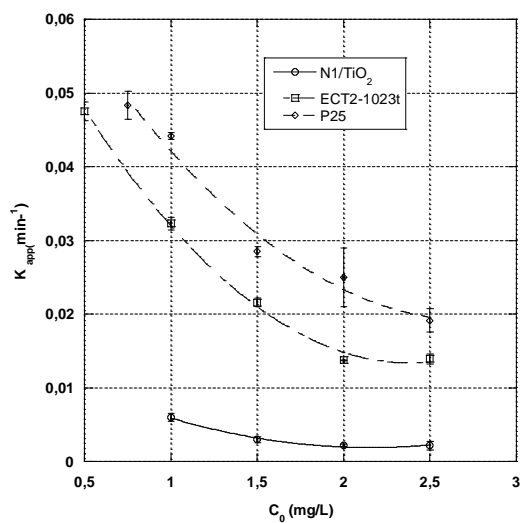


Figure IV. 3 : Evolution de la constante cinétique apparente en fonction de la concentration initiale en BPA

III.2.2 Modèle de Langmuir-Hinshelwood

Le modèle cinétique de Langmuir-Hinshelwood (L-H) est largement utilisé pour représenter les cinétiques en catalyse hétérogène ; ce modèle est construit sur un mécanisme en trois étapes réactionnelles qui sont l'adsorption, la réaction et la désorption. (Sánchez *et al.*, 1997, Wang *et al.*, 2009). Dans cette étude, il est également utilisé pour modéliser la dégradation du BPA.

Selon le modèle cinétique de L-H, la vitesse de dégradation au temps initial (r_0) peut être exprimée comme le présente l'Equation IV. 3 :

$$r_0 = \frac{K_L k C_0}{1 + K_L C_0} \quad \text{Equation IV. 3}$$

Avec, k la constante cinétique de la réaction, K_L la constante d'adsorption de Langmuir et C_0 la concentration initiale en polluant.

Pour déterminer les constantes du modèle de L-H, la dégradation photocatalytique est réalisée avec des concentrations initiales en BPA allant de 0,5 à 2,5 mg/L. Puis, les cinétiques de dégradation sont interpolées par des polynômes d'ordre 2. Ces polynômes sont ensuite dérivés et les vitesses initiales de dégradation déterminées. Enfin, les vitesses initiales obtenues avec chacun des catalyseurs sont représentées en fonction des concentrations initiales de BPA (Figure IV. 4). Les constantes cinétiques et les constantes d'adsorption de L-H sont déterminées selon la méthode des moindres carrées (Tableau IV. 6).

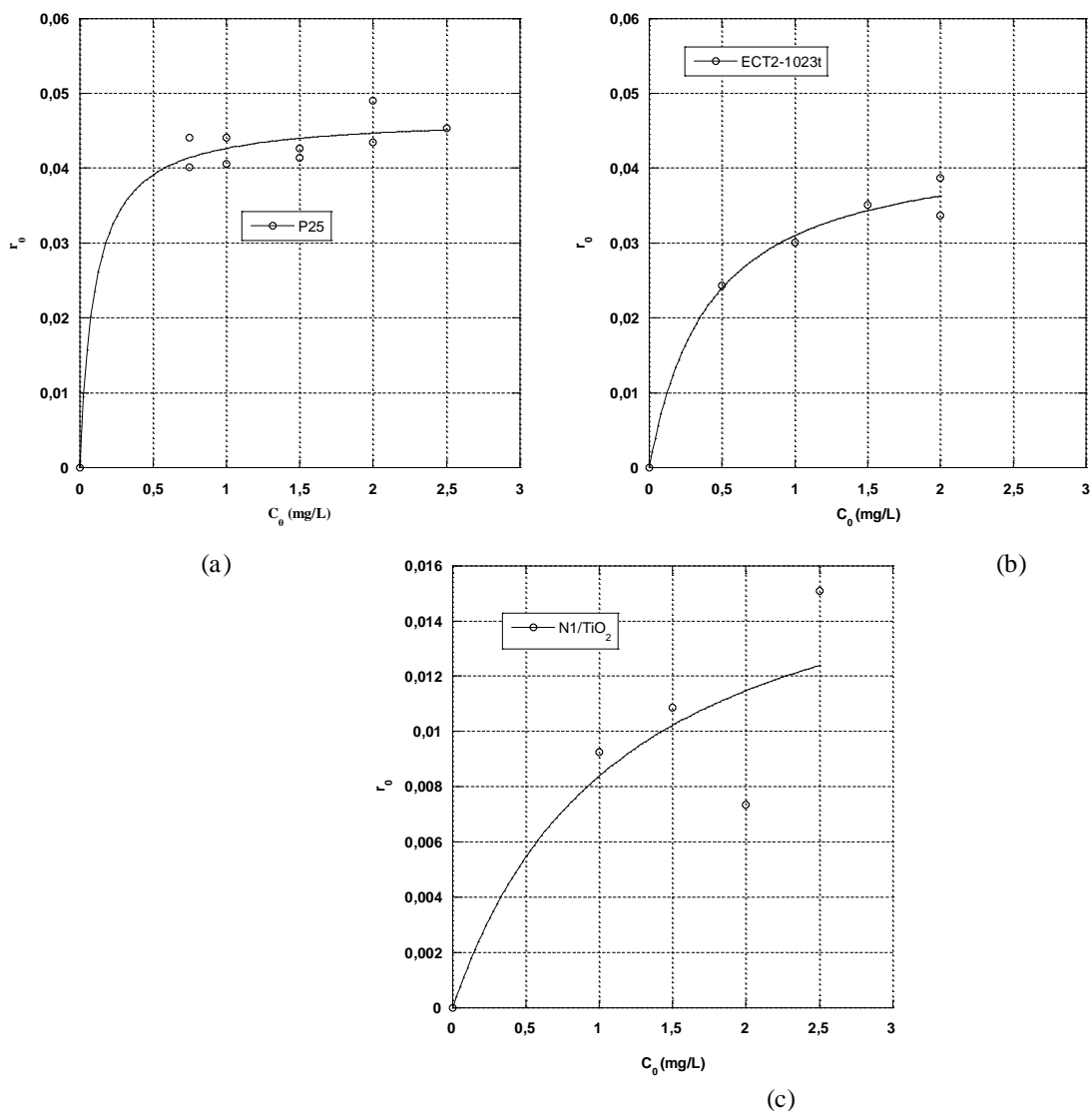


Figure IV. 4 : Evolution de la vitesse initiale de dégradation du BPA en fonction de la concentration initiale sous UV avec les catalyseurs P25 (a), ECT-1023t (b) et N1-TiO₂ (c)

Tableau IV. 6 : Constantes du modèle de L-H pour le BPA avec les catalyseurs P25, ECT2-1023t et N1-TiO₂

| | P25 | | ECT-1023t | | N1-TiO ₂ | |
|--|---------|--------|-----------|--------|---------------------|--------|
| | Valeurs | Erreur | Valeurs | Erreur | Valeurs | Erreur |
| k (mg.min⁻¹) | 0,046 | 0,002 | 0,044 | 0,003 | 0,018 | 0,012 |
| K_L (mg⁻¹) | 9,10 | 6,38 | 2,43 | 0,71 | 0,86 | 1,54 |
| R | 0,98 | - | 0,99 | - | 0,89 | - |

k : constante cinétique de la réaction, K_L : constante d'adsorption, R : coefficient de corrélation

Au regard des courbes de la Figure IV. 4 et des valeurs des coefficients de corrélation, la modélisation est jugée satisfaisante et les constantes du modèle de L-H sont par la suite comparées.

D'après les valeurs des constantes L-H et en considérant les erreurs sur ces constantes, les conclusions sont :

- l'efficacité du catalyseur ECT2-1023t en termes de constante cinétique de Langmuir-Hinshelwood est équivalente à celle du P25,
- le catalyseur N1-TiO₂ n'est pas très efficace sous irradiations UV en termes de constante cinétique et la valeur de K_L montre une faible affinité entre le BPA et la surface du catalyseur,
- la constante d'adsorption estimée pour le P25 est supérieure à celle de l'ECT2-1023t. Ceci pourrait s'expliquer par les surfaces spécifiques. Le P25 développe une plus grande surface spécifique que l'ECT2-1023t (P25 ; 50 m²/g et ECT-1023t ; 18,3 m²/g). Ainsi relativement aux surfaces spécifiques développées par ces deux catalyseurs, un plus grand nombre de molécules de BPA peut s'adsorber sur la surface du P25.

III.3. Conclusion sur l'étude cinétique

Les cinétiques de dégradation du bisphénol A peuvent être représentées par un modèle d'ordre 1. Les résultats obtenus ont montré que pour une concentration initiale donnée, la réaction de dégradation photocatalytique peut être correctement modélisée et des constantes cinétiques apparentes en sont déduites.

Le modèle de L-H a permis de dissocier la constante cinétique de réaction d'une constante d'équilibre d'adsorption. En utilisant ce modèle (L-H), il a pu être observé que la différence d'efficacité d'élimination du BPA entre les catalyseurs ECT2-1023t et P25 pouvait être expliquée par la constante d'équilibre d'adsorption. En effet, l'efficacité des ces deux catalyseurs (P25 et ECT2-1023t) en termes de constante cinétique est équivalente.

Bien que le modèle de L-H permette d'avoir plus d'information sur la réactivité des catalyseurs (constante d'adsorption, constante cinétique), il a été choisi pour la suite de l'étude de comparer les catalyseurs uniquement sur les cinétiques de dégradation à

concentrations initiales équivalentes en déterminant les constantes cinétiques apparentes d'ordre 1.

IV. Efficacité des catalyseurs en termes de dégradation et de minéralisation

Les catalyseurs ECT2-1023t, N1-TiO₂ et GO-TiO₂ ont été élaborés pour être utilisés dans le traitement de l'eau sous irradiation solaire. Pour évaluer leur efficacité, ces catalyseurs sont testés en laboratoire sous irradiation solaire simulée (UV-visible) pour la dégradation photocatalytique du bisphénol A. Ils sont également testés sous UV et sous irradiation visible. Les résultats obtenus sont ensuite comparés afin de distinguer la part d'efficacité due aux rayonnements ultraviolets par rapport à celle induite par la part du rayonnement visible.

IV.1. Efficacité des catalyseurs sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 µm)

L'efficacité des catalyseurs ECT2-1023t, N1-TiO₂ et GO-TiO₂ est évaluée sur la dégradation du bisphénol A sous irradiations solaires simulées (UV-visible : 200 nm-30 µm) puis comparée à celle du P25. L'objectif est de voir lesquels des catalyseurs élaborés par les partenaires peuvent être vraisemblablement utilisés sous irradiation solaire. Une réaction de photolyse du BPA est également réalisée afin d'évaluer la part de la photolyse dans l'élimination du BPA lors du procédé de traitement par photocatalyse.

Au cours de la dégradation photocatalytique, des prélèvements sont effectués puis analysés par HPLC/UV et par COT-mètre afin de suivre la disparition du BPA en solution, la formation des intermédiaires réactionnels et la concentration en carbone organique dissout.

L'évolution de la concentration en BPA en fonction de la durée de l'irradiation est présentée Figure IV. 5. Pour les quatre catalyseurs testés, la cinétique de la dégradation est modélisée par un ordre 1. Puis, les constantes apparentes sont déterminées pour comparaison des catalyseurs. Les pourcentages de conversion et de minéralisation après une heure de traitement sont également calculés (Tableau IV. 7).

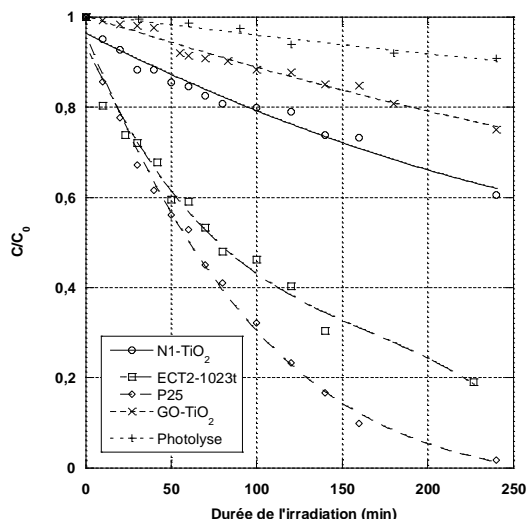


Figure IV. 5 : Cinétiques de dégradation du BPA ($C_1= 2$ mg/L) sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μ m)

Tableau IV. 7 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentage de dégradation et de minéralisation du BPA sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μ m)

| | N1-TiO ₂ | ECT2-1023t | P25 | GO-TiO ₂ |
|--|----------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| k_{app} (min⁻¹) | $1,9 \times 10^{-3}$ | $8,0 \times 10^{-3}$ | $10,7 \times 10^{-3}$ | $1,2 \times 10^{-3}$ |
| % de conversion à 60 min | 15 | 50 | 62 | 8 |
| % de minéralisation à 60 min | ns | 5 | 10 | ns |

ns : non significatif

D'après les résultats obtenus (Tableau IV. 7), le BPA est dégradé à 50 % et à 62 % avec l'ECT2-1023t et le P25 respectivement. Les catalyseurs N1-TiO₂ et GO-TiO₂ ont les pourcentages de dégradation les plus faibles. Seulement 15 % et 8 % de BPA sont dégradés avec le N1-TiO₂ et le GO-TiO₂ respectivement. De même, l'ECT2-1203t et le P25 ont les taux de minéralisation les plus élevés ; 5 et 10 %. Ainsi, le catalyseur ECT2-1023t est le plus efficace des catalyseurs élaborés par les partenaires. Cependant, dans les conditions de cette étude, ce catalyseur est moins efficace que le catalyseur de référence, le P25, en termes de constante cinétique apparente, de pourcentage de conversion et de minéralisation. Par ailleurs, sur la Figure IV. 5, il peut être observé que le BPA est faiblement dégradé par photolyse (moins de 2 % de dégradation au bout d'une heure). Aussi, dans les pourcentages de dégradation présentés dans le Tableau IV. 7, la part due à la réaction de photolyse n'est pas pris en compte. La cinétique d'adsorption du BPA sur les catalyseurs a été également réalisée. Aucune variation en concentration n'a été observée.

Dans le paragraphe III.2.2, en modélisant les cinétiques de réaction par le modèle de Langmuir-Hinshelwood, les constantes cinétiques de la réaction et les constantes d'équilibre d'adsorption de Langmuir-Hinshelwood ont été déterminées. Il a été vu que la constante d'équilibre pour le BPA sur le P25 est supérieure à celle du BPA sur l'ECT2-1023t. Cela est expliqué par une surface spécifique du P25 supérieure à celle de l'ECT2-1023t. En comparaison à l'ECT2-1023t, plus de molécules de BPA peuvent être adsorbées sur la surface du P25, ce qui faciliterait les réactions du BPA avec les espèces photogénérées et conduirait à une vitesse de dégradation photocatalytique plus élevée.

Dans d'autres études, le catalyseur ECT2-1023t a été testé et comparé au P25 pour la dégradation de composés phénoliques (phénol, catéchol, résorcinol, l'hydroquinone, l'ortho, méta, et para-aminephénol, l'ortho, méta et para-crésol) sous UV ($300 \text{ nm} < \lambda < 400 \text{ nm}$, polluant/catalyseur : $5,3 \times 10^{-7}$ moles/mg) et pour la dégradation d'un produit pharmaceutique, la diphénhydramine, sous UV-visible ($300 \text{ nm} < \lambda < 546 \text{ nm}$). Les résultats obtenus ont montré que l'efficacité de l'ECT2-1023t pour la dégradation photocatalytique des composés phénoliques en termes de constante cinétique est plus élevée que celle du P25. Pour les composés phénoliques, les constantes cinétiques obtenues avec l'ECT2-1023t sont 2,7 fois plus élevées que celles obtenues avec le P25 Degussa (Araña *et al*, 2010). Pour la dégradation de la diphénhydramine, l'efficacité de dégradation dépend de la quantité en catalyseur. Pour une concentration initiale en diphénhydramine de 100 mg/L, l'ECT2-1023t est plus efficace que le P25 pour des quantités de catalyseur supérieures à 1 g/L (polluant/catalyseur $< 3,9 \times 10^{-7}$ moles/mg) (Pastrana-Martínez *et al*, 2012a.). Toutefois, dans notre étude, l'efficacité de l'ECT2-1023t pour la dégradation du BPA a été plus faible que celle du P25 (polluant/catalyseur : 2×10^{-7} moles/mg), le ratio polluant/catalyseur pourrait en être la raison. Dans une autre étude faite par Pastrana-Martínez *et al.*, (2012b), l'activité photocatalytique du P25 a été aussi comparée à celle du GO-TiO₂ pour la dégradation de la diphénhydramine (DP) (polluant/catalyseur : $3,9 \times 10^{-7}$ moles/mg) et le méthylorange (MO) (polluant/catalyseur : $6,1 \times 10^{-8}$ moles/mg). Les résultats de cette étude ont montré que le GO-TiO₂ est plus efficace que le P25 pour la dégradation de ces composés (DP et MO). Cependant, dans notre étude et dans les conditions expérimentales utilisées, le P25 comparé au GO-TiO₂, est plus efficace pour la dégradation photocatalytique du BPA.

Ces différents résultats entre ces études montrent que l'efficacité photocatalytique des catalyseurs dépend de la structure des composés organiques et aussi des conditions expérimentales notamment le ratio polluant/catalyseur.

IV.2. Efficacité des catalyseurs sous irradiations UV

L'efficacité des catalyseurs élaborés dans le projet Clean Water est également évaluée sous irradiation UV (280-400 nm). Par la suite, cette efficacité des catalyseurs sous irradiation UV (280-400 nm) est comparée à celle obtenue sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm) afin d'estimer la part d'efficacité des catalyseurs sous les UV contenu dans l'irradiation solaire simulée (UV-visible). Les résultats vont permettre de voir s'il y a une différence dans l'activité photocatalytique des catalyseurs sous irradiation UV et irradiation solaire simulée (UV-visible) et de dire si les catalyseurs sont uniquement actifs dans l'UV ou aussi pour des longueurs d'onde se rapprochant du visible.

IV.2.1 Cinétique de dégradation sous UV

L'évolution de la concentration normalisée du BPA au cours du traitement photocatalytique sous irradiation UV (280-400 nm) est présentée Figure IV. 6. Pour les quatre catalyseurs testés, la cinétique de dégradation du BPA est modélisée par un ordre 1. Les constantes apparentes sont déterminées ainsi que les pourcentages de conversion et de minéralisation (Tableau IV. 8).

D'après les résultats (Tableau IV. 8), sous irradiation UV, le catalyseur ECT2-1023t est le plus efficace des catalyseurs élaborés par les partenaires. Par ailleurs, comme sous irradiation UV-visible (200 nm-30 μm), la réaction de photolyse du BPA a été réalisée. Les résultats montrent que la dégradation par photolyse est négligeable. Elle n'est prise en compte dans la suite de l'étude (Figure IV. 6).

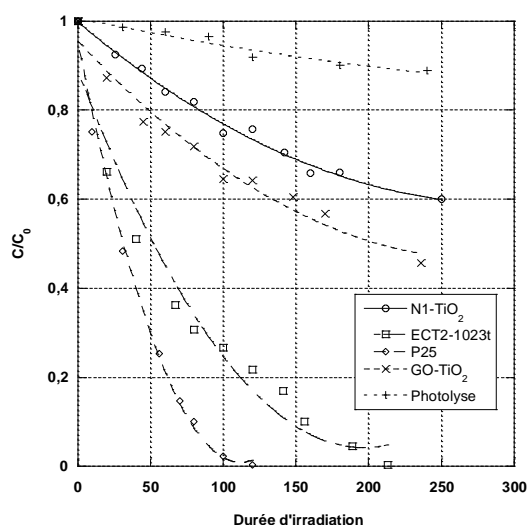


Figure IV. 6 : Cinétiques de dégradation du BPA ($C_i = 2 \text{ mg/L}$) sous irradiation UV (280-400 nm)

Tableau IV. 8 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentages de dégradation et de minéralisation du BPA sous irradiation UV (280-400 nm)

| | N1-TiO₂ | ECT2-1023t | P25 | GO-TiO₂ |
|---|---------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|
| k_{app} (min⁻¹) | 2,1×10 ⁻³ | 14,8×10 ⁻³ | 24,0×10 ⁻³ | 3,1×10 ⁻³ |
| % de conversion à 60 min | 16 | 65 | 74 | 25 |
| % de minéralisation à 60 min | ns | 10 | 30 | 3,5 |

ns : non significatif

IV.2.2 Comparaison des efficacités obtenues sous UV et sous irradiation solaire simulée (UV-visible).

Pour estimer la part d'efficacité des catalyseurs sous UV des radiations solaires simulées, l'efficacité des catalyseurs sous UV (280-400 nm) est déterminée puis comparée à celle obtenue sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm).

Les constantes cinétiques obtenues respectivement sous UV et sous UV-visible sont présentées Figure IV. 11. Entre l'irradiation sous UV et sous UV-visible, les constantes apparentes de vitesse ont baissé de 55 % avec le P25, de 45 % avec l'ECT2-1023t et de 60 % avec le GO-TiO₂. Cependant, avec le catalyseur N1-TiO₂ la constante apparente a baissé juste de 9 %.

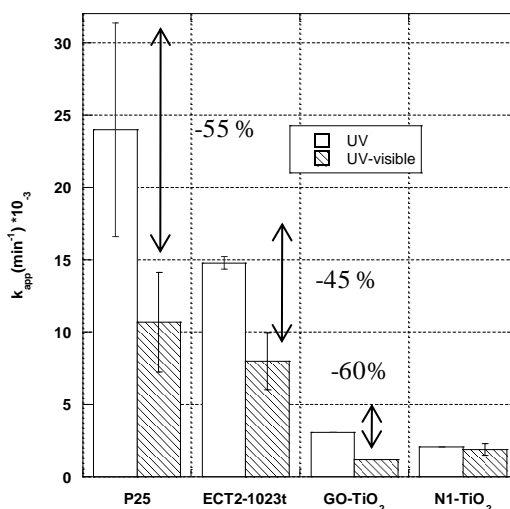


Figure IV. 7 : Constantes cinétiques apparentes de la réaction de dégradation du BPA sous irradiation UV (280-400 nm) et sous UV-visible (200 nm-30 μm)

Le spectre d'émission du simulateur solaire en UV et UV-visible est présenté Figure IV. 8. Comme discuté au chapitre II, une diminution de la partie UV dans le spectre UV-visible (200

nm-30 μm) est observée en comparaison au spectre en UV (Figure IV. 8). En effet, en comparaison au spectre en UV, la radiance baisse dans la gamme 319-365 nm du spectre UV-visible (27 % à 352 nm). La perte d'efficacité des catalyseurs observée globalement sous irradiations UV-visible en comparaison à celle sous irradiations UV peut être en partie attribuée à la baisse de la radiance en UV dans l'UV-visible.

En comparaison aux autres catalyseurs (ECT-1023t, P25 et GO-TiO₂), l'efficacité du catalyseur N1-TiO₂ en termes de constante cinétique apparent a faiblement baissé (9 %). Au vu de ces résultats, il peut être conclu que les catalyseurs ECT-1023t, P25 et GO-TiO₂ sont plus actifs autour de 352 nm et le catalyseur N1-TiO₂ est plus actif pour des longueurs d'onde se rapprochant du visible. Pour vérifier cette affirmation, une autre expérience est effectuée ; la dégradation photocatalytique du BPA sous irradiation visible.

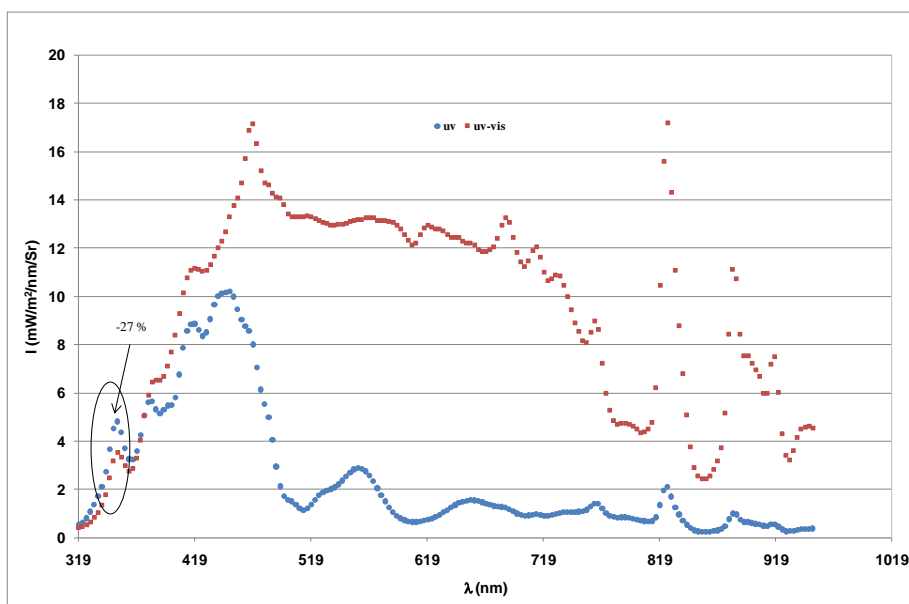


Figure IV. 8 : Spectre d'émission du simulateur solaire en utilisant respectivement les miroirs dichroïques à bande passante UV-visible (200 nm-30 μm) et bande passante UV (280-400 nm)

IV.3. Efficacité des catalyseurs sous irradiations visibles

La dégradation photocatalytique du BPA dans le visible est effectuée pour évaluer si les catalyseurs sont actifs dans le visible. Or, il a été observé (chapitre II) que les miroirs dichroïques n'éliminaient pas complètement les UV. En comparaison au spectre d'émission obtenu avec le miroir à bande passante UV-visible, il y a une diminution de la radiance plus élevée dans l'intervalle 280-365 nm ; diminution de 60 % à $\lambda = 352$ nm et une diminution

plus faible de la radiance dans l'intervalle 365-390 nm ; diminution de 27 % à $\lambda = 382$ nm. Ainsi, dans cette partie est présentée la dégradation photocatalytique du BPA sous deux conditions :

1) avec le miroir à bande passante visible, pour évaluer l'impact de la baisse de la radiance sur la dégradation du BPA en comparaison à la dégradation du BPA avec les miroirs à bande passante UV-visible. Les résultats obtenus dans ces conditions vont permettre de voir si les catalyseurs sont plus actifs dans la gamme 280-365 nm ou vers $\lambda > 365$ nm.

2) avec un filtre coupant les UV en support au miroir dichroïque pour évaluer l'efficacité des catalyseurs dans la gamme 420-630 nm.

Les conditions expérimentales de la dégradation photocatalytique du BPA dans le visible sont présentées Tableau IV. 9 et les résultats obtenus lors de la dégradation du BPA sous ces conditions expérimentales sont présentés au paragraphe suivant.

Tableau IV. 9 : Conditions expérimentales de la dégradation photocatalytique du BPA dans le visible

| Nom | Conditions | Intensité à $\lambda = 365$ nm* |
|----------------|--|---------------------------------|
| Visible | Miroir dichroïque 420-630 nm | 0,97 mW/cm ² |
| Visible+filtre | Miroir dichroïque 420-630 nm avec le filtre à UV | 0,003 mW/cm ² |

Mesuré à 26 cm de la sortie du faisceau lumineux

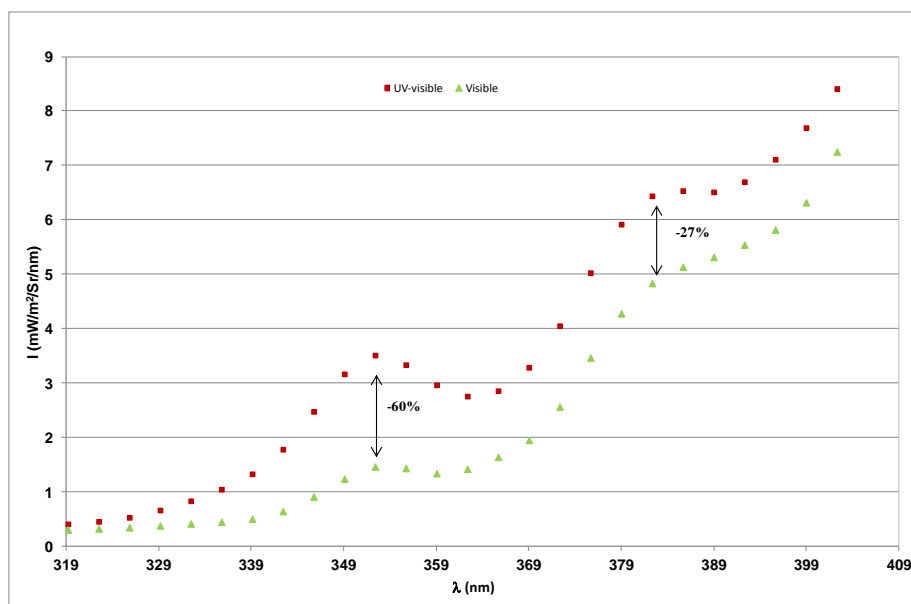


Figure IV. 9 : Spectre d'émission du simulateur solaire dans la gamme 320-400 nm en utilisant respectivement les miroirs dichroïques à bande passante UV-visible (200 nm-30 μm) et à bande passante visible (420-630 nm)

IV.3.1 Cinétique de dégradation du BPA sous irradiation visible

La variation de la concentration du BPA au cours du traitement photocatalytique lorsque le miroir à bande passante 420-630 nm est utilisé est présenté Figure IV. 10. Chaque réaction de dégradation du BPA est modélisée par une cinétique d'ordre 1, les constantes apparentes des réactions, les pourcentages de conversion et de minéralisation sont déterminés (Tableau IV. 10).

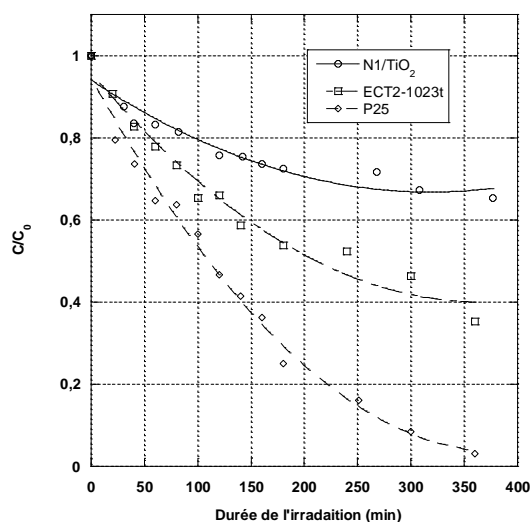


Figure IV. 10 : Cinétiques de dégradation du BPA ($C_i = 2$ mg/L) lorsque le miroir à bande passante 420-630 nm est utilisé

Tableau IV. 10 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentage de dégradation et de minéralisation du BPA lorsque le miroir à bande passante 420-630 nm est utilisé

| | N1-TiO ₂ | ECT2-1023t | P25 |
|--|----------------------|----------------------|----------------------|
| k_{app} (min⁻¹) | $1,5 \times 10^{-3}$ | $2,8 \times 10^{-3}$ | $6,7 \times 10^{-3}$ |
| % de conversion à 60 min | 16 | 22 | 35 |
| % de minéralisation à 60 min | ns | 6 | 10 |

ns : non significatif

D'après les résultats, le catalyseur ECT2-1023t est le plus efficace des catalyseurs élaborés par les partenaires. En effet, le BPA est dégradé à 22% au bout d'une heure avec ce catalyseur contre 16% au bout de la même durée en utilisant comme catalyseur le N1-TiO₂. Pas de dégradation significative du BPA n'est obtenue avec le catalyseur GO-TiO₂. En ce qui concerne les résultats de la dégradation photocatalytique du BPA lorsque le miroir à bande passante 420-630 nm et le filtre à UV sont utilisés, pas de dégradation significative du BPA n'a été observée au bout de 6 heures d'irradiation avec tous les catalyseurs testés (P25,

ECT-1023t, N1-TiO₂). Ainsi, il peut être conclu que dans les conditions expérimentales de cette étude, les catalyseurs sont efficaces pour les longueurs d'onde inférieures à 420 nm.

IV.3.2 Comparaison des efficacités obtenues sous irradiation solaire simulée (UV-visible) et sous irradiation visible.

Les pourcentages de dégradation du BPA sous UV-visible avec les catalyseurs ECT2-1023t, P25 et N1-TiO₂ ainsi que les constantes apparentes de la réaction sont comparés à ceux obtenus sous irradiation visible (Figure IV. 11).

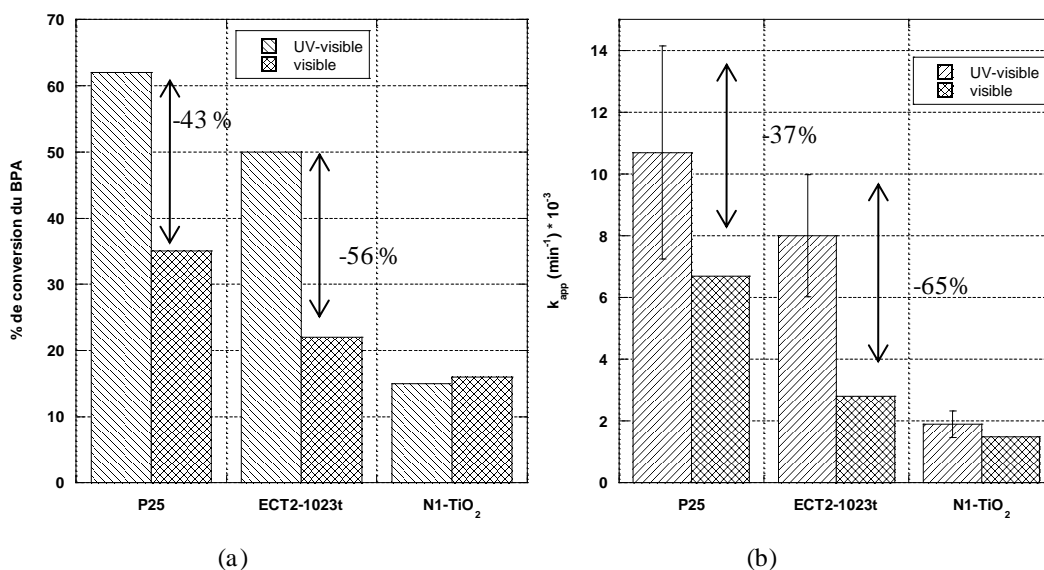


Figure IV. 11 : Pourcentages de dégradation (a) et constantes cinétiques apparentes de la réaction de dégradation du BPA (b) sous UV-visible et sous le visible

Les résultats montrent que les catalyseurs P25 et ECT2-1023t sont moins efficaces sous irradiation visible que sous irradiation UV-visible. Le pourcentage de dégradation du BPA a baissé de 43 % avec le P25 et de 56 % avec l'ECT2-1023t. Les constantes cinétiques apparentes ont également baissé, 37 % pour le P25 et 65 % pour l'ECT2-1023t. Ces résultats s'expliquent par la diminution des UV dans l'irradiation visible (60 % à $\lambda = 352$ nm et 27 % à $\lambda = 379$ nm). Cependant, avec le catalyseur N1-TiO₂, le pourcentage de dégradation du BPA n'a pas significativement changé. En considérant les erreurs expérimentales et celle d'estimation de la constante cinétique, les constantes cinétiques apparentes sont équivalentes. Ainsi, ces résultats confirment ceux trouvés au paragraphe IV.2.2 à savoir que dans les conditions expérimentales de cette étude et pour la dégradation photocatalytique du BPA, le P25 et l'ECT-1023t sont plus efficaces autour de 352 nm et le catalyseur N1-TiO₂ est actif

vers les longueurs d'onde se rapprochant du visible. L'efficacité de N1-TiO₂ vers le visible a aussi été démontrée par Kontos *et al.*, (2008) par la dégradation photocatalytique du méthyle orange ($400 \leq \lambda \leq 500$ nm, polluant/catalyseur : 5.10^{-9} mol/mg). Lors de la synthèse de N1-TiO₂, l'azote a été introduit dans les sites interstitiels du TiO₂, principalement à la surface du TiO₂. Cela a entraîné un déplacement de l'énergie du gap vers de le visible, d'où une activité photocatalytique de N1-TiO₂ vers le visible (Kontos *et al.*, 2008).

IV.4. Conclusion sur l'efficacité des catalyseurs

L'efficacité des catalyseurs ECT2-1023t, N1-TiO₂ et GO-TiO₂ a été évaluée sur la dégradation photocatalytique du bisphénol A sous irradiation solaire simulée (UV-visible), sous UV, sous visible et sous visible avec en support un filtre à UV. Les résultats obtenus sous UV et sous visible ont été comparés à ceux obtenus sous UV-visible. Au vu des résultats, il a été conclu que les catalyseurs sont actifs pour des longueurs d'onde inférieures à 420 nm. Les catalyseurs P25, ECT2-1023t et GO-TiO₂ sont plus efficaces autour de 352 nm et le catalyseur N1-TiO₂ est tout aussi actif avec des longueurs d'onde se rapprochant du visible.

Cependant malgré une activité du catalyseur N1-TiO₂ vers le visible, parmi les catalyseurs élaborés par les partenaires le catalyseur ECT2-1023t est le plus efficace sous irradiation solaire simulée en termes de constante cinétique apparente, de pourcentage de dégradation et de minéralisation.

D'autre part, les pourcentages de minéralisation du BPA obtenus en comparaison à ceux de conversion (Tableaux IV. 7 à IV. 10) montrent qu'il y a formation de produits intermédiaires lors du traitement photocatalytique. Dans la suite de ce travail, l'indentification de ces intermédiaires est recherchée ainsi que les effets potentiels sur les êtres vivants.

V. Etudes des intermédiaires réactionnels

V.1. Suivi des intermédiaires réactionnels

Au cours du traitement photocatalytique du BPA sous irradiation UV-visible (200 nm-30 μ m) et UV (280-400 nm), un suivi de la formation et de la disparition des intermédiaires réactionnels est réalisé par analyse HPLC/UV. Ce suivi des intermédiaires est effectué afin de comparer les catalyseurs en termes d'intermédiaires générés lors du traitement photocatalytique.

Avec les catalyseurs N1-TiO₂ et GO-TiO₂, il n'y a pas eu d'observation de pics relatifs aux intermédiaires. La concentration en intermédiaires formés en utilisant ces catalyseurs est en dessous de la limite de détection de l'appareil (LD= 0,01 mg/L et LQ= 0,03 mg/L). Les

intermédiaires obtenus lors de la dégradation du BPA avec les catalyseurs P25 et l'ECT2-1023t sont nommés produits 1, 2, 3, etc. selon leur ordre respectif d'élution lors de l'analyse (Tableau IV. 11).

Sous irradiation UV, les intermédiaires nommés produit 1, 3 et 4 sont obtenus avec les deux catalyseurs (ECT2-1023t et P25). L'intermédiaire nommé produit 2 est obtenu seulement avec le catalyseur P25 (Tableau IV. 11). En comparant les temps de rétention, il semblerait que, excepté le produit 2, les intermédiaires formés avec les deux catalyseurs sont les mêmes. En comparaison à l'irradiation sous UV, il y a de nouveaux intermédiaires qui apparaissent au cours de la dégradation photocatalytique du BPA sous irradiation UV-visible : le produit 5 avec le P25 et le produit 6 avec l'ECT2-1023t (Tableau IV. 11). La formation de ces nouveaux intermédiaires peut s'expliquer par le fait que :

- i) les espèces réactives peuvent être différentes d'une irradiation à l'autre (UV et UV-visible),
- ii) les cinétiques en UV-visible sont plus lentes que celles en UV (Figure IV. 11). Ce qui permettrait d'expliquer qu'en UV-visible plus d'intermédiaires réactionnels peuvent être observés.

Tableau IV. 11 : Intermédiaires formés en UV-visible et en UV

| | UV-visible | | UV | |
|---------------------------|------------|------------|-----|------------|
| | P25 | ECT2-1023t | P25 | ECT2-1023t |
| Produit 1 tr = 1,7 min | × | × | × | × |
| Produit 2 tr = 1,9 min | × | × | × | nd |
| Produit 3 tr = 2,3 min | × | × | × | × |
| Produit 4 tr = 2,7 min | × | × | × | × |
| Produit 5 tr = 3,2 min | × | nd | nd | nd |
| Produit 6 tr = 4,6 min | nd | × | nd | nd |

nd : non détecté, × : détecté, tr : temps de rétention en HPLC

L'évolution des intermédiaires formés au cours du traitement photocatalytique est

présentée Figure IV. 12 pour l'irradiation sous UV-visible et Figure IV. 13 pour l'irradiation UV. Il peut être observé que pour une même condition d'irradiation (UV-visible ou UV), la distribution des intermédiaires réactionnels dans les deux conditions de traitement du BPA (avec le P25 ou l'ECT2-1023t) n'est pas la même. Par exemple, sous UV le produit 1 est l'intermédiaire majoritairement trouvé en solution avec l'ECT2-1023t et le produit 3 est l'intermédiaire majoritairement trouvé en solution avec le P25 (Figure IV. 13). Cette différence entre la distribution des intermédiaires peut s'expliquer par la différence entre les surfaces spécifiques, la morphologie des catalyseurs et les groupements de surface. Araña *et al.*, (2010) ont montré que la morphologie entre les deux catalyseurs est différente; l'ECT2-1023t a une morphologie bipyramidale tronquée avec une base carré et celle du P25 est sphérique. Ces différences entre les catalyseurs ont un effet sur l'affinité des intermédiaires avec les catalyseurs, sur l'adsorption des intermédiaires et par conséquent sur la cinétique de formation et de dégradation des intermédiaires réactionnels.

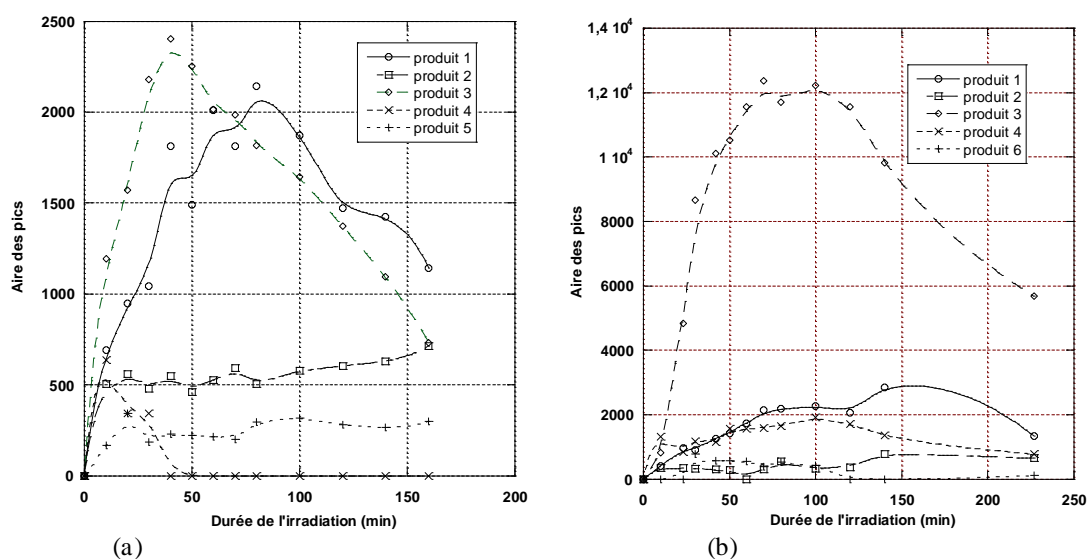


Figure IV. 12 : Suivi de la formation des intermédiaires réactionnels du BPA sous irradiation UV-visible avec les catalyseurs P25 (a) et ECT2-1023t (b) ($[BPA]_i = 2 \text{ mg/L}$)

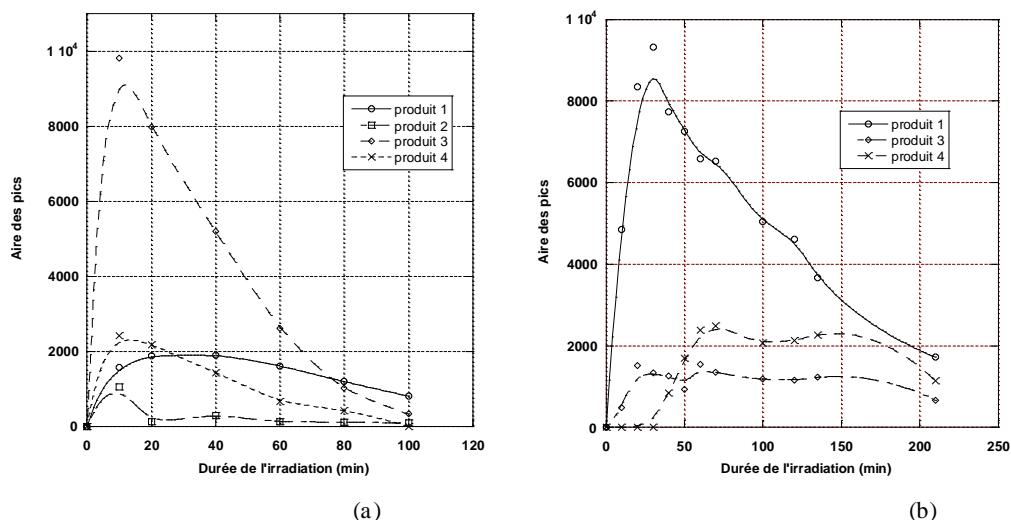


Figure IV. 13 : Suivi de la formation des intermédiaires réactionnels du BPA sous irradiation UV avec les catalyseurs P25 (a) et ECT2-1023t (b) ($[BPA]_i = 2 \text{ mg/L}$)

En résumé, pour les mêmes conditions expérimentales (volume du réacteur, irradiation, polluant/catalyseur), la dégradation photocatalytique du BPA conduit à des intermédiaires dont la structure chimique et la concentration en solution dépendent du catalyseur utilisé. Ce résultat est également observé par Abramović *et al.*, (2011) dans l'étude où ils comparent l'efficacité du TiO_2 synthétisé par le procédé sulfate (100% anatase, surface $8,5 \pm 1,0 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, taille des cristallites 300 nm) à celui du P25 pour la dégradation du métoprolol.

V.2. Identification des intermédiaires réactionnels

Le suivi de la dégradation photocatalytique du BPA a montré que celle-ci conduit à la formation d'intermédiaires réactionnels et que la structure chimique de ces intermédiaires dépend du catalyseur (P25 ou ECT2-1023t). Pour pouvoir établir le mécanisme réactionnel associé à la formation de ces intermédiaires, l'étude s'est focalisée sur leur identification. Pour cela, une liste des intermédiaires réactionnels du BPA couramment rencontrés dans la littérature a été établie. Ces intermédiaires sont présentés Tableau IV. 12. Puis, les composés chimiques standards commercialisés (en gras dans le Tableau IV. 12) ont été analysés dans les mêmes conditions d'analyse HPLC/UV que celles utilisées pour le suivi de la dégradation du BPA. Enfin, les temps de rétention des standards sont comparés à ceux des intermédiaires formés au cours des traitements du BPA réalisés dans cette étude. Par cette méthode des hypothèses sur la nature des intermédiaires ont pu être posées.

Ainsi, comparant les temps de rétention, le produit 1 pourrait être le p-

hydroxyacétophénone et le produit 6 pourrait être l'isopropylphénol. Aucune correspondance n'a été trouvée avec les autres intermédiaires (produits 2, 3, 4 et 5).

Tableau IV. 12 : Intermédiaires réactionnels de la dégradation photocatalytique du BPA rencontré en littérature

| Composés | Numéro CAS |
|------------------------------|-----------------|
| Phénol | 108-95-2 |
| 1-1-ethenyldenebis-benzène | - |
| 4-tert-butylphénol | 98-54-4 |
| 4-hydroxyacétophénone | 99-93-4 |
| p-hydroquinone | 123-31-9 |
| p-quinone | 106-51-4 |
| p-isopropénylphénol | 584247 |
| p-isopropylphénol | 99-89-8 |
| 4-isopropanolphénol | - |
| Styrène | 100-42-5 |
| (1-phényl-1butenyl) benzène | - |
| BPA-o-catéchol | - |
| BPA-o-quinone | - |
| p-hydroxybenzaldéhyde | 123-08-0 |
| Acétophénone | 98-86-2 |

V.3.Mécanisme réactionnel de dégradation photocatalytique du BPA

Le composé p-hydroxyacétophénone a été souvent identifié comme intermédiaire réactionnel lors de la dégradation photocatalytique du BPA (Katsumata *et al.*, 2004;. Li *et al.*, 2008; Inoue *et al.*, 2008). Selon ces auteurs, le p-hydroxyacétophénone pourrait être formé par oxydation du p-isopropénylphénol et le p-isopropénylphénol pourrait être formé après la perte d'une molécule d'eau sur le 2-(4-hydroxyphényle)-2-propanol ou après une déméthylation du p-isopropylphénol.

Cependant, le p-isopropylphénol (produit 6) n'a pas été détecté comme intermédiaire réactionnel lorsque le P25 a été utilisé (Tableau IV. 11). Il a été détecté seulement lorsque l'ECT2-1023t a été utilisé comme catalyseur. De ces observations, il peut être émis comme hypothèse qu'avec le catalyseur P25, le p-isopropénylphénol peut se former après la perte d'une molécule d'eau sur le 2-(4-hydroxyphényle)-2-propanol et qu'avec le catalyseur ECT2-1023t, le p-isopropénylphénol peut se former soit après la perte d'une molécule d'eau sur le 2-

(4-hydroxyphényl)-2-propanol soit par déméthylation du p-isopropylphénol. Les deux voies réactionnelles de dégradation photocatalytique du BPA proposées dans cette étude sont présentées Figure IV. 14.

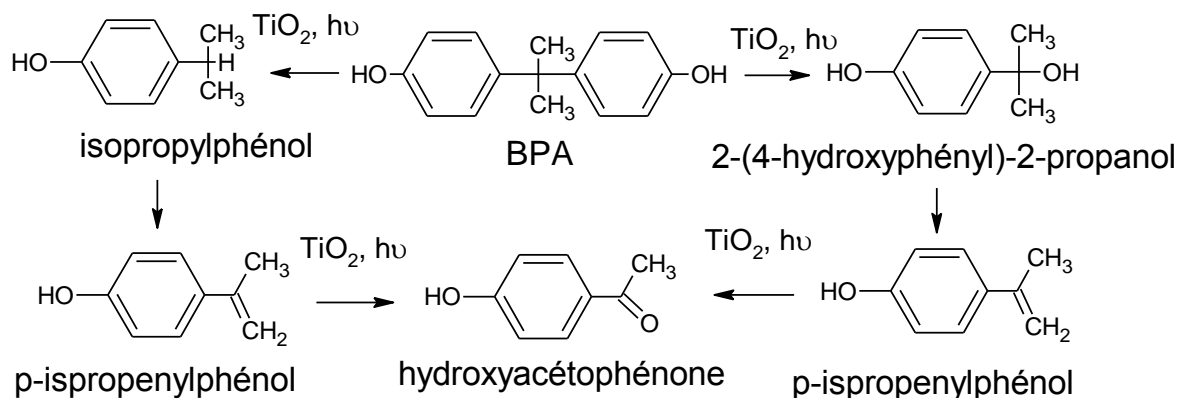


Figure IV. 14 : Chemin réactionnel proposé pour la dégradation photocatalytique du BPA

V.4. Conclusion sur l'étude des intermédiaires réactionnels

Un suivi de la formation et de la disparition des intermédiaires réactionnels au cours de la dégradation photocatalytique du BPA a été effectué. Les résultats ont montré que la structure chimique des intermédiaires ainsi que leur niveau de concentration en solution dépendent du catalyseur utilisé.

Tous les intermédiaires réactionnels formés au cours du traitement photocatalytique n'ont pu être identifiés. Parmi les six intermédiaires observés par HPLC, seules les structures chimiques de deux intermédiaires ont été proposées. Il existe de nombreuses possibilités de chemins réactionnels lors de la dégradation du BPA, d'où la difficulté de poser des hypothèses sur l'identité des intermédiaires. En écho à cette difficulté, il est possible d'apporter une réponse en évaluant l'effet de la solution traitée contenant les intermédiaires réactionnels en utilisant un test biologique.

VI. Evaluation de l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels

La dégradation photocatalytique du BPA a conduit à la formation d'intermédiaires réactionnels. Cependant, tous ces intermédiaires n'ont pu être identifiés. Ainsi, pour caractériser l'ensemble des intermédiaires et évaluer l'efficacité du procédé photocatalytique

à éliminer la pollution, l'effet de perturbation endocrinienne de la solution de bisphénol A traitée par photocatalyse avec les catalyseurs P25 et ECT2-1023t est examiné en comparaison d'une solution contenant uniquement du BPA.

VI.1. Conditions particulières spécifiques au test de perturbation endocrinienne

L'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires du BPA est évalué par le test élaboré par la société « Wachtfrog » décrit au chapitre II. Le but et les objectifs de chacune des expériences réalisées au cours de ce test sont rappelés Tableau IV. 13.

Les échantillons dont l'effet œstrogénique est évalué sont ceux prélevés au cours du traitement photocatalytique du BPA avec les catalyseurs P25 et ECT2-1023t à des temps respectifs de 20 minutes et 120 minutes ainsi que 40 minutes et 140 minutes. Les contenus de ces échantillons en termes de pourcentage de conversion et de minéralisation du BPA sont donnés Tableau IV. 14.

Tableau IV. 13 : Description des échantillons lors de l'évaluation de l'effet œstrogénique

| | Composition | Objectifs |
|---|--|--|
| Contrôle négatif | Alevins, 8 mL d'eau pure | Indique le niveau de base de fluorescence des alevins. |
| Contrôle positif 1 | Alevins, 8 mL d'EE2 à 300 ng/L | Indique le niveau de fluorescence des alevins mis en contact avec un perturbateur endocrinien. |
| Contrôle positif 2 | Alevins, 8 mL de testostérone à 30 µg/L | Indique le niveau d'activité de l'aromatase dans un échantillon témoin. |
| Echantillon brut | Alevins, échantillon prélevé au cours de l'irradiation du BPA | Indique l'effet ostrogénique de l'échantillon traité |
| Echantillon dopé à la testostérone | Alevins, échantillon prélevé au cours de l'irradiation du BPA, 30 µg/L de testostérone | Indique l'effet de l'échantillon traité sur l'activité enzymatique de l'aromatase |

EE2 : éthynyl-œstradiol

Tableau IV. 14 : Pourcentage de minéralisation et de conversion du BPA dans les échantillons testés pour évaluer l'effet œstrogénique

| | P25 | | ECT-1023t | |
|----------------------------|--------|---------|-----------|---------|
| | 20 min | 120 min | 40 min | 140 min |
| % de conversion | 35 | 99 | 55 | 90 |
| % de minéralisation | 10 | 40 | 5 | 18 |

VI.2. Résultats du test évaluant l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels

Le niveau de fluorescence des alevins exposés aux échantillons de la solution de BPA traitée par photocatalyse a été mesuré. Les résultats obtenus pour les alevins exposés aux échantillons traités par photocatalyse avec le catalyseur le P25 sont présentés sur la Figure IV. 15 et ceux obtenus avec le catalyseur ECT-1023t sont présentés à la Figure IV. 16.

D'après ces résultats, la fluorescence des alevins exposés à la solution de BPA (2 mg/L, t= 0 min) a une amplitude comparable à celle obtenue avec les alevins exposés à l'EE2 (contrôle positif 1). De plus, cette fluorescence est amplifiée par le co-traitement avec la testostérone en comparaison au contrôle positif 2. Le niveau de risque est 2, le BPA perturbe l'axe œstrogénique des alevins ainsi que l'activité de l'enzyme aromatasase. Ce qui confirme le caractère de perturbateur endocrinien du BPA déjà démontré dans d'autres études (Staples *et al.*, 2000, Birkett et Lester, 2003, Richter *et al.*, 2007).

L'échantillon traité avec le P25 et prélevé à t = 20 minutes induit également un niveau de fluorescence des alevins comparable à celui induit par le contrôle positif 1 et en co-traitement avec la testostérone. Il induit un niveau de fluorescence significativement différent de celui du contrôle positif 2 (Figure IV. 15). Le niveau de risque est 2, les composés contenus dans cet échantillon sont des perturbateurs de l'axe œstrogénique. Par ailleurs, la concentration restante en BPA dans cet échantillon est de 1300 µg/L. De ce fait, l'effet œstrogénique peut être attribué au BPA qui n'a pas été complètement dégradé au bout de 20 minutes de traitement (Tableau IV. 14). Après 120 minutes de traitement, toujours avec le P25, le BPA est dégradé à 99% ([BPA] < LDD) et minéralisé à 40% (Tableau IV. 14). Les alevins exposés à l'échantillon de la solution traitée de BPA après ce temps (120 minutes), ont un niveau de fluorescence comparable à celui du contrôle négatif mais lorsqu'ils sont exposés à cet échantillon co-traité avec la testostérone, le niveau de fluorescence est significativement différent de celui du contrôle positif 2. Ainsi, les composés contenus dans cet échantillon

perturbent l'activité enzymatique de l'aromatase et sont donc soupçonnés d'être des perturbateurs endocriniens, le niveau du risque est 1.

En ce qui concerne les échantillons prélevés de la solution traitée avec le catalyseur ECT-1023t, l'échantillon prélevé à 40 minutes induit un niveau de fluorescence chez les alevins comparable au contrôle positif 1 et en co-traitement avec la testostérone, le niveau de fluorescence induit chez les alevins est significativement différent de celui du contrôle positif 2. Les composés contenus dans cet échantillon sont donc des perturbateurs endocriniens. Vu que dans cet échantillon la concentration en BPA est de 900 µg/L, l'effet œstrogénique observé peut être attribué au BPA restant en solution. Pour l'échantillon prélevé à 140 minutes, le niveau de fluorescence induit chez les alevins est comparable au contrôle négatif. En co-traitement avec la testostérone, l'intensité de la fluorescence n'est pas statistiquement différente de celle du contrôle positif 2. L'échantillon est donc considéré comme inerte, le niveau du risque est 0, il n'y a pas de perturbateurs endocriniens dans cet échantillon.

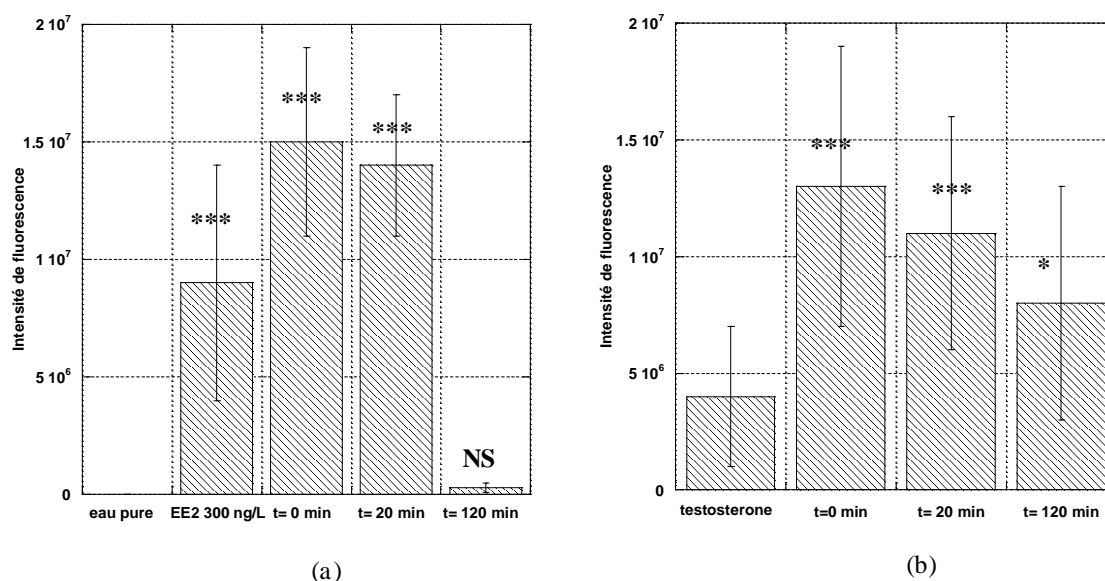


Figure IV. 15 : Fluorescence des alevins exposés aux échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique avec le catalyseur P25 échantillon pur (a) et échantillon dopé à la testostérone (b) (NS : non significatif ($p \geq 0,05$), * : significatif ($p < 0,05$), *** : extrêmement significatif ($p < 0,001$), EE2 : éthinyloestradiol)

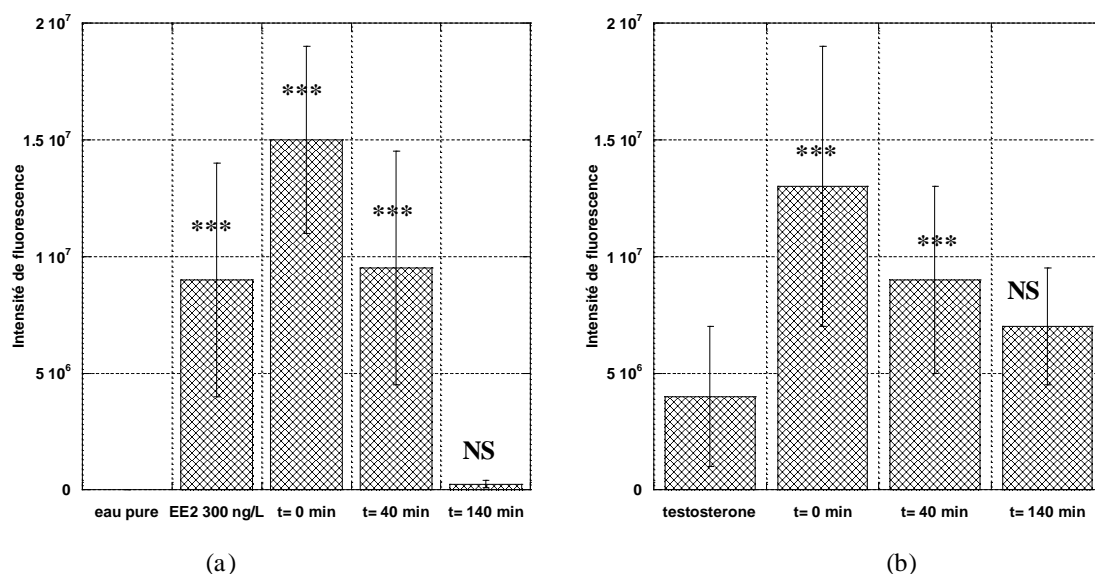


Figure IV. 16 : Fluorescence des alevins exposés aux échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique avec le catalyseur ECT2-1023t, échantillon pur (a) et échantillon dopé à la testostérone (b) (NS : non significatif ($p \geq 0,05$), * : significatif ($p < 0,05$), *** : extrêmement significatif ($p < 0,001$), EE2 : éthynyl-œstradiol)

VI.3. Conclusion sur l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels

L'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires du BPA générés lors du traitement photocatalytique avec les catalyseurs P25 et ECT-1023t a été évalué par le test élaboré par la société « Wachtfrog ». Un résumé des résultats de ce test est présenté Tableau IV. 15. Sous irradiation UV (280-400 nm) et dans les conditions expérimentales de cette étude, la dégradation photocatalytique avec le catalyseur ECT-1023t ne génère pas d'intermédiaires réactionnels présentant un effet œstrogénique. Par contre, le traitement photocatalytique avec le catalyseur P25, génère des intermédiaires soupçonnés d'avoir des effets de perturbation endocrinienne.

Le suivi des intermédiaires avec l'ECT2-1023t et le P25 a montré que le produit 2 a été formé seulement lorsque le traitement photocatalytique a été réalisé avec le P25. Cela laisse penser que cet intermédiaire peut contribuer à l'effet œstrogénique observé. Néanmoins, il convient également de noter que tous les intermédiaires n'ont pas pu être détectés par analyse HPLC/UV en raison de la limite de détection de l'appareil. Ainsi, d'autres intermédiaires ont pu également être formés et ces derniers peuvent également jouer un rôle

dans l'effet œstrogénique observé.

Tableau IV. 15 : Résultats du test sur l'effet œstrogénique des intermédiaires réactionnels du BPA générés lors de la dégradation photocatalytique du BPA sous UV

| | Durée d'irradiation | % de conversion du BPA | % de minéralisation du BPA | Niveau de risqué d'effet œstrogénique | Conclusion |
|------------------|----------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|--|----------------------------|
| ECT-1023t | 40 min | 55 | 5 | niveau 2 | Perturbation endocrinienne |
| | 140 min | 90 | 18 | niveau 0 | Pas d'effet |
| P25 | 20 min | 35 | 10 | niveau 2 | Perturbation endocrinienne |
| | 120 min | 99 | 40 | niveau 1 | Suspect |

VII. Conclusion du chapitre

L'efficacité sous irradiation solaire des catalyseurs élaborés dans le cadre du projet européen Clean Water a été évaluée en termes de constante cinétique apparente, de pourcentage de dégradation et de minéralisation du bisphénol A puis comparée à celle du catalyseur de référence, le P25. Les résultats obtenus ont montré une dégradation significative du bisphénol A sous irradiation UV et sous irradiation UV-visible. Parmi les catalyseurs élaborés par les partenaires, le catalyseur ECT2-1023t s'avère être le plus efficace pour la dégradation du bisphénol A. Outre la modélisation des cinétiques par un ordre 1, la cinétique de dégradation du BPA a été modélisée par le modèle de Langmuir-Hinshelwood. Il a été obtenu qu'en termes de constante cinétique de Langmuir-Hinshelwood, l'efficacité photocatalytique de l'ECT2-1023t est équivalente à celle du P25.

Les spectres d'émission du simulateur solaire en UV et UV-visible ont été comparés. Il s'avère que dans l'UV-visible, une diminution de l'intensité en UV est observée. Cependant malgré cette diminution, l'efficacité du catalyseur N1-TiO₂ sous UV-visible en comparaison à celle sous UV n'a pas significativement changée. Ceci laisse à penser que ce catalyseur est actif pour des longueurs d'onde proches du visible.

Dans les conditions de l'étude, il n'a pas été observé de dégradation significative du bisphénol A pour des radiations supérieures à 420 nm avec tous les catalyseurs (ECT-1023t, N1-TiO₂, GO-TiO₂, P25) ; les catalyseurs sont actifs pour les radiations inférieures à 420 nm.

Les catalyseurs ECT-1203t et P25 ont été également comparés en termes d'intermédiaires réactionnels et d'effet œstrogénique des intermédiaires générés au cours du

traitement photocatalytique. Les résultats ont montré que quel que soit le type d'irradiation (UV, UV-visible), la distribution des intermédiaires était différente lors du traitement avec l'ECT-1203t ou le P25 et aussi que les intermédiaires variaient d'un catalyseur à l'autre pour une même irradiation. Cela a été attribué à la différence entre la morphologie des catalyseurs et à la différence entre la surface exposée des catalyseurs qui ont un effet sur l'affinité des intermédiaires avec les catalyseurs, sur l'adsorption des intermédiaires et par conséquent sur la cinétique de dégradation des intermédiaires. La différence d'affinité des catalyseurs pour les intermédiaires créent également des chemins préférentiels de réaction d'où la difficulté de poser des hypothèses sur les intermédiaires formés avec le P25 et l'ECT-1023t.

En ce qui concerne l'effet œstrogénique des intermédiaires, il a été observé que dans les conditions de cette étude, le traitement photocatalytique réalisé pendant 140 minutes avec le catalyseur ECT2-1023t ne génère pas d'intermédiaires réactionnels présentant un effet œstrogénique. Par contre, le traitement photocatalytique réalisé pendant 120 minutes avec le P25, génère des intermédiaires soupçonnés de causer une perturbation endocrinienne. En somme, au vu des résultats obtenus sur le pourcentage de conversion et l'effet œstrogénique des intermédiaires formés avec le catalyseur ECT-1023t, il apparaît que ce catalyseur peut être utilisé pour la dégradation du bisphénol A sous irradiation solaire.

Chapitre V : Dégradation photocatalytique de la 17 β -œstradiol

I. Contexte et objectifs

La 17 β -œstradiol (E2) est le deuxième composé utilisé dans ce travail pour évaluer l'efficacité des catalyseurs élaborés dans le cadre du projet européen Clean Water. Comme avec le bisphénol A, l'activité photocatalytique des catalyseurs est évaluée selon la méthodologie présentée au chapitre II. Tout d'abord, la dégradation photocatalytique de l'E2 est effectuée respectivement sous irradiation UV-visible (200 nm-30 μ m), sous irradiation UV (280-400 nm) et sous irradiation visible avec les catalyseurs élaborés par les partenaires du projet et aussi avec le catalyseur de référence, le dioxyde de titane P25 (TiO₂ P25, AEROXIDE[®]). Par la suite, les constantes cinétiques sont déterminées et comparées entre elles. Les constantes cinétiques apparentes de dégradation obtenues avec l'E2 sont aussi comparées à celles obtenues avec le bisphénol A.

Outre la comparaison des constantes cinétiques, l'efficacité des catalyseurs est évaluée en termes de pourcentage de dégradation, de minéralisation de la 17 β -œstradiol et de l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels formés au cours du traitement photocatalytique. Les intermédiaires réactionnels sont ensuite identifiés et un chemin réactionnel est proposé.

II. Conditions particulières d'irradiation de la 17 β -œstradiol

Une solution de 17 β -œstradiol aqueuse (E2) de concentration initiale 1 mg/L (1,2 mg/L pour certaines cinétiques) est irradiée en présence de 20 mg de catalyseur ($1,84 \cdot 10^{-7}$ moles/mg \leq [E2]/catalyseur $\leq 2,2 \cdot 10^{-7}$ moles/mg). Pendant toute la durée de l'irradiation, la solution est agitée et à intervalles de temps réguliers, des échantillons de la solution irradiée sont prélevés puis filtrés avec un microfiltre en fibre de verre (GF/B, D= 1 μ m, Whatman). Les échantillons filtrés sont ensuite analysés par HPLC/UV et par COT-mètre (TOC analyzer 5000) pour déterminer respectivement la concentration résiduelle en E2 et la concentration en carbone organique dissout dans les échantillons prélevés.

Les conditions d'analyse en HPLC/UV sont données dans le Tableau V. 1, les conditions d'irradiation et les catalyseurs utilisés dans cette étude sont présentés respectivement dans les Tableaux V. 2 et V. 3.

Tableau V. 1 : Conditions d'analyse en HPLC/UV de la 17β-œstradiol

| | Colonne | Phase mobile | Longueur d'onde de détection LD, LQ |
|----------------------|---|-----------------------------|--|
| 17β-œstradiol | Nova Pack C18 150 mm × 3,9 mm I.D., 4 μm | H ₂ O/ACN: 55/45 | λ= 197 nm 0,012 mg/L ; 0,04 mg/L |

LD : limite de détection, LQ : limite de quantification

Tableau V. 2 : Conditions expérimentales de l'irradiation de la solution l'E2

| Nom | Conditions | Intensité mesurée à λ = 365 nm* |
|------------------------|--|--|
| UV-visible | Miroir dichroïque à bande passante 200 nm-30μm | 1,85 mW/cm ² |
| UV | Miroir dichroïque à bande passante 280-400 nm | 2,35 mW/cm ² |
| Visible+ filtre | Miroir dichroïque à bande passante 420-630 nm, filtre à UV | < 0,01 mW/cm ² |

* Mesuré à 26 cm de la sortie du faisceau lumineux

Tableau V. 3 : Caractéristiques des matériaux photocatalytiques utilisés pour la dégradation photocatalytique de l'E2

| Catalyseur | Anatase/Rutile | Taille des cristallites (nm) (A) | Taille des cristallites (nm) (R) | Surface spécifique (m²/g) | Gap (eV) |
|---------------------------|-----------------------|---|---|---|-----------------|
| N1-TiO₂ | 100/0 | 7,9 | - | 140 | 2,31 |
| ECT2-1023t | 89-94/11-6 | 57,0 | 86,3 | 18,3 | 2,97 |
| GO-TiO₂ | 100/0 | 4-5 | - | 147 | 2,95 |
| P25 | 80/20 | 25 | 85 | 50,0 | 3,18 |

III. Efficacité des catalyseurs en termes de dégradation

L'efficacité des catalyseurs N1-TiO₂, ECT2-1023t et GO-TiO₂ est évaluée sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm) en laboratoire pour la dégradation photocatalytique de la 17β-œstradiol. Ils sont également testés sous UV et sous visible puis les résultats obtenus sont comparés à ceux obtenus sous UV-visible dans le but d'évaluer la part d'efficacité sous UV lors de l'irradiation en UV-visible et pour évaluer si les catalyseurs sont actifs dans le visible pour la dégradation de la 17β-œstradiol.

Les résultats obtenus dans le chapitre précédent (chapitre IV) en comparaison à ceux obtenus par les partenaires du projet (Araña *et al.*, 2010, Pastrana-Martínez *et al.*, 2012a,

Pastrana-Martínez *et al.*, 2012b) ont montré que l'efficacité des catalyseurs dépend du composé à dégrader et des conditions expérimentales (ratio polluant/catalyseur). Ainsi dans ce chapitre, la dégradation de l'E2 est effectuée dans les mêmes conditions expérimentales que celles mises en œuvre lors de la dégradation du bisphénol A. Les résultats obtenus sont comparés à ceux précédemment obtenus avec le bisphénol A. L'objectif est de voir si les conclusions générales tirées de l'étude de la dégradation du bisphénol A sont transposables à un autre composé.

III.1. Efficacité des catalyseurs sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μ m)

Les catalyseurs ECT2-1023t, N1-TiO₂ et GO-TiO₂ sont testés en comparaison au P25 pour la dégradation de la 17 β -œstradiol sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μ m) dans le but d'évaluer lesquels de ces catalyseurs peuvent être utilisés sous irradiation solaire. L'adsorption de l'E2 sur les catalyseurs a été également évaluée en laissant sous agitation pendant 3 h, une solution d'E2 à 1 mg/L avec chacun des catalyseurs à 20 mg/L et aucune variation en concentration d'E2 n'a été observée.

Au cours de la dégradation photocatalytique, des prélèvements sont effectués puis analysés par HPLC/UV pour le suivi de l'E2 en solution. L'évolution de la concentration en E2 en fonction de la durée de l'irradiation est présentée Figure V. 1.

Pour les quatre catalyseurs testés, la cinétique de la dégradation de l'E2 est modélisée par un ordre 1. Les constantes apparentes sont déterminées pour comparaison entre les catalyseurs. Les pourcentages de conversion après une heure de traitement sont également calculés (Tableau V. 4).

D'après les résultats présentés au Tableau V. 4, l'E2 est dégradée à 40 %, 59 % et à 86 % avec l'ECT2-1023t, le GO-TiO₂ et le P25 respectivement. Le catalyseur N1-TiO₂ a le pourcentage de dégradation le plus faible (23 %). Ainsi pour la dégradation photocatalytique de l'E2, le catalyseur GO-TiO₂ est le plus efficace des catalyseurs élaborés par les partenaires. Cependant dans les conditions expérimentales de cette étude, ce catalyseur est moins efficace que le catalyseur de référence le P25 en termes de constante cinétique apparente et de pourcentage de conversion.

Par ailleurs, le pourcentage de dégradation de l'E2 obtenu avec l'ECT2-1023t n'est pas négligeable, 40 % de 17 β -œstradiol sont dégradés au bout d'une heure de traitement. Ainsi ces résultats sur la dégradation photocatalytique de l'E2 montrent que les catalyseurs

ECT2-1023t et GO-TiO₂ peuvent être utilisés pour la dégradation de l'E2 sous irradiation solaire.

Dans les résultats obtenus au chapitre IV, il a été montré que le catalyseur ECT2-1023t en comparaison au GO-TiO₂, présentait une meilleure efficacité pour la dégradation du BPA sous UV-visible ([BPA]/catalyseur : 2×10^{-7} moles/mg). Cependant, pour la dégradation photocatalytique de l'E2 ($1,84 \cdot 10^{-7}$ moles/mg \leq [E2]/catalyseur $\leq 2,2 \cdot 10^{-7}$ moles/mg), le catalyseur GO-TiO₂ présente une plus grande efficacité que l'ECT2-1023t (59 % de dégradation de l'E2 avec le GO-TiO₂ contre 40 % avec l'ECT2-1023t au bout d'une heure).

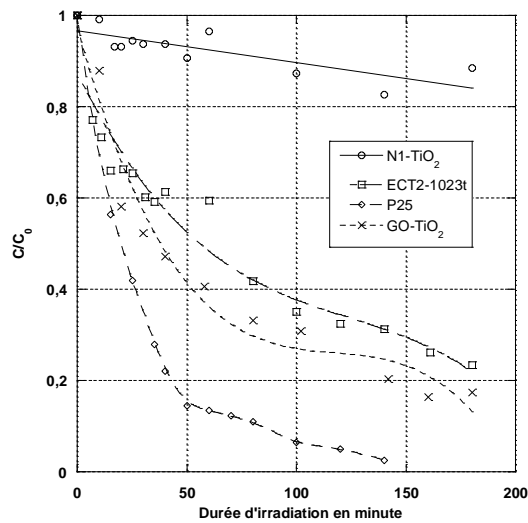


Figure V. 1 : Cinétiques de dégradation de l'E2 ($1 \text{ mg/L} \leq C_i \leq 1,2 \text{ mg/L}$) sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm)

Tableau V. 4 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentage de dégradation de l'E2 sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm)

| | N1-TiO₂ | ECT2-1023t | P25 | GO-TiO₂ |
|--|---------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|
| k_{app} (min^{-1}) | $7,0 \times 10^{-4}$ | $7,5 \times 10^{-3}$ | $3,7 \times 10^{-2}$ | $1,4 \times 10^{-2}$ |
| % de conversion à 60 min | 23 | 40 | 86 | 59 |

III.2. Efficacité des catalyseurs sous irradiations UV

L'efficacité des catalyseurs élaborés dans le projet Clean Water est également évaluée sous irradiation UV (280-400 nm). Par la suite, cette efficacité des catalyseurs sous irradiation UV (280-400 nm) est comparée à celle obtenue sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μm) afin d'estimer la part d'efficacité des catalyseurs sous les UV contenus dans l'irradiation solaire simulée (UV-visible). Les résultats vont permettre de voir s'il y a une

différence dans l'activité photocatalytique des catalyseurs sous irradiation UV et irradiation solaire simulée (UV-visible) et de dire si les catalyseurs sont uniquement actifs dans l'UV ou aussi pour des longueurs d'onde se rapprochant du visible.

III.2.1 Cinétique de dégradation sous UV

L'évolution de la concentration normalisée de l'E2 au cours du traitement photocatalytique sous irradiation UV (280-400 nm) est présentée Figure V. 2. Pour les quatre catalyseurs testés, la cinétique de dégradation de l'E2 est modélisée par un modèle cinétique d'ordre 1. Par la suite, les constantes apparentes et les pourcentages de conversion sont déterminés (Tableau V. 5).

D'après les résultats présentés au Tableau V. 5, le catalyseur ECT2-1023t est le plus efficace des catalyseurs élaborés par les partenaires sous irradiation UV. Ce résultat est différent de celui obtenu sous irradiation UV-visible. En effet sous UV-visible, l'efficacité de dégradation du GO-TiO₂ est plus grande que celle de l'ECT2-1023t. Cette différence d'activité photocatalytique du GO-TiO₂ entre les deux gammes d'irradiation (UV et UV-visible) pourrait s'expliquer par le fait que ce catalyseur présente une efficacité pour la dégradation photocatalytique de l'E2 vers les longueurs d'onde proches du visible. Ce point est discuté dans le paragraphe suivant.

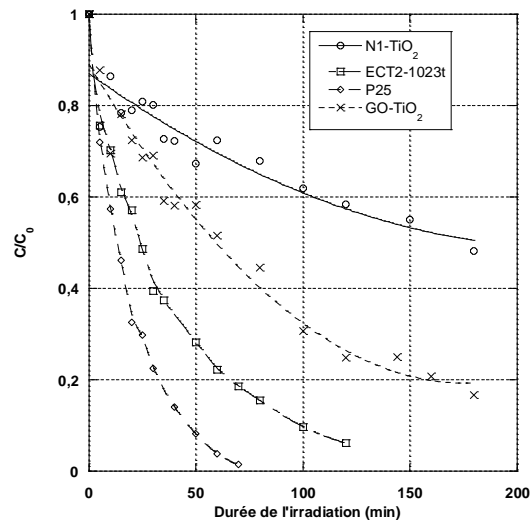


Figure V. 2 : Cinétiques de dégradation de l'E2 ($1 \text{ mg/L} \leq C_1 \leq 1,2 \text{ mg/L}$) sous irradiation UV (280-400 nm)

Tableau V. 5 : Constantes cinétiques apparentes, pourcentage de dégradation de l'E2 sous irradiation UV (280-400 nm)

| | N1-TiO₂ | ECT2-1023t | P25 | GO-TiO₂ |
|---|---------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|
| k_{app} (min⁻¹) | 2,8 $\times 10^{-3}$ | 2,1 $\times 10^{-2}$ | 4,4 $\times 10^{-2}$ | 8,4 $\times 10^{-3}$ |
| % de conversion à 60 min | 27 | 77 | 98 | 48 |

III.2.2 Comparaison des efficacités obtenues sous UV et sous irradiation solaire simulée (UV-visible)

Pour estimer la part d'efficacité des catalyseurs sous UV des radiations solaires simulées et voir si les catalyseurs sont actifs vers le visible, l'efficacité des catalyseurs déterminée sous UV (280-400 nm) au paragraphe III.2.1 est comparée à celle obtenue sous irradiation solaire simulée (UV-visible : 200 nm-30 μ m ; paragraphe III.1).

Les constantes cinétiques apparentes de la réaction de dégradation de l'E2 sous UV et sous UV-visible sont présentées Figure V. 3. Il est observé qu'en comparaison aux constantes cinétiques apparentes obtenues sous irradiation UV, les constantes cinétiques apparentes obtenues sous irradiation UV-visible avec respectivement les catalyseurs P25, ECT2-1023t et N1-TiO₂ ont baissé. Elles ont baissé de 16 % avec le catalyseur P25, de 64 % avec l'ECT2-1023t et de 75 % avec le N1-TiO₂. Cette baisse de l'efficacité des catalyseurs s'explique globalement par la baisse d'irradiation UV dans le spectre d'émission de la lampe en UV-visible en comparaison au spectre d'émission de la lampe en UV (chapitre II). Par contre, pour le catalyseur GO-TiO₂ en comparaison à la dégradation sous UV, la constante cinétique sous UV-visible a augmenté de 40 %. Ainsi, il peut être conclu que pour la dégradation photocatalytique de l'E2, le catalyseur GO-TiO₂ présente une efficacité vers les longueurs d'onde proches du visible.

L'efficacité photocatalytique du GO-TiO₂ vers les longueurs d'onde proches du visible et aussi dans le visible a été démontrée par Pastrana-Martinez *et al.*, (2012b). Cette efficacité du GO-TiO₂ dans le visible est due aux feuillets d'oxyde de graphène qui jouent le rôle de sensibilisateur dans le GO-TiO₂ (Pastrana-Martinez *et al.*, 2012b). En effet sous irradiation visible, les électrons de l'état localisé sp² sont excités puis injectés dans la bande de conduction du TiO₂ où ils peuvent être facilement récupérés par les molécules d'oxygène et ainsi produire des radicaux réactifs (Chen *et al.*, 2010).

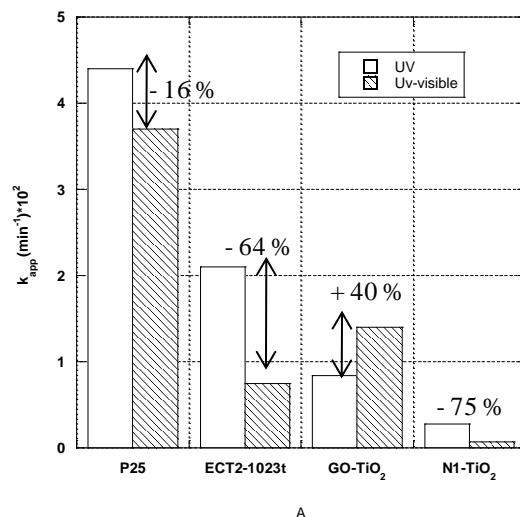


Figure V. 3 : Constantes cinétiques apparentes de la réaction de dégradation de l'E2 sous irradiation UV (280-400 nm) et sous UV-visible (200 nm-30 μ m)

Les résultats obtenus ici montrent que le GO-TiO₂ présente une activité photocatalytique vers les longueurs d'onde proches du visible pour la dégradation de l'E2. Cependant avec le bisphénol A dans les mêmes conditions d'irradiation que l'E2 (chapitre IV), le GO-TiO₂ a présenté une activité photocatalytique négligeable vers les longueurs d'onde proches du visible. Au vu de ces résultats, il n'est pas aisé de conclure sur l'activité des catalyseurs des partenaires sous irradiations visibles. Les résultats peuvent diverger d'une molécule à l'autre et les espèces réactives générées par les catalyseurs sous cette gamme d'irradiation peuvent également être différentes réagissant plus ou moins facilement avec la molécule cible.

Des conclusions de nature ambivalente sur l'activité photocatalytique des catalyseurs furent également exposées par Rachel *et al.*, 2002 et Vamathevan *et al.*, 2004. En effet, Rachel *et al.*, (2002) ont comparé l'activité photocatalytique du P25 et des catalyseurs TiO₂ Millenium PC50, PC100, PC105 et PC500 pour la dégradation respective de l'acide 3-nitrobenzènesulfonique (3-NBSA) et de l'acide 2,5-anilinedisulfonique (2,5-ADSA) (même ratio polluant/catalyseur pour tous les composés, $300 \text{ nm} \leq \lambda \leq 450 \text{ nm}$). Ils ont trouvé que le P25 était le plus efficace pour la dégradation du 3-NBSA mais par contre le PC500 est plus efficace pour la dégradation du 2,5-ADSA. Vamathevan *et al.*, (2004) ont comparé l'activité du P25 et celle du P25 imprégné d'argent pour la dégradation du sucrose, de l'acide salicylique et du phénol (même ratio polluant/catalyseur pour tous les composés, $300 \text{ nm} \leq \lambda \leq 400 \text{ nm}$). Les résultats obtenus ont montré que pour la dégradation du sucrose, la constante cinétique apparente est multipliée par 4 avec le P25 imprégné d'argent en comparaison de

celle obtenue avec le P25. Cependant pour la dégradation des autres composés, l'activité photocatalytique des deux catalyseurs est comparable. Ainsi, les résultats des études précédentes citées ici et les résultats obtenus sur la dégradation de l'E2 et du BPA mettent en évidence que l'efficacité photocatalytique d'un catalyseur dépend également du composé à traiter.

III.3. Efficacité des catalyseurs sous irradiations visible

Pour évaluer l'efficacité des catalyseurs dans le visible (420-630 nm), la dégradation photocatalytique de la 17 β -œstradiol a été effectuée en utilisant les miroirs dichroïques à bande passante pour le visible et un filtre coupant les UV.

Au cours du traitement photocatalytique, il n'y a pas eu de dégradation significative de l'E2 avec tous les catalyseurs testés (P25, ECT-1023t, N1-TiO₂ et GO-TiO₂). Ainsi, il peut être conclu que dans les conditions expérimentales de cette étude, les catalyseurs sont efficaces pour les longueurs d'onde inférieures à 420 nm.

III.4. Conclusion sur l'efficacité des catalyseurs

L'efficacité des catalyseurs N1-TiO₂, ECT2-1023t et GO-TiO₂ pour la dégradation photocatalytique de la 17 β -œstradiol a été évaluée en comparaison à celle du P25. La dégradation photocatalytique avec les catalyseurs a été faite respectivement sous irradiation solaire simulée (UV-visible), sous UV et dans le visible. Les résultats obtenus ont montré que les catalyseurs ECT2-1023t et GO-TiO₂ permettent une dégradation significative de l'E2. Sous UV du spectre solaire simulé, 77 et 48 % d'E2 sont dégradés respectivement avec l'ECT2-1023t et le GO-TiO₂ et sous irradiation solaire simulée (UV-visible) 40 et 59 % d'E2 sont dégradés respectivement avec l'ECT2-1023t et le GO-TiO₂. La baisse d'efficacité de l'ECT2-1023t sous irradiation UV-visible en comparaison à l'irradiation en UV a été attribuée à la baisse d'intensité en UV dans l'irradiation UV-visible. Cependant avec le GO-TiO₂, l'efficacité a augmenté en UV-visible en comparaison à celle sous UV. Ce gain d'efficacité du GO-TiO₂ en UV-visible a été attribué à une activité photocatalytique du catalyseur GO-TiO₂ dans le visible. Ainsi, pour la dégradation photocatalytique de l'E2, le GO-TiO₂ est actif vers les longueurs d'onde proches du visible. Cependant avec le bisphénol A et dans les mêmes conditions d'irradiation que l'E2, le GO-TiO₂ n'a pas été aussi efficace.

Ainsi en conclusion, les catalyseurs ECT2-1023t et GO-TiO₂ présentent une efficacité photocatalytique avérée sous irradiation solaire. Cependant l'activité photocatalytique de ces catalyseurs dépend également des composés étudiés.

IV. Evaluation de l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels de la 17 β -œstradiol

La dégradation photocatalytique de l'E2 sous UV (280-400 nm) du spectre solaire simulé a été faite en utilisant respectivement les catalyseurs P25, ECT2-1023t, GO-TiO₂ et N1-TiO₂ (paragraphe III). Il a été observé qu'au bout d'une heure, l'E2 est dégradé à 98 %, 77 %, 48 % et à 27 % avec les catalyseurs P25, ECT2-1023t, GO-TiO₂ et N1-TiO₂ respectivement et qu'au bout de 80 minutes avec le P25 et de 180 minutes avec l'ECT2-1023t, la concentration en E2 en solution est inférieure à la limite de détection de l'appareil ($LD \leq 12 \mu\text{g/L}$).

Cependant, l'E2 est un composé avec une activité œstrogénique importante même à de faibles concentrations de l'ordre du ng/L (Kramer *et al.*, 1998). Par exemple, Kang *et al.*, (2002) ont montré que les poissons medaka mâles exposés à une concentration de 29 ng/L d'E2 ont au niveau des gonades des ovules qui apparaissent au bout de 21 jours (« Testis-ova »). Ainsi dans notre cas d'étude, même si l'E2 n'est plus détecté en solution au cours du traitement photocatalytique, cela ne garantit pas la disparition de l'effet œstrogénique.

Par ailleurs, des intermédiaires présentant un effet œstrogénique plus important que l'E2 peuvent se former au cours du traitement photocatalytique. Il peut également avoir un « effet cocktail » des composés présents en solution. C'est-à-dire une addition des effets œstrogéniques de la 17 β -œstradiol et de ceux de ses intermédiaires réactionnels.

Pour toutes les raisons précédemment évoquées, l'effet œstrogénique de la solution d'E2 est examiné au cours des traitements photocatalytiques réalisés dans cette présente étude. Et puisque sous UV des pourcentages de dégradation plus élevés sont obtenus avec le P25 et l'ECT2-1023t, l'effet de perturbation endocrinienne de la solution de 17 β -œstradiol traitée par photocatalyse avec ces catalyseurs (P25 et ECT2-1023t) est évalué en comparaison à celui d'une solution d'E2 uniquement. L'objectif est d'évaluer l'efficacité du procédé photocatalytique à éliminer l'effet de perturbation endocrinienne et aussi de comparer les catalyseurs en termes d'effet des intermédiaires générés.

IV.1. Conditions particulières spécifiques du test de perturbation endocrinienne

L'effet des intermédiaires de la 17 β -œstradiol est évalué par le test élaboré par la société « Wachtfrog » décrit au chapitre II. En plus des expériences décrites au chapitre II dans ce test évaluant l'effet de perturbation endocrinienne, un contrôle supplémentaire est ajouté ici pour les intermédiaires de l'E2. Ce contrôle supplémentaire consiste à mettre en contact des alevins et un échantillon dopé en testostérone et en prochloraz dans le but

d'observer les effets anti-œstrogéniques. La prochloraz est un inhibiteur de l'aromatase, il empêche la production endogène de la 17 β -œstradiol (Ankel *et al.*, 2005). Ainsi, si la fluorescence des alevins en contact avec les échantillons traités dopés en testostérone est statistiquement comparable de celle des alevins en contact avec une solution dopée en testostérone et en prochloraz, les composés contenus dans l'échantillon traité peuvent être considérés comme des inhibiteurs de l'activité de l'aromatase.

Le but et les objectifs de chacune des expériences réalisées au cours du test évaluant l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires de l'E2 sont présentés Tableau V. 6. Les échantillons dont l'effet œstrogénique est évalué sont ceux prélevés au cours du traitement photocatalytique de l'E2 avec les catalyseurs P25 et ECT2-1023t à des temps respectifs de 15, 30 et 180 minutes ainsi que 25, 50 et 240 minutes. Le contenu de ces échantillons en termes de concentration en E2, de pourcentage de conversion et de minéralisation de l'E2 sont donnés Tableau V. 7. L'effet œstrogénique de chacun de ces échantillons est comparé à celui d'un échantillon d'une solution d'E2 et aussi entre eux dans le but de voir l'évolution de l'effet œstrogénique au cours du traitement photocatalytique et aussi l'évolution de l'effet œstrogénique en fonction du catalyseur utilisé.

Tableau V. 6 : Description des échantillons lors de l'évaluation de l'effet œstrogénique

| | Composition | Objectifs |
|---|--|--|
| Contrôle négatif | Alevins, 8 mL d'eau pure | Indique le niveau de base de fluorescence des alevins |
| Contrôle positif 1 | Alevins, 8 mL d'EE2 à 0,488 μ g/L | Indique le niveau de fluorescence des alevins mis en contact avec un perturbateur endocrinien |
| Contrôle positif 2 | Alevins, 8 mL de testostérone à 30 μ g/L | Indique le niveau d'activité de l'aromatase dans un échantillon témoin |
| Contrôle positif 3 | Alevins, 8 mL de testostérone à 30 μ g/L et à 100 μ g/L en prochloraz | Indique le niveau d'inhibition de l'activité de l'aromatase par un composé reconnu comme inhibiteur de l'expression de l'aromatase |
| Echantillon brut | Alevins, échantillon prélevé au cours de l'irradiation de l'E2 | Indique l'effet œstrogénique de l'échantillon traité |
| Echantillon dopé à la testostérone | Alevins, échantillon prélevé au cours de l'irradiation de l'E2, 30 μ g/L de testostérone | Indique l'effet de l'échantillon traité sur l'activité enzymatique de l'aromatase |

EE2 : éthynyl-œstradiol

Tableau V. 7 : Concentration en E2, pourcentage de minéralisation et de conversion de l'E2 dans les échantillons testés pour évaluer l'effet œstrogénique

| | P25 | | | ECT-1023t | | |
|---------------------------------|--------|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | 15 min | 30 min | 180 min | 25 min | 50 min | 240 min |
| [E2] μg/L | 500 | 253 | < LD | 438 | 255 | < LD |
| % de conversion | 54 | 77 | 99 | 51 | 71 | 99 |
| % de minéralisation | 27 | 29 | 55 | 14 | 18 | 50 |

IV.2. Résultats du test évaluant l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels de la 17 β -œstradiol

Le niveau de fluorescence des alevins exposés aux échantillons de la solution d'E2 traitée par photocatalyse a été mesuré. Les résultats obtenus pour les alevins exposés aux échantillons traités par photocatalyse avec le catalyseur P25 sont présentés Figure V. 4 et ceux obtenus avec le catalyseur ECT2-1023t sont présentés Figure V. 5. Dans ces figures, plusieurs lectures de réponse sont faites :

- 1) dans les Figures V. 4 (a) et V. 5 (a) : la fluorescence des alevins exposés à une eau pure est comparée à celle des alevins exposés à la solution d'EE2 et à celle des alevins exposés aux échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique (étoile noire). De même, la fluorescence des alevins exposés aux échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique est comparée à celle des alevins exposés à la solution d'EE2 (étoile rouge).
- 2) dans les Figures V. 4 (b) et V. 5 (b) : la fluorescence des alevins exposés à l'eau dopée en testostérone est comparée à celle des alevins exposés à la solution d'EE2 + testostérone, à la solution de prochloraz + testostérone et aux échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique dopés en testostérone (étoile verte).

Les échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique sont également comparés entre eux et ces mêmes échantillons dopés en testostérone sont comparés entre eux (étoile bleue).

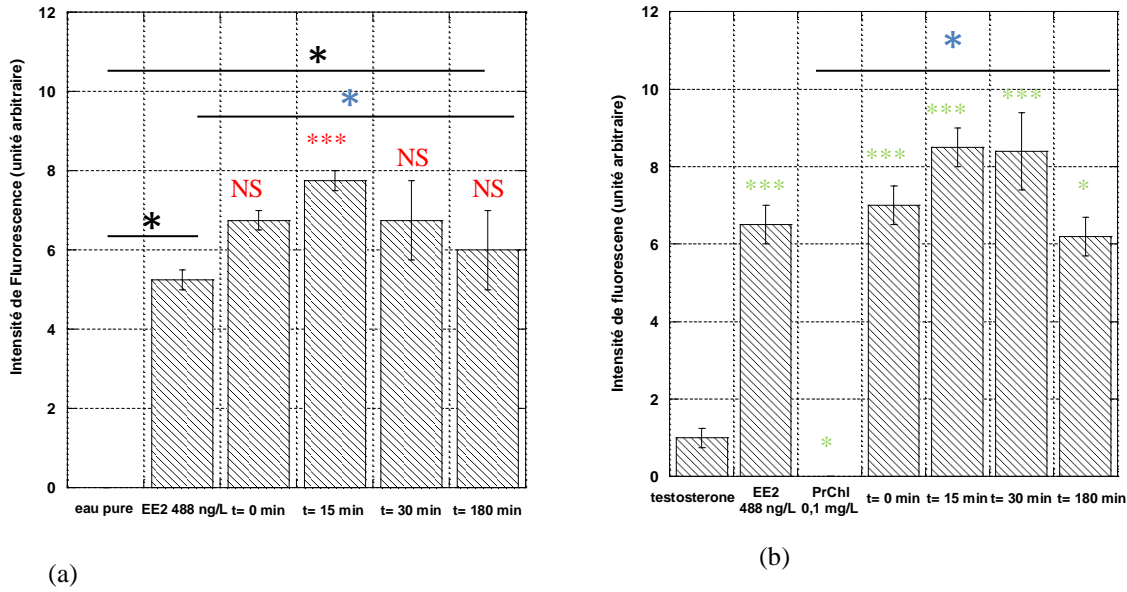


Figure V. 4 : Fluorescence des alevins exposés aux échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique avec le catalyseur P25 échantillon pur (a) et échantillon dopé à la testostérone (b) (NS : non significatif ($p \geq 0,05$), * : significatif ($p < 0,05$), *** : extrêmement significatif ($p < 0,001$), EE2 : éthynyl-œstradiol et PrChl : prochloraz)

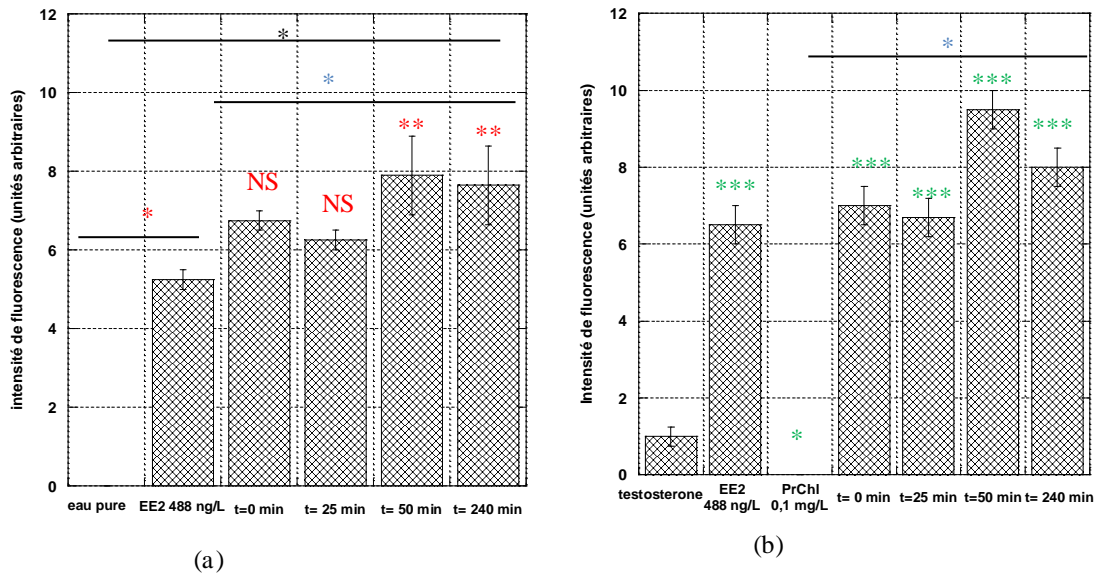


Figure V. 5 : Fluorescence des alevins exposés aux échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique avec le catalyseur ECT2-1023t, échantillon pur (a) et échantillon dopé à la testostérone (b) (NS : non significatif ($p \geq 0,05$), * : significatif ($p < 0,05$), *** : extrêmement significatif ($p < 0,001$), EE2 : éthynyl-œstradiol et PrChl : prochloraz)

D'après les résultats présentés sur les Figures V. 4 et V. 5, la fluorescence des alevins exposés à la solution de E2 (1000 $\mu\text{g/L}$, $t= 0$ min) a une amplitude différente de celle obtenue dans le contrôle négatif. De plus, cette fluorescence est amplifiée par le co-traitement avec la testostérone en comparaison au contrôle positif 2. Le niveau de risque est 2, l'E2 perturbe l'axe œstrogénique des alevins ainsi que l'activité de l'enzyme aromatasase. Ces résultats confirment le caractère de perturbateur endocrinien de l'E2 déjà démontré dans d'autres études (Kramer *et al.*, 1998, Kang *et al.*, 2002).

Les échantillons prélevés respectivement aux temps $t= 15$, 30 et 180 minutes lors du traitement photocatalytique avec le P25 (Figure V. 4) induisent un niveau de fluorescence des alevins différent du contrôle négatif. En co-incubation avec la testostérone, ils induisent également un niveau de fluorescence significativement différent de celui du contrôle positif 2. Le niveau de risque est 2, les composés contenus dans cet échantillon sont des perturbateurs de l'axe œstrogénique. Ainsi, le traitement photocatalytique n'a pas permis une élimination de l'effet de perturbation endocrinienne. Par ailleurs, la plus faible concentration d'E2 à laquelle la fluorescence des alevins est observée (LOEC) est de 0,17 $\mu\text{g/L}$ (Kurauchi *et al.*, 2005) et pour les échantillons prélevés à $t= 15$ min et $t= 30$ min, la concentration en E2 est respectivement de 500 $\mu\text{g/L}$ et de 253 $\mu\text{g/L}$. Ainsi l'effet œstrogénique observé peut être attribué à la concentration en 17 β -œstradiol résiduelle en solution. Toutefois, en comparaison à la solution en E2 ($t= 0$ min), l'échantillon prélevé après 15 minutes de traitement ($t=15$ min) induit une fluorescence des alevins statistiquement supérieure ($p<0,05$, étoile bleue) et en comparaison à la solution d'E2 dopée en testostérone, cet échantillon dopé en testostérone induit également une fluorescence statistiquement supérieure ($p<0,05$, étoile bleue). Il peut être déduit qu'à $t = 15$ min, il y a une augmentation de l'effet œstrogénique. Cette augmentation de l'effet œstrogénique peut être due à la formation d'intermédiaires réactionnels ayant un effet de perturbation endocrinienne plus important que celui de l'E2 ou à un « effet cocktail » des composés présents dans l'échantillon prélevé à 15 minutes.

La formation d'intermédiaires réactionnels avec un effet œstrogénique a déjà été rencontrée dans le traitement de l'E2 par des procédés d'oxydation. Par exemple, Bila *et al.*, (2007) ont observé en utilisant le test « Recombinant Yeast Assay » (YES) une augmentation de l'effet œstrogénique lors du traitement de l'E2 par ozonation ($[\text{E2}] = 10\text{-}50$ $\mu\text{g/L}$, O_3 5 g.h^{-1}). Dans une autre étude, Maniero *et al.*, (2008) ont aussi observé une augmentation de l'effet œstrogénique en utilisant le test YES lors du traitement de l'E2 respectivement par ozonation et par ozonation avec du peroxyde d'oxygène ($[\text{E2}] = 10$ $\mu\text{g/L}$, O_3 5 g.h^{-1}). Les auteurs cités précédemment ont étudié le traitement de l'E2 par ozonation en fonction du pH (3, 7 et 11).

Dans les deux études, l'augmentation de l'effet œstrogénique a été observée pour des pH basiques (pH 7 et 11). A pH acide (pH 3), ils ont observé une diminution de l'effet œstrogénique. Cette différence dans l'évolution de l'effet œstrogénique au cours des traitements d'ozonation à différents pH a été attribuée aux oxydants (O_3 ou OH^\bullet) qui peuvent être différents en fonction du pH et ainsi à la formation d'intermédiaires réactionnels différents. En effet, dans le procédé d'ozonation les oxydants majoritaires sont O_3 et OH^\bullet . Lorsque le pH augmente, la formation des radicaux OH^\bullet est favorisée. Pour des pH acides, les composés sont oxydés principalement par O_3 . Ainsi, à pH 3, l'ozone est l'oxydant qui réagit avec l'E2, il réagit avec les doubles liaisons du cycle du phénol et le détruit. A pH 7 et 11, le radical OH^\bullet réagit avec l'E2, il y a des adduits d'OH, le groupement phénol n'est pas détruit (Bila *et al.*, 2007, Maniero *et al.*, 2008). Il a été démontré que dans la molécule d'E2, le groupement phénol est responsable de l'effet œstrogénique. Le groupe phénol se lie aux récepteurs d'œstrogènes et entraîne une réponse œstrogénique (Brzozowski *et al.*, 1997, Birkett et Lester, 2003). Comme le groupement phénol n'est pas détruit à pH 7 et 11 lors de traitement de l'E2 par ozonation, l'effet œstrogénique persiste en solution (Bila *et al.*, 2007, Maniero *et al.*, 2008).

Dans cette présente étude, l'E2 est traité par photocatalyse et dans le procédé de traitement par photocatalyse, le radical OH^\bullet fait partie des espèces réactives formées. Il peut alors être supposé que dans les échantillons prélevés après 15 et 30 minutes de traitement, le groupement phénolique de l'E2 n'est pas détruit par l'attaque des espèces réactives oxygénées d'où la persistance de l'effet œstrogénique. Par contre dans les études faites par Ohko *et al.*, (2002) et Rosenfeldt *et al.*, (2007) où l'E2 est traitée respectivement par photocatalyse (lampe He-Xe, $[E2]/P25= 10^{-9}$ mol/mg) et par UV et UV/ H_2O_2 (lampe à moyenne pression 1 kW, $[E2]= 5 \mu M$), il a été observé que les intermédiaires réactionnels n'ont pas d'effet œstrogénique. Ces résultats laissent à penser que les intermédiaires formés dans les études faites par Ohko *et al.*, (2002) et Rosenfeldt *et al.*; (2007) sont différents de ceux présents dans les échantillons prélevés respectivement après 15 et 30 minutes de traitement photocatalytique avec le P25.

Pour l'échantillon prélevé après 180 minutes de traitement, il est observé une baisse de la fluorescence des alevins. En effet, en comparaison aux fluorescences des alevins induites respectivement par la solution d'E2 et par la solution d'E2 dopée en testostérone, les fluorescences des alevins induites respectivement par cet échantillon pur et par ce même échantillon dopé en testostérone sont statistiquement inférieures ($p < 0,05$, étoile bleue). Ce qui

suggère que l'échantillon prélevé à 180 minutes a un effet œstrogénique moins important. Ainsi, bien que le traitement photocatalytique de la solution d'E2 avec le catalyseur P25 n'ait pas éliminé totalement l'effet de perturbation endocrinienne de la solution, il a conduit à une diminution de l'effet œstrogénique.

Pour la solution traitée avec le catalyseur ECT2-1023t (Figure V. 5), le niveau de fluorescence des alevins induit respectivement par les échantillons prélevés à t= 25, 50 et 240 minutes est statistiquement différent du contrôle négatif. En co-incubation avec la testostérone, le niveau de fluorescence des alevins induits par ces échantillons est également différent du contrôle positif 2. Ainsi, les composés présents dans l'échantillon ont un effet de perturbation endocrinienne. Dans l'échantillon prélevé à 25 minutes la concentration en E2 est de 438 $\mu\text{g/L}$ et dans l'échantillon prélevé à 50 minutes la concentration en E2 est de 255 $\mu\text{g/L}$. La fluorescence des alevins induite par ces échantillons peut être attribuée à l'E2 restant en solution. Pour l'échantillon prélevé à 240 minutes, il est observé que ce dernier induit une fluorescence des alevins supérieure à celle induite par la solution d'E2 avant le traitement photocatalytique. Ainsi, l'effet œstrogénique après 240 minutes de traitement avec l'ECT2-1023t est plus important que celui de la solution avant le traitement photocatalytique (t= 0 min).

D'autre part, quelque soit le catalyseur utilisé (P25 ou ECT2-1023t), les échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique et dopés en testostérone, induisent un niveau de fluorescence comparable ou supérieure à celui du contrôle positif 2 et une fluorescence différente de celle du contrôle positif 3. Il peut être déduit que les composés présents dans ces échantillons ne sont pas des inhibiteurs de l'activité de l'aromatase.

IV.3. Conclusion sur l'effet de perturbation endocrinienne des intermédiaires réactionnels

L'effet des intermédiaires de la 17 β -œstradiol générés lors du traitement photocatalytique avec les catalyseurs P25 et ECT2-1023t a été évalué par le test élaboré par la société « Wacthfrog ». Un résumé des résultats de ce test est présenté Tableau V. 8. Bien que la 17 β -œstradiol ait été complètement dégradée, le traitement par photocatalyse avec les catalyseurs ECT2-1023t et P25 n'a pas conduit à l'élimination de l'effet œstrogénique en solution. Ainsi, avec les deux catalyseurs il y a eu formation d'intermédiaires réactionnels ayant un effet œstrogénique. L'effet œstrogénique de l'E2 est dû à la l'interaction du groupe phénolique avec les récepteurs d'œstrogènes (Brzozowski *et al.*, 1997, Birkett et Lester, 2003). Comme les intermédiaires formés lors de la dégradation photocatalytique de l'E2 avec

le P25 et l'ECT-1023t présentent un effet œstrogénique, il est alors supposé que dans les conditions expérimentales de cette présente étude, la rupture du groupement phénolique n'est pas un mécanisme prioritaire. Ceci expliquerait la persistance de l'effet œstrogénique après le traitement photocatalytique. Pour vérifier cette affirmation, les intermédiaires réactionnels formés dans cette présente étude sont étudiés dans les paragraphes suivants.

Tableau V. 8 : Résultats du test sur l'effet œstrogénique des intermédiaires réactionnels de l'E2 générés lors de la dégradation photocatalytique de l'E2 sous UV

| | Durée d'irradiation | % de conversion de l'E2 | % de minéralisation de l'E2 | Niveau du risque d'effet œstrogénique | Conclusion |
|------------------|----------------------------|--------------------------------|------------------------------------|--|----------------------------|
| ECT-1023t | 25 min | 51 | 14 | niveau 2 | Perturbation endocrinienne |
| | 50 min | 71 | 15 | niveau 2 | Perturbation endocrinienne |
| | 240 min | 99 | 55 | niveau 2 | Perturbation endocrinienne |
| P25 | 15 min | 54 | 27 | niveau 2 | Perturbation endocrinienne |
| | 30 min | 77 | 29 | niveau 2 | Perturbation endocrinienne |
| | 180 min | 99 | 55 | niveau 2 | Perturbation endocrinienne |

V. Etudes des intermédiaires réactionnels de la 17 β -œstradiol

Dans le paragraphe précédent, l'effet œstrogénique des intermédiaires formés lors de la dégradation photocatalytique de la 17 β -œstradiol a été évalué. Les résultats ont montré que l'effet œstrogénique persiste en solution au cours du traitement photocatalytique. Pour comprendre pourquoi l'effet œstrogénique persiste en solution, la structure chimique des intermédiaires réactionnels est étudiée et comparée à celle de l'E2. Pour cela, les échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique de l'E2 sont analysés par infusion sur le système Thermo Fischer décrit au chapitre II. Ces analyses ont été effectuées au département environnement de l'Institut Départemental d'Analyse et de Conseil de Loire Atlantique (IDAC) en collaboration avec des membres de ce département.

V.1.Détermination des intermédiaires réactionnels par infusion

L'infusion est réalisée afin d'identifier les composés formés lors de la dégradation photocatalytique de la 17 β -œstradiol (E2). Au chapitre II, il a été observé au travers de la revue bibliographique que l'interface ESI- est la plus appropriée et la plus performante pour l'analyse de l'E2, le pic est plus intense et le rapport signal sur bruit plus élevé (Stavarakakis *et al.*, 2008). Pour cette raison le mode négatif est sélectionné pour l'ionisation de la 17 β -œstradiol et de ses intermédiaires réactionnels. En infusion, les échantillons prélevés pendant le traitement photocatalytique de l'E2 sont dilués puis directement injectés dans le spectromètre de masse en tandem avec un débit de la phase mobile de 0,2 mL/min. La phase mobile utilisée ici est un mélange eau/acétonitrile acidifié à 0,1 % d'acide formique (50/50 en v/v). Après l'injection, les ions parents présents dans les échantillons sont identifiés ([M-H]). Puis, les paramètres de nébulisation/désolvatation sont déterminés et optimisés dans les conditions optimales pour l'ensemble des ions parents présents dans les échantillons. Les paramètres de nébulisation/désolvatation obtenus sont présentés Tableau V. 9.

Tableau V. 9 : Paramètres de nébulisation/désolvatation obtenus en infusion des échantillons prélevés lors du traitement photocatalytique de l'E2

| Paramètres de nébulisation/désolvatation | Valeurs |
|---|----------------|
| Tension électrique du spray | 3500 V |
| Pression en azote | 40 psi |
| Pression auxiliaire en azote | 15 psi |

Une fois les paramètres de nébulisation/désolvatation fixés, la fragmentation des ions parents en ions fils est réalisée. Cette fragmentation se fait en appliquant une énergie de collision de 15 eV à chaque ion parent. La fragmentation des ions parents en ions fils permet d'identifier le composé, de déterminer la structure chimique.

Dans le Tableau V. 10, les ions parents présents dans les échantillons traités et les ions fils majoritaires obtenus sont présentés. Un spectre de fragmentation de chaque ion parent est également donné en annexe 3.

Tableau V. 10 : Ions parents présents dans les échantillons prélevés pendant le traitement photocatalytique de l'E2 et ions fragments majoritaires associés

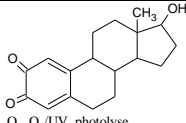
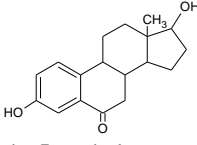
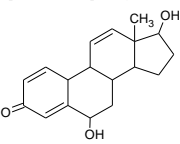
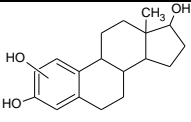
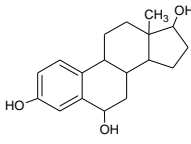
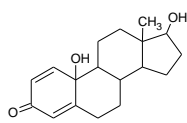
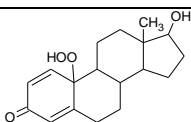
| Composé (masse molaire en g/mol) | Ion parent [M-H]⁻ (m/z) | Ion fragment (m/z) |
|---|---|-------------------------------|
| 17β-œstradiol (272) | 271 | 183 |
| | | 145 |
| | | 143 |
| | | 269 |
| Produit 1 (288) | 287 | 269 |
| | | 259 |
| | | 243 |
| | | 225 |
| Produit 2 (304) | 303 | 285 |
| | | 269 |
| | | 259 |
| | | 241 |
| Produit 3 (320) | 319 | 301 |
| | | 283 |
| | | 275 |
| | | 247 |
| Produit 4 (286) | 285 | 267 |
| | | 259 |
| | | 241 |
| | | 223 |
| Produit 5 (302) | 301 | 283 |
| | | 257 |
| | | 259 |
| | | 145 |
| Produit 6 (318) | 317 | 299 |
| | | 281 |
| | | 273 |
| | | 255 |

V.2. Identification des intermédiaires réactionnels

Dans cette présente étude, 6 composés sont détectés comme intermédiaires réactionnels formés lors de la dégradation photocatalytique de la 17 β -œstradiol. Ces composés ont pour ions parents respectifs les ions de masse m/z de 285, 287, 301, 303, 317 et 319. Des ions de masse atomique m/z 285, 287 et 303 ont déjà été rencontrés lors du traitement de l'E2 en utilisant les procédés d'oxydation avancés (photocatalyse, ozonation, H₂O₂/UV, photo fenton etc...). Les structures chimiques proposées pour ces ions parents sont données Tableau V. 11. Par contre les ions de masse atomique m/z 301, 317 et 319 n'ont pas encore été détectés comme intermédiaires.

La suite de cette partie va tenter de déterminer la structure chimique des six composés détectés lors du traitement photocatalytique de l'E2 réalisé dans cette présente étude.

Tableau V. 11 : Exemples d'intermédiaires réactionnels de la 17 β -œstradiol rencontrés lors des procédés de traitement par oxydation

| | Structures chimiques | Références |
|--|---|--|
| <p>[M-H]⁻ m/z 285, M= 286 g/mol</p> |  <p>O₃, O₃/UV, photolyse</p>  <p>photo-Fenton, photolyse</p>  <p>photolyse</p> | <p>Irmak <i>et al.</i>, 2005 Mazellier <i>et al.</i>, 2008 Zhao <i>et al.</i>, 2008</p> |
| <p>[M-H]⁻ m/z 287, M= 288 g/mol</p> |  <p>O₃, TiO₂/UV, photo-Fenton</p>  <p>photo-Fenton, photolyse</p>  <p>O₃, TiO₂/UV, photo-Fenton</p> | <p>Ohko <i>et al.</i>, 2002 Irmak <i>et al.</i>, 2005 Mazellier <i>et al.</i>, 2008 Mai <i>et al.</i>, 2008 Zhao <i>et al.</i>, 2008</p> |
| <p>[M-H]⁻ m/z 303, M= 304 g/mol</p> |  <p>TiO₂/UV</p> | <p>Mai <i>et al.</i>, 2008 Zhao <i>et al.</i>, 2008</p> |

- Structures chimiques proposées pour le composé avec pour masse molaire 288

Entre l'ion parent de masse m/z 287 et l'ion parent de l'E2 (m/z 271), il y a une différence de 16 unités. Cette différence pourrait être due à un adduit d'OH comme le montre les structures proposées Tableau V. 11 pour l'ion parent à m/z 287.

Dans le spectre de fragmentation du composé de masse molaire 288 obtenu dans cette présente étude, des ions fils de masse atomique 269 et 259 sont observés. Ces ions fils proviennent respectivement d'une perte H₂O et d'une perte CO sur l'ion parent à m/z 287. Ainsi, les structures proposées dans le Tableau V. 11 pour le composé avec pour masse molaire 288 peuvent être celles du composé avec pour masse molaire 288 obtenu dans cette présente étude (Figure V. 6).

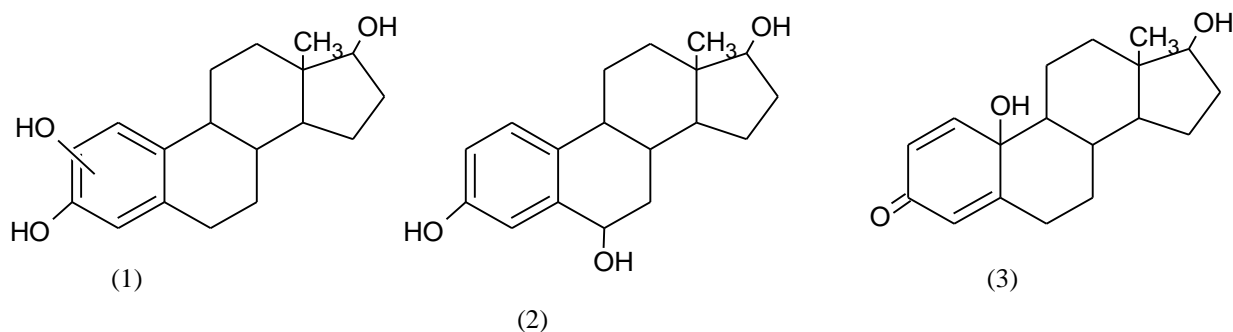


Figure V. 6 : Structure possible pour le composé de masse molaire 288

En plus du spectre de fragmentation, les structures chimiques proposées (1 et 2) pour le composé de masse atomique molaire 288 peuvent être justifiées par l'effet œstrogénique de la solution d'E2 qui persiste en solution au cours du traitement photocatalytique. En effet, en comparaison à la structure chimique de l'E2, le groupe phénol est toujours présent. Dans les composés avec pour ion parent de masse atomique m/z égale à 287 (Figure V. 6(1) et V. 6(2)), il y a toujours des groupements OH qui peuvent former des liaisons hydrogènes, se lier aux récepteurs d'œstrogènes puis induire l'effet œstrogénique observé. De plus dans les études de traitement de l'E2 par procédés d'oxydation dans lesquelles l'effet œstrogénique persistait, le composé 2-hydroxy-œstradiol (Figure V. 6(1)) a été détecté en solution (Bila *et al.*, 2007, Maniero *et al.*, 2008). Par exemple, dans l'étude faite par Bila *et al.*, (2007) précédemment présentée (paragraphe IV.2) et dans laquelle l'E2 a été traité par ozonation avec un suivi de l'effet œstrogénique, les auteurs ont également étudié les intermédiaires réactionnels. Ils ont identifiés le 2-hydroxy-œstradiol parmi les intermédiaires réactionnels.

Puis, ils ont étudié l'effet du 2-hydroxy-œstradiol sur le YES. Ils ont observé que ce composé induit un effet œstrogénique et qu'il était responsable de l'effet œstrogénique de la solution d'E2 traitée. Par contre, dans l'étude faite par Ohko *et al.* (2002) où le traitement photocatalytique de l'E2 a conduit à la disparition de l'effet œstrogénique, le 2-hydroxy-œstradiol n'a pas été identifié comme intermédiaire réactionnel. Les intermédiaires réactionnels identifiés par les auteurs sont le 10ε-17β-dihydroxy-1,4-œstradièn-3-one et le 0ε-hydroperoxide-17β-hydroxy-1,4-œstradièn-3-one. Dans ces intermédiaires identifiés par Ohko *et al.*, (2002) le groupe phénol n'est pas présent d'où l'absence d'effet œstrogénique.

Vu la fragmentation obtenue pour l'ion parent de masse atomique m/z 287 et l'effet œstrogénique persistant au cours du traitement photocatalytique dans cette présente étude, les structures chimique proposées pour le composé de masse molaire 288 sont justifiées.

- Structures chimiques proposées pour le composé de masse molaire 304.

La fragmentation obtenue pour ce composé est donnée dans le Tableau V. 10 et dans l'annexe 3. Il peut être observé qu'en fragmentation il y a une perte d'eau ; l'ion fils à masse atomique m/z 285 est formé ([M-H-18]). Il n'y a pas de perte de CO (perte de 28). Ainsi, le composé ayant pour masse molaire 304 ne possède pas de fonction cétone.

Par ailleurs, entre le composé de masse molaire 288 et celui de masse molaire 304, il y a une différence de 16 unités. Cette différence pourrait être due à un adduit de OH sur le composé à masse molaire 288. De plus, dans les spectres de fragmentation respectifs de ces composés (annexe 3), de mêmes ions fils sont observés (259 et 269). Aussi, ces observations suggèrent que les composés à masse molaire 288 et 304 ont la même base. Les structures chimiques possible pour le composé de masse molaire 303 sont données Figure 7.

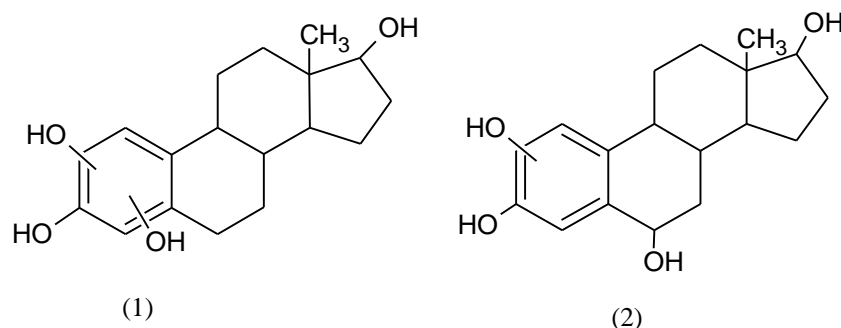


Figure V. 7 : Structure possible pour le composé de masse molaire 304

- Structures chimiques proposées pour le composé de masse molaire 320

Entre ce composé et celui de masse molaire 304, il existe une différence de 16 unités de masse. Cette différence correspond à un adduit d'OH. Le composé de masse molaire 320 serait alors formé après une hydroxylation du composé de masse molaire 304. Une structure possible pour ce composé est présentée Figure V. 8.

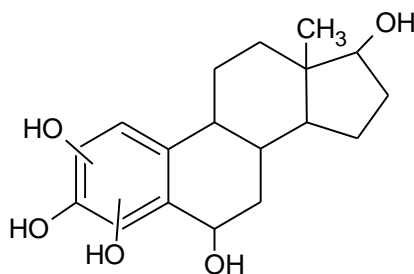


Figure V. 8 : Structure possible pour le composé de masse molaire 320

Le spectre de fragmentation du composé de molaire 320 est présenté en annexe 3 et les ions fils majoritaires dans le Tableau V. 10. Les ions fils de masse atomique m/z 301 et 283 proviennent respectivement d'une perte d'H₂O ([M-H-18]) et de deux pertes d'H₂O ([M-H-18-18]) sur l'ion parent à m/z 319. Cette fragmentation justifie la structure proposée pour le composé de masse molaire 320 (Figure V. 8).

- Formation des composés de masse molaire respective 286, 302 et 318

Les composés de masse molaire 286, 302 et 318 ont une différence de 2 unités de masse entre respectivement les composés de masse molaire 288, 304 et 320. Cette différence de masse pourrait être due à une déshydrogénation des composés avec pour masse molaire 288, 304 et 320. Cette déshydrogénation se retrouve également entre les ions fils (Tableau V. 10 et annexe 3).

La déshydrogénation pourrait avoir lieu au niveau des fonctions alcools. Il se formerait alors des cétones. Cependant dans le spectre de fragmentation des composés de masse molaire 286, 302 et 318, la perte de CO ([M-H-28]) n'est pas observée. Ce qui rend peu probable l'hypothèse de la déshydrogénation au niveau des fonctions alcools. Ainsi, les structures de ces composés restent inconnues.

V.3. Conclusion sur l'étude des intermédiaires réactionnels de la 17 β - α estradiol

Les échantillons prélevés au cours du traitement photocatalytique de la 17 β - α estradiol ont été analysés en infusion pour identifier les intermédiaires présents en solution. Six

produits majoritaires ont été détectés et les structures chimiques de trois d'entre eux ont été proposées. Le mécanisme de formation de ces intermédiaires réactionnels est principalement l'addition du radical OH^\bullet sur les sites actifs de la 17β-œstradiol (Figure V. 9). Dans ces conditions, le groupe phénol est toujours présent dans les intermédiaires réactionnels. Par ailleurs, ces intermédiaires possèdent des OH qui peuvent former des liaisons hydrogènes avec les récepteurs d'œstrogènes puis induire un effet œstrogénique.

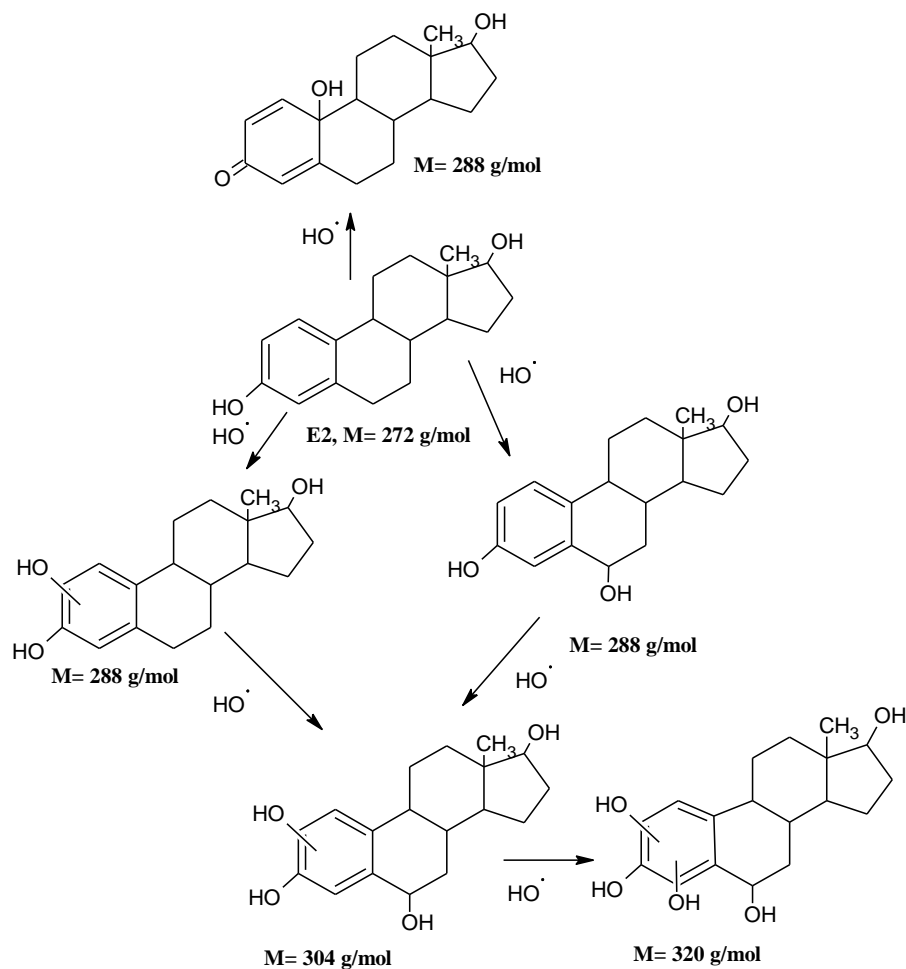


Figure V. 9 : Mécanisme et chemin réactionnel proposés pour la dégradation photocatalytique de la 17β-œstradiol

VI. Conclusion du chapitre

Dans ce chapitre, l'efficacité des catalyseurs N1-TiO₂, ECT2-1023t et GO-TiO₂ pour la dégradation photocatalytique de la 17β-œstradiol a été évaluée. La dégradation photocatalytique avec ces catalyseurs a été faite respectivement sous irradiation solaire simulée (UV-visible), sous UV et dans le visible. Puis les constantes cinétiques apparentes, les pourcentages de conversion ont été déterminés et comparés entre eux et aussi comparés à

ceux obtenus lors de la dégradation photocatalytique du bisphénol A. Au cours du traitement photocatalytique, l'effet œstrogénique de la solution a été également suivi et les intermédiaires réactionnels ont été étudiés. Les résultats obtenus sont les suivants :

- Les catalyseurs ECT2-1023t et GO-TiO₂ présentent une activité photocatalytique significative pour la dégradation de la 17 β -œstradiol dans l'UV et l'UV-visible (pourcentage de conversion au bout d'une heure de 77 et 48 % sous UV, 40 et 59 % sous UV-visible avec respectivement l'ECT2-1023t et le GO-TiO₂). Ils peuvent vraisemblablement être utilisés sous irradiation solaire dans le traitement photocatalytique de l'eau.
- Grâce aux feuillets de graphène qui jouent le rôle de sensibilisateur, le catalyseur GO-TiO₂ présente une activité photocatalytique vers les longueurs d'onde proches du visible pour la dégradation photocatalytique de la 17 β -œstradiol.
- L'évaluation de l'activité photocatalytique d'un catalyseur dépend du composé à dégrader. En effet pour la dégradation de la 17 β -œstradiol sous irradiation UV-visible, le GO-TiO₂ présente une activité photocatalytique significative alors que pour la dégradation photocatalytique du bisphénol A, il présente une activité photocatalytique négligeable dans les conditions de notre étude.
- Le traitement photocatalytique n'a pas conduit à l'élimination de l'effet œstrogénique. Bien que la 17 β -œstradiol ait disparue en solution, à la fin du traitement photocatalytique (180 minutes avec le P25 et 240 minutes avec l'ECT2-1023t), la solution traitée présente encore un effet de perturbation endocrinienne. Ainsi, au cours du traitement photocatalytique, il y a formation d'intermédiaires réactionnels présentant des effets œstrogéniques. Dans les intermédiaires identifiés, le groupe phénol est présent. Il y a présence de fonctions OH dans la structure de ces intermédiaires qui peuvent former des liaisons hydrogènes, interagir avec les récepteurs d'œstrogènes puis induire l'effet œstrogénique observé.

En somme, les catalyseurs ECT2-1023t et GO-TiO₂ présentent une activité photocatalytique sous irradiation solaire simulée pour la dégradation de l'E2. Cependant dans les conditions expérimentales de cette présente étude, le traitement photocatalytique ne conduit pas à l'élimination de l'effet œstrogénique. La persistance de l'effet œstrogénique au cours du traitement photocatalytique, montre une fois de plus l'importance d'allier les méthodes biologiques aux méthodes physico-chimiques pour le suivi de l'efficacité des traitements appliqués aux polluants.

Par ailleurs, le fait que l'activité photocatalytique d'un catalyseur dépende du composé à dégrader, montre la complexité de mettre en place un procédé de traitement par photocatalyse efficace pour un mélange de composés. Une solution pour optimiser l'élimination de la pollution serait la mise en œuvre de plusieurs types de photocatalyseurs pour le traitement utilisant l'irradiation solaire et très certainement le couplage du procédé de traitement photocatalytique avec d'autres procédés de traitement

Conclusion générale

La revue de la littérature montre que les polluants émergents se retrouvent dans l'environnement à des concentrations de l'ordre du ng/L au µg/L. Les traitements conventionnels réalisés dans les stations d'épuration ne les éliminent pas complètement et ces composés sont alors rejetés dans l'environnement. Une possibilité pour limiter le rejet de ces composés par les effluents de station d'épuration, serait l'utilisation de procédés de traitement additionnels tels que les procédés d'oxydation avancés (PAOs).

Ce travail de thèse fait intégralement partie du projet Européen Clean Water. Ce projet Européen associant 7 entités, dont le GEPEA-Ecole des Mines de Nantes, a démarré en 2009. Le concept du projet est de développer des procédés photocatalytiques mettant en œuvre des nanomatériaux actifs sous la lumière solaire. Ces procédés visent à éliminer les polluants émergents tels que les perturbateurs endocriniens et les produits pharmaceutiques. Le projet a pour perspectives d'ouvrir des voies additionnelles possibles de traitement et purification des eaux pour l'amélioration de la qualité des eaux de consommation ainsi que pour le respect de la qualité des eaux environnementales. Dans ce programme, le laboratoire GEPEA est concerné par l'évaluation de l'efficacité des matériaux vis-à-vis de l'élimination des polluants émergents sous irradiations UV et visibles.

L'objectif du travail présenté dans ce manuscrit a été d'évaluer l'activité photocatalytique des catalyseurs fabriqués par les partenaires du projet Clean Water avec comme polluants modèles la tétracycline, le bisphénol A et la 17β-œstradiol. Pour cela, une démarche d'évaluation a été mise en place. La méthodologie d'évaluation élaborée intègre non seulement les constantes cinétiques de dégradation des contaminants, les taux de conversion et de minéralisation des contaminants, mais aussi le possible impact environnemental des intermédiaires réactionnels formés (effet toxique, effet œstrogénique, leur rémanence dans l'environnement). Dans la méthodologie expérimentale développée, la structure et les mécanismes de formation des intermédiaires réactionnels ont été également étudiés.

Pour répondre aux objectifs de la méthodologie générale, des méthodes analytiques notamment la chromatographie liquides couplées respectivement au détecteur UV et à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC-UV et CL-SM/SM) ont été développées. Ces méthodes d'analyse ont permis de suivre les contaminants et d'identifier les intermédiaires réactionnels au cours du traitement photocatalytique. La CL-SM/SM a été développée en collaboration avec l'Institut Départemental d'Analyse et de Conseil de Loire Atlantique (IDAC). Des méthodes pour évaluer respectivement la toxicité, l'effet œstrogénique et la biodégradabilité ont été également mises en place. La toxicité a été évaluée à l'aide de

bactérie du genre *Pseudomonas*. L'effet œstrogénique évalué en utilisant le test élaboré par la société Watchfrog et la biodégradabilité évaluée en utilisant le test de Sturm.

Dans un premier temps, la démarche d'évaluation de l'activité photocatalytique des catalyseurs a été testée sur la tétracycline en mettant en œuvre du dioxyde de titane P25 (TiO₂ P25, AEROXIDE®). La dégradation photocatalytique de ce composé a été étudiée en termes de pourcentage de conversion et de minéralisation, d'effet toxique et de biodégradabilité des intermédiaires réactionnels. Les résultats obtenus ont montré que les intermédiaires formés lors du traitement photocatalytique sont aussi peu biodégradables que l'hydrochlorure de tétracycline elle-même. Cependant ces intermédiaires sont moins toxiques que l'hydrochlorure de tétracycline sur les bactéries *P. aeruginosa*. Ces intermédiaires ne présentent pas non plus de perturbation sur l'activité de biodégradation de la biomasse d'une station d'épuration. L'identification des intermédiaires réactionnels a montré que ces derniers ont une structure semblable à celle de l'hydrochlorure de tétracycline. Ils sont formés soit par adduit du radical OH• sur les sites réactifs de l'hydrochlorure de tétracycline, soit par la réaction d'abstraction des atomes d'hydrogène par le radical OH• ou encore par la réaction de N-dealkylation.

Dans un second temps, la dégradation photocatalytique du bisphénol A et de la 17β-œstradiol a été effectuée afin d'évaluer l'activité photocatalytique des catalyseurs des partenaires du projet. Les catalyseurs des partenaires testés sont : le dioxyde de titane dopé à l'azote (N1-TiO₂), le dioxyde de titane mis en œuvre avec de l'oxyde de graphène (GO-TiO₂), le dioxyde de titane préparé par voie sol gel avec une sélection des agrégats par tamisage avant le traitement thermique (ECT-1023t). L'activité de ces catalyseurs a été comparée à celle du dioxyde de titane P25 commercialisé (TiO₂ P25, AEROXIDE®).

Les résultats obtenus dans le cas de l'étude de la dégradation photocatalytique du bisphénol A montrent que le catalyseur ECT2-1023t présente une efficacité en termes de constante cinétique de Langmuir-Hinshelwood comparable à celle du P25. Ce catalyseur s'est avéré être le plus efficace des catalyseurs élaborés par les partenaires pour la dégradation photocatalytique du bisphénol A. Le catalyseur N1-TiO₂ est actif vers le visible (< 420 nm) pour la dégradation de ce même composé par contre les autres catalyseurs (ECT2-1023t et GO-TiO₂) sont seulement actifs en UV (< 400 nm). Les intermédiaires réactionnels du bisphénol A formés lors du traitement photocatalytique avec respectivement le P25 et l'ECT2-1023t ont été étudiés et certains de ces intermédiaires ont pu être identifiés. Un mécanisme réactionnel a alors été proposé. Le suivi de l'effet œstrogénique a montré qu'en

utilisant le catalyseur ECT2-1023t, l'effet œstrogénique disparaît en solution au cours du traitement par contre lorsque le catalyseur P25 est utilisé dans les mêmes conditions d'irradiation (< 400 nm), la solution traitée de bisphénol A est soupçonnée de toujours avoir un effet œstrogénique. Ceci laisse à penser que les intermédiaires réactionnels formés respectivement avec les catalyseurs ECT2-1023t et P25 ne sont pas de même structure. Cette hypothèse a été en partie confirmée par l'analyse des intermédiaires réactionnels ; certains des intermédiaires détectés lors du traitement du bisphénol A avec le P25 n'ont pas été détectés en solution lors du traitement du bisphénol A avec l'ECT2-1023t. Ainsi, la nature des intermédiaires majoritaires issus de la dégradation photocatalytique du bisphénol A dépend du catalyseur utilisé.

Enfin, concernant la dégradation de la 17β -œstradiol, les résultats ont montré que sous UV (280-400 nm), le catalyseur ECT2-1023t est plus efficace que le GO-TiO₂ et le N1-TiO₂. Par contre sous UV-visible (200 nm-30 μ m) le catalyseur GO-TiO₂ est plus efficace que les catalyseurs ECT2-1023t et N1-TiO₂. Il a alors été conclu que le catalyseur GO-TiO₂ a une efficacité photocatalytique vis-à-vis de la dégradation de la 17β -œstradiol pour des longueurs d'onde proches du visible (< 420 nm). Cette activité du GO-TiO₂ dans le visible serait attribuée aux feuillets de graphène qui jouent un rôle de sensibilisateur du TiO₂. Cependant, il est à noter que l'activité du GO-TiO₂ dans le visible n'a pas été observée pour la dégradation du bisphénol A. Ces résultats suggèrent que l'évaluation de l'activité photocatalytique d'un catalyseur dépend grandement du composé à dégrader. Les résultats, du suivi de l'effet œstrogénique de la solution de 17β -œstradiol au cours du traitement photocatalytique sous UV (280-400 nm), ont montré qu'en solution il y a toujours des composés présentant un effet œstrogénique. Lors du traitement photocatalytique, la 17β -œstradiol est transformée en composés ayant également un rôle de perturbateur endocrinien. L'identification des intermédiaires a montré qu'au cours du traitement photocatalytique, le groupement phénol de la 17β -œstradiol n'est pas détruit, ceci expliquerait la persistance de l'effet œstrogénique.

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit, a permis d'attester l'importance d'allier les méthodes biologiques aux méthodes d'analyses physico-chimiques pour le suivi des contaminants à éliminer lorsqu'ils sont traités par des procédés de traitement d'oxydation. Pour évaluer l'efficacité d'un catalyseur, il est tout aussi nécessaire de regarder la disparition du composé à dégrader au cours du traitement que l'impact environnemental potentiel des intermédiaires réactionnels formés lors du processus de dégradation. De plus, ce travail met en évidence la difficulté de définir et synthétiser un catalyseur efficace pour tous types de molécules. En effet, la dégradation photocatalytique d'une molécule dépend de son affinité

avec le catalyseur. Aussi un catalyseur peut se montrer efficace vis-à-vis de certaines familles de molécules et pas vis-à-vis d'autres. Enfin, ce travail a montré que si certains catalyseurs présentent une activité dans la zone spectrale proche du visible (< 420 nm), l'efficacité globale en termes d'élimination n'est pas forcément supérieure à celle d'un catalyseur présentant une activité uniquement dans l'UV, ceci est illustré par les catalyseurs ECT2-1023t et N1-TiO₂. Le catalyseur ECT2-1023t est actif dans l'UV (< 400 nm) et a une efficacité photocatalytique pour la dégradation du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol plus importante que celle du N1-TiO₂ qui lui est actif vers le visible (< 420 nm). Ce travail n'a pas permis de mettre en évidence des mécanismes réactionnels différents en fonction de la gamme d'irradiation. En effet, bien que des intermédiaires de nature différente aient été observés avec les catalyseurs P25 et ECT2-1023t lors de la dégradation du bisphénol A respectivement sous irradiations UV et UV-visible, le lien entre le type d'irradiation (UV ou UV-visible) et le mécanisme réactionnel n'a pas été établi. Aussi, de nombreuses voies sont encore à prospecter et les principales perspectives de ce travail de thèse se déclinent en trois points principaux.

Le premier point serait de compléter les cinétiques de dégradation par une évaluation des capacités d'adsorption des molécules étudiés (bisphénol A et 17 β -œstradiol) sur les catalyseurs afin d'expliquer la différence des efficacités photocatalytiques obtenues avec les catalyseurs. Le second point à aborder concerne l'étude de la formation des espèces réactives en fonction des catalyseurs et du type d'irradiation. En effet, dans des études réalisées sur les espèces réactives oxygénées formées dans le procédé de traitement par photocatalyse, il a été démontré que la nature et la quantité de ces dernières dépendent des propriétés du catalyseur (taille des particules, phase cristalline) et du type d'irradiation (UV ou visible) (Daimon *et al.*, 2008, Lipovsky *et al.*, 2012). Aussi, la compréhension des mécanismes réactionnels de dégradation des contaminants sous UV et UV-visible nécessitent de connaître les espèces réactives formées et impliquées dans le mécanisme de dégradation de ces composés. Enfin, pour se rapprocher des conditions réelles, l'évaluation de l'efficacité des catalyseurs pourrait être menée sur une matrice complexe. En effet, comme il a été montré dans la revue bibliographique, de nombreux contaminants sont présents dans les eaux à traiter. Il serait alors judicieux d'évaluer l'efficacité des catalyseurs dans le cas des mélanges de molécules cibles. Il s'agira de voir quels sont les mécanismes réactionnels privilégiés et les intermédiaires réactionnels majoritaires. Une étude sur l'influence des ions, de la matière organique sur la dégradation photocatalytique des composés à traiter pourrait également être menée.

Références bibliographiques

Abramović B., Kler S., Šojić D., Laušević M., Radović T., Vione D., (2011). Photocatalytic degradation of metoprolol tartrate in suspensions of two TiO₂-based photocatalysts with different surface area. Identification of intermediates and proposal of degradation pathways. *Journal of Hazardous Materials*, 198, 123-132.

Ahmed S., Rasul M.G., Brown R., Hashib M.A., (2011). Influence of parameters on the heterogeneous photocatalytic degradation of pesticides and phenolic contaminants in wastewater: A short review. *Journal of Environmental Management*, 92, 311-330.

Almquist C.B. et Biswas P., (2002). Role of synthesis method and particle size of nanostructured TiO₂ on its photoactivity. *Journal of Catalysis*, 212, 145-156.

Andreozzi R., Raffaele M., Nicklas P., (2003). Pharmaceuticals in STP effluents and their solar photodegradation in aquatic environment. *Chemosphere*, 50, 1319-1330.

Ankley G.T., Jensen K.M., Durhan E.J., Makynen E.A., Butterworth B.C., Kahl M.D., Villeneuve D.L., Linnum A., Gray L.E., Cardon M., Wilson V.S., (2005). Effects of two fungicides with multiple modes of action on reproductive endocrine function in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Toxicological Sciences*, 86 (2), 300-308.

Anpo M. and Takeuchi M., (2003). The design and development of highly reactive titanium oxide photocatalysts operating under visible light irradiation. *Journal of Catalysis*, 216, 505-516.

Araña J., Doña-Rodríguez J.M., Portillo-Carrizo D., Fernández-Rodríguez C., Pérez-Peña J., González Díaz O., Navío J.A., Macías M., (2010). Photocatalytic degradation of phenolic compounds with new TiO₂ catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 100, 346-354.

Arques A., Amat A.M., García-Ripoll A., Vicente R., (2007). Detoxification and/or increase of the biodegradability of aqueous solutions of dimethoate by means of solar photocatalysis. *Journal of hazardous materials*, 146, 447-452.

Arslan-Alaton I. et Dogruel S., (2004). Pre-treatment of penicillin formulation effluent by advanced oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 112, 105-113.

Arslan-Alaton I. et Ferry J.L., (2002). Near-UV–VIS light induced acid orange 7 bleaching in the presence of SiW₁₂O₄₀– catalyst. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 152, 175-181.

- Arslan-Alaton I. et Gurses F., (2004). Photo-Fenton-like and photo-fenton-like oxidation of Procaine Penicillin G formulation effluent. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 165, 165-175.
- Asahi R., Morikawa T., Ohwaki T., Aoki K., Taga Y., (2001). Visible-light photocatalysis in nitrogen-doped titanium oxides. *Science*, 293, 269-271.
- Auger J., Kunstmann J.M., Czyglik F., Jouannet P. (1995). Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *The New England Journal of Medicine*, 332, 281-285.
- Babić S., Ašperger D., Mutavdžić D., Horvat A.J.M., Kaštelan-Macan M., (2006). Solid phase extraction and HPLC determination of veterinary pharmaceuticals in wastewater. *Talanta*, 70, 732-738.
- Balci B., Oturan N., Cherrier R., Oturan M.A., (2009). Degradation of atrazine in aqueous medium by electrocatalytically generated hydroxyl radicals. A kinetic and mechanistic study. *Water research*, 43, 1924-1934.
- Barceló D., (2003). Emerging pollutants in water analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22, 14-16.
- Beausse J., (2004). Selected drugs in solid matrices: a review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23, 753-761.
- Benka-Coker M.O. et Ekundayo J.A., (1998). Effects of heavy metals on growth of species of *Micrococcus* and *Pseudomonas* in a crude oil/mineral salts medium. *Bioresource technology*, 66, 241-245.
- Bila D., Montalvão A.F., Azevedo D.d.A., Dezotti M., (2007). Estrogenic activity removal of 17 β -estradiol by ozonation and identification of by-products. *Chemosphere*, 69, 736-746.
- Birkett J.W., Lester J.N. (2003). Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes. IWA Publishing, Lewis Publishers, London, 295p.
- Bjerselius R., Lundstedt-Enkel K., Olsén H., Mayer I., Dimberg K., (2001). Male goldfish reproductive behaviour and physiology are severely affected by exogenous exposure to 17 β -estradiol. *Aquatic Toxicology*, 53, 139-152.

- Blasco C., Corcia A.D., Picó Y., (2009). Determination of tetracyclines in multi-specie animal tissues by pressurized liquid extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 116, 1005-1012.
- Bolz U., Hagenmaier H., Körner W., (2001). Phenolic xenoestrogens in surface water, sediments, and sewage sludge from Baden-Württemberg, south-west Germany. *Environmental Pollution*, 115, 291-301.
- Bozzi A., Dhananjeyan M., Guasaquillo I., Parra S., Pulgarin C., Weins C. , Kiwi J., (2004). Evolution of toxicity during melamine photocatalysis with TiO₂ suspensions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162, 179-185.
- Brzozowski A.M., Pike A.C.W., Dauter Z., Hubbard R.E., Bonn T., Engstrom O., Ohman L., Greene G.L., Gustafsson J.A., Carlquist M., (1997). Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature*, 389, 753-758.
- Calmon A., Dusserre-Bresson L., Bellon-Maurel V., Feuilloley P., Silvestre F., (2000). An automated test for measuring polymer biodegradation. *Chemosphere*, 41, 645-651.
- Calvert. J. G., Pitts J. N, Photochemistry, Willey, NewYork, 1973.
- Campbell C.G., Borglin S.E., Green F.B., Grayson A., Wozel E. , Stringfellow W.T., (2006). Biologically directed environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic endocrine disrupting compounds in water: A review. *Chemosphere*, 65, 1265-1280.
- Cargouët M., Perdiz D., Mouatassim-Souali A., Tamisier-Karolak S., Levi Y., (2004). Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Science of The Total Environment*, 324, 55-66.
- Carlsen E., Giwercman A., Keiding S., Skakkebaek N.E., (1992). Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years? *Br Med J*, 305, 609-613.
- Céspedes R., Lacorte S., Raldúa D., Ginebreda A., Barceló D., Piña B., (2005). Distribution of endocrine disruptors in the Llobregat River basin (Catalonia, NE Spain). *Chemosphere*, 61, 1710-1719.
- Chang H., Choo K., Lee B., Choi S., (2009). The methods of identification, analysis, and removal of endocrine disrupting compounds (EDCs) in water. *Journal of Hazardous Materials*, 172, 1-12.

- Chen B., Wu C., Chang J., (2006). An assessment of the toxicity of metals to *Pseudomonas aeruginosa* PU21 (Rip64). *Bioresource Technology*, 97, 1880-1886.
- Chen C., Cai W., Long M., Zhou B., Wu Y., Wu D., Feng Y., (2010). Synthesis of visible-light responsive graphene oxide/TiO₂ composites with p/n heterojunction. *ACS Nano*, 4, 6425-6432.
- Chevance A., Moulin G., (2009). Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2007. AFSSA-ANMV.
- Chiang K., Lim T.M., Tsen L., Lee C.C., (2004). Photocatalytic degradation and mineralization of bisphenol A by TiO₂ and platinized TiO₂. *Applied Catalysis A*, 261, 225-237.
- Chiron S., Comoretto L., Rinaldi E., Maurino V., Minero C., Vione D., (2009). Pesticide by-products in the Rhône delta (Southern France). The case of 4-chloro-2-methylphenol and of its nitroderivative. *Chemosphere*, 74, 599-604.
- Cleon P., Enderlin J.M., Sevrain S., (2000). Les différents types de spectromètres de masse couplés à la chromatographie liquide. *Spectra Analyse*, 217, 12-19.
- Coleman H.M., Eggins B.R., Byrne J.A., Palmer F.L., King E., (2000). Photocatalytic degradation of 17- β -oestradiol on immobilised TiO₂. *Applied Catalysis B: Environmental*, 24, L1-L5.
- Coleman H.M., Routledge E.J., Sumpter J.P., Eggins B.R., Byrne J.A., (2004). Rapid loss of estrogenicity of steroid estrogens by UVA photolysis and photocatalysis over an immobilised titanium dioxide catalyst. *Water Research*, 38, 3233-3240.
- Cornet, J. F. (2007). Procédés limités par le transfert de rayonnement en milieu hétérogène. Etude des couplages cinétiques et énergétiques dans les photobioréacteurs par une approche thermodynamique. Science pour l'ingénieur. Clermont-Ferrand, BLAISE PASCAL: 349.
- Crisp T.M., Clegg E.D., Cooper R.C., Anderson D.G. (1997). Special report on environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis. U.S. EPA, EPA/630/R-96/012
- Dallüge J., Beens J., Brinkman U.A.T., (2003). Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool. *Journal of Chromatography A*, 1000, 69-108.

- Dalmázio I., Almeida M.O., Augusti R., Alves T.M.A., (2007). Monitoring the degradation of tetracycline by ozone in aqueous medium via atmospheric pressure ionization mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 18, 679-687.
- Damgaard I.N., Main K.M., Toppari J., Skakkebaek N.E., (2002). Impact of exposure to endocrine disrupters in utero and childhood on adult reproduction. *Best practice & research clinical endocrinology*, 16, 289-309.
- David F., Gere D.R., Scanlan F., Sandra P., (1999). Instrumentation and applications of fast high-resolution capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 842, 309-319.
- Deblonde T., Cossu-Leguille C., Hartemann P., (2011). Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International journal of hygiene and environmental health*, 214, 442-448.
- Di Valentin C., Finazzi E., Pacchioni G., Selloni A., Livraghi S., Paganini M.C. , Giamello E., (2007). N-doped TiO₂: Theory and experiment. *Chemical Physics*, 339, 44-56.
- Di Valentin C., Pacchioni G., Selloni A., Livraghi S., Giamello E., (2005). Characterization of Paramagnetic Species in N-Doped TiO₂ Powders by EPR Spectroscopy and DFT Calculations, *Journal of Physical Chemistry B*, 109, 11414–11419.
- Elmolla E.S. et Chaudhuri M., (2010). Photocatalytic degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution using UV/TiO₂ and UV/H₂O₂/TiO₂ photocatalysis. *Desalination*, 252, 46-52.
- Erler C. et Novak J., (2010). Bisphenol A Exposure: Human Risk and Health Policy. *Journal of Pediatric Nursing*, 25, 400-407.
- European Federation of Animal Health (FEDESA), (2001). Antibiotic Use in Farm Animals does not threaten Human Health. FEDESA/FEFANA Press release. 13 July. Brussels, Belgium.
- Farré M., Ferrer I., Ginebreda A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Vilanova M. , Barceló D., (2001). Determination of drugs in surface water and wastewater samples by liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *Journal of Chromatography A*, 938, 187-197.
- Farré M.L., Pérez S., Kantiani L., Barceló D., (2008). Fate and toxicity of emerging pollutants, their metabolites and transformation products in the aquatic environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27, 991-1007.

- Feinberg M. (1996). La validation des méthodes d'analyse. Edition Masson, Paris, 387p.
- Feitosa-Felizzola J. et Chiron S., (2009). Occurrence and distribution of selected antibiotics in a small Mediterranean stream (Arc River, Southern France). *Journal of Hydrology*, 364, 50-57.
- Fent K., Escher C., Caminada D., (2006). Estrogenic activity of pharmaceuticals and pharmaceutical mixtures in a yeast reporter gene system. *Reproductive Toxicology*, 22, 175-185.
- Ferreira C.S.G., Nunes B.A., Henriques-Almeida J.M.d.M., Guilhermino L., (2007). Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 452-458.
- Flint S., Markle T., Thompson S., Wallace E., (2012). Bisphenol A exposure, effects, and policy: A wildlife perspective. *Journal of Environmental Management*, 104, 19-34.
- Frank S.N. and Bard A.J., (1977). Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide ion in aqueous solutions at titanium dioxide powder. *Journal of the American Chemical Society*, 99, 303-304.
- Fromme H., Kuchler T., Otto T., Pilz K., Muller J., Wenzel A. (2002). Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Research*, 36, 1429-1438.
- Frontistis Z., Daskalaki V.M., Katsaounis A., Poulios I., Mantzavinos D., (2011). Electrochemical enhancement of solar photocatalysis: Degradation of endocrine disruptor bisphenol-A on Ti/TiO₂ films. *Water Research*, 45, 2996-3004.
- Fujishima A., Zhang X., Tryk D.A., (2008). TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena. *Surface Science Reports*, 63, 515-582.
- Fukahori S., Ichiura H., Kitaoka T., Tanaka H., (2003). Capturing of bisphenol A photodecomposition intermediates by composite TiO₂-zeolite sheets. *Applied Catalysis B: Environmental*, 46, 453-462.
- Gartiser S., Urich E., Alexy R., Kümmerer K., (2007). Ultimate biodegradation and elimination of antibiotics in inherent tests. *Chemosphere*, 67, 604-613.
- Goetz V., Cambon J.P., Sacco D., Plantard G., (2009). Modeling aqueous heterogeneous photocatalytic degradation of organic pollutants with immobilized TiO₂. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48, 532-537.

- Goldstein S., Rabani J., (2008). The ferrioxalate and iodide-iodate actinometers in the UV region. *Journal of Photochemistry and Photobiology A : Chemistry*, 193, 50-55.
- Guedes Maniero M., Maia Bila D., Dezotti M., (2008). Degradation and estrogenic activity removal of 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol by ozonation and O₃/H₂O₂. *Science of The Total Environment*, 407, 105-115.
- Guitart C. and Readman J.W., Critical evaluation of the determination of pharmaceuticals, personal care products, phenolic endocrine disrupters and faecal steroids by GC/MS and PTV-GC/MS in environmental waters. *Analytica Chimica Acta*, 658, 32-40.
- Gültekin I. et Ince N.H., (2007). Synthetic endocrine disruptors in the environment and water remediation by advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Management*, 85, 816-832.
- Guo J., Zhu S., Chen Z., Li Y., Yu Z., Liu Q., Li J., Feng C. , Zhang D., (2011). Sonochemical synthesis of TiO₂ nanoparticles on graphene for use as photocatalyst. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 1082-1090.
- Habibi M.H. et Vosooghian H., (2005). Photocatalytic degradation of some organic sulfides as environmental pollutants using titanium dioxide suspension. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 174, 45-52.
- Hassen A., Saidi N., Cherif M., Boudabous A., (1998). Effects of heavy metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*. *Bioresource Technology*, 65, 73-82.
- Hathway T. et Jenks W.S., (2008). Effects of sintering of TiO₂ particles on the mechanisms of photocatalytic degradation of organic molecules in water. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 200, 216-224.
- Hathway T., Rockafellow E.M., Oh Y., Jenks W.S., (2009). Photocatalytic degradation using tungsten-modified TiO₂ and visible light: Kinetic and mechanistic effects using multiple catalyst doping strategies. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 207, 197-203.
- Herrmann J., (1999). Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants. *Catalysis Today*, 53, 115-129.
- Hirsch T., Koerber A., Jacobsen F., Dissemond J., Steinau H., Gatermann S., Al-Benna S., Inoue M., Masuda Y., Okada F., Sakurai A., Takahashi I., Sakakibara M., (2008). Degradation of bisphenol A using sonochemical reactions. *Water Research*, 42, 1379-1386.

Horikoshi S., Tokunaga A., Hidaka H., Serpone N., (2004). Environmental remediation by an integrated microwave/UV illumination method: VII. Thermal/non-thermal effects in the microwave-assisted photocatalyzed mineralization of bisphenol-A. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162, 33-40.

INERIS (2010). www.inrs.fr/accueil/dms/inrs/FicheToxicologique/TI-FT.../ft279.pd

Inoue M., Masuda Y., Okada F., Sakurai A., Takahashi I., Sakakibara M., (2008). Degradation of bisphenol A using sonochemical reactions. *Water Research*, 42, 1379-1386.

Irmak S., Erbatur O., Akgerman A., (2005). Degradation of 17 β -estradiol and bisphenol A in aqueous medium by using ozone and ozone/UV techniques. *Journal of Hazardous Materials*, 126, 54-62.

Jeannot R., Sabik H., Sauvard E., Dagnac T., Dohrendorf K., (2002). Determination of endocrine-disrupting compounds in environmental samples using gas and liquid chromatography with mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 974, 143-159.

Jeong J., Song W., Cooper W.J., Jung J., Greaves J., (2010). Degradation of tetracycline antibiotics: Mechanisms and kinetic studies for advanced oxidation/reduction processes. *Chemosphere*, 78, 533-540.

Jia A., Xiao Y., Hu J., Asami M., Kunikane S., (2009). Simultaneous determination of tetracyclines and their degradation products in environmental waters by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216, 4655-4662.

Jiao S., Zheng S., Yin D., Wang L., Chen L., (2008). Aqueous oxytetracycline degradation and the toxicity change of degradation compounds in photoirradiation process. *Journal of Environmental Sciences*, 20, 806-813

Jiao S., Zheng S., Yin D., Wang L., Chen L., (2008). Aqueous photolysis of tetracycline and toxicity of photolytic products to luminescent bacteria. *Chemosphere*, 73, 377-382.

Kaneco S., Rahman M.A., Suzuki S., Ohta K., (2004). Optimization of solar photocatalytic degradation conditions of bisphenol A in water using titanium dioxide. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 163,419-424.

Kaneko, M., Okura, I. (2002) *Photocatalysis*, 18-27, Springer, Tokyo.

- Kang I.J., Yokota H., Oshima Y., Tsuruda Y., Yamaguchi T., Maeda M., Imada N., Tadokoro H., Honjo T., (2002). Effect of 17 β -estradiol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 47, 71-80.
- Katsumata H., Kawabe S., Kaneco S., Suzuki T., Ohta K., (2004). Degradation of bisphenol A in water by the photo-Fenton reaction. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 162, 297–305.
- Kesting M., Seipp H., Steinstraesser L., (2010). Evaluation of toxic side effects of clinically used skin antiseptics in vitro. *Journal of Surgical Research*, 164, 344-350.
- Khan M.H., Bae H., Jung J., (2010). Tetracycline degradation by ozonation in the aqueous phase: Proposed degradation intermediates and pathway. *Journal of hazardous materials*, 181, 659-665.
- Khoa N.T., Pyun M.W., Yoo D., Kim S.W., Leem J., Kim E.J., Hahn S.H., Photodecomposition effects of graphene oxide coated on TiO₂ thin film prepared by electron-beam evaporation method. *Thin Solid Films*, 520, 5417-5420.
- Klavarioti M., Mantzavinos D., Kassinos D., (2009). Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environment International*, 35, 402-417.
- Kontos, A.I., Kontos, A.G, Raptis, Y.S., Falaras P. (2008). Nitrogen modified nanostructured titania: electronic, structural and visible-light photocatalytic properties. *Physica Status Solidi*, 2, 83-85.
- Kramer V.J., Miles-Richardson S., Pierens S.L., Giesy J.P., (1998). Reproductive impairment and induction of alkaline-labile phosphate, a biomarker of estrogen exposure, in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to waterborne 17 β -estradiol. *Aquatic Toxicology*, 40, 335-360.
- Kuhn H.J., Braslavsky .S.E., Schmidt R., (2004). Chemical actinometry. *Pure and Applied Chemistry*, 76, 2105-2146.
- Kuo C., Wu C., Lin H., (2010). Photocatalytic degradation of bisphenol A in a visible light/TiO₂ system. *Desalination*, 256, 37-42.
- Kurauchi K., Nakaguchi Y., Tsutsumi M., Hori H., Kurihara R., Hashimoto S., Ohnuma R., Yamamoto Y., Mastuoka S., Kawai S., Hirata T., Kinoshita M., (2005). An *in vivo* visual

reporter system for detection of estrogen-like substances by transgenic medaka. *Environmental Science and Technology*, 39, 2762-2768.

Lee J.M., Kim M.S., Kim B.W., (2004). Photodegradation of bisphenol-A with TiO₂ immobilized on the glass tubes including the UV light lamps. *Water Research*, 38, 3605–3613.

Legler J., Dennekamp M., Vethaak A.D., Brouwer A., Koeman J.H., van der Burg B. , Murk A.J., (2002). Detection of estrogenic activity in sediment-associated compounds using in vitro reporter gene assays. *The Science of the total environment*, 293, 69-83.

Li C., Li X.Z., Graham N., Gao N.Y., (2008). The aqueous degradation of bisphenol A and steroid estrogens by ferrate. *Water Research*, 42,109-120.

Lipovsky A., Levitski L., Tzitrinovich Z., Gedanken A., Lubart R., (2012). The different behavior of rutile and anatase nanoparticles in forming oxy radicals upon illumination with visible light: an EPR study. *Photochemistry and Photobiology*, 18, 14-18.

López-Peñalver J.J., Sánchez-Polo M., Gómez-Pacheco C.V., Rivera-Utrilla J., (2010). Photodegradation of tetracyclines in aqueous solution by using UV and UV/H₂O₂ oxidation processes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85, 1325-1333.

Mai J., Sun W., Xiong L., Liu Y., Ni J., (2008). Titanium dioxide mediated photocatalytic degradation of 17β-estradiol in aqueous solution. *Chemosphere*, 73, 600-606.

Martinez E., Farré M., Barcelo D., (2008). Techniques de détermination de composés organiques dans l'environnement. Technique de l'ingénieur, référence P3820.

Marugán J., Bru D., Pablos C., Catalá M., (2012). Comparative evaluation of acute toxicity by *Vibrio fischeri* and fern spore based bioassays in the follow-up of toxic chemicals degradation by photocatalysis. *Journal of Hazardous Materials*, 213–214, 117-122.

Mazellier P., Méité L., Laat J.D., (2008). Photodegradation of the steroid hormones 17β-estradiol (E2) and 17α-ethinylestradiol (EE2) in dilute aqueous solution. *Chemosphere*, 73, 1216-1223.

Mendes J.J. (2002). The endocrine disrupters: a major medical challenge. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 781-788.

Mills L.J. and Chichester C., (2005). Review of evidence: Are endocrine-disrupting chemicals in the aquatic environment impacting fish populations? *Science of The Total Environment*, 343, 1-34.

Minh T.B., Leung H.W., Loi I.H., Chan W.H., So M.K., Mao J.Q., Choi D., Lam J.C.W., Zheng G., Martin M., Lee J.H.W., Lam P.K.S. , Richardson B.J., (2009). Antibiotics in the Hong Kong metropolitan area: Ubiquitous distribution and fate in Victoria Harbour. *Marine Pollution Bulletin*, 58, 1052-1062.

Mompelat S., Le Bot B., Thomas O., (2009). Occurrence and fate of pharmaceutical products and by-products, from resource to drinking water. *Environment International*, 35, 803-814.

Nakata K. et Fujishima A., (2012). TiO₂ photocatalysis: Design and applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, 13, 169-189.

Navío J.A., Testa J.J., Djedjeian P., Padrón J.R., Rodríguez D., I. Litter M., (1999). Iron-doped titania powders prepared by a sol-gel method: Part II: Photocatalytic properties. *Applied Catalysis A: General*, 178, 191-203.

Neamtu M., Frimmel F.H., (2006). Degradation of endocrine disrupting bisphenol A by 254 nm irradiation in different water matrices and effect on yeast cells. *Water Research*, 40, 3745-3750.

Neppolian B., Choi H.C., Sakthivel S., Arabindoo B., Murugesan V., (2002). Solar/UV-induced photocatalytic degradation of three commercial textile dyes. *Journal of hazardous materials*, 89, 303-317.

Nguyen-Phan T., Pham V.H., Shin E.W., Pham H., Kim S., Chung J.S., Kim E.J. , Hur S.H., (2011). The role of graphene oxide content on the adsorption-enhanced photocatalysis of titanium dioxide/graphene oxide composites. *Chemical Engineering Journal*, 170, 226-232.

NORMAN Network, 2011. List of NORMAN Emerging Substances

OECD (1993), guidelines for testing of chemicals. *Organisation de coopération et de développement économiques*.

Oh S.M., Kim H.R., Park H.K., Choi K., Ryu J., Shin H.S., Park J., Lee J.S. , Chung K.H., (2009). Identification of estrogen-like effects and biologically active compounds in river water using bioassays and chemical analysis. *Science of The Total Environment*, 407, 5787-5794.

- Ohko Y., Iuchi K.I., Niwa C., Tatsuma T., Nakashima T., Iguchi T., Kubota Y., Fujishima A., (2002). 17 β -estradiol degradation by TiO₂ photocatalysis as a means of reducing estrogenic activity. *Environmental Science and Technology*, 36: 4175-4181
- Oller I., Malato S., Sánchez-Pérez J.A., (2011). Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination—A review. *Science of The Total Environment*, 409, 4141-4166.
- Ollis D.F., (1991). Solar-assisted photocatalysis for water purification: issues, data, questions, 593–622.
- Palominos R.A., Mondaca M.A., Giraldo A., Peñuela G., Pérez-Moya M., Mansilla H.D., (2009). Photocatalytic oxidation of the antibiotic tetracycline on TiO₂ and ZnO suspensions. *Catalysis Today*, 144, 100-105.
- Pastrana-Martínez L.M., Faria J.L., Doña-Rodríguez J.M., Fernández-Rodríguez C., Silva A.M.T., (2012a). Degradation of diphenhydramine pharmaceutical in aqueous solutions by using two highly active TiO₂ photocatalysts: Operating parameters and photocatalytic mechanism. *Applied Catalysis B: Environmental*, 113–114, 221-227.
- Pastrana-Martínez, L. M., Morales-Torres, S., Likodimos, V., Figueiredo, J. L., Faria, J. L., Falaras, P., Silva, A. M. T (2012b). Advanced nanostructured photocatalysts based on reduced graphene oxide-TiO₂ composites for degradation of diphenhydramine pharmaceutical and methyl orange dye. *Applied Catalysis B: Environmental*, 123-124, 241-256.
- Patro B.S., Adhikari S., Mukherjee T., Chattopadhyay S., (2005). Possible role of hydroxyl radicals in the oxidative degradation of folic acid. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 15, 67-71.
- Pelaez M., Falaras P., Likodimos V., Kontos A.G., de la Cruz A.A., O'shea K. , Dionysiou D.D., (2010). Synthesis, structural characterization and evaluation of sol–gel-based NF-TiO₂ films with visible light-photoactivation for the removal of microcystin-LR. *Applied Catalysis B: Environmental*, 99, 378–387.
- Pereira R.d.O., de Alda M.L., Joglar J., Daniel L.A., Barceló D., (2011). Identification of new ozonation disinfection byproducts of 17 β -estradiol and estrone in water. *Chemosphere*, 84, 1535-1541.
- Poliak M., Kochman M., Amirav A., (2008). Pulsed flow modulation comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1186, 189-195.

- Postigo C., Sirtori C., Oller I., Malato S., Maldonado M.I., López de Alda M., Barceló D., (2011). Photolytic and photocatalytic transformation of methadone in aqueous solutions under solar irradiation: Kinetics, characterization of major intermediate products and toxicity evaluation. *Water Research*, 45, 4815-4826.
- Prado N., Ochoa J., Amrane A., (2009). Biodegradation by activated sludge and toxicity of tetracycline into a semi-industrial membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 100, 3769-3774.
- Prado N., Ochoa J., Amrane A., (2009). Biodegradation and biosorption of tetracycline and tylosin antibiotics in activated sludge system. *Process Biochemistry*, 44, 1302-1306.
- Purdom C.E., Hardiman P.A., Bye V.J., Eno N.C., Tyler C.R., Sumpter J.P. (1994). Estrogenic Effects of Effluents from Sewage Treatment Works. *Journal of Chemical Ecology*, 8: 275-285.
- Rachel A., Sarakha M., Subrahmanyam M., Boule P., (2002). Comparison of several titanium dioxides for the photocatalytic degradation of benzenesulfonic acids. *Applied Catalysis B: Environmental*, 37, 293-300.
- Reverté S., Borrull F., Pocurull E., Maria Marcé R., (2003). Determination of antibiotic compounds in water by solid-phase extraction–high-performance liquid chromatography–(electrospray) mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1010, 225-232.
- Reyes C., Fernández J., Freer J., Mondaca M.A., Zaror C., Malato S., Mansilla H.D., (2006). Degradation and inactivation of tetracycline by TiO₂ photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 184, 141-146.
- Richter C.A., Birnbaum L.S., Farabollini F., Newbold R.R., Rubin B.S., Talsness C.E., Vandenberg J.G., Walser-Kuntz D.R., vom Saal F.S., (2007). In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reproductive Toxicology*, 24, 199-224.
- Rizzo L., (2011). Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment. *Water Research*, 45, 4311-4340.
- Robert D. et Malato S., (2002). Solar photocatalysis: a clean process for water detoxification. *Science of The Total Environment*, 291, 85-97.
- Rodríguez E.M., Fernández G., Klamerth N., Maldonado M.I., Álvarez P.M., Malato S., (2010). Efficiency of different solar advanced oxidation processes on the oxidation of bisphenol A in water. *Applied Catalysis B: Environmental*, 95, 228-237.

- Rodriguez-Mozaz S., de Alda M.L., Barceló D., (2005). Analysis of bisphenol A in natural waters by means of an optical immunosensor. *Water Research*, 39, 5071-5079.
- Rosenfeldt E.J., Chen P.J., Kullman S., Linden K.G., (2007). Destruction of estrogenic activity in water using UV advanced oxidation. *Science of The Total Environment*, 377, 105-113.
- Rosset R., Caude M., Jardy A. (1991). *Chromatographies en phases liquide et supercritique*, 3^{ème} édition, Masson, Paris.
- Rubin B.S., (2011). Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 127, 27-34.
- Russo J., Hasan Lareef M., Tahin Q., Hu Y., Slater C., Ao X., Russo I.H., (2002). 17 β -Estradiol is carcinogenic in human breast epithelial cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 80, 149-162.
- Saha C.N., Tompkins .H.G., (1992). Titanium nitride oxidation chemistry: An x-ray photoelectron spectroscopy study. *Journal of Applied Physics*, 72, 3072.
- Sajjad A.K.L., Shamaila S., Tian B., Chen F. , Zhang J., (2009). One step activation of WO_x/TiO₂ nanocomposites with enhanced photocatalytic activity. *Applied Catalysis B: Environmental*, 91, 397-405.
- Sánchez L., Peral J., Domènech X., (1997). Photocatalyzed destruction of aniline in UV-illuminated aqueous TiO₂ suspensions. *Electrochimica Acta*, 42, 1877-1882.
- Santiago-Morales J., Gómez M.J., Herrera S., Fernández-Alba A.R., García-Calvo E., Rosal R., (2012). Oxidative and photochemical processes for the removal of galaxolide and tonalide from wastewater. *Water Research*, 46, 4435-4447.
- Santos F.J. and Galceran M.T., (2002). The application of gas chromatography to environmental analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21, 672-685.
- 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.
- Sato S., (1986). Photocatalytic activity of NO_x-doped TiO₂ in the visible light region. *Chemical Physics Letters*, 123, 126-128.

- Schnell S., Bols N.C., Barata C., Porte C., (2009). Single and combined toxicity of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) on the rainbow trout liver cell line RTL-W1. *Aquatic Toxicology*, 93, 244-252.
- Smith J.J. et McFeters G.A., (1997). Mechanisms of INT (2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-phenyl tetrazolium chloride), and CTC (5-cyano-2,3-ditolyl tetrazolium chloride) reduction in *Escherichia coli* K-12. *Journal of Microbiological Methods*, 29, 161-175.
- Smyrniotakis. C. G., Archontaki. H. A., (2007). C18 columns for simultaneous determination of oxytetracycline and its related substances by reversed-phase high performance liquid chromatography and UV detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43, 506-514.
- Spisso B.F., de Araújo Júnior, Marcus Antônio Gonçalves, Monteiro M.A., Lima A.M.B., Pereira M.U., Luiz R.A. , Nóbrega A.W.d., (2009). A liquid chromatography–tandem mass spectrometry confirmatory assay for the simultaneous determination of several tetracyclines in milk considering keto–enol tautomerism and epimerization phenomena. *Analytica Chimica Acta*, 656, 72-84.
- Staples C.A., Dorn P.B., Klecka G.M., O'Block S.T., Branson D.R. , Harris L.R., (2000). Bisphenol A concentrations in receiving waters near US manufacturing and processing facilities. *Chemosphere*, 40, 521-525.
- Stavarakakis C., Colin R., Héquet V., Faur C., Le Cloirec P., (2008). Analysis of endocrine disrupting compounds in wastewater and drinking water treatment plants at the ng/L level. *Environmental Technology*, 29, 279-86.
- Stavarakakis C., Héquet V., Faur C., Andrès Y., Le Cloirec P., Colin R., (2008). Biodegradation of endocrine disrupters: case of 17- β -estradiol and bisphenol A. *Environmental Technology*, 29, 269–277.
- Subagio D.P., Srinivasan M., Lim M., Lim T., (2010). Photocatalytic degradation of bisphenol-A by nitrogen-doped TiO₂ hollow sphere in a vis-LED photoreactor. *Applied Catalysis B: Environmental*, 95, 414-422.
- Tercero Espinoza L.A., Neamțu M., Frimmel F.H., (2007). The effect of nitrate, Fe(III) and bicarbonate on the degradation of bisphenol A by simulated solar UV-irradiation. *Water Research*, 41, 4479-4487.

- Ternes T.A., (2001). Analytical methods for the determination of pharmaceuticals in aqueous environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 20, 419-434.
- Tian G., Fu H., Jing L., Tian C., (2009). Synthesis and photocatalytic activity of stable nanocrystalline TiO₂ with high crystallinity and large surface area. *Journal of Hazardous Materials*, 161, 1122-1130.
- Tsai W., Lee M., Su T., Chang Y., (2009). Photodegradation of bisphenol-A in a batch TiO₂ suspension reactor. *Journal of Hazardous Materials*, 168, 269-275.
- Vamathevan V., Amal R., Beydoun D., Low G., McEvoy S., (2004). Silver metallisation of titania particles: effects on photoactivity for the oxidation of organics. *Chemical Engineering Journal*, 98, 127-139.
- Vartanian V.H., Goolsby B., Brodbelt J.S., (1998). Identification of tetracycline antibiotics by electrospray ionization in a quadrupole ion trap. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 9, 1089-1098.
- Vazquez-Roig P., Segarra R., Blasco C., Andreu V., Picó Y., (2010). Determination of pharmaceuticals in soils and sediments by pressurized liquid extraction and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1217, 2471-2483.
- Viganò L., Benfenati E., Cauwenberge A.V., Eidem J.K., Erratico C., Goksøyr A., Kloas W., Maggioni S., Mandich A., Urbatzka R., (2008). Estrogenicity profile and estrogenic compounds determined in river sediments by chemical analysis, ELISA and yeast assays. *Chemosphere*, 73, 1078-1089.
- Vigueras-Villaseñor R.M., Moreno-Mendoza N.A., Reyes-Torres G., Molina-Ortiz D., León M.C., Rojas-Castañeda J.C., (2006). The effect of estrogen on testicular gonocyte maturation. *Reproductive Toxicology*, 22, 513-520.
- Virtanen H.E., Rajpert-De Meyts E., Main K.M., Skakkebaek N.E., Toppari J., (2005). Testicular dysgenesis syndrome and the development and occurrence of male reproductive disorders. *Toxicology and applied pharmacology*, 207, 501-505.
- Wang C., Zhang Z., Ying J.Y., (1997). Photocatalytic decomposition of halogenated organics over nanocrystalline titania. *Nanostructured Materials*, 9, 583-586.
- Wang J., Zhu W., Zhang Y., Liu S., (2007). An efficient two-step technique for nitrogen-doped titanium dioxide synthesizing: visible-light-induced photodecomposition of methylene blue. *Journal of Physical Chemistry C*, 111, 1010-1014.

- Wang R., Ren D., Xia S., Zhang Y., Zhao J., (2009). Photocatalytic degradation of Bisphenol A (BPA) using immobilized TiO₂ and UV illumination in a horizontal circulating bed photocatalytic reactor (HCBPR). *Journal of Hazardous Materials*, 169, 926-932.
- Wang Y., Yuan P., Fan C., Wang Y., Ding G., Wang Y., (2012). Preparation of zinc titanate nanoparticles and their photocatalytic behaviors in the photodegradation of humic acid in water. *Ceramics International*, 38, 4173-4180.
- Watanabe N., Horikoshi S., Kawabe H., Sugie Y., Zhao J., Hidaka H., (2003). Photodegradation mechanism for bisphenol A at the TiO₂/H₂O interfaces. *Chemosphere*, 52, 851-859.
- Watkinson A.J., Murby E.J., Kolpin D.W., Costanzo S.D., (2009). The occurrence of antibiotics in an urban watershed: From wastewater to drinking water. *Science of The Total Environment*, 407, 2711-2723.
- Wollenberger L., Halling-Sørensen B., Kusk K.O., (2000). Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40, 723-730.
- Yang Q, Pei Ling .A., Ray M.B., Pehkonen S. O., (2004). Evaluation of three different lamp emission models using novel application of potassium ferrioxalate actinometry. *Industrial Engineering Chemistry Research*, 43, 948-955.
- Yap P., Lim T., Lim M., Srinivasan M., (2010). Synthesis and characterization of nitrogen-doped TiO₂/AC composite for the adsorption–photocatalytic degradation of aqueous bisphenol-A using solar light. *Catalysis Today*, 151, 8-13.
- Yates H.M., Nolan M.G., Sheel D.W., Pemble M.E., (2006). The role of nitrogen doping on the development of visible light-induced photocatalytic activity in thin TiO₂ films grown on glass by chemical vapour deposition. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 179, 213-223.
- Ying G., Kookana R.S., Ru Y., (2002). Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environment International*, 28, 545-551.
- Yoon Y., Ryu J., Oh J., Choi B., Snyder S.A., (2010). Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea). *Science of The Total Environment*, 408, 636-643.

- Yu J., Yu H., Cheng B., Zhou M., Zhao X., (2006). Enhanced photocatalytic activity of TiO₂ powder (P25) by hydrothermal treatment. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 253, 112-118.
- Zhan M., Yang X., Xian Q., Kong L., (2006). Photosensitized degradation of bisphenol A involving reactive oxygen species in the presence of humic substances. *Chemosphere*, 63, 378-386.
- Zhang Y., Zhou J.L., Ning B., (2007). Photodegradation of estrone and 17 β -estradiol in water. *Water Research*, 41, 19-26.
- Zhao Y., Hu J., Jin W., (2008). Transformation of oxidation products and reduction of estrogenic activity of 17 β -estradiol by a heterogeneous photo-Fenton reaction. *Environmental Science and Technology*, 42, 5277-5284.
- Zhou D., Wu F., Deng N., Xiang W., (2004). Photooxidation of bisphenol A (BPA) in water in the presence of ferric and carboxylate salts. *Water Research*, 38, 4107-4116.
- Zhou L., Ying G., Liu S., Zhao J., Chen F., Zhang R., Peng F., Zhang Q., (2012). Simultaneous determination of human and veterinary antibiotics in various environmental matrices by rapid resolution liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1244, 123-138.
- Zhu Y., Murali S., Cai W., Li X., Suk J.W., Potts J.R., Ruoff S.R., (2010). Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties, and Applications. *Advanced Materials*, 22, 3906-3924.

Annexes

Courbes d'étalonnage HPLC/UV des composés modèles

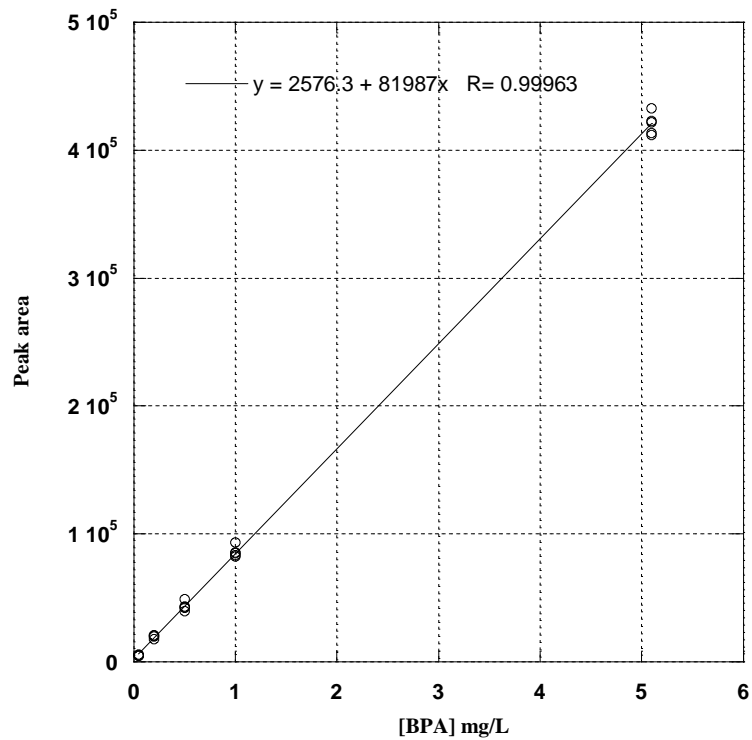


Figure 1 : Courbe d'étalonnage du bisphénol A

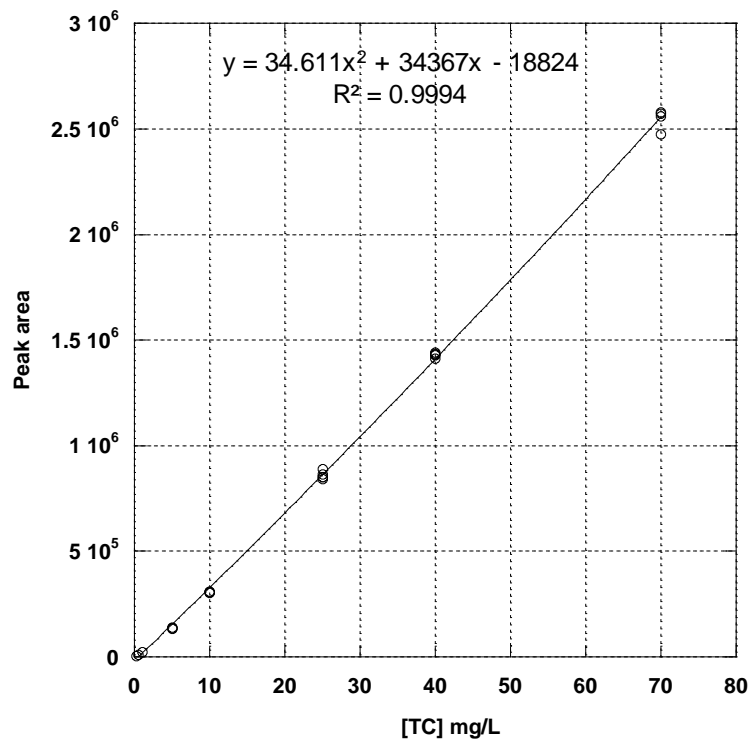


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la tétracycline

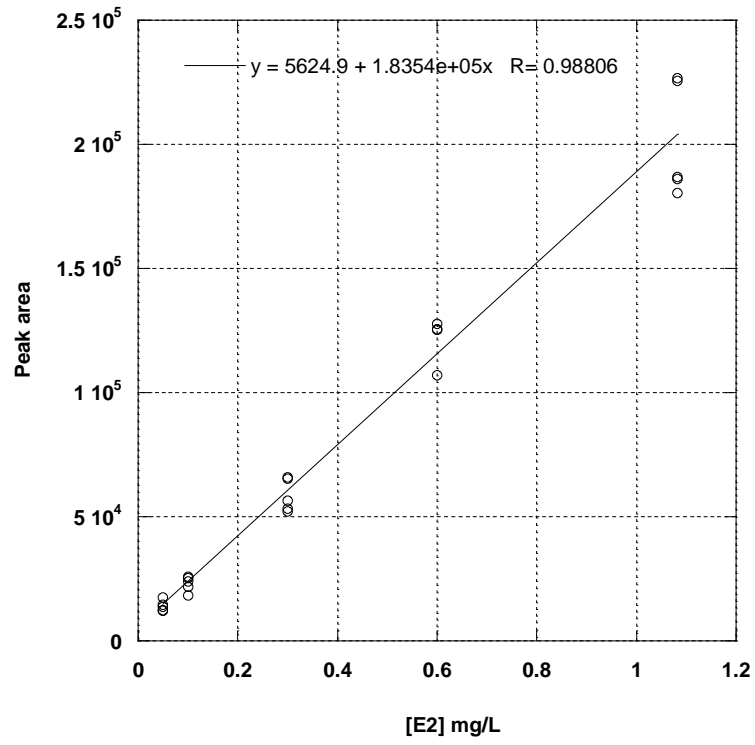
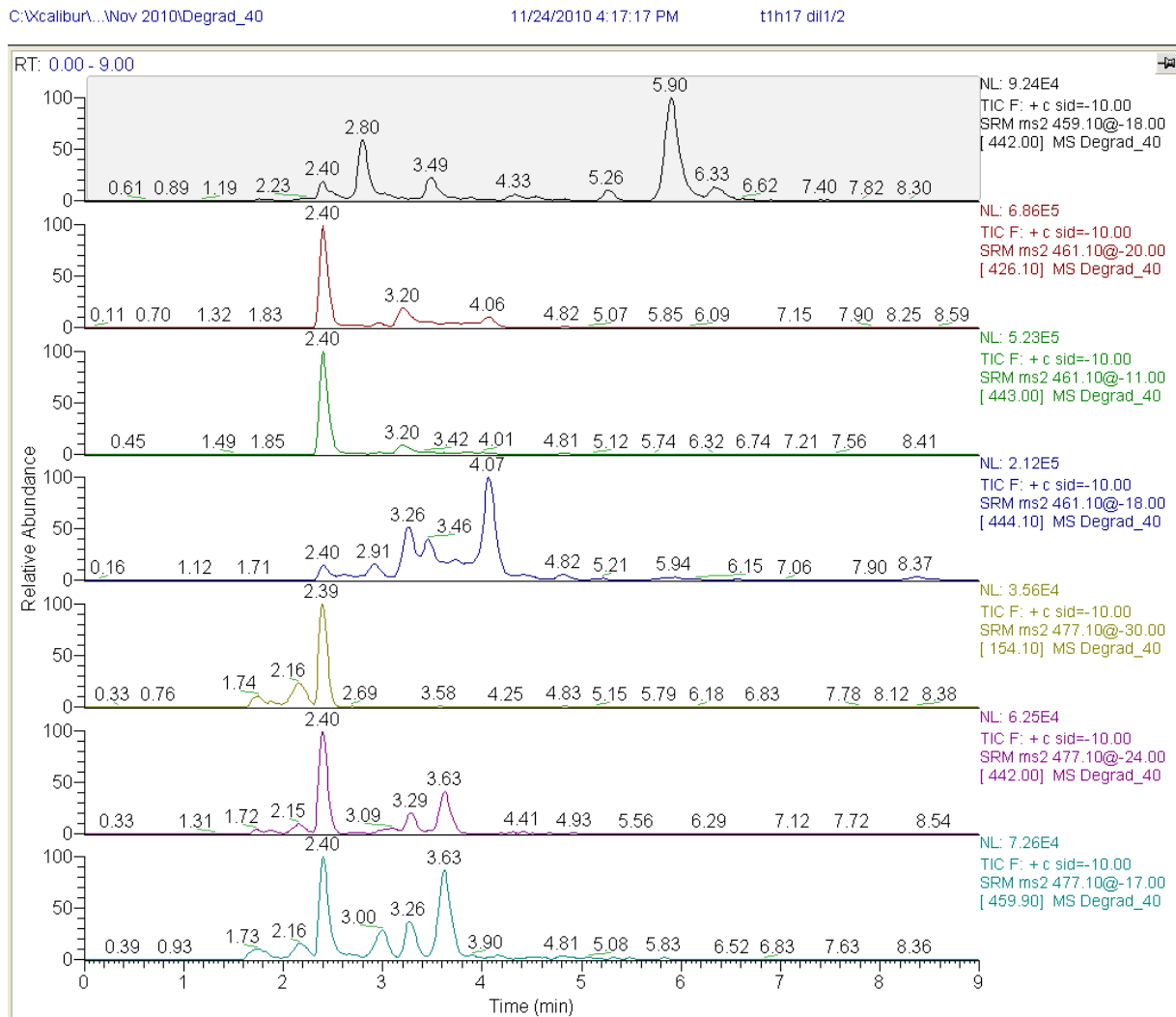


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de la 17-β-œstradiol

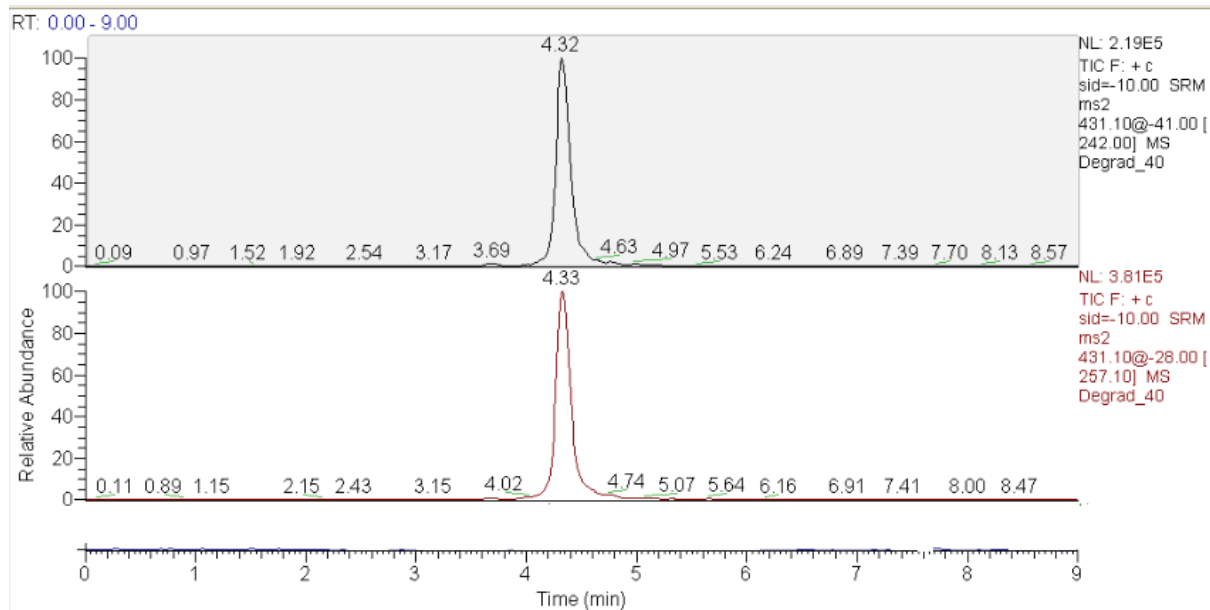
Annexe 2 : Chromatogrammes en mode MRM des ions parents des intermédiaires réactionnelles de la tétracycline

Chromatogrammes en mode MRM des ions parents des intermédiaires réactionnelles de la tétracycline



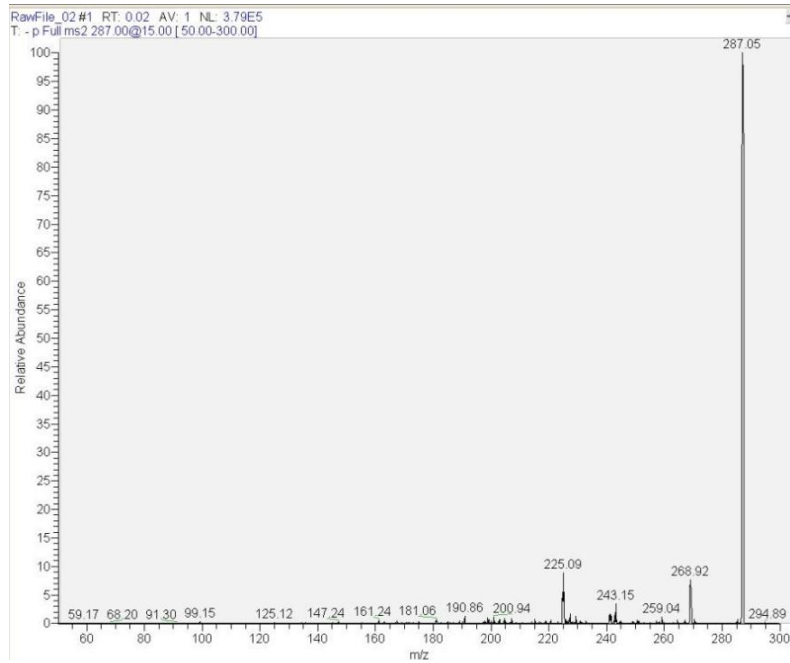
Chromatogrammes en mode MRM des ions parents avec pour masses m/z 459,1, 461,1 et 477,1.

Annexe 2 : Chromatogrammes en mode MRM des ions parents des intermédiaires réactionnelles de la tétracycline

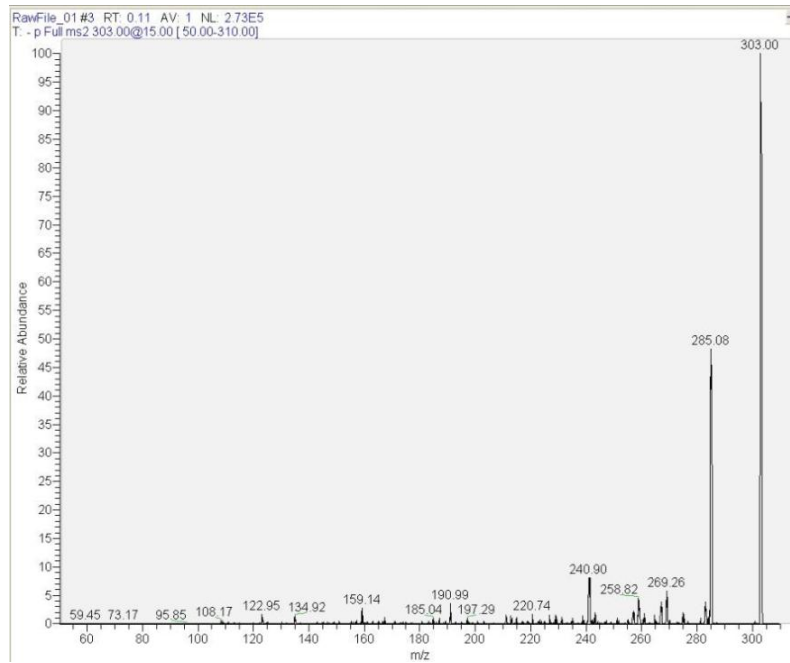


Chromatogrammes en mode MRM des ions parents avec pour masse m/z 431,1

Spectre de fragmentation des intermédiaires réactionnels de la 17 β - α estradiol

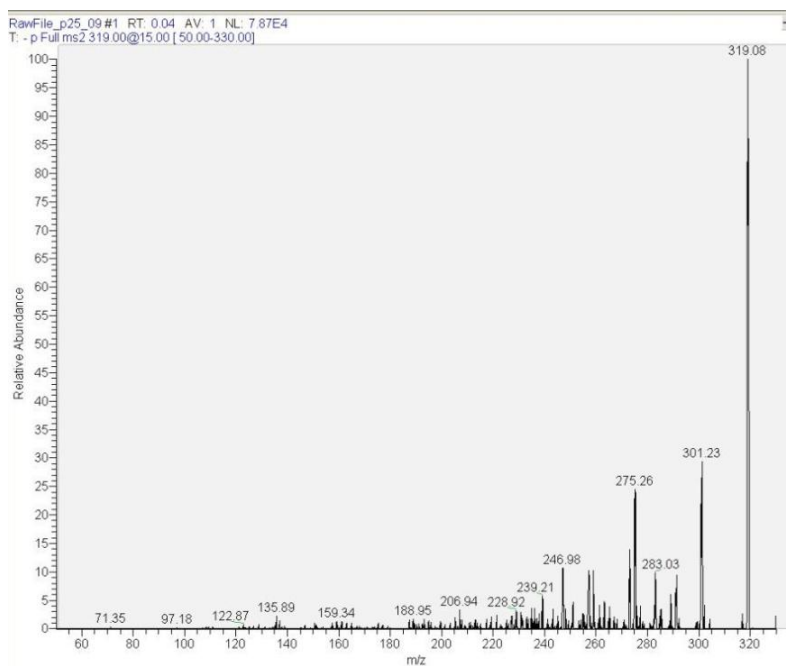


Spectre de fragmentation du composé de masse molaire 288

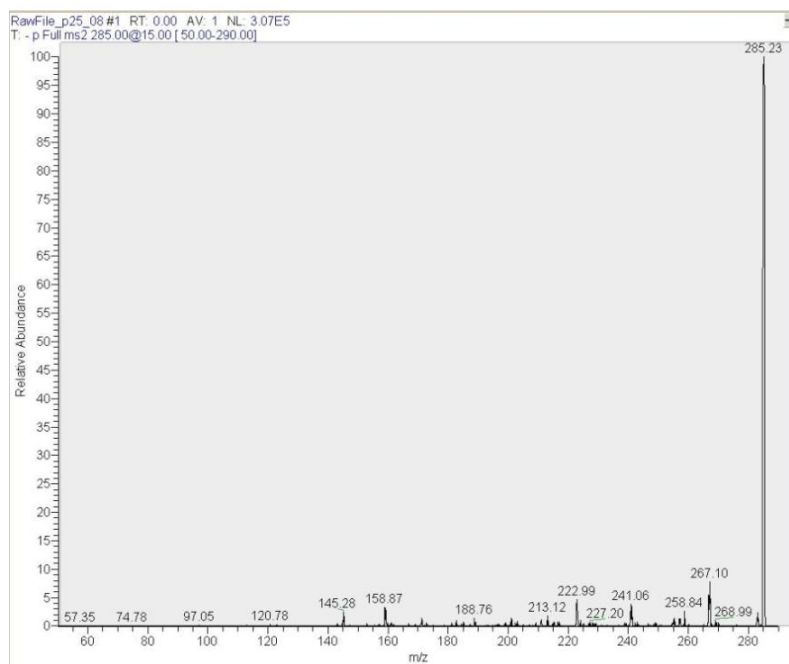


Spectre de fragmentation du composé de masse molaire 304

Annexe 3 : Spectre de fragmentation des intermédiaires réactionnels de la 17 β - α estradiol

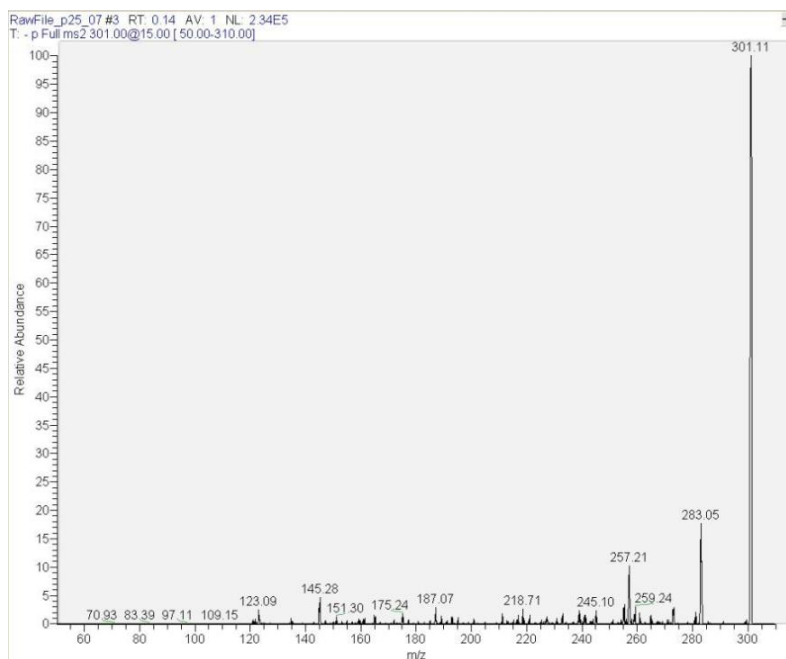


Spectre de fragmentation du composé de masse molaire 320

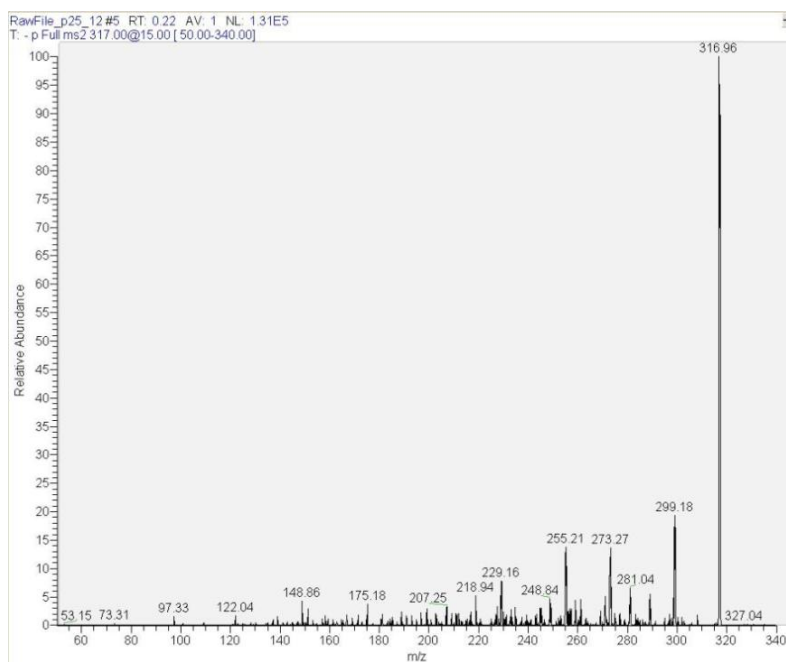


Spectre de fragmentation du composé de masse molaire 286

Annexe 3 : Spectre de fragmentation des intermédiaires réactionnels de la 17 β - α estradiol



Spectre de fragmentation du composé de masse molaire 302



Spectre de fragmentation du composé de masse molaire 317

Vanessa Maroga Mboula

Devenir des polluants émergents au cours d'un traitement photochimique ou photocatalytique sous irradiation solaire

Fate of emerging pollutants during photochemical or photocatalytic treatment under solar irradiation

Résumé

L'industrialisation et l'utilisation dans la vie courante d'un nombre croissant de produits chimiques et médicamenteux sont responsables de la dissémination dans l'environnement de substances variées nommées « polluants émergents ». Les traitements des eaux usées existants ne sont pas conçus pour éliminer cette catégorie de pollution et les polluants émergents sont alors rejetés dans le milieu récepteur. Une possible solution pour limiter le rejet de ces composés par les effluents de station d'épuration serait l'utilisation de procédés de traitement additionnels tels que les procédés d'oxydation avancés. C'est dans ce contexte qu'a démarré le projet Européen Clean Water en 2009 associant 7 entités dont le GEPEA-Ecole des Mines de Nantes. Le concept du projet est de développer des procédés photocatalytiques mettant en œuvre des nanomatériaux actifs sous la lumière solaire. Ces procédés visent à éliminer les polluants émergents tels que les perturbateurs endocriniens ou les produits pharmaceutiques. Dans ce programme, le laboratoire GEPEA est concerné par l'évaluation de l'efficacité des matériaux vis-à-vis de l'élimination des polluants émergents sous irradiations UV et visibles. Pour cela, une méthodologie expérimentale a été établie de façon à exprimer les performances des catalyseurs testés en termes de constantes cinétiques de dégradation, de taux de conversion et de minéralisation des molécules étudiées mais aussi en fonction de la formation de produits intermédiaires. Ces performances sont également évaluées en termes de biodégradabilité, d'effet de toxicité et de perturbation endocrinienne des produits intermédiaires. Dans un premier temps, la méthodologie expérimentale établie a été testée sur la dégradation de la tétracycline en utilisant un catalyseur de référence puis, elle a été appliquée sur la dégradation respective du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol en utilisant un catalyseur de référence et les catalyseurs élaborés dans le cadre du projet Clean Water. Les résultats sur la dégradation de la tétracycline ont montré que i) les intermédiaires réactionnels sont moins toxiques que la tétracycline, ii) la structure des intermédiaires réactionnelles est semblable à celle de la tétracycline ce qui explique la faible biodégradabilité de ces intermédiaires. Concernant la dégradation du bisphénol A et de la 17 β -œstradiol, les résultats ont montré que i) les catalyseurs sont efficaces sous irradiation solaire simulée. Cependant, l'efficacité photocatalytique du catalyseur dépend du composé à dégrader, ii) la nature des intermédiaires réactionnels identifiés du bisphénol A dépend du catalyseur utilisé, iii) l'effet œstrogénique de la solution d'œstradiol persiste au cours du traitement photocatalytique.

Mots clés :

Tétracycline, bisphénol A, 17 β -œstradiol, photocatalyse, irradiation solaire, intermédiaires réactionnels, toxicité, effet œstrogénique.

Abstract

Industrialisation, the use of numerous chemical products in domestic activities and the use of medicine drugs have led to the release in the environment of various substances named "emerging pollutants". The existing wastewater treatments are not designed to eliminate this kind of pollution and then these pollutants are released in to the natural aquatic media. To limit the release of these compounds by wastewater treatment plant effluent, a solution could be the use of additional treatment processes such as advanced oxidation processes. In this context, the European project Clean Water has started in 2009. Clean Water involves 7 entities including the GEPEA laboratory-Ecole des Mines de Nantes. The aim of the Clean Water project is to develop sustainable and cost-effective water treatment and detoxification processes using TiO₂ nanomaterials with UV-visible light response under solar light. These processes act to remove emerging contaminants such as endocrine disruptors and pharmaceuticals. In this program, the GEPEA laboratory is concerned with the evaluation of the efficiency of novel photocatalysts under UV and visible irradiations for the elimination of emerging pollutants. For this purpose, an experimental methodology was established to express the efficiency of the tested catalysts in terms of degradation kinetic constants, pollutants conversion and mineralisation and also in terms of the intermediate products formed. The efficiency of photocatalysts is also evaluated in terms of intermediates biodegradability, toxicity and endocrine disruption effects. First, the experimental methodology was tested on the degradation of tetracycline with a reference catalyst. Then, it was applied to the degradation of bisphenol A and estradiol respectively with the reference catalyst and the catalysts developed within the Clean Water Project. The results obtained on the tetracycline degradation have showed that: i) tetracycline intermediate products are less toxic than tetracycline ii) the intermediates structure is similar to that of tetracycline, this can explain the low biodegradability observed for these intermediates. For the degradation of bisphenol A and estradiol, the results showed that: i) the photocatalysts are efficient under simulated solar irradiation. However, the catalyst photocatalytic efficiency depends on the compound to be degraded ii) the nature of the bisphenol A reaction intermediates identified depends on the catalyst used iii) the estrogenic effect of the estradiol treated solution persists during the photocatalytic treatment.

Mots clés

Tetracycline, bisphenol A, estradiol, photocatalysis, solar irradiation, intermediates of reaction, toxicity, estrogenic effect.