

Evaluation et compréhension du devenir photochimique de composés organiques émergents en solution aqueuse et à la surface du sol

Cyril Le Fur

► To cite this version:

 $\label{eq:cyril Le Fur. Evaluation et compréhension du devenir photochimique de composés organiques émergents en solution aqueuse et à la surface du sol. Chimie théorique et/ou physique. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2015. Français. NNT: 2015CLF22632. tel-01818768v1$

HAL Id: tel-01818768 https://theses.hal.science/tel-01818768v1

Submitted on 19 Jun 2018 (v1), last revised 5 Nov 2018 (v2)

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.

ED SF n° d'ordre :

UNIVERSITE CLERMONT AUVERGNE

ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES FONDAMENTALES

THESE

Présentée pour obtenir le grade de

DOCTEUR D'UNIVERSITE

Spécialité : Chimie Physique

Par Cyril LE FUR

Diplômé du Master 2 Recherche :

Ingénierie moléculaire, macromoléculaire et supramoléculaire

Evaluation et compréhension du devenir photochimique de composés organiques émergents en solution aqueuse et à la surface du sol

Soutenue publiquement le 4 décembre 2015 devant la commission d'examen.

Rapporteurs :

Pr. Anne MONOD (Professeur, Université Aix Marseille)

Dr. Thomas GUSTAVSON (Directeur de Recherches, CNRS, Gif-Sur-Yvette)

Pr. Patrick MAZELLIER (Professeur, Université de Bordeaux)

Examinateurs :

Pr. Patrice MALFREYT (Professeur ; Université Clermont Auvergne)

Dr. Sylvie NELIEU (Chargé de Recherches, INRA PESSAC, Versailles)

Pr. Pascal WONG-WAH-CHUNG (Pr. ; Univ. Aix Marseille ; Co-Directeur de thèse)

Pr. Mohamed SARAKHA (Pr. ; Université Clermont Auvergne ; Directeur de thèse)

Remerciements

Ce travail de thèse a été un parcours très riche et formateur, en particulier grâce à toutes les personnes qui m'ont aidé et que j'ai rencontrées tout au long de ce travail. Je tiens ici à les remercier.

Merci au Pr. Patrice Malfreyt de m'avoir fait l'honneur d'être président du jury. Merci également pour la collaboration fructueuse réalisée avec l'équipe T.I.M., grâce à laquelle j'ai pu élargir mon sujet de thèse et découvrir la dynamique moléculaire dans d'excellentes conditions.

Merci aux membres du jury, Pr. Anne Monod, Dr. Thomas Gustavson, Pr. Patrick Mazellier et Dr. Sylvie Nélieu d'avoir accepté de juger ce travail. Merci pour votre patience vis-à-vis de la date de soutenance, qui a été reportée à plusieurs reprises, pour vos remarques constructives et pour l'échange enrichissant que nous avons eu lors de ma soutenance.

Merci à mes directeurs de thèse, Mohamed Sarakha et Pascal Wong-Wah-Chung, pour votre encadrement d'une grande qualité, vos guidages éclairés et la confiance que vous m'avez accordé. Votre soutien et votre bienveillance ont été au centre de la réussite de cette thèse et votre engagement en tant qu'enseignant est un exemple pour moi.

Merci Pascal De-Sainte-Claire de m'avoir initié, non seulement à Gaussian, mais aussi à la modélisation en général et à la rigueur scientifique nécessaire pour lui donner du sens. Je conserve d'importantes leçons de nos échanges.

Merci Florent Goujon pour la pédagogie avec laquelle tu m'as appris la programmation, comme si c'était un jeu, et l'engouement avec lequel tu m'as transmis la dynamique moléculaire. Je me souviendrai longtemps de ces boîtes virtuelles que nous avons créées puis pris plaisir à observer vivre sous tous les angles. Merci aussi pour les belles images que tu as générées pour illustrer nos résultats.

Merci Bertrand Légeret pour les nombreuses analyses LC-MS-MS que nous avons réalisées ensemble. Merci d'avoir pris le temps de me faire comprendre les subtilités pratiques et théoriques de cette méthode. Merci également à Angélique Abila et Martin Lerembourg qui ont succédé à Bertrand et m'ont permis de continuer le travail d'analyse malgré les pannes capricieuses de l'appareil. **Merci Guillaume Voyard** pour ta disponibilité et le soin que tu as apporté au matériel d'analyse du laboratoire. Les pannes qui arrivaient parfois étaient si vite réparées qu'elles n'ont jamais été un obstacle.

Merci Jean-Yves Coxam de m'avoir fait confiance pour les TP et TD en licence. Ces expériences ont été très intéressantes et m'ont permis de conserver un contact avec l'enseignement, ce qui était important pour moi.

Merci Claire Richard, Marcello Brigante, Gilles Mailhot, Yaël Israeli, Ghislain Guyot, Vanessa Prévost, Pierre-Olivier Buissière, Jean-Luc Gardette, et les autres chercheurs permanents avec qui j'ai eu des discussions inspirantes sur la science et d'autres sujets. Merci pour votre accueil chaleureux dans l'ICCF !

Merci Aurélien et Maxime, mes collègues de bureau, partenaires de galères et de discussions philosophiques, qui sont devenus de bons amis.

Merci Shirin, Eliana, Marie, Angelica, Sarka, et les autres filles du troisième étage, qui ont toujours su me remonter le moral et me faire rire quand j'en avais besoin. Vos stocks de thé, de biscuits et de sourires ont toujours semblé inépuisables.

Merci Romain, Alexis, Audrey, Anthony C, Anthony P, Camille, Aurélien, Steeve, Sébastien, Georgia, Guilène, Claire, Jeoffrey, Maxime et tous les autres doctorants, techniciens et non permanents avec qui j'ai partagé des bons moments au quotidien autour des repas de midi (Et le fameux "Cake Club"), lors des rendez-vous sportifs libérateurs (Le Volley, Le rugby, L'ultimate... c'était mes seules activités sportives) et pour la bonne ambiance qui régnait dans le laboratoire !

Merci à ma Famille, qui m'a toujours soutenu dans mes choix et sans qui je n'aurai pas pu en arriver là. Merci en particulier à toi, Maman, qui a été là pour moi lors de la période très difficile de la rédaction du manuscrit. Ton soutien infaillible m'a permis d'aller jusqu'au bout malgré les doutes et les difficultés.

Merci Clémentine, qui a partagé ma vie à Clermont-Ferrand et m'a supporté (dans tous les sens du terme) du mieux qu'elle a pu dans les bons et les mauvais moments. Le souvenir de cette thèse sera toujours pour moi lié au souvenir de notre appartement et des balades dans les volcans avec Valse.

Merci, enfin, à tous ceux qui n'ont pas été cités (je ne peux pas tous vous nommer) mais qui d'une façon ou d'une autre ont contribué à rendre ces trois années en Auvergne plus belles. Si vous vous reconnaissez en lisant ces lignes, alors soyez assurez que je vous remercie du fond du cœur.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

Chapitre A : Introduction bibliographique

I. LES	S ANTIBIOTIQUES : DES MICROPOLLUANTS D'ACTUALITE	
1.1	Les micropolluants émergents dans l'environnement	
I.1.1	Contexte sociétal	13
I.1.2	Le suivi de la pollution des cours d'eau français : approche historique	
I.1.3	Le suivi de la pollution des sols français	
I.1.4	Les transferts entre milieux aquatiques et milieux terrestres	17
1.2	Les antibiotiques : généralités	18
I.3	Les antibiotiques dans l'eau	20
I.3.1	Sources et présence dans le milieu aquatique	20
1.3.2	Devenir des antibiotiques dans l'eau	23
1.3.3	Effets de la pollution de l'eau par les antibiotiques	25
1.4	Les antibiotiques dans les sols	
1.4.1	Sources et présence dans les sols	
1.4.2	Devenir des antibiotiques dans les sols	27
1.4.3	Effets de la pollution des sols par les antibiotiques.	30
II. LA	РНОТОСНІМІЕ	
II.1	Généralités	
II.1.1	L'absorption du rayonnement solaire par une molécule organique	
II.1.2	Echelles de temps des transitions électroniques	33
II.2	La photochimie en phase aqueuse	
II.2.1	Interaction lumière-matière en solution	
II.2.2	Etude cinétique : rappel et calculs des grandeurs mises en jeu	35
II.3	La photochimie dans les sols	
II.3.1	Composition générale des sols et des argiles	37
II.3.2	Interactions lumière-argile	
II.3.3	Propriétés spectroscopiques des molécules organiques à la surface des sols ou argile	es secs 39
II.3.4	Constante de vitesse et rendement quantique	40

Chapitre B : Matériels et méthode

I.	REACTIFS UTILISES	43
II.	PREPARATION DES SOLUTIONS	44
III.	DISPOSITIFS D'IRRADIATION	44

III.1	Irradiations en lumière monochromatique	4
111.2	Irradiations en enceinte	5
IV. TE	CHNIQUES D'ANALYSES	8
IV.1	Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)	8
IV 2	Méthodes spectrométriques	8
IV.2.1	Spectroscopie d'absorption	8
IV.2.2	Spectrométrie de masse	9
IV.2.3	Spectromètre laser nanoseconde	0
V. ME	THODES DE DOSAGES5	2
V.1	Calcul de l'intensité du flux photonique5	2
V.2	Dosage du peroxyde d'hydrogène en solution	3
VI. PR	OTOCOLE D'IRRADIATION DES ANTIBIOTIQUES DANS L'ARGILE 5	4
VI.1	Préparation des échantillons	4
VI.2	Irradiation et extraction	5
VII. ME	SURES DE TOXICITE5	5
VIII.	MODELISATION	6
VIII.1	Calculs ab-initio	6
VIII.2	Dynamique Moléculaire	6

Chapitre C : Photochimie d'antibiotiques en phase aqueuse

I. IN	. INTRODUCTION	
I.1	La sulfaquinoxaline	58
I.1.1	Généralités, usage et présence dans l'environnement	58
I.1.2	Réactivité photochimique	59
1.2	La pyriméthamine	60
I.2.1	Généralités, usage et présence dans l'environnement	60
1.2.2	Réactivité photochimique	62
II. PH	OTODEGRADATION DE LA SULFAQUINOXALINE (SQX) DANS L'EAU	64
II.1	Propriétés spectroscopiques	64
II.2	Suivi cinétique de la photodégradation de SQX	66

II.2.1	Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation	66
II.2.2	Effet de la concentration d'oxygène moléculaire dissous	69
II.2.3	Etude en spectroscopie résolue en temps (photolyse laser nanoseconde)	70
II.3	Identification des photoproduits	74
II.3.1	Fragmentation ESI+/MS/MS de la sulfaquinoxanine	79
II.3.2	Photoproduit P1	83
II.3.3	Photoproduits P2 et P4	84
II.3.4	Photoproduits P5 et P10	90
II.3.5	Photoproduit P6	
II.3.6	Photoproduits P7 et P8	
II.3.7	Photoproduits P3 et P9	
II.3.8	Mécanisme de photodégradation de la sulfaquinoxalineà pH = 4,0	104
II.3.9	Mécanisme de transformation de SQX à pH = 10,0	114
11.4	Evaluation de la toxicité des photoproduits	116
III. PH	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU	117
III. PH	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques	117
III. PH	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine	
III. PH	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation	117 118 <u>119</u> 119
III. PH III.1 III.2 III.2.1 III.2.2	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation Effet de la concentration d'oxygène dissous	
III. PH III.1 III.2 III.2.1 III.2.2 III.3	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation Effet de la concentration d'oxygène dissous Identification des photoproduits	
III. PH III.1 III.2 III.2.1 III.2.2 III.3 III.4	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation Effet de la concentration d'oxygène dissous Identification des photoproduits Etude par photolyse laser	
III. PH III.1 III.2 III.2.1 III.2.2 III.3 III.4 III.5	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques	
III. PH III.1 III.2 III.2.1 III.2.2 III.3 III.4 III.5 III.5.1	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation Effet de la concentration d'oxygène dissous Identification des photoproduits Etude par photolyse laser Mécanismes de formation des photoproduits Photoproduit P1	
III. PH III.1 III.2 III.2.1 III.2.2 III.3 III.4 III.5 III.5.1 III.5.2	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation Effet de la concentration d'oxygène dissous Identification des photoproduits Etude par photolyse laser Mécanismes de formation des photoproduits Photoproduit P1 Photoproduit P2	
III. PH III.1 III.2 III.2.1 III.2.2 III.3 III.4 III.5.1 III.5.2 III.5.3	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation Effet de la concentration d'oxygène dissous Identification des photoproduits Etude par photolyse laser Mécanismes de formation des photoproduits Photoproduit P1 Photoproduit P2 Formation des produits P4 et P5	
III. PH III.1 III.2 III.2.1 III.2.2 III.3 III.4 III.5 III.5.1 III.5.2 III.5.3 III.5.4	OTODEGRADATION DE LA PYRIMETHAMINE (PYR) DANS L'EAU Propriétés spectroscopiques Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation Effet de la concentration d'oxygène dissous Identification des photoproduits Etude par photolyse laser Mécanismes de formation des photoproduits Photoproduit P1 Photoproduit P2 Formation des produits P4 et P5. Photoproduit P3	

Chapitre D : Photodégradation d'antibiotiques à la surface de la kaolinite

I. IN	I. INTRODUCTION		
I.1	Caractéristiques de l'argile utilisée	137	
I.1.1	Composition de la kaolinite		
I.1.2	Structure de la kaolinite	138	
I.1.3	Morphologie de la kaolinite		
1.2	La sulfaquinoxaline dans les sols	141	
1.3	Le triclosan	142	
1.3.1	Généralités, usage et présence dans l'environnement		
1.3.2	Photodégradation du triclosan en phase aqueuse		
1.4	Les différences attendues entre la photodégradation sur kaolinite et dans l'eau	145	

II. PH KAOLIN	OTODEGRADATION DE LA SULFAQUINOXALINE (SQX) A LA SURFACE NITE	E DE LA 145
II.1	Adsorption de SQX sur la kaolinite	145
II.1.1	Propriétés spectroscopiques de SQX	
11.1.2	Etude de l'extraction de SQX de la kaolinite	
II.2	Etude cinétique de la disparition de SQX	148
II.2.1	Effet de la concentration en SQX	
II.2.2	Effet de l'épaisseur de l'argile et évaluation du rendement quantique de disparition	150
II.3	Formation de photoproduits	152
11.4	Conclusion	153
III. PH	OTODEGRADATION DU TRICLOSAN A LA SURFACE DE LA KAOLINITE	1 54
III.1	Adsorption de TCL sur la kaolinite	154
III.1.1	Propriétés spectroscopiques de TCL	
III.1.2	Etude de l'extraction de TCL de la kaolinite	
111.2	Etude cinétique de la disparition de triclosan	155
111.2.1	Effet de la concentration en triclosan	155
111.2.2	Effet de l'épaisseur de l'argile et évaluation du rendement quantique de disparition	156
III.3	Photoproduits formés	157
III.3.1	Photoproduit P1	158
III.3.2	Photoproduit P2	159
III.3.3	Photoproduit P3	159
III.3.4	Photoproduits P4 et P5	159
III.3.5	Photoproduit P6 et P7	160
111.4	Effet de la concentration en triclosan sur la formation des photoproduits	161
III.5	Mécanismes de formation des photoproduits	164
III 6	Effet des acides humiques (HA)	166
III.7	Conclusion	167
IV. MO	DELISATION PAR DYNAMIQUE MOLECULAIRE : ETUDE DE L'ADSORF	TION
DE TCL	SUR ARGILE ET ETUDE DE LA FORMATION DE CLUSTERS	169
IV.1	Introduction/problématique	169
IV.2	La dynamique moléculaire	171
IV.2.1	Principe	
IV.2.2	Intégration des équations du mouvement	
IV.2.3	Contrôle de la température et de la pression	
IV.2.4	Conditions aux limites	
IV.2.5	Potentiel d'interaction	175
11/2	Champs de favos	470
11.5	Champs de Torce	1/b
IV.3.1	riviecules de l'illiusali	1/0
14.3.2	cristar ac kaomine	

IV.3.3	Molécules d'eau	179
IV.4	Création des configurations initiales	180
IV.4.1	Conformation initiale de la molécule de TCL	180
IV.4.2	Conformation initiale d'un dimère de TCL	180
IV.4.3	Structure initiale du cristal de kaolinite	181
IV.5	Protocoles de simulation	185
IV.6	Description des systèmes simulés	186
IV.7	Résultats des simulations	188
IV.7.1	Simulation d'une molécule de TCL dans le vide, dans l'eau et sur la kaolinite	188
IV.7.2	Simulation d'un dimère de TCL dans le vide et dans l'eau	196
IV.7.3	Etude de la formation de cluster de TCL à la surface de la kaolinite	200
IV.8	Conclusion	208

Conclusion générale

Références

INTRODUCTION

L'utilisation excessive d'antibiotiques, en particulier en médecine vétérinaire, présente un risque majeur pour la santé animale mais également pour la qualité des différents compartiments de l'environnement. Ces médicaments à usage humain ou vétérinaire, éliminés par voie urinaire ou fécale se retrouvent rejetés dans l'environnement sous forme active ou sous forme de métabolites. Il a été clairement démontré que leur élimination par les stations d'épuration est difficile et incomplète. Plusieurs études ont montré que ces micropolluants émergents se retrouvent dans les rejets et dans les eaux de surface. En entrée des stations d'épuration ces produits sont retrouvés dans 83% des eaux usées et dans 70% des eaux en sortie de station après traitement.

Les deux grands processus de disparition possibles pour un polluant organique dans l'eau sont le transfert vers une autre phase ou la dégradation biotique et abiotique. Pour certains composés, la dégradation photochimique peut représenter, dans certains cas, une des principales voies d'élimination. Un des principaux thèmes de recherche de l'équipe de Photochimie de l'Institut de chimie de Clermont Ferrand (ICCF, UMR 6296) est l'étude du devenir des différents micropolluants émergents dans les divers compartiments environnementaux : eaux de surface, surface du sol, surface du végétal et dans la phase aqueuse des nuages. Les objectifs des études sont principalement l'évaluation de la photoréactivité dans les conditions naturelles de ces composés (détermination de la durée de vie sous exposition solaire) et l'établissement du mécanisme de transformation et de formation des produits de dégradation. Dans le cadre de ce travail nous sous sommes plus particulièrement intéressés à l'étude du comportement photochimique de trois polluants : la sulfaquinoxaline, la pyriméthamine et le triclosan. La sulfaquinoxaline est un antibiotique vétérinaire aux propriétés bactériostatiques et antiparasitaires. Comme les autres sulfonamides, c'est un dérivé du para-aminophényl sulfonamide. La pyriméthamine est un inhibiteur de la chaîne de biosynthèse de l'acide folique qui est utilisé en médecine humaine et vétérinaire. Le triclosan est un composé antibactérien utilisé dans de nombreux produits cosmétiques comme les dentifrices, les savons, les déodorants et les crèmes.

Ce travail de thèse est composé principalement de trois parties :

- Dans le chapitre C, nous avons exploré, dans un premier temps, le comportement photochimique de la sulfaquinoxaline en solution aqueuse. L'étude a été effectuée sur un plan cinétique avec la détermination des rendements quantiques dans différentes conditions expérimentales : pH, longueur d'onde d'excitation et concentration d'oxygène moléculaire dissous. Une étude par photolyse laser a permis d'identifier les espèces transitoires formées sous irradiation. L'étude a été également effectuée sur un plan analytique avec l'identification des principaux photoproduits formés. Etant donnée la très faible concentration des constituants de la solution irradiée (quelques centaines de nmol L⁻¹), nous avons utilisé la technique HPLC/ESI/MS/MS dans le but de caractériser avec la plus grande précision possible la structure chimique de ces produits. Afin d'atteindre cet objectif, nous avons réalisé une étude expérimentale et théorique poussée des processus de fragmentation des différents constituants de la solution. L'identification précise des produits et de leurs fragments associée à l'étude cinétique nous a permis de proposer un schéma réactionnel pour la phototransformation de la sulfaquinoxaline. Une étude similaire a pu être menée avec la pyriméthamine.
- Le chapitre D, dédié à l'étude sur une surface solide de type kaolinite, est luimême composé de deux parties très complémentaires : une section expérimentale et une section consacrée à la modélisation par dynamique moléculaire (que nous avons décidé de maintenir dans le même chapitre). La partie expérimentale concerne l'étude de la photodégradation de la sulfaquinoxaline et du triclosan à la surface de l'argile. La vitesse de dégradation a pu être étudiée en Suntest en fonction de plusieurs paramètres : épaisseur de l'argile, concentration du substrat, quantité de matière organique... Le principal objectif est la détermination du rendement quantique de phototransformation à la surface de l'argile, une grandeur importante pour l'évaluation de la photodégradabilité des composés organiques. De la même manière qu'en solution aqueuse, l'identification des produits a permis de proposer des mécanismes de transformation à la surface de l'argile. La formation de certains produits favorisés dans ces conditions, a pu être expliquée en utilisant une étude théorique par dynamique moléculaire en collaboration avec l'équipe TIM de l'ICCF. Celle-ci a été employée dans le but d'analyser l'organisation structurale du micropolluant à la surface de l'argile.

A. CHAPITRE A

INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE A

INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE

Ce premier chapitre a pour objectif de situer le contexte de ce travail aussi bien d'un point de vue sociétal, réglementaire qu'environnemental. La première partie de cette introduction est une présentation générale de la problématique des micropolluants émergents dans les compartiments aquatiques et les sols avec une description plus approfondie des enjeux liés aux antibiotiques (source, présence, impact et devenir dans l'environnement). La deuxième partie introduit les grands principes de la photochimie environnementale en focalisant sur les processus pouvant se produire dans des compartiments aqueux et à la surface de sols.

I. Les antibiotiques : des micropolluants d'actualité

I.1 Les micropolluants émergents dans l'environnement

Une substance émergente est généralement définie comme une substance dont la présence dans l'environnement est avérée mais qui n'est pas encore réglementée. Cela regroupe plusieurs cas : (i) les substances nouvellement présentes dans la nature à des concentrations préoccupantes, (ii) les substances qui n'étaient pas recherchées ou détectées précédemment, malgré leur présence, (iii) les substances dont la toxicité n'était pas soupçonnée précédemment mais a été mise en évidence par des recherches récentes.

Le terme micropolluant désigne un ensemble de substances, minérales ou organiques qui, même à de très faibles concentrations, de l'ordre du μ g L⁻¹ ou du ng L⁻¹, peuvent être toxiques et engendrer des nuisances dans l'environnement (définition du Ministère de l'Ecologie, 2011). Les micropolluants émergents regroupent donc un nombre important de molécules parmi lesquelles les hormones, les substances pharmaceutiques, les produits de soins corporels, les nouveaux pesticides ou encore les perturbateurs endocriniens.

I.1.1 Contexte sociétal

La prise de conscience des enjeux environnementaux a fortement progressé en France et dans le monde ces dernières années. Au centre des préoccupations se trouvent des thèmes comme le changement climatique, le déclin de la biodiversité ou les liens entre pollution et santé que cette pollution soit humaine ou environnementale. Pour preuve, les projets ambitieux qui ont été initiés, tels que le protocole de Kyoto à l'échelle mondiale [1], le projet REACH [2], la Directive Loi Cadre sur l'air [3], la Directive Loi Cadre sur l'eau [4] à l'échelle européenne, le plan Santé Environnement [5] et la loi sur l'eau et les milieux aquatiques [6] à l'échelle nationale.

Depuis la publication de *Silent Spring* par Rachel Carson (1962) [7], une inquiétude croissante quant aux capacités des composés chimiques de l'environnement à exercer des effets profonds et délétères sur les populations sauvages et la santé humaine est née. Un fort intérêt a émergé d'une part de la communauté scientifique et d'autre part du grand public via le relais des organisations "environnementalistes" à propos des effets néfastes que peuvent produire certains composés, notamment sur les systèmes endocriniens.

I.1.2 Le suivi de la pollution des cours d'eau français : approche historique

En 1964 est adoptée en France la première loi sur l'eau pour lutter contre la pollution créée par le développement industriel et l'évolution de la démographie. Il s'agit de faire un inventaire national du degré de pollution des eaux superficielles et de définir des objectifs d'amélioration de la qualité de ses eaux. Ainsi, la première campagne nationale d'analyse de la qualité des cours d'eau Français est réalisée en 1971, sur un total de 957 stations de prélèvement. Cette étude a conduit à la création de la "grille 1971" qui permet d'évaluer la qualité d'un cours d'eau, sa potabilité et son usage possible à partir de l'analyse de plusieurs paramètres physico-chimiques (pH, conductivité, concentration en oxygène, en ions potassium, chlorure, nitrate, etc...).

En plus des analyses de l'eau, les analyses des sédiments et des matières en suspension se sont ajoutées dans les années 80. Ces milieux, dans lesquels certains micropolluants sont susceptibles de s'accumuler (en particulier les composés apolaires), permettent une plus rigoureuse détection et évaluation de leur concentration. De plus, le développement de la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en 1975 a permis d'améliorer l'analyse des composés hydrophiles et faiblement volatils en solution. Ainsi en 1992, la "grille 1971" est remplacée par le Système d'Evaluation de la Qualité (SEQ), qui prend en compte, entre autres, les micropolluants. Ces derniers sont classés en cinq catégories : les micropolluants inorganiques, les phytosanitaires, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les polychlorobiphényles (PCB) et les solvants industriels. Environ 160 micropolluants organiques sont suivis, parmi lesquels deux tiers sont des pesticides [8].

En 2000, l'Europe adopte la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) qui fixe les objectifs environnementaux de protéger, améliorer et restaurer tous les cours d'eau. Il s'agit d'arriver au "bon état" chimique et écologique des milieux. Les objectifs sont d'assurer le bon fonctionnement des écosystèmes aquatiques et de réduire la pollution due à 41 substances dites "substances prioritaires" incluant des pesticides, des HAP, des métaux lourds et des polluants industriels (**tableau A1**).

PesticidesAlachlore, Atrazine, Chlorfenvinphos, Chlorpyrifos, Diuron, Endosulfan, Hexachlorobutadiène, Hexachlorocyclohexane, Isoproturon,PesticidesDescritter and the above Given in TriGen III
Pesticides Hexachlorobutadiène, Hexachlorocyclohexane, Isoproturon,
Pentachlorobenzene, Simazine, Trifluraline
Métaux lourds Cadmium, Plomb, Mercure, Nickel et leurs composés
Anthracène, Benzène, Pentabromodiphényléther, Chloroalcanes C10-C13, 1,2-
Polluants Dichloroéthane, Dichlorométhane, DEHP, Naphtalène, Nonylphénols, Para-tert-
industriels octylphénol, Chloroforme, Tétrachlorure de carbone, Tétrachloroéthylène,
Trichloroéthylène
Fluoranthène, Hexachlorobenzène, Pentachlorophénol, HAP, tributylétain,
Trichlorobenzènes, DDT total, Aldrine, Diedrine, Endrine, Isodrine

Tableau A1 : Liste des 41 substances témoignant de l'état chimique de la directive 2008/105/CE du 16 décembre 2008, qui complète la directive 2000/60CE.

La DCE impose des obligations de résultats et des échéances impératives sur 3 cycles de 6 ans allant de 2009 à 2017. Pour répondre à ces nouvelles exigences, la loi sur l'eau et les milieux aquatiques (LEMA) est créée en 2006. Suite à cela, il a été évalué en 2009 que 21 % des eaux superficielles et 41 % des eaux souterraines de France sont en mauvais état chimique selon les critères de la DCE, et un plan national d'action pour lutter contre la pollution des milieux aquatiques par les micropolluants a été mis en place [9].

L'amélioration des technologies de détection permet la surveillance exploratoire de nombreux micropolluants organiques et la DCE prévoit que la liste des substances prioritaires soit revue régulièrement. Ainsi en juillet 2013, 12 nouveaux composés ont été ajoutés à la liste des substances prioritaires. Parmi eux se trouvent trois composés pharmaceutiques : l'ibuprofène, le diclofénac et l'éthynilestradiol. C'est la première fois que cette catégorie de polluants va être réglementée.

I.1.3 Le suivi de la pollution des sols français

Le sol, tel que le définissent les pédologues et les agronomes, est la couche superficielle des surfaces continentales, formée par l'altération de la roche sous-jacente sous l'action du climat et des organismes vivants. Le volume du sol s'étend de la surface de la terre jusqu'à la roche altérée dont il se distingue par l'association intime de constituants minéraux et organiques ainsi que par l'intensité de l'activité biologique. En France métropolitaine, son épaisseur est typiquement de l'ordre du mètre. La formation des sols résulte généralement d'une évolution lente, qui s'étend sur plusieurs millénaires. Compte tenu de la durée nécessaire à leur formation, ils constituent donc une ressource non renouvelable et essentielle à préserver.

En 2001 a été créé le Groupement d'Intérêt Scientifique sur les Sols, le GIS Sol, dont l'objectif est de conduire des programmes d'inventaire et de surveillance des sols et de créer un système d'information répondant aux demandes des pouvoirs publics et de la société. Cet organisme a publié en 2011 le bilan de dix ans de travail sur l'état des sols de France [10]. Dans le cadre de leur programme de surveillance Réseau de Mesure de la Qualité des Sols (RMQS), ils se sont intéressés aux micropolluants. Une cartographie nationale des concentrations de 11 éléments trace métalliques a été réalisée entre 2000 et 2010 grâce à un réseau de 2200 sites d'observation, à raison d'un site par maille carrée de 16 km de côté. Les micropolluants organiques ont aussi été étudiés mais dans une moindre ampleur. En effet, leur présence n'a été mesurée que pour un sous-échantillon du territoire métropolitain constitué de la région du Nord-Pas-de-Calais et des départements de la Somme et de la Seine-Maritime, qui a servi de zone de test. Une liste de 90 composés a ainsi été étudiée sur la base du maillage (16 km x 16 km) du RMQS, contenant des HAP, des PCB, des pesticides organochlorés (OCP), des dioxines, des furanes, des herbicides, des triazines et des urées substituées. Les analyses ont été réalisées dans les horizons de surface des sols (0-30 cm). Les résultats de cette étude montrent que pour chaque famille chimique, on trouve des micropolluants relativement ubiquistes et d'autres qui ont une fréquence de détection plus rare. De façon générale, la contamination des sols par les micropolluants organiques est moins étudiée et a une couverture médiatique moins importante que dans le cas de l'eau. Pourtant, cette pollution peut poser des problèmes environnementaux majeurs, comme l'a montré l'exemple de la chlordécone aux Antilles Françaises. Cette molécule de synthèse a été utilisée comme insecticide contre le charançon du bananier de 1972 à 1993 et s'est accumulée dans les sols, causant une pollution à long terme de 40% de la surface agricole de la Martinique [11]. Cette contamination s'est étendue aux denrées alimentaires, aux eaux de rivières et aux d'organismes aquatiques, et des mesures d'interdiction et de contrôle concernant les cultures et la pêche ont été prises pour limiter l'exposition des consommateurs. Seuls certains produits agricoles, qui restent indemnes malgré la pollution, peuvent être cultivés sur les terres polluées à la chlordécone, et de récentes modélisations prévoient qu'il faudra attendre plusieurs siècles pour que ce composé chimique soit totalement éliminé des sols [12].

I.1.4 Les transferts entre milieux aquatiques et milieux terrestres

Il n'est pas possible de séparer la pollution des milieux aquatiques de celle des milieux terrestres, car il existe de nombreuses voies de transfert entre ces deux compartiments, tels que l'adsorption, la diffusion, le ruissellement ou l'infiltration.

L'adsorption d'un micropolluant par les constituants du sol est le plus souvent un processus très rapide et réversible. Toutefois, dans les semaines qui suivent son adsorption, sa diffusion dans la microporosité des agrégats et l'apparition d'interactions plus fortes peuvent conduire à sa rétention irréversible dans le sol. C'est un processus important car il limite le transport, la toxicité et la disponibilité des micropolluants à l'égard de la dégradation biologique. Les polluants qui ne sont pas retenus ou dégradés peuvent être transférés dans les eaux de surface par ruissellement et dans les eaux souterraines par infiltration [13]. Cela ne concerne en général qu'une très faible proportion du polluant (moins de 1% de la dose appliquée dans le cas des pesticides [14]). Par exemple, lors d'une étude sur des sols agricoles soumis à différentes pratiques de labour pendant une durée de 3 ans, les transferts par ruissellement des pesticides alachlor, atrazine et métribuzine ont été respectivement évalués au maximum à 0,10%, 0,35% et 0,87% de la dose appliquée [15]. Même si le ruissellement représente une faible proportion de la dose de polluant appliquée, cela peut suffire à entraîner un dépassement du seuil de potabilité de l'eau. Le ruissellement et l'érosion des sols sont ainsi, les causes principales de la présence de produits phytosanitaires dans les eaux superficielles. Réciproquement, les micropolluants présents dans les eaux de surface peuvent se retrouver dans le sol lors des processus de traitement des eaux. En effet, les résultats du programme de recherche français sur les rejets de micropolluants, AMPERES [16], ont mis en évidence que le processus principal d'élimination des micropolluants en station d'épuration est l'adsorption sur les boues activées. L'épandage de ces boues contaminées sur les terres agricoles représente donc une source directe de micropolluants dans les sols. De plus, les résultats de cette étude montrent que 90% des substances pharmaceutiques sont retrouvées dans les effluents de stations à des concentrations supérieures à 100 ng L⁻¹. L'arrosage des champs avec ces effluents est donc également une source de micropolluants dans les sols, en particulier pour les substances pharmaceutiques.

I.2 Les antibiotiques : généralités

Les antibiotiques appartiennent à la famille des antimicrobiens qui dans le sens général sont des substances naturelles ou de synthèse qui inhibent ou empêchent la croissance des micro-organismes comme les bactéries, les champignons et les protozoaires. Cependant, les antibiotiques ciblent spécifiquement les cellules procaryotes, donc les bactéries, tout en respectant le métabolisme des eucaryotes.

Ils représentent probablement la famille de médicaments qui est la plus utilisée en santé humaine et animale. Environ 250 antibiotiques différents sont utilisés aujourd'hui pour des applications médicales ou vétérinaires [17]. Il existe plusieurs familles d'antibiotiques, qui sont classées selon leurs structures chimiques, leurs modes d'action et leur spectre d'activité. Les principales familles sont les béta-lactames, les tétracyclines, les aminoglycosides, les macrolides, les glycopeptides, les sulfonamides, les quinolones, les phénicols, les polymyxines et les nitrofuranes (**Tableau A2**).

Les premiers antibiotiques utilisés étaient d'origine naturelle comme par exemple la pénicilline ou la streptomycine (utilisés à partir de 1943). Aujourd'hui, les antibiotiques sont obtenus par synthèse chimique ou par modification chimique de composés d'origine naturelle. La plupart des antibiotiques sont des petites molécules qui ont une masse moléculaire inférieure à 1000 Da. Les antibiotiques sont souvent des molécules complexes qui possèdent plusieurs groupes fonctionnels (hydroxyle, amine, carbonyle, carboxyle, sulfonyle...). Ainsi, en fonction du pH du milieu, ils peuvent exister sous forme neutre, cationique, anionique ou zwitterionique et ceci peut influencer fortement leurs propriétés physico-chimiques et biologiques.

Au début des années 2000, la consommation d'antibiotiques a été estimée entre

100 000 et 200 000 t par année dans le monde et à 15 000 t par année en Europe [18]. Les deux-tiers sont utilisés comme médicaments pour les humains et un tiers à des buts vétérinaires [19]. Aux États-Unis, la consommation est d'environ 16 000 t par an, dont environ 70% à des fins vétérinaires [20]. Cette différence est principalement due au fait que les antibiotiques sont utilisés comme facteur de croissance aux Etats-Unis, alors que cette pratique est interdite en Europe depuis environ 15 ans.

Le tableau A2 ci-dessous présente les grandes familles d'antibiotiques utilisées aujourd'hui.

Antibiotique	Structure	Famille	Mode d'action dans la cellule bactérienne
Penicilline	R H H S CH ₃ O N CH ₃ COOH	Béta-lactames	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne
Tétracycline	HO CH ₃ HO CH ₃ HO CH ₃ HO CH ₃ HO CH ₃ HO OH OH OH OH OH OH OH OH OH	Tétracyclines	Inhibition de la synthèse protéique
Streptomycine		Aminoglycosides	Inhibition de la synthèse protéique
Erythromycine		Macrolides	Désorganisation de la membrane bactérienne
Vancomycine	$H_{O} = H_{O} = H_{O$	Glycopeptides	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne

Sulfaméthoxazole	H ₂ N	Sulfonamides	Inhibition de la synthèse des acides foliques
Ciprofloxacine	F HN HN	Quinolones	Inhibition de la synthèse de l'ADN
Chloramphénicol		Phénicols	Inhibition de la synthèse protéique
Colistine	$\begin{array}{c} H_{H} \\ H_{H} \\$	Polymyxines	Désorganisation de la membrane plasmique
Nifuroxazide		Nitrofuranes	Inhibition de la synthèse de l'ADN

Tableau A2 : Les grandes familles d'antibiotiques et quelques exemples de structure

I.3 Les antibiotiques dans l'eau

I.3.1 Sources et présence dans le milieu aquatique

La principale source d'antibiotiques dans les eaux de surface est la métabolisation incomplète et l'excrétion des médicaments dans les eaux usées [21]. En moyenne, il est estimé que 70 % du composé est excrété intact dans le cas des antibiotiques [17]. Les autres sources sont les déchets hospitaliers, industriels et les fuites de fosses septiques. Toutefois, en France, l'utilisation d'antibiotiques dans les hôpitaux représente moins de 10 % de l'utilisation totale des antibiotiques. Le complément est dû à la médicamentation à domicile et leur rejet les égouts via les excrétions. Dans le cas des antibiotiques vétérinaires c'est l'élevage et l'aquaculture qui représentent les principaux gisements [19]. Les stations d'épuration des eaux usées (STEP) étant le lieu de convergence des eaux polluées, on y retrouve de nombreux antibiotiques. Plusieurs études montrent que leur dégradation dans les STEP est incomplète [22]–[24]. A titre d'exemple, dans une étude de Gao et al. [24] qui porte sur le devenir de plusieurs antibiotiques dans les stations d'épuration, les pourcentages d'éliminations de l'oxytétracycline et de la sulfadiazine en STEP ont été respectivement évalués à 37 et 22%.

Dans une étude bibliographique, Capdeville [25] propose de synthétiser en une seule figure la présence de différentes familles d'antibiotiques dans les rejets hospitaliers, les influents et effluents de STEP, les eaux de surface, les eaux souterraines et l'eau potable. La **figure A1** est reprise ci-dessous afin d'avoir un aperçu rapide des concentrations déterminées dans ces différentes matrices. Nous pouvons remarquer que la plupart des concentrations mesurées dans les eaux de surface sont de l'ordre de la dizaine ou de la centaine de ng L⁻¹ avec des maximums allant jusqu'à quelques μ g L⁻¹. Dans le cas des sulfonamides, il apparaît que les concentrations dans les influents de stations d'épuration sont du même ordre que celles des rejets hospitaliers. Dans les effluents de STEP, les concentrations mesurées sont légèrement plus faibles qu'en entrée, mais toujours de l'ordre de la centaine de ng L⁻¹. Ces données s'expliquent par l'efficacité partielle des traitements existants en STEP à éliminer certains antibiotiques. Néanmoins, dans les eaux de surface les concentrations mesurées sont en général cinq à dix fois plus faibles qu'en sortie de station d'épuration [26], du fait de processus d'atténuation naturelle tels que la dispersion, la volatilisation, la sorption ou encore la dégradation qui diminuent la concentration des antibiotiques dans l'environnement [27].



Concentration (ng.L⁻¹)

Figure A1 : Présence et niveau de contamination de différentes familles d'antibiotiques dans les matrices aqueuses d'après des données relevées dans la littérature par Capdeville [25].

I.3.2 Devenir des antibiotiques dans l'eau

Les deux grands processus de disparition possibles pour un polluant organique dans l'eau sont le transfert vers une autre phase ou la dégradation biotique et abiotique.

On peut prévoir l'importance des transferts (volatilisation, adsorption dans les sols, bioaccumulation...) auxquels sera soumis un composé en étudiant ses propriétés physicochimiques. Pour chaque molécule commercialisée, ces données sont accessibles sous la forme de constantes thermodynamiques. Leurs valeurs varient fortement pour les différentes familles d'antibiotiques. Par exemple, les sulfonamides sont une classe de composés avec de faibles constantes de Henry K_H (1,3×10⁻¹² < K_H < 1,8×10⁻⁸) [28], permettant ainsi de prévoir que la volatilisation sera mineure pour ces composés. Leurs coefficients de partition avec les sols K_d sont également faibles (0,6 < K_d < 4,9 L kg⁻¹) [29], ce qui indique qu'ils seront peu adsorbés à la surface des sols. De plus, les faibles valeurs de leurs coefficients de partage octanol-eau K_{ow} (10^{-0,62} < K_{ow} < 10^{0,89}) [30] indiquent que leur bioaccumulation sera peu importante. De ce fait, les sulfonamides resteront donc majoritairement dans la phase aqueuse, et leur principale voie de disparition sera probablement la dégradation.

Les trois voies de dégradation possibles pour un polluant organique dans l'environnement sont la biodégradation, la chimiodégradation ou la photodégradation. La biodégradation des antibiotiques dans les eaux de surface est un sujet complexe sur lequel la littérature est encore incomplète et disparate. En effet, les résultats des études entreprises sur un même antibiotique sont très souvent divergents et les protocoles utilisés sont difficilement comparables. Par exemple, la sulfaméthoxazole (l'une des sulfonamides les plus étudiées) a été déclaré non-biodégradable dans différents milieux (eau pure, eau naturelle, boues de stations d'épuration) par plusieurs études alors que d'autres articles signalent une biodégradation rapide dans des milieux similaires (bassins d'aquaculture, boues de stations d'épuration) [31]. Malgré la difficulté à évaluer leur biodégradation en conditions naturelles, les résultats des tests standardisés en laboratoire, tels que les tests ISO 11734:1995 [32] et OECD 301 [33] classent les antibiotiques dans la catégorie des composés non-biodégradables [18], et il y a un consensus scientifique sur le fait qu'ils sont, de façon générale, peu biodégradables dans l'eau.

La chimiodégradation des antibiotiques dans l'eau intervient principalement par des processus d'hydrolyse, qui ont été observés par exemple dans le cas des tétracyclines [34], [35] et des béta-lactames [36]. Toutefois, la plupart des classes d'antibiotiques, comme par

exemple les sulfonamides et les quinolones, sont stables en milieu aqueux en l'absence de lumière et d'organismes vivants.

La biodégradation et la chimiodégradation représentent donc des voies naturelles de dégradation peu efficaces des antibiotiques dans l'eau. Si le composé est exposé à la lumière solaire, la photodégradation peut alors être une voie potentielle et efficace d'élimination. De nombreuses familles d'antibiotiques sont photosensibles (les quinolones, les tétracyclines, les sulfonamides, les tylosines, les nitrofuranes... [18]). Ainsi, des composés tels que les sulfonamides, qui sont insensibles à l'hydrolyse, subissent une réaction de photohydrolyse à la lumière solaire [37]. De nombreuses études signalent une dégradation beaucoup plus rapide des antibiotiques en présence de lumière dans des conditions naturelles. Par exemple, la durée de demi-vie de la fluméquine dans l'eau d'une ferme aquacole a été évaluée à 2,3 jours en présence de lumière, alors qu'aucune dégradation n'a été observée dans les mêmes conditions à l'obscurité [38]. Pour les familles d'antibiotiques sujets à une chimiodégradation en absence de lumière, la photodégradation est souvent plus rapide que l'hydrolyse. Par exemple, un suivi du devenir de l'oxytétracycline dans de l'eau douce et de l'eau de mer en condition abiotique a montré que 30% de sa dégradation était due à l'hydrolyse et que 70% résultait de sa transformation photochimique [39].

A ce niveau, il est nécessaire de rappeler que les processus de phototransformation peuvent être de différentes natures. En effet, la dégradation photochimique d'un polluant peut être directe si le polluant absorbe lui-même une partie de la lumière solaire (on parle alors de photodégradation directe) ou bien induite si ce sont d'autres composés (photoinducteurs ou photosensibilisateurs) présents dans le milieu qui vont amorcer la dégradation du polluant (on parle alors de photodégradation indirecte, induite ou sensibilisée). A titre d'exemple, plusieurs études ont montré que les ions nitrate NO_3^- étaient une source de radicaux hydroxyles HO[•] dans les eaux de surface lors d'une exposition à la lumière solaire [40], [41]. Ces radicaux extrêmement réactifs sont capables d'oxyder un large spectre de composés organiques avec des constantes de vitesse élevées. De la même façon, la matière organique dissoute (MOD) peut intervenir en tant que photosensibilisateur par la formation d'espèces oxydantes (¹O₂ et HO[•]) ou par le biais d'états excités triplets ³DOM^{*} [42], [43]. Ces exemples de réactivité montrent que même pour un composé n'absorbant pas la lumière solaire, la photodégradation peut être un processus naturel qui joue un rôle majeur dans sa transformation.

La photodégradation est donc une voie non négligeable de transformation des antibiotiques dans l'eau, et son étude est indispensable pour la compréhension du devenir des

antibiotiques dans les compartiments aquatiques naturels.

I.3.3 Effets de la pollution de l'eau par les antibiotiques.

L'effet le plus étudié de la pollution de l'eau par les antibiotiques est le développement de la résistance bactérienne [44]. En effet, la plupart des antibiotiques, n'ayant pas une dégradation efficace dans l'environnement et étant introduits de façon constante, ils sont considérés comme pseudo-persistant dans l'environnement et exercent une action de sélection qui à long terme favorise les organismes qui leur résistent. De plus, les échanges de gènes entre les bactéries de différentes origines (humaines, animales, environnementales) permettent à la résistance bactérienne de se propager d'une espèce à l'autre [45]. Cela signifie que si une bactérie d'origine environnementale, non pathogène pour l'homme, développe une résistance à un antibiotique, elle pourra par la suite la transmettre à une bactérie pathogène pour l'homme [46]. L'augmentation de la résistance bactérienne est un problème sérieux de santé public sérieux, non seulement pour traiter les maladies infectieuses mais aussi pour le traitement de beaucoup d'autres pathologies qui nécessitent souvent des antibiotiques pour éviter des risques de surinfection..

D'autres effets causés par l'introduction d'antibiotiques dans l'eau sont aussi décrits dans la littérature. Les antibiotiques sont en effet toxiques pour les algues et les microorganismes aquatiques photosynthétiques (EC_{50} compris entre 0,1 et 1 mg L⁻¹) [47]. Par exemple, de récentes études montrent que la fluoroquinolone peut provoquer l'élimination des chloroplastes de certains microorganismes [48], [49]. Dans le cas des algues, des tests de toxicité chronique ont montré une haute sensibilité aux antibiotiques, qui provoquent une diminution importante de leur croissance et un changement dans le fonctionnement des écosystèmes [35], [50]. Les vertébrés et les crustacés qui ont été en contact direct avec de faibles concentrations d'antibiotiques n'ont apparemment pas subi d'effets observables [51]. Toutefois, il faut garder à l'esprit que les algues constituent la base de la chaîne alimentaire et que la diminution de leur population affecterait directement l'équilibre fragile des écosystèmes aquatiques.

I.4 Les antibiotiques dans les sols

I.4.1 Sources et présence dans les sols

La contamination des sols par les antibiotiques vient principalement des excréments d'animaux, soit par rejet direct lors des pâtures ou comme engrais [52], soit par épandage des boues de stations d'épuration [53], utilisées pour l'amendement du fait de leur contenu riche en nutriments et en la matière organique.

Un rapport de l'ONEMA de 2013 [54] s'est intéressé à la présence de 17 composés pharmaceutiques dans les boues de stations et les fumiers, parmi lesquels 9 antibiotiques et un antimicrobien, le triclosan. Les concentrations trouvées dans ces milieux en μ g de composé par kg de matière sèche sont résumées dans la **figure A2**.



Figure A2: Concentrations en antibiotiques dans a) les boues b) les fumiers – CHL: Chlortétracycline, CIP: Ciprofloxacine, NOR: Norfloxacine, OFL: Ofloxacine, OXY: Oxytétracycline, SLFI: Sulfaméthazine, SLFO: Sulfaméthoxazole, TET: Tétracycline, TRIC: Triclosan, TRM: Triméthoprim. [54]

Dans les boues de stations d'épuration, les valeurs médianes vont de 11,5 μ g kg⁻¹ pour la sulfaméthazine (car elle a plutôt un usage vétérinaire) à 2500 μ g kg⁻¹ pour la ciprofloxacine, avec des maximums dépassant parfois 10 000 μ g kg⁻¹. Dans le lisier, les chiffres sont en général supérieurs tout en restant du même ordre de grandeur, avec des valeurs médianes allant de 72 μ g kg⁻¹ pour la ciprofloxacine à 2000 μ g kg⁻¹ pour la norfloxacine, avec des maximums dépassant parfois les 100 000 μ g kg⁻¹. Ces fortes concentrations illustrent bien le fait que les apports de produits résiduaires organiques par le biais des excréments et de l'amendement sont très probablement les principales voies d'accès des antibiotiques dans les sols.

Par ailleurs, il faut savoir que la surface agricole recouverte par des boues de stations d'épuration chaque année est estimée à 250 000 d'hectares [55], pour une quantité de boue totale de 776 tonnes épandues (matières sèches). Ceci signifie qu'une parcelle amendée avec des boues reçoit donc un flux moyen de 3,1 tonnes de matière sèche par an et par hectare. Dans le cas d'un amendement au fumier, le flux est de l'ordre de 2 à 8,5 tonnes de matière sèche par hectare et par an [54]. En prenant en considération ces importants apports de boues et de fumier et les concentrations en polluants organiques présentées ci-dessus, on peut estimer que la concentration totale annuelle d'antibiotiques apportés à un sol amendé par des boues ou du fumier serait comprise entre 50 et 500 g ha⁻¹, ce qui est non-négligeable, bien qu'inférieur à la quantité de pesticides ajoutée en moyenne en France, qui est de 5 kg an⁻¹ ha⁻¹.

Dans un rapport du GIS Sol sur l'état des sols en France en 2011 [10], un bilan de la présence des antibiotiques dans les sols amendés en boues et en fumier est fait. Toutefois peu de données sont disponibles sur ce sujet de façon générale car les concentrations d'antibiotiques détectées dans les sols sont beaucoup plus faibles que dans les boues et les fumiers, ce qui rend les recherches sur le sujet plus difficiles. Ainsi dans les sols amendés avec des boues, les valeurs médianes vont de 5 μ g kg⁻¹ pour la sulfaméthoxazole à 11,6 μ g kg⁻¹ pour la chlortétracycline et dans les sols amendés avec du fumier, les valeurs médianes vont de 2 μ g kg⁻¹ pour la sulfaméthoxazole [10]. Ces faibles valeurs, en comparaison des concentrations importantes trouvées dans le fumier, s'expliquent par les processus de transport et de dégradation des antibiotiques dans l'environnement.

Dans une étude de Hamscher et al. portant sur un élevage intensif de cochons en Allemagne, les échantillons de fumier contenaient jusqu'à 4000 μ g kg⁻¹ de tétracyclines et les sols fertilisés avec ce même fumier avaient une concentration moyenne de tétracyclines de 299 μ g kg⁻¹ [56]. Ce résultat témoigne clairement de l'apport important d'antibiotiques lors de l'amendement des sols avec les risques que cela implique sachant qu'aucune législation n'existe aujourd'hui pour la concentration limite acceptable d'antibiotiques dans les sols.

I.4.2 Devenir des antibiotiques dans les sols

Le devenir des antibiotiques dans les sols fait intervenir principalement trois phénomènes qui sont la sorption, le transport et la dégradation.

La sorption des antibiotiques varie fortement en fonction des familles d'antibiotiques,

qui ont des structures moléculaires et des propriétés physico-chimiques très différentes. Certains sont hydrophobes et non polaires tandis que d'autres sont très solubles dans l'eau. Par exemple, si on s'intéresse aux valeurs de coefficients d'adsorption K_d déterminées expérimentalement par Tolls pour différentes familles d'antibiotiques et différents sols, il est facile de se rendre compte de la grande variété de comportements possibles [29]. En effet, les valeurs de K_d varient de 0,6 à 4,9 L kg⁻¹ pour les sulfonamides, de 290 à 1620 L kg⁻¹ pour les tétracyclines et de 260 à 6310 L kg⁻¹ pour les fluoroquinolones.

De plus, l'adsorption des antibiotiques est très influencée par la composition et le pH du sol. Par exemple, Boxall et al. ont montré dans le cas de sulfonamides que les coefficients d'absorption étaient multipliés par un facteur de plus de 10 quand le pH du sol variait de 8 à 4 [57], à cause de l'équilibre protolytique des molécules. L'influence de la composition et de la quantité de matière organique du sol est très importante, comme l'a montré Thiele et al. dans le cas de la sulfapyridine, dont l'adsorption a été corrélée à la concentration de lipides et de dimères de la lignine dans la matière organique des particules du sol [58]. De façon générale l'adsorption d'antibiotiques sur les excréments est forte car ils sont riches en matière organique, bien que cet effet puisse être contrebalancé par le pH alcalin de certains fumiers [59]. Enfin, la partie minérale du sol a également une grande importance. Avec certaines argiles comme la montmorillonite une adsorption dans l'espace interlamellaire a été observée pour plusieurs classes d'antibiotiques, alors que d'autres argiles comme la kaolinite ont une structure qui impose une adsorption à la surface des particules [60]. Pour les antibiotiques dont l'adsorption est importante, un fort effet d'hystérésis sur la désorption a été observé [60].

Beaucoup d'antibiotiques présentent une faible solubilité dans l'eau ce qui limite fortement leur transport dans les sols. Toutefois un transport par les macropores ou un cotransport avec des matières organiques dissoutes peut favoriser leur mobilité. Des études de terrain ont fait état de la contamination des eaux souterraines à proximité de sources d'antibiotiques, comme par exemple à proximité d'un stockage de fumier d'un élevage porcin [61] ou près d'une usine pharmaceutique [62]. Il semble que le simple épandage de boue ou de fumier soit insuffisant pour polluer les eaux souterraines [50], mais une contamination des eaux de surface est possible par ruissellement, en particulier si un phénomène pluvieux intervient peu de temps après l'épandage.

Si la plupart des antibiotiques sont connus pour avoir une biodégradation lente dans la phase aqueuse, il a été également montré que ce phénomène est encore plus lent dans les sols. Cela s'explique par le fait que la fixation des antibiotiques à la surface ou dans les pores de la matrice du sol peut les protéger efficacement contre la biodégradation par immobilisation (diminution de la biodisponibilité). Par exemple, une étude sur le devenir de la tétracycline et de la chlortétracycline dans un champ a montré qu'aucune dégradation significative n'était mesurable pendant une durée de 6 mois après l'épandage d'un fumier contaminé [56]. Dans des sédiments aquatiques, quasiment aucune biodégradation n'a été observée pour la fluméquine, l'oxytétracycline et la sulfadiazine pendant une période de 180 jours tandis qu'une dégradation de 20% a été observée pour la sulfaméthoxazole [63]. Certains antibiotiques se dégradent tout de même efficacement dans le sol, comme par exemple la sulfaméthazine et de la sulfachlorpyridine, dont les durées de demi-vie ($t_{1/2}$) dans le sol ont été respectivement évaluées à 18,6 et 21,3 jours [64]. Enfin, une autre étude portant sur la dégradation de 4 macrolides dans le sol a mis en évidence des durées de demi-vie allant de 8 à 27 jours pour l'érythromycine, la tylosine et l'oléandomycine, tandis que la roxithromycine n'a subi aucune dégradation pendant la durée de l'expérience [65]. Il est très important de signaler que l'adaptation des communautés microbiennes permet d'accélérer la biodégradation d'un composé lors d'ajouts répétés [66].

Même si la biodégradation est considérée comme le processus principal de dégradation des composés organiques dans les sols, des processus de dégradation abiotiques peuvent également intervenir, comme l'hydrolyse ou la photodégradation, en particulier lorsque la biodégradation est très lente.

La raison principale pour laquelle la photodégradation est difficile dans les sols est la faible pénétration de la lumière dans ces milieux. Dans une étude en laboratoire sur la photodégradation de deux pesticides répartis de façon homogène dans des échantillons de sols d'agriculture, Herbert et al. montrent que la photolyse directe intervient au maximum jusqu'à une profondeur de 400 μ m [67]. Néanmoins, en conditions naturelles, ils ont observé la phototransformation de ces pesticides jusqu'à une profondeur plus importante de 2 mm. Un résultat qui peut s'expliquer par la diffusion efficace des composés organiques dans le sol, qui leur permet de rejoindre rapidement la zone illuminée.

Malgré la très faible épaisseur sur laquelle peut se produire la photodégradation, c'est un processus qui concerne de nombreux polluants organiques tels que les pesticides. En effet, cette classe de composés est la plus étudiée dans ce milieu car après pulvérisation, on les retrouve quantitativement à la surface des sols, ce qui favorise leur photodégradation efficace. Par exemple, dans une étude de Konstantinou et al. [68] sur le devenir de six herbicides (appartenant à trois familles différentes) dans l'eau et dans les sols en conditions naturelles, il a été montré que la photodégradation de chaque composé est plus rapide à la surface des sols $(12 \text{ j} < t_{1/2} < 40 \text{ j})$ que dans l'eau (26 j $< t_{1/2} < 73 \text{ j})$. Une étude de Katagi et al. fait la synthèse d'un grand nombre de résultats concernant la photodégradation de pesticides dans les sols et elle confirme que ce processus représente une voie d'élimination majeure pour cette classe de composés [69].

Dans le cas des antibiotiques, les études de photodégradation à la surface des sols sont extrêmement rares. Pourtant, leur apport dans les sols (par épandage de fumier, de lisier, de boue de station d'épuration) est également compatible avec une potentielle photodégradabilité. En effet, lors de l'amendement, le solide est finement divisé par un procédé mécanique permettant une répartition homogène sur la surface du champ en fine couche. Si l'on considère par exemple un épandage de 10 m³ de fumier par hectare (dose pouvant correspondre à une situation réelle), l'épaisseur moyenne de la couche de fumier déposée serait de 1 mm. La faible épaisseur du dépôt devrait permettre la photodégradation des antibiotiques présents dans l'amendement.

En conclusion, la photodégradation des antibiotiques dans les sols, bien que très peu étudiée, est très probablement une voie de dégradation importante de cette classe de composés. Son étude est donc nécessaire pour comprendre leur devenir à la surface des sols et évaluer leur impact sur l'environnement.

I.4.3 Effets de la pollution des sols par les antibiotiques.

De façon générale, la contamination des sols par les antibiotiques favorise le développement de la résistance bactérienne [70], ce qui est à mettre en relation avec l'augmentation du nombre de gènes résistants trouvés dans les bactéries du sol ces 60 dernières années [71].

De plus, les antibiotiques ont un fort impact sur les microorganismes du sol [72]. La présence de tétracyclines dans les sols, par exemple, perturbe la structure des communautés microbiennes et cause une diminution de l'activité des enzymes uréase, phosphatase acide et déshydrogénase [73]. De la même manière, des concentrations de 10 mg.kg⁻¹ de sulfaméthoxazole, de sulfaméthazine ou de triméthoprime provoquent une diminution rapide de la respiration du sol et de l'activité de la phosphatase [74]. Plusieurs études similaires ont été effectuées et sont résumées dans un article de Ding et al. [75].

Par ailleurs, il a été montré que les antibiotiques peuvent également avoir des effets

néfastes sur les plantes (phytotoxicité ou phytoaccumulation). En effet, une diminution de la biomasse de l'ivraie par la tétracycline [73], une inhibition de la croissance des racines de tomates et de choux par les sulfonamides [76] et une inhibition de la croissance des carottes et des laitues cultivées dans un sol contenant 1 mg kg⁻¹ d'antibiotique [77] ont été observées, ainsi qu'une inhibition de la germination pour des graines en contact avec des solutions d'antibiotiques [74]. Enfin, des études ont montré que les végétaux tels que la laitue, la carotte [77], l'oignon vert et le chou [78] pouvaient absorber, transporter et accumuler des antibiotiques dans leurs parties comestibles.

La contamination par les antibiotiques peut donc avoir un impact sur l'écosystème des sols ainsi que la productivité et la qualité des aliments cultivées, révélant un impact potentiel sur la santé humaine inquiétant.

II. <u>La photochimie</u>

II.1 Généralités

II.1.1 L'absorption du rayonnement solaire par une molécule organique

On appelle *réactions photochimiques* celles qui sont provoquées par l'absorption d'un rayonnement UV et/ou visible par au moins l'un des constituants du mélange réactionnel. Pour de telles réactions ayant lieu dans l'environnement, la source de lumière est le Soleil, qui émet chaque jour une quantité d'énergie de 3.10^{32} J, dont $1,5.10^{22}$ J parviennent à la surface de la Terre. Le spectre de la lumière solaire à la surface de la terre s'étend de 295 nm en été (300 nm en hiver) à plus de 1000 nm. Une partie de ce spectre est donnée dans la **figure A3** cidessous :



Figure A3 : Spectre d'émission solaire à la surface de la Terre (Soleil au zénith, à l'équateur).

La première étape d'une réaction photochimique est l'absorption d'un photon par une molécule. Pour cela, l'énergie du photon doit être suffisante pour promouvoir un électron d'une orbitale liante (σ , n ou π) à une orbitale antiliante (σ^* ou π^*) de la molécule organique, ce qui n'est pas toujours le cas. En effet, la plupart des transitions électroniques nécessitent des photons d'énergies élevées, correspondant à des longueurs d'ondes inférieures à 250 nm. Comme le montre sur la **figure A4** ci-dessous, pour qu'une molécule absorbe la lumière solaire, la présence d'un système π conjugué est indispensable. On appelle groupes chromophores les motifs moléculaires qui influencent la longueur d'onde et l'intensité de l'absorption d'une molécule.



Figure A4 : Domaines de longueurs d'onde de différentes transitions électroniques.

II.1.2 Echelles de temps des transitions électroniques

L'absorption d'un photon permet à une molécule de changer de configuration électronique et de passer de l'état fondamental, noté S_0 , à un état excité singulet de plus haute énergie, qui sont notés S_1 , S_2 , S_3 ... Dans cet état excité, la molécule a une réactivité particulière et peut donner lieu à des réactions photochimiques. Toutefois, il présente une durée de vie très courte, car des processus photophysiques provoquent le retour à l'état fondamental de la molécule via l'émission de photons (fluorescence, $S_1 \rightarrow S_0$, ou phosphorescence, $T_1 \rightarrow S_0$) ou via la conversion interne d'énergie (IC). Il est par conséquent important d'examiner dans quelles gammes de temps se situent la formation et la disparition des états excités (diagramme de Jablonski-Perrin, voir **figure A5** ci-dessous) avant de décrire les mécanismes des réactions photochimiques.

Les transitions électroniques dues à l'absorption d'un rayonnement UV-visible se produisent dans un laps de temps compris entre 10^{-16} et 10^{-15} s. Le passage des états singulets de hautes énergies (S₂, S₃...) à l'état S₁ par conversion interne (IC) est très rapide et se produit en moins de 10^{-12} s, ce qui est de façon générale trop rapide pour leur permettre d'intervenir dans les réactions photochimiques. La durée de vie de l'état excité S₁, par contre, peut aller de 10^{-12} à 10^{-4} s, ce qui lui permet d'intervenir dans des réactions photochimiques rapides, comme par exemple dans les premières étapes élémentaires de la vision et de la photosynthèse. Les processus de conversion inter-système (ISC) et de phosphorescence pour les molécules organiques se font respectivement en 10^{-12} à 10^{-4} s et en 10^{-6} s à quelques secondes (voire plusieurs minutes). Les états excités triplets sont donc importants sur le plan photochimique, puisque le déclin de la phosphorescence est plus lent que la plupart des réactions habituelles et que les espèces excitées à l'état triplet ont le temps de subir un grand nombre de collisions avec d'autres réactifs avant de se désactiver [79].



Figure A5 : Diagramme de Jablonski-Perrin [80]

Pour caractériser l'efficacité de ces différents phénomènes, on définit le rendement quantique, ϕ , comme étant le nombre de molécules réagissant selon un processus donné par nombre de photons absorbés par la molécule, durant un temps donné :

$\phi = rac{Nombre\ de\ molécules\ réagissant\ selon\ un\ processus\ donné Nombre\ de\ photons\ absorbés$

Dans le cas d'une émission de lumière, un rendement quantique est dit de fluorescence ou de phosphorescence. Dans le cas de la dégradation d'un composé, on parle de rendement quantique de disparition. Le nombre total de molécules désactivées par des processus photophysiques et photochimiques devant être égal au nombre d'espèces excitées produites, on peut conclure que la somme des rendements quantiques primaires de tous les processus i doit être égale à 1. D'où la formule : $\sum \phi_i = 1$.

II.2 La photochimie en phase aqueuse

II.2.1 Interaction lumière-matière en solution

Un flux photonique d'intensité I_0 pénétrant dans une solution pourra être en partie absorbé par les solutés (Intensité I_a), diffusé par le milieu (Intensité I_D) et transmis (Intensité I_t), tel que $I_o = I_a + I_D + I_t$, comme cela est présenté sur la **figure A6** suivante.



Figure A6 : Représentation schématique de l'interaction entre flux photonique et une solution

Par ailleurs, la loi de Stark-Einstein stipule que pour chaque photon absorbé par un système chimique, une seule molécule est impliquée dans un processus photochimique et/ou photophysique. Le nombre de molécules ayant absorbé la lumière est ainsi proportionnelle à la lumière absorbée. Pour une solution irradiée par une lumière monochromatique, en négligeant les phénomènes de diffusion, l'absorbance (ou Densité Optique) est définie à une longueur d'onde donnée par la loi de Beer-Lambert suivante :

$$A_{\lambda} = DO_{\lambda} = -\log\left(\frac{I_t}{I_0}\right) = -\varepsilon_{\lambda}cl$$

Avec A_{λ} = absorbance à la longueur d'onde λ , DO_{λ} = densité optique à la longueur d'onde λ , I_t = intensité lumineuse transmise en photons cm⁻³ s⁻¹, I_o = intensité lumineuse incidente en photons cm⁻³ s⁻¹, ε_{λ} = coefficient d'absorption molaire du composé en solution en mol⁻¹ L cm⁻¹ à la longueur d'onde λ (pH et solvant donnés), c = concentration de la substance chimique en solution en mol L⁻¹, l = trajet optique en cm.

II.2.2 Etude cinétique : rappel et calculs des grandeurs mises en jeu

Ces grandeurs sont énoncées dans le cas d'une irradiation monochromatique d'une solution pure d'un composé M :

<u>Le coefficient d'absorption molaire</u> ε_{λ} : il indique la capacité de la molécule M à absorber la lumière à une longueur d'onde donnée et il traduit la probabilité qu'à la transition électronique de se produire à cette même longueur d'onde, soit : $A_{\lambda} = -\varepsilon_{\lambda}[M]l$. Avec $A_{\lambda} =$ absorbance à la longueur d'onde λ , $\varepsilon_{\lambda} =$ coefficient d'absorption molaire en mol⁻¹ L cm⁻¹ à la
longueur d'onde λ , [M] en mol L⁻¹, l = trajet optique en cm⁻¹.

<u>Le flux photonique I_o </u>: il correspond au nombre de photons arrivant sur la solution étudiée. Il dépend étroitement du dispositif d'irradiation utilisé (source lumineuse, absorption du réacteur d'irradiation). Il est déterminé par actinométrie chimique, en utilisant un substrat dont on connaît exactement le comportement photochimique (ε , ϕ , produits de dégradation).

Le rendement quantique de disparition initiale ϕ_d : il caractérise l'efficacité de la photodégradation de la molécule M soit : $\phi_d = \frac{\Delta n_M}{I_a}$

Avec Δn_M = nombre de molécules M disparues en un temps t (souvent court), I_a = nombre de photons absorbés par M pendant le même temps.

On peut relier le rendement quantique à la vitesse initiale de photodégradation du composé M et au flux photonique, I_{a} , absorbé par M. Ce dernier est relié à l'intensité incidente I_{o} par la loi de Beer-Lambert. Le rendement quantique s'écrit ainsi :

$$\phi_d = \frac{N \times \frac{d[M]}{dt}}{10^3 \times I_a} = \frac{N \times \frac{d[M]}{dt}}{10^3 \times I_0 \times (1 - 10^{-A})}$$

Avec d[M]/dt = variation initiale de la concentration en mol L⁻¹ de M pendant le temps dt en s, I_a = intensité lumineuse en photons cm⁻² s⁻¹, N = nombre d'Avogadro = 6,022 x 10²³ mol⁻¹, I_o = flux de photons incident en photons cm⁻² s⁻¹, A = absorbance à la longueur d'onde d'excitation.

Ces grandeurs représentent les principaux outils qui vont nous permettre d'évaluer quantitativement l'efficacité des processus primaires de phototransformation, et ainsi d'avoir des indications quant aux mécanismes mis en jeu.

II.3 La photochimie dans les sols

La photodégradation à la surface des sols peut représenter une voie importante de dégradation pour les micropolluants organiques [69], en particulier juste après leur application en champ [81]. Bien que des études de dégradation photochimique soient obligatoires avant la mise sur le marché d'une molécule organique, les différents processus de photolyse, directe et/ou induite, mis en jeu dans à la surface des sols restent mal compris et donc assez mal évalués.

II.3.1 Composition générale des sols et des argiles

Le sol est un milieu inhomogène composé d'un mélange de minéraux, de matière organique et d'eau. La partie solide d'un sol typique contient environ 5% de matière organique (principalement issue de végétaux à différents stades de décomposition) et 95% de matière minérale.

La fraction organique peut être définie comme la matière carbonée provenant de la décomposition d'êtres vivants végétaux et animaux. Elle est composée d'éléments principaux (C, H, O et N...) et d'éléments secondaires (S, P, K Ca, Mg...). La fraction organique peut induire des réactions de photodégradation indirecte en mettant en jeu différentes espèces réactives telles que les états excités triplets, l'oxygène singulet, les radicaux hydroxyles, les électrons solvatés [69]. La fraction minérale représente l'ensemble des produits de la dégradation physique ou chimique de la roche mère (graviers, sables, limons, argiles). Ces éléments constituent la base du sol. Les argiles sont les composants majoritaires de la phase inorganique de la plupart des sols.

Dans ce travail, nous utiliserons la kaolinite en tant que modèle de la phase inorganique du sol. C'est une argile de composition élémentaire $Al_2(OH)_4Si_2O_5$ organisée en feuillet, dont la structure sera décrite en détail dans l'introduction du chapitre D.

II.3.2 Interactions lumière-argile

La pénétration de la lumière dans les matrices solides va impliquer deux types de processus : l'absorption et la diffusion de la lumière par les particules. Les photons irradiant une surface poreuse seront ainsi transmis à travers le milieu, réfléchis, ou absorbés par les particules comme indiqué sur la **figure A7** ci-dessous.



Figure A7 : Processus possibles conditionnant le devenir d'un photon dans une matrice solide.

De nombreux modèles existent pour décrire ces phénomènes tels que la théorie de Mie, les modèles multiflux et multicouches, et la simulation de Monte-Carlo [82]. Parmi ceux-ci, le modèle de Kubelka-Munk [83] est le modèle le plus simple pour décrire la pénétration de la lumière dans un milieu diffusant. Il résume, en effet, l'ensemble des processus en utilisant deux flux de photons de directions opposées : la transmission et la réflexion comme cela est représenté sur la **figure A8**. Ce modèle a été validé comme pertinent pour décrire la pénétration de la lumière dans les milieux environnementaux [84], comme les sols et les argiles. Il repose sur un certain nombre d'hypothèses :

- la couche a une extension latérale infinie,
- > la lumière, absorbée et diffusée, est distribuée uniformément dans le milieu,
- > la dimension des particules est inférieure à l'épaisseur du milieu,
- l'ensemble du milieu est irradié par une source homogène.



Figure A8 : Représentation de la pénétration de la lumière dans un milieu par Kubelka-Munk

Les flux de transmission et de réflexion de la lumière sont respectivement décrits par I et J qui varient en fonction de la profondeur z et de la longueur d'onde λ . Ils dépendent fortement de deux constantes, k et s. Ses dernières, exprimées en cm⁻¹, représentent respectivement les coefficients d'absorption et de diffusion de la lumière dans le milieu. Le coefficient de diffusion, s, dépend essentiellement des propriétés du support (taille moyenne et forme des particules, indice de réfraction). Il est principalement influencé par l'efficacité d'agrégation des particules [85]. Le coefficient d'absorption, k, est fonction de la composition du substrat. Ces deux grandeurs sont déterminées par l'analyse des spectres de transmission et de réflexion enregistrés pour différentes épaisseurs d'argile. Ces coefficients vont également

permettre de calculer la valeur de $Z_{0.5}$, profondeur pour laquelle 50% du flux incident est absorbé ou réfléchi.

Les propriétés optiques de la kaolinite ont déjà été décrites dans la littérature [84]. La **figure A9** ci-dessous donne les valeurs des constantes d'absorption k et de diffusion s de la kaolinite dans une gamme de longueur d'onde comprise entre 280 et 410 nm.



Figure A9: Variation des coefficients d'absorption k (a) et de diffusion s (b), de différentes argiles en fonction de la longueur d'onde (goethite, montmorillonite, kaolinite) selon l'article de Ciani et al. [84].

Une réflexion dite "infinie", R_{∞} , peut être mesurée pour des épaisseurs de substrat importantes. Elle correspond à la valeur de réflexion limite qui n'est plus affectée par une augmentation de l'épaisseur du milieu (transmission = 0). Elle est directement liée aux coefficients k et s par la fonction de Kubelka-Munk f(R_{∞}) :

$$\frac{k}{s} = \frac{(1-R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} = f(R_{\infty})$$

II.3.3 Propriétés spectroscopiques des molécules organiques à la surface des sols ou argiles secs

Les analyses spectroscopiques de molécules organiques en solution et déposées sur les argiles montrent d'importantes différences [68]. Sur les spectres d'absorption, des déplacements de bandes de plusieurs dizaines de nanomètres vers les grandes longueurs d'onde, et l'augmentation du coefficient d'absorption molaire (effets bathochrome et

hyperchrome) sont généralement observés. Ces effets peuvent être essentiellement dus à des interactions entre le support et le substrat ou à de nouvelles distributions électroniques [69], [81], [86]. Les spectres d'émission de fluorescence se trouvent également affectés en accord avec certaines modifications des structures électroniques et des durées de vie des états excités formés [81], [87], [88].

L'enregistrement des spectres d'absorption, en utilisant une sphère d'intégration, et le développement de méthodes permettant l'évaluation du coefficient d'absorption molaire seront d'une aide précieuse pour la compréhension du comportement physico-chimique et photochimique des composés organiques à la surface des argiles. Une approche de ce problème a été abordée par Ciani *et al.* [81] permettant ainsi de déterminer le coefficient d'absorption molaire et le rendement quantique initial de phototransformation. Elle est basée sur la variation de la fonction de Kubelka-Munk lors de l'introduction d'un composé organique. Ce dernier intervient avec un coefficient d'absorption k_i (proportionnel à son coefficient d'absorption molaire et à sa concentration), selon l'équation suivante :

$$\frac{k+k_i}{s} = \frac{(1-R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} = f(R_{\infty})$$

La fonction de Kubelka-Munk peut être écrite, en fonction du coefficient d'absorption molaire à une longueur d'onde donnée, sous la forme [81] :

$$f(R_{\infty}) = \frac{(1-R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} = \frac{k}{s} + \frac{2\ln 10 \times \varepsilon_i(\lambda)}{s \times \rho_{substrat}} \times C_i^{\cdot}$$

Avec k et s les coefficients d'absorption et de diffusion du substrat en cm⁻¹, ρ_{substrat} la masse volumique en g cm⁻³, $\varepsilon_i(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire du composé i dans l'argile en mol cm⁻² à une longueur d'onde donnée λ , C_i la concentration massique de l'espèce i en mol g⁻¹ et R_{∞} la réflexion infinie calculée pour l'échantillon en présence du composé. Le tracé f(R_{∞}) en fonction de C_i permet, sans grande difficulté, de déterminer le coefficient d'absorption molaire du composé étudié à une voire à plusieurs longueurs d'onde.

II.3.4 Constante de vitesse et rendement quantique

Différentes méthodes expérimentales ont été mises au point par Balmer *et al.* et Ciani *et al.* [81], [84], [89], pour le calcul des constantes de vitesse et des rendements quantiques de

disparition des composés organiques à la surface des argiles [89], [90]. Du fait de la faible pénétration de lumière, l'épaisseur de la couche d'argile irradiée a un rôle très important dans la phototransformation du composé déposé ou adsorbé [89]. Il a en effet été démontré [91] que la dégradation sous excitation directe se déroule uniquement dans des épaisseurs inférieures à 0,2 mm de sol. La diffusion du composé, non négligeable dans de tels milieux, dépend étroitement de son affinité pour le substrat. Cet aspect, influençant également les processus photochimiques, peut être connu en utilisant la loi de Fick [90].

Dans le but de ne pas induire d'erreur par des phénomènes de diffusion, de faibles épaisseurs du support sont utilisées [89]. Dans ces conditions, la diffusion devient suffisamment rapide pour être négligée devant les processus de dégradation photochimique. D'un point de vue expérimental, une relation entre la constante de photodégradation observée k_p^{moy} et l'épaisseur du milieu Z_{tot} peut alors être utilisée [90]. Elle permet de déterminer expérimentalement la constante de photolyse à la surface de l'argile:

$$k_p^{moy} = k_p^0 \times \frac{1,443 \times Z_{0,5}}{Z_{tot}}$$

Avec k_p^{moy} (min⁻¹) la constante de photodégradation moyenne sur l'épaisseur Z_{tot} (µm), k_p^0 (min⁻¹) la constante de photodégradation à la surface du support, Z_{0,5} (µm) l'épaisseur où 50% de l'énergie lumineuse est atténuée par le substrat [84].

La connaissance de la constante de vitesse de photodégradation à la surface permet d'accéder au rendement quantique de disparition à la surface du substrat grâce à la relation suivante [90] :

$$k_p^0 = 2,303 \times \int_{\lambda} \Phi_i \times I_0(\lambda) \times \varepsilon(\lambda) d\lambda \quad \Rightarrow \quad \Phi_i = \frac{k_p^0}{2,303 \times \int_{\lambda} I_0(\lambda) \times \varepsilon(\lambda) d\lambda}$$

Avec k_p^0 (min⁻¹) la constante de photodégradation à la surface, Φ_i le rendement quantique de dégradation de la molécule étudiée, $I_0(\lambda)$ le flux photonique incident en photons cm⁻² s⁻¹, $\varepsilon(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire du composé à la longueur d'onde λ en mol cm⁻².

B. CHAPITRE B

MATERIEL

ET

METHODES

CHAPITRE B

MATERIEL ET METHODES

I. <u>Réactifs utilisés</u>

Pour la phase aqueuse :

- Sulfaquinoxaline, Sigma Aldrich, 96%
- 2-Aminoquinoxaline, Interchim, 97%
- Pyriméthamine, Fluka, 96,8%
- Acétonitrile, méthanol, Fischer Scientific, qualité HPLC
- Solutions de NaOH et HCl à 0,1 mol L⁻¹, Merck KGaA
- Acide formique, Fluka, 99%
- Acide perchlorique, Sigma Aldrich
- Isopropanol, Prolabo, 98%
- β -carotène, Sigma Aldrich > 97%
- Solution de H₂O₂, Sigma Aldrich
- Acide 4-hydroxyphenylacétique (4-HOPA), 98% Sigma Aldrich
- l'enzyme peroxydase de Raifort, Sigma Aldrich

Pour les expériences sur argiles et sols :

- Kaolinite, Fluka.
- Sulfaquinoxaline, Sigma Aldrich, 96%
- Triclosan, Dr. Ehrenstorfer GmbH, 99,0%
- Acides humiques, Sigma Aldrich

II. <u>Préparation des solutions</u>

Les solutions ont été préparées avec de l'eau ultra pure fournie par un appareil MilliQ (Millipore) et contrôlée par mesure de sa résistivité ($\geq 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$). Cette eau est très peu chargée en carbone organique (COT $\leq 0,15 \text{ mg L}^{-1}$). L'ajustement du pH des solutions à la valeur souhaitée a été obtenu par ajout de quelques gouttes d'acide chlorhydrique ou d'acide perchlorique dans le cas des pH acides et de l'hydroxyde de sodium dans le cas des pH basiques. Le pH des solutions a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre JENWAY 3310 équipé d'une électrode combinée de type Orion. La précision des mesures est de l'ordre de 0,1 unité.

Afin d'étudier le rôle de l'oxygène dans le processus de phototransformation, certaines solutions ont été désoxygénées ou saturées en oxygène. La désoxygénation est réalisée par barbotage à l'argon ou à l'azote pendant 30 minutes et la suroxygénation est réalisée par barbotage à l'oxygène pendant 30 minutes avant irradiation.

III. Dispositifs d'irradiation

III.1 Irradiations en lumière monochromatique

Dans tous les cas suivants, le faisceau est homogène et parallèle ce qui permet de mesurer l'intensité I_0 émise par ce système d'irradiation et de déterminer les rendements quantiques de transformation

Irradiations à 290 nm :

Les irradiations en lumière monochromatique à 290 nm ont été réalisées à l'aide d'une lampe Xénon 1600 W équipée d'un monochromateur Schoeffel.

Irradiations à 254 nm :

Les irradiations en lumière monochromatique à 254 nm ont été réalisées par une lampe germicide (Philips TUV, 6 W) dont la surface n'est ouverte que sur quelques cm² permettant au faisceau d'être parallèle. Les solutions sont irradiées dans une cellule de 1 cm de trajet optique placée à 6 cm de la source lumineuse.

Irradiation à 365 nm :

Les irradiations monochromatiques à 365 nm ont été réalisées à l'aide d'une lampe Xenon (1000 W) équipée d'un monochromateur LOT Oriel. <u>Intensités des flux photoniques</u>: les différentes intensités ont été obtenues par actinométrie chimique au ferrioxalate (paragraphe Erreur ! Source du renvoi introuvable.) t elles sont rassemblées dans le tableau B1 ci-dessous :

λ (nm)	254	365	290
$I_0 (x10^{14} \text{ photons cm}^{-2} \text{ s}^{-1})$	4,7	73,9	1,0

 Tableau B1 : Intensités des flux photoniques des dispositifs d'irradiation monochromatique

III.2 Irradiations en enceinte

Irradiation en enceinte monochromatique 254 nm :

Le dispositif utilisé pour ces irradiations (décrit sur la **figure B1**) est constitué d'une enceinte réfléchissante à base circulaire équipée de six lampes germicides (Mazda T8115 15W) qui émettent sélectivement à 254 nm. La solution est placée dans un tube en quartz de diamètre 2,5 cm d'une contenance de 50 mL et l'ensemble est refroidi par un ventilateur.



Figure B1: Schéma technique du dispositif d'irradiation à 254 nm

Irradiation en enceinte Suntest :

Le photoréacteur Suntest CPS (Atlas) est un dispositif d'irradiation conçu pour s'approcher au plus près des conditions d'irradiation solaire. L'appareil est constitué d'une lampe Xénon et de différents filtres de manière à reproduire le plus fidèlement possible le rayonnement solaire (**Figure B2**). Un potentiomètre situé sur l'appareil permet de régler l'intensité globale émise, qui a été fixée à 750 W m⁻².



Figure B2 : Photographie et schéma de l'enceinte Suntest utilisée.

Son spectre d'émission a été enregistré dans le domaine UV à l'aide d'un radiomètre (OCEAN OPTICS ; QE 65000), et est présenté dans la **figure B3**:



Figure B3 : Spectre d'émission expérimental de l'enceinte Suntest

<u>Irradiations à 365 nm :</u> Les irradiations à 365 nm ont été réalisées à l'aide du dispositif décrit sur la **figure B4**. Les sources lumineuses sont des lampes MAZDA MAW 125 W ; ce sont des lampes à vapeur de mercure moyenne pression dont l'émission, filtrée par un globe noir, se situe principalement à 365 nm (**Figure B4Erreur ! Source du renvoi ntrouvable.**).



Figure B4 : Spectre d'émission de la lampe MAZDA MAW 125 W.

Le dispositif d'irradiation, présenté sur la **figure B5**, est une enceinte réfléchissante en acier inoxydable bâtie sur une base circulaire. Le réacteur est un tube en pyrex de 2,8 cm de diamètre pouvant contenir jusqu'à 20 mL de solution entouré d'un système de refroidissement par circulation d'eau relié à un cryostat ($T = 20^{\circ}$ C). Il est placé au centre de l'enceinte et les trois lampes sont disposées autour de façon symétrique. Un système mécanique permet une agitation continue de la solution.



Figure B5 : Enceinte d'irradiation à 365 nm.

L'émission de cette lampe présente également une composante infrarouge qui est absorbée en totalité par l'eau entourant le réacteur ; ce système d'irradiation fournit donc une lumière quasi monochromatique à 365 nm (environ 93% de la lumière émise).

IV. <u>Techniques d'analyses</u>

IV.1 Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

La disparition des produits de départ et la formation des photoproduits organiques ont pu être évaluées quantitativement à l'aide d'une HPLC Waters Alliance 2695 équipée d'un détecteur d'absorption UV-visible à barrettes de diodes (DAD, type 998).

En ce qui concerne les paramètres chromatographiques, la séparation des produits a été réalisée dans les conditions suivantes :

- Température de la colonne fixée à 20°C.
- > Injection de 5 à 40 μ L d'échantillon
- Colonne Kinetex (phase inverse C_{18} , 2,6 μ m, 2,1 mm x 100 mm, Phenomenex)
- Gradient d'élution linéaire en utilisant comme solvants l'acétonitrile et l'eau acidifiée avec de l'acide formique (0,1 % vol.), avec un débit de 0,2 mL min⁻¹, décrit dans le Tableau B2 ci-dessous :

temps (min)	% eau	% acétonitrile
0	5	95
15	95	5
25	95	5
35	5	95

 Tableau B2 : Gradient d'élution utilisé en LC-DAD et en LC-MS.

Les injections ont été en général effectuées deux fois pour chaque échantillon afin de vérifier la reproductibilité de l'analyse. La précision de la méthode est évaluée à \pm 5%.

IV.2 Méthodes spectrométriques

IV.2.1 Spectroscopie d'absorption

Les spectres d'absorption UV-visible des solutions ont été enregistrés sur des spectrophotomètres Cary 3 à double faisceau parallèle informatisés pour la mémorisation et le retraitement des spectres, sur une gamme allant de 200 à 800 nm. Une cuve en quartz de 1 cm d'épaisseur a été utilisée. Dans ces conditions, la précision de l'appareil est de \pm 0,002 de densité optique.

IV.2.2 Spectrométrie de masse

Les analyses par spectrométrie de masse ont été réalisées avec un spectromètre de masse à temps de vol en tandem avec un quadrupole (de marque Waters, modèle Q-tof Micromass) et une chromatographie liquide haute performance (HPLC) Waters Alliance 2695.

L'introduction de la solution dans le spectromètre depuis l'HPLC se fait par vaporisation directe (à l'aide d'un gaz de nébulisation) via un tube capillaire. Le mode d'ionisation utilisé est un mode par électronébullisation (ou ESI pour *ElectroSpray Ionization*) qui permet d'obtenir des molécules relativement fragiles en phase gazeuse. Le mode d'ionisation positif, formant des ions [M+H]⁺, ainsi que le mode négatif, formant des ions [M-H]⁻ ont tous les deux été utilisés. Les réglages permettant d'obtenir un maximum d'intensité ont été une tension de 3000 V entre le capillaire et l'électrode annulaire, de 35 V pour le cône d'échantillonnage et de 1 V pour le cône d'extraction. Les expériences de spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) ont été réalisées en utilisant de l'argon à la pression de 1 bar comme gaz de collision. Des énergies de collision comprises entre 10 et 35 eV ont été utilisées afin de trouver les meilleures conditions pour la formation des fragments à analyser.

La calibration de la masse a été effectuée avant l'acquisition avec une solution de H_3PO_4 85% (Sigma Aldrich). L'utilisation d'une référence interne (Tyrosyl-tyrosyl-tyrosine, Sigma-Aldrich) a permis de centrer les spectres avec le logiciel MassLynx 4.0 (Micromass) et d'obtenir des masses avec une haute résolution (mode HRMS ou High Resolution Mass Spectrometry). La fenêtre d'acquisition a été fixée de *m/z* 90 à 1000 et la masse de la référence interne ionisée était *m/z* 508,2084 en mode positif et *m/z* 506,1928 en mode négatif. Le logiciel MassLynx Elemental Composition 4.0 (Micromass) a été utilisé pour déterminer la composition élémentaire des composés inconnus à partir de leur "masses exactes" (HRMS). Les paramètres choisis ont été la limitation aux éléments C, H, N, O, S et Cl et une déviation maximum autorisée de 10 ppm par rapport à la masse théorique calculée. Dans le cas des fragments obtenus en MS/MS, les compositions élémentaires ont été déterminées en utilisant la masse de l'ion parent comme référence interne, en restreignant les éléments présents à la formule de l'ion parent et en autorisant une déviation maximum de 20 ppm par rapport à la

masse théorique calculée.

Les paramètres chromatographiques utilisés sont les mêmes que pour les analyses HPLC décrites dans la partie IV.1.

IV.2.3 Spectromètre laser nanoseconde

La cinétique rapide permet de détecter les espèces transitoires de courte durée de vie. Cette technique consiste à perturber le système étudié par excitation lumineuse brève et intense et à suivre l'évolution du système vers un nouvel état d'équilibre ou vers un retour à l'état initial. Elle permet ainsi d'effectuer des mesures cinétiques et spectroscopiques dans l'échelle de temps de la réaction élémentaire. L'éclair d'excitation doit être bref et intense pour peupler les états excités intervenant dans le mécanisme en concentration suffisante pour être détectés par absorption UV-visible.

Les études de cinétique rapide ont été réalisées à l'aide d'un ensemble Applied Photophysics type LKS 60. Le laser est un Quanta Ray GCR 130-1 Nd:YAG de Spectra Physics. Les échantillons ont été excités à l'aide des troisième et quatrième harmoniques du laser à 266 et 355 nm. Les absorptions transitoires ont été mesurées avec un système de détection constitué d'une lampe Xénon (150 W) pulsée, permettant de lire les densités optiques immédiatement après l'excitation par le laser. La lumière d'analyse traverse la cellule perpendiculairement au faisceau d'excitation. Le signal polychromatique passe ensuite dans un monochromateur pour aboutir à un signal monochromatique amplifié par un photomultiplicateur (type 1P28). L'intensité du signal est mesurée par un oscilloscope digital (HP54522A) qui transmet l'évolution du signal en fonction du temps à un ordinateur. Un module permet de gérer l'ouverture/fermeture des trappes permettant l'excitation par le laser et la lecture de l'absorption (**figure B6**).



Figure B6 : Schéma de principe de l'appareillage de cinétique rapide.

Préalablement à toute analyse, les valeurs S₀ correspondant au 0% transmission (absorbance toutes trappes fermées), et S₁₀₀ correspondant au 100% transmission (absorbance de l'échantillon sans excitation laser) sont enregistrées. Les variations de la transmission optique peuvent ainsi être converties en variation de l'absorbance ΔA_t à un instant t donné par : $\Delta A_t = \log [(S_{100}-S_0)/(S_t-S_0)]$ où S_t représente la valeur du signal à un instant t après excitation.

Si l'absorption est due à une seule espèce, les variations de l'absorbance en fonction du temps nous renseignent sur les variations de la concentration de cette espèce. Elles permettent en effet d'en définir les propriétés cinétiques. En modifiant la longueur d'onde, et en répétant l'expérience, on peut déterminer, point par point, le spectre d'absorption de l'espèce transitoire considérée à un temps t donné ce qui permet d'en définir les propriétés spectroscopiques. Si l'absorption est due à plusieurs espèces, il faut rechercher sur l'ensemble du domaine spectral accessible des zones où l'absorption d'une espèce particulière est prépondérante. Ceci permet d'en déterminer les propriétés cinétiques comme la vitesse de formation ou de disparition.

V. <u>Méthodes de dosages</u>

V.1 Calcul de l'intensité du flux photonique

L'intensité du flux photonique a été déterminée par actinométrie chimique à l'aide de la réaction photochimique de réduction des ions ferrioxalate(III) en ions ferrioxalate(II) (Schéma A1) :

$$\left[\operatorname{Fe}^{3+}(\operatorname{C}_{2}\operatorname{O}_{4})_{3}\right]^{3-} \xrightarrow{h \upsilon} \left[\operatorname{Fe}^{2+}(\operatorname{C}_{2}\operatorname{O}_{4})_{2}\right]^{2-} + \operatorname{C}_{2}\operatorname{O}_{4}^{\bullet-}$$
(1)

$$\left[Fe^{3+} (C_2 O_4)_3 \right]^{3-} + C_2 O_4^{\bullet-} \longrightarrow \left[Fe^{3+} (C_2 O_4)_3 \right]^{2-} + C_2 O_4^{2-}$$
(2)

$$Fe^{3+}(C_2O_4)_3^{p-} \longrightarrow [Fe^{2+}(C_2O_4)_2^{p-} + 2CO_2$$
 (3)

Schéma A1: Réduction photochimique des ions ferrioxalate(III) en ions ferrioxalate(II)

Les ions fer(II) formés ont été dosés par une méthode spectroscopique basée sur la formation sélective d'un complexe entre le fer(II) et la 1,10-phénanthroline, complexe dont le coefficient d'absorption molaire à 510 nm est connu et égal à $1,118 \times 10^4$ L mol⁻¹ cm⁻¹ [92].

Le principe est le suivant : après irradiation d'un volume v_1 d'une solution de ferrioxalate de potassium (0,006 mol L⁻¹) pendant un temps t (exprimé en secondes), nous avons ajouté à un volume v_2 (2 mL) de cette solution irradiée 1 mL de tampon acétate et 0,5 mL de 1,10-phénanthroline à 0,1% en masse. La solution est ensuite complétée avec de l'eau jusqu'à 5 mL (v_3). Après agitation, ce mélange est alors laissé à l'obscurité pendant une heure avant la lecture de sa densité optique à 510 nm dans une cellule de trajet optique ℓ .

Le nombre d'ions fer(II) formés durant la photolyse a été alors calculé en utilisant la formule suivante :

$$n_{Fe^{2+}} = \frac{6,023 \times 10^{20} v_1 v_3 DO_{510}}{\epsilon_{510} v_2 \lambda}$$

Avec $DO_{510} = (DO_{solution} - DO_{blanc})_{510}$, la valeur de la densité optique du blanc à 510 nm est celle obtenue avec la même solution de ferrioxalate de potassium, mais non irradiée et préparée comme précédemment.

Ce nombre d'ions formés est proportionnel à la fraction de lumière absorbée par la solution durant ce temps t ; l'intensité émise par le système, en photons par seconde pour le

volume v_1 , est donc égale à :

$$I_0 = \frac{n_{Fe^{2+}}}{\Phi_{Fe^{2+}} t(1-10^{-DO})} \text{ en photons.s}^{-1}$$

L'expression de I₀ devient alors :

$$I_{0} = \frac{6,023 \times 10^{20} v_{1} v_{3} DO_{510}}{\Phi_{Fe^{2+}} t(1-10^{-DO}) \varepsilon_{510} v_{2} \lambda} \quad \text{en photons.s}^{-1} \text{ pour } v_{1} mL$$

Ces flux photoniques ont été exprimés en photons s⁻¹ cm⁻², car en faisceau parallèle, v₁ peut être assimilé à la longueur du trajet optique de la cellule $\ell_{irr.}$; ces flux ont été contrôlés tout au long de ce travail. Il vient l'expression :

$$I_{0} = \frac{6,023 \times 10^{20} v_{3} \lambda_{irr.} DO_{510}}{\Phi_{Fe^{2+}} t (1-10^{-DO}) \epsilon_{510} v_{2} \lambda} \quad \text{en photons.s}^{-1}.cm^{-2}$$

Avec ℓ_{irr} . la longueur du trajet optique de la cellule irradiée en cm.

V.2 Dosage du peroxyde d'hydrogène en solution

Le dosage du peroxyde d'hydrogène en solution a été réalisé par une méthode indirecte développée par Lazrus *et al.* [93]. Cette technique est basée sur la réduction de H₂O₂ en présence d'un donneur d'hydrogène (l'acide 4-hydroxyphénylacétique (4-HOPA)) et catalysée par l'enzyme peroxydase de Raifort. (**Schéma A2**). Cette réaction forme le dimère du 4-HOPA, qui est facilement détectable par fluorescence ($\lambda_{ex} = 320$ nm, $\lambda_{em} = 400$ nm) avec une grande sensibilité (quelques nmol L¹).



Schéma A2 : Réaction entre H₂O₂ et 4-HOPA en présence de péroxydase

Une solution contenant 1 mL de tampon phosphate à pH = 7,4 (0,2 mol L⁻¹) ainsi que 2 mL d'une solution de 4-HOPA à 10⁻³ mol L⁻¹ et 100 μ L d'échantillon est préparée et laissée au repos pendant 1 heure. La mesure de la fluorescence de la solution (λ_{ex} = 320 nm ; λ_{em} = 400 nm) est ensuite réalisée. Ce protocole permet de réaliser une courbe d'étalonnage avec des solutions de H₂O₂ de concentrations connues, puis de doser une solution de concentration inconnue de H₂O₂.

VI. Protocole d'irradiation des antibiotiques dans l'argile

VI.1 Préparation des échantillons

Préparation d'une plaque d'argile d'épaisseur connue

On peut préparer une plaque d'argile d'épaisseur connue en déposant une masse précise d'argile en suspension dans le méthanol sur une plaque de verre équipée d'un moule en téflon de superficie S connue comme cela est présenté sur la **figure B7**. Dans notre cas, S est égale à 3,60 cm².



Figure B7: Préparation d'une lame d'argile d'épaisseur e connue

Connaissant la masse volumique de la kaolinite ($\rho = 1.8 \text{ g cm}^{-3}$) on peut calculer la masse m d'argile nécessaire pour réaliser une lame d'épaisseur e avec le protocole ci-dessus. Le **tableau B3** suivant donne les valeurs de m correspondant à la préparation de lame d'épaisseur allant de 20 à 200 μ m.

épaisseur	20	50	100	200
e (µm)				
masse m (mg)	51,8	129,5	259	518

Tableau B3 : Masses de kaolinite à peser pour la préparation de lames d'épaisseurs variées

Protocole de préparation d'une plaque d'argile contenant un antibiotique.

Pour préparer une plaque d'argile contenant un antibiotique, il suffit d'utiliser le protocole précédent en remplaçant le méthanol par une solution d'antibiotique dans le méthanol de concentration bien choisie. Par exemple, le protocole de réalisation d'une plaque de kaolinite d'épaisseur 50 μ m contenant SQX à la concentration de 5 μ mol g⁻¹ est le suivant :

- Préparer une solution de sulfaquinoxaline dans le méthanol de concentration $0,389 \text{ g L}^{-1}$.
- Réaliser une suspension de 129,5 mg de kaolinite dans 2 mL de la solution précédente
- Sous agitation, prélever 500 µL de la suspension et les déposer sur la plaque de verre équipée du moule en téflon
- Laisser sécher 6 heures.

VI.2 Irradiation et extraction

Les lames ainsi préparées sont irradiées en Suntest à la température de 15°C. On prélève 2 lames pour chaque point de mesure. L'antibiotique contenu dans les lames prélevées est extrait par agitation dans 5 mL de méthanol pendant 5 min. La solution est ensuite centrifugée pendant 10 min à 13500 tr min⁻¹. L'échantillon final est obtenu en prélevant 750 μ L de la solution et en ajoutant 750 μ L d'eau pure, puis la concentration d'antibiotique est déterminée par analyse en HPLC.

Pour les expériences en LC/MS, afin d'obtenir une solution plus concentrée, 12 lames sont réunies puis extraites dans 15 mL de méthanol pendant 30 min. La solution est ensuite centrifugée, puis le surnageant est prélevé et le solvant est évaporé à température ambiante en laissant la solution sous une hotte. Une fois le solvant évaporé, on ajoute 750 μ L de méthanol et 750 μ L d'eau ultra pure pour obtenir un échantillon final concentré qui sera injecté en LC/MS.

VII. Mesures de toxicité

La toxicité a été évaluée en utilisant la bactérie *Vibrio fischeri* lyophilisée (NRRL B-11177) avec le système LUMIStox, Dr.LANGE. La quantification de la toxicité est calculée à partir la réduction de la bioluminescence après 30 minutes d'incubation en présence de la solution à analyser. Afin d'éviter des effets inhibiteurs dus à un pH ou à une salinité incorrecte, le pH a été ajusté à $7 \pm 0,2$ (par ajout de solution de HCl ou de NaOH) et la concentration en NaCl a été ajustée à 2% m/v avant l'incubation. Une suspension contenant *Vibrio fischeri* est ajoutée dans 2 tubes en parallèle et la bioluminescence est mesurée immédiatement. La solution à analyser est ensuite ajoutée à l'un des tubes et incubée à 15 ± 1 °C pour une durée de 30 minutes. Après incubation, la bioluminescence est mesurée avec un photomultiplicateur LUMIStox 300 luminometer, et l'inhibition de la luminescence est calculée à l'aide du logiciel présent dans l'appareil, selon la norme ISO 11348-2 (International Organisation for Standardisation, 1998). L'erreur sur la mesure est évaluée à 5%. Une solution de NaCl de concentration 2% m/v est ajoutée au deuxième tube, afin de réaliser un échantillon témoin.

VIII. Modélisation

VIII.1 Calculs ab-initio

Les calculs ab initio ont été effectués avec la série de programmes Gaussian 03 [94]. Les géométries des espèces étudiées ont été optimisées au niveau de théorie B3LYP/6-31 G (d,p). Les énergies de réaction ΔE ont été définies comme la différence entre les énergies électroniques des produits et des réactifs d'une transformation.

$$\Delta E = \sum E_{el} (produits) - \sum E_{el} (réactifs)$$

VIII.2 Dynamique Moléculaire

Les simulations en dynamique moléculaire ont été réalisées avec la version 2.20 du logiciel DL_POLY_MD [95], en parallèle sur 12 processeurs. Les méthodes, champs de forces et protocoles de simulations utilisés sont détaillés dans la partie IV. du chapitre D.

C. CHAPITRE C

Photochimie d'antibiotiques

en phase aqueuse

CHAPITRE C

Photochimie d'antibiotiques en phase aqueuse

I. Introduction

I.1 La sulfaquinoxaline

I.1.1 Généralités, usage et présence dans l'environnement

La sulfaquinoxaline (SQX) est un antibiotique vétérinaire aux propriétés bactériostatiques et antiparasitaires. Comme les autres sulfonamides, c'est un dérivé du paraaminophényl sulfonamide. Sa structure contient le groupement aromatique quinoxaline lui permettant d'augmenter son temps de demi-vie dans le plasma et donc d'avoir une élimination lente.



La sulfaquinoxaline est un acide faible avec un pK_a évalué à 6,0. Ses formes moléculaire et anionique sont représentées ci-dessous (Schéma C1)



Schéma C1 : Formes acido-basiques de SQX

Brevetée en 1946 et mise sur le marché dès 1948, c'est la première sulfonamide à avoir permis un traitement préventif de la coccidiose, par incorporation de faibles proportions de SQX dans la nourriture des poulets. Si aujourd'hui d'autres médicaments vétérinaires plus performants existent contre la coccidiose (ainsi que des vaccins), la sulfaquinoxaline est toujours utilisée de façon importante dans certaines régions du monde. De même que les autres sulfonamides, SQX a une faible capacité à s'adsorber sur les sols [96] et pourra donc

être transférée aux eaux de surface ou percoler vers les eaux profondes [97].

Plusieurs publications signalent la présence de SQX dans les compartiments aquatiques environnementaux : dans des eaux usées d'élevage et d'abattoirs [98], [99], des rivières [100], [101], des baies marines [101], [102], des sédiments côtiers et des eaux profondes [97], [103]. Parallèlement, l'évaluation de la toxicité de SQX dans l'environnement aquatique a montré qu'elle était l'une des sulfonamides les plus toxiques envers les algues vertes et les daphnies (communément appelées « puces d'eau ») [104].

I.1.2 Réactivité photochimique

La sulfaquinoxaline présentant un motif *para*-aminophényl sulfonamide commun avec les autres sulfonamides, sa réactivité photochimique pourrait présenter des points communs avec celle des composés de la même famille chimique.

Cependant, dans une étude réalisée par Boreen et al. sur neuf sulfonamides différentes [38], une importante hétérogénéité de photodégradabilité a été observée avec des rendements quantiques de transformation variant de 0,07 à 0,7 pour les formes moléculaires. De plus, il a été observé que le rendement quantique de photodégradation des sulfonamides dépend fortement du pH. Par exemple, pour une solution de sulfaméthoxazole, le rendement quantique de photodégradation (Φ_d) a été évalué à $\Phi_d = 0,50$ à pH = 5,3 (forme moléculaire très réactive) et $\Phi_d = 0,09$ à pH = 6,9 (forme anionique peu réactive).

Les différents processus primaires de photodégradation des sulfonamides observés dans la littérature sont :

- La rupture des liaisons C-S ou N-S par photohydrolyse. Celle-ci peut conduire à la formation d'aniline [105], de sulfanilamide [38], [105], d'acide sulfanilique [38], [105], [106] et/ou d'un motif aminé lié au soufre [38], [105]. A titre d'exemple, le **schéma C2** présente cette réaction dans le cas de l'irradiation d'une solution aqueuse de sulfaméthoxazole à 100 μ mol L⁻¹ avec une lampe à vapeur de mercure dont la lumière est filtrée par une paroi de pyrex (300 nm < λ < 600 nm) [38] :



Schéma C2: Exemple de photohydrolyse de la sulfaméthoxazole

- L'élimination de SO₂ (réaction de désulfonation) a été observée dans le cas de

sulfonamides dont le substituant aminophényl sulfonamide est un cycle à 6 atomes. Dans ce cas, l'étape primaire de la réaction est la formation de l'état excité triplet de la sulfonamide [105], [107], [108]. Par exemple, le **schéma C3** présente cette réaction dans le cas de l'irradiation d'une solution aqueuse de sulfaméthazine par une lampe à vapeur de mercure dont la lumière est filtrée par une paroi de pyrex [107] :



Schéma C3 : Elimination photochimique de SO₂ dans le cas de la sulfaméthazine

Il a été observé dans le cas de sulfaméthazine l'élimination de SO_2 avec un réarrangement de type photo Fries.

- Chacun des cycles aromatiques de SQX peut également subir une réaction d'hydroxylation [106], [108], [109]. Par exemple, le **schéma C4** présente cette réaction dans le cas de l'irradiation d'une solution aqueuse de sulfaméthoxypyridazine par une lampe à vapeur de mercure [109] :



Schéma C4 : Hydroxylation photochimique de la sulfaméthoxypyridazine

En conclusion, les réactivités photochimiques communes aux sulfonamides impliquent la rupture des liaisons C-S et N-S, pouvant conduire à plusieurs processus comme une photohydrolyse ou une élimination de SO₂, ainsi que la réactivité associée à l'hydroxylation des cycles aromatiques présents dans la molécule.

I.2 La pyriméthamine

I.2.1 Généralités, usage et présence dans l'environnement

La pyriméthamine est un inhibiteur de la chaîne de biosynthèse de l'acide folique qui est utilisé en médecine humaine et vétérinaire. En association avec une sulfonamide, elle permet de lutter contre les protozoaires pathogènes. En usage vétérinaire, elle intervient par exemple dans le traitement de la coccidiose aviaire [110] et de la myéloencéphalite équine à protozoaire [111]. Chez l'humain, elle est utilisée dans le traitement de la toxoplasmose [112] et du paludisme [113], [114]. Elle fait partie de la liste des médicaments essentiels de l'Organisation Mondiale de la Santé [115]. Sa structure est proche de celle du triméthoprime, un médicament qui présente la même action inhibitrice et dont les applications sont similaires. Les deux composés ont en commun le motif diaminopyrimidine (**schéma C5**).



Triméthoprime

Pyriméthamine (PYR)

Schéma C5 : Structures de la triméthoprime et de la pyriméthamine (PYR)

La pyriméthamine est une base faible avec pK_a voisin de 7,3 et dont les formes cationique et moléculaire sont représentées ci-dessous (**Schéma C6**).



Schéma C6 : Equilibre acide-base de la pyriméthamine

La pyriméthamine a été détectée dans les sols d'agriculture, les sédiments de rivière et les effluents de stations d'épuration [116] ainsi que dans l'urine et le lait de vache [117], [118]. Elle est considérée comme modérément toxique pour la vie aquatique (4,1 mg L^{-1} < $LC(EC)_{50}$ < 7,5 mg L^{-1} vis à vis des chlorelles, des daphnies, des guppies et des truites arc-enciel) [119].

I.2.2 Réactivité photochimique

Malgré le fait que les deux cycles de la pyriméthamine soient conjugués, la forte répulsion stérique entre les atomes proches de la liaison entre les cycles impose une torsion de la molécule. Cet effet, observé pour toutes les molécules de type biphényle [120], empêche la conjugaison entre les cycles aromatiques. On peut donc s'attendre à des propriétés photophysiques et photochimiques intermédiaires entre un cycle aromatique unique et un naphtalène.

Bien que les propriétés biologiques de la pyriméthamine soient très proches de celles du triméthoprime, les deux molécules présentent de grandes différences de réactivité. En effet, la principale voie de photodégradation du triméthoprime, correspond à la rupture homolytique de la liaison C-H reliant les deux cycles aromatiques (**Schéma C7**) [121], [122]. Cet atome de carbone n'existant pas dans la pyriméthamine, sa réactivité sera nécessairement très différente.



Schéma C7: Voie principale de photodégradation du triméthoprime

Une autre différence importante dans la structure de la pyriméthamine est la présence d'un atome de chlore porté par le cycle aromatique. En effet, les halogénures aromatiques ont une réactivité particulière, qui a été largement étudiée dans la littérature. A titre d'exemple, la principale voie de photodégradation du chlorobenzène en solution aqueuse est une photohydrolyse, conduisant à la formation du phénol [123] (**Schéma C8**).



Schéma C8: Mécanisme de la photohydrolyse du chlorobenzène [123].

De plus, la structure chimique de la pyriméthamine est proche de celle des polychlorobiphényles (PCBs). Pour ces composés, la rupture homolytique de la liaison C-Cl

est une autre voie de photodégradation possible, qui conduit à une réaction de déhalogénation du composé [120]. (Schéma C9).



Schéma C9 : Déchloration du para-chlorobiphényle

Toutefois cette réaction, qui est très importante pour certains PCBs, a un rendement quantique faible pour le para-chlorobiphényle ($\Phi = 6 \times 10^{-4}$) dont la structure est proche de la pyriméthamine [124]. La différence entre la pyriméthamine et le para-chlorobiphényle est la présence du motif diaminopyrimidine. Ce motif, dont la densité électronique est importante, va permettre des réactions de photoéjections d'électrons. Ces réactions sont en effet couramment observées pour des composés aromatiques substitués par des groupements donneurs. En particulier, cette réactivité a été observée pour le pyriméthanil [125], un fongicide dont la structure est proche de la pyriméthamine et dans lequel chacun des cycles aromatiques peut subir une photoéjection d'électron (Schéma C10). La formation de radicaux cations par ce processus conduit, en présence d'oxygène, à l'hydroxylation du cycle aromatique ou à un processus de cyclisation.



Schéma C10: Hydroxylation et cyclisation du pyriméthanil

En conclusion, trois voies importantes de photodégradation primaires ont été mises en évidence pour ce type de composés : photohydrolyse, rupture homolytique de la liaison C-Cl et une photoéjection d'électron.

II. Photodégradation de la sulfaquinoxaline (SQX) dans l'eau

L'étude de la phototransformation de la sulfaquinoxaline (SQX) en solution aqueuse est réalisée selon la méthode classique suivante :

- en suivant l'évolution du spectre d'absorption UV-Visible de la solution au cours de l'irradiation. Celle-ci permet l'obtention d'informations globales sur la disparition du composé de départ et sur la formation de nouveaux photoproduits.
- en suivant l'évolution des chromatogrammes obtenus par HPLC. Celle-ci permet de connaître les cinétiques de disparition du produit de départ mais également les cinétiques de formation des photoproduits générés sous irradiation.

Toutes les solutions utilisées pour les irradiations sont préparées en utilisant de l'eau ultra-pure. Afin de distinguer la réactivité de la forme neutre et de la forme anionique de SQX, les expériences sont réalisées à pH = 4,0 (forme neutre majoritaire à 99%) et à pH = 10,0 (forme anionique majoritaire à 99,99%). Dans les conditions de pH étudiées, les solutions de SQX stockées dans le noir et au réfrigérateur (4°C) se sont révélées être stables pendant au moins une semaine.

II.1 Propriétés spectroscopiques

Les spectres d'absorption UV-Visible des formes anionique et neutre de la sulfaquinoxaline (SQX) dont le pKa est de 6,0, obtenus pour des solutions respectivement de pH = 10,0 et 4,0, sont représentées sur la **figure C1** ci-dessous.



Figure C1: Spectres d'absorption de la forme moléculaire (pH = 4,0) et de la forme anionique (pH = 10,0) de SQX et de 2-aminoquinoxaline (AQX) en solution aqueuse (pH = 4,0). [SQX] = 2,0x10⁻⁵ mol L⁻¹; [AQX] = 2,0x10⁻⁵ mol L⁻¹.

Le spectre d'absorption de la forme moléculaire de SQX présente trois bandes bien distinctes à : 249 nm (25900 L mol⁻¹ cm⁻¹), 264 nm ($\varepsilon = 20700$ L mol⁻¹ cm⁻¹) et 344 nm ($\varepsilon = 7050$ L mol⁻¹ cm⁻¹). La superposition avec le spectre d'émission solaire montre un recouvrement très important sur le domaine 300 nm – 400 nm permettant de conclure à une éventuelle dégradation directe sous exposition naturelle.

Le spectre de la forme anionique présente deux bandes d'absorption. La première a un maximum à 252 nm ($\varepsilon = 34400 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) et la seconde à 357 nm ($\varepsilon = 8480 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Un épaulement est également observé à grandes longueurs d'ondes aux alentours de 370 nm. A l'instar de la forme moléculaire, la forme déprotonée de SQX peut également absorber le rayonnement solaire, permettant une éventuelle photodégradation naturelle.

Afin d'identifier, de manière qualitative, l'origine les bandes d'absorption de SQX, le spectre d'absorption de 2-aminoquinoxaline (AQX), dont la structure est présentée ci-dessous, a été réalisé pour comparaison (**schéma C11**).



Schéma C11 : Structure de la 2-aminoquinoxaline

Le spectre d'absorption de la forme moléculaire obtenue à pH = 4,0 de l'aminoquinoxaline montre deux bandes d'absorption à 351 nm avec un coefficient molaire voisin de ceux trouvés pour les formes moléculaire et anionique de SQX (ε = 5230 L mol⁻¹ cm⁻¹), et à 230 nm avec un coefficient d'absorption molaire égale à 14 000 L mol⁻¹ cm⁻¹. Ainsi la bande d'absorption à grande longueurs d'ondes est vraisemblablement attribuable au motif quinoxaline alors que la bande d'absorption à grande énergie est attribuable conjointement à la partie aniline et quinoxaline.

II.2 Suivi cinétique de la photodégradation de SQX

Dans le but d'étudier l'effet de la longueur d'onde d'excitation mais également du pH, les irradiations ont été réalisées dans un premier temps en utilisant un système permettant d'obtenir un rayonnement purement monochromatique. Les longueurs d'onde choisies sont 254 et 365 nm de façon à permettre des excitations sélectives des deux bandes d'absorption de SQX c'est-à-dire des motifs quinoxaline et aniline d'une façon différenciée.

II.2.1 Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation

L'excitation de la forme moléculaire de **SQX** à la concentration de $2,5x10^{-5}$ mol L⁻¹et à pH = 4,0 a été réalisée à 254 et 365 nm en solution aqueuse et en présence d'air. Le suivi a été réalisé dans un premier temps par spectroscopie d'absorption UV-visible en fonction du temps d'irradiation (**Figure C2**).



Figure C2: Evolution du spectre d'absorption de la forme moléculaire de la sulfaquinoxaline au cours de l'irradiation et en fonction de la longueur d'onde d'excitation : $\lambda_{irr} = 365$ nm (gauche) et $\lambda_{irr} = 254$ nm [**SQX**] = 2,5x10⁻⁵ mol L⁻¹; pH = 4,0, solution aérée.

Cette étude spectroscopique montre une diminution continue de la bande d'absorption à haute énergie (240-290 nm) traduisant la disparition de **SQX**. De plus, une faible augmentation de l'absorbance à λ > 400 nm qui est due à la formation photochimique de produits de réactions est également observée. Dans le cas des irradiations à 365 et 254 nm nous observons :

- la persistance, tout au long de l'irradiation, de la bande d'absorption à grandes longueurs d'ondes, aux alentours de 350 nm. Étant donné que l'étude spectroscopique a montré que cette bande est due à la présence partie quinoxaline, nous pouvons conclure à la conservation de ce motif malgré la phototransformation de SQX. La majorité des produits formés possède donc probablement ce groupe chimique.
- des évolutions spectrales différentes et ceci principalement pour la bande représentative du motif quinoxaline. La bande caractéristique semble être maintenue sous excitation à 365 nm alors qu'elle augmente pour des irradiations à 254 nm. Ceci traduit la formation de photoproduits différents et donc l'implication de mécanismes réactionnels différents.

Lorsque l'irradiation est effectuée en milieu basique, pH=10,0, la forme anionique semble conduire aux mêmes évolutions spectrales (**Figure C3**). Pour les deux longueurs d'onde d'excitation, une augmentation de l'absorbance dans les domaines 300 nm - 350 nm et 400 nm - 500 nm est observée avec une diminution de la bande d'absorption centré autour de 250 nm.



Figure C3 : Evolution du spectre d'absorption de la forme anionique de la sulfaquinoxaline en fonction du temps d'irradiation et en fonction de la longueur d'onde d'excitation. [SQX] = $2,5x10^{-5}$ mol L^{-1} ; pH = 10,0 et solution aérée. A) irradiation à 254 nm et b) irradiation à 365 nm.

Pour chacune des conditions de pH et de longueurs d'ondes étudiés, un suivi par chromatographie liquide a été réalisé dans le but de quantifier la photodégradabilité de SQX (**Figure C4A**). Sous excitation à 254 nm, la disparition de la sulfaquinoxaline est totale au bout d'une quinzaine de minutes d'irradiation. La phototransformation suit une cinétique de

premier ordre apparent (**Figure C4B**). Dans nos conditions expérimentales la constante de vitesse est estimée à $5,2x10^{-3}$ s⁻¹. Des conclusions similaires ont pu être faites pour les irradiations à 365 nm et à pH = 10,0 (disparition totale en 20 heures environ avec une constante de vitesse k = 4,12 10^{-3} min⁻¹). Afin d'évaluer la photodégradabilité de SQX, nous avons calculé le rendement quantique de disparition et donc l'efficacité de la réaction photochimique dans les différentes conditions expérimentales citées précédemment.



Figure C4 : A) Evolution du chromatogramme HPLC en fonction du temps d'irradiation. B) Evolution du pourcentage de conversion en fonction du temps d'irradiation. $[SQX] = 2,5x10^{-5} \text{ mol } L^{-1}$; pH = 4,0, solution aérée et $\lambda_{irr} = 254 \text{ nm}$

Les rendements quantiques de disparition de SQX en solution aqueuse et en milieu aéré et dans différentes conditions expérimentales (pH et longueur d'onde d'irradiation), sont rassemblés dans le **tableau C1** ci-dessous.

Φ	pH = 4,0	рН 10,0
254 nm	4,5 10 ⁻³	3,6 10 ⁻⁴
365 nm	2,4 10 ⁻⁴	2,4 10 ⁻⁵

Tableau C1 : Rendements quantiques de photodégradation dans différentes conditions de pH et d'irradiation. Les erreurs sont évaluées à environ 10%. $[SQX] = 2,5x10^{-5} \text{ mol } L^{-1}$; solution aérée.

D'une manière générale, les rendements quantiques mesurés présentent des valeurs faibles (entre 10⁻³ et 10⁻⁵). Nous pouvons donc prédire que, dans les conditions environnementales, la photodégradation directe de SQX est assez lente mais pas négligeable. Nous observons également que sous irradiation à 254 nm, les rendements quantiques de SQX

sont 15 à 19 fois plus élevés que ceux déterminés sous irradiation à 365 nm. Ainsi, le mécanisme de photodégradation dépend fortement de la longueur d'onde d'excitation, comme cela a pu être observé de manière qualitative à partir du suivi spectroscopique. Par ailleurs, la forme moléculaire de SQX semble être plus réactive que sa forme ionique puisque les rendements quantiques de disparition à pH = 4,0 sont jusqu'à 10 fois plus importants qu'à pH = 10,0.

II.2.2 Effet de la concentration d'oxygène moléculaire dissous

L'oxygène moléculaire joue dans la plupart des cas un rôle important dans les réactions photochimiques, nous avons donc étudié son effet en étudiant le processus de dégradation de SQX en milieu aéré, désoxygéné et saturé en oxygène. Le **tableau C2** cidessous regroupe les rendements quantiques mesurés dans les différentes conditions expérimentales : de pH, de longueur d'onde d'excitation et de concentrations d'oxygène dissous.

	pH = 4,0		pH = 10,0			
Φ	désoxygénée	aérée	saturée	désoxygénée	aérée	saturée
254 nm	$4,9x10^{-3}$	$4,5x10^{-3}$	$2,9x10^{-3}$	3,5x10 ⁻⁴	3,6 x10 ⁻⁴	$4,5x10^{-4}$
365 nm	1,5x10 ⁻³	$2,4x10^{-4}$	1,0x10 ⁻⁴	3,0x10 ⁻⁵	2,4x10 ⁻⁵	$2,0x10^{-5}$

Tableau C2: Rendements quantiques de photodégradation de SQX dans différentes conditions expérimentales. $[SQX] = 2,5x10^{-5}$ mol L^{-1} . Les erreurs sont évaluées à environ 10%.

En milieu acide, nous observons une augmentation des rendements quantiques en absence d'oxygène. Ceci est particulièrement vrai pour les excitations à grande longueur d'onde (365 nm) où le rendement quantique est environ 15 fois plus élevé que dans des conditions saturées en oxygène. Ce résultat met en évidence un fort caractère inhibiteur de l'oxygène dans le processus de transformation initiale de SQX. Il peut être un indicateur de l'intervention d'un état excité triplet dans le mécanisme de dégradation de SQX. En effet, le dioxygène peut être impliqué dans des transferts d'énergie triplet-triplet avec les états excités triplet, ce qui provoque leur désactivation (quenching) et diminue leur durée de vie en solution. Les expériences de photolyse laser nanoseconde seront ainsi réalisées pour mettre en évidence la formation de tels états excités.

Au contraire du milieu acide, l'effet de l'oxygène sur la disparition de SQX est bien

moins marqué, voire inexistant, en milieu basique. Le rendement quantique étant presque constant quelle que soit la concentration d'oxygène dissous dans le milieu. L'oxygène est donc vraisemblablement impliqué dans des voies primaires minoritaires de transformation.

II.2.3 Etude en spectroscopie résolue en temps (photolyse laser nanoseconde)

Afin d'établir le mécanisme de photodégradation de la sulfaquinoxaline, nous avons effectué une étude par photolyse laser nanoseconde afin de mettre en évidence la formation des espèces transitoires de courtes durées de vies : états excités, radicaux.... L'étude a été effectuée par excitation à 355 nm (3^{ème} harmonique d'un laser Nd :YAG) et en milieu acide (pH=4,0).

Sous excitation laser à 355 nm d'une solution aqueuse de sulfaquinoxaline à la concentration de $2,5x10^{-5}$ mol L⁻¹, une espèce transitoire absorbant autour de 400 nm (espèce notée T1) a été clairement observée. Cependant, la faible intensité du signal n'a pas permis d'exploiter ces résultats avec une précision convenable. En effet, la faible solubilité de SQX en solution aqueuse acide n'a pas permis de travailler dans les conditions optimales de détection, qui correspondent à une absorbance de l'ordre de l'unité à la longueur d'onde d'excitation. Un autre solvant, dans lequel SQX était plus soluble, a donc été utilisé : l'acétonitrile.

L'excitation laser nanoseconde d'une solution désoxygénée de SQX (5,0 10^{-5} mol L⁻¹) dans l'acétonitrile montre également la formation de la même espèce transitoire T1 (**Figure C5**). Dans nos conditions expérimentales, la durée de vie de cette espèce est estimée à environ 2 μ s.



Figure C5 : Signal observé à 400 nm après excitation laser d'une solution aérée de sulfaquinoxaline $(5,0x10^{-5} \text{ mol } L^{-1})$ dans l'acétonitrile, $\lambda_{excitation} = 355 \text{ nm}$.

Le spectre d'absorption UV-visible de T1 est représenté sur la **figure C6A**. Il montre la présence deux bandes d'absorption avec des maximums à 440 et 560 nm. Aucune absorption significative n'est observée après la disparition complète de cette espèce transitoire c'est-à-dire au-delà de 6 μ s. Il convient de noter que, dans nos conditions expérimentales, cette espèce est formée par un processus monophotonique comme l'atteste l'évolution linéaire de l'absorbance à 440 nm en fonction de l'énergie du laser et ceci dans le domaine 10 - 40 mJ (**figure C6B**). L'espèce T1 est très sensible à la présence de l'oxygène, sa durée de vie diminue lorsque la concentration d'oxygène dans le milieu augmente (**Figure C7**). La constante de vitesse de second ordre de la désactivation de l'espèce transitoire T1 est estimée à 2,7 10⁹ L mol⁻¹ s⁻¹. L'effet inhibiteur de l'oxygène suggère la formation transitoire de l'état excité triplet de la sulfaquinoxaline (³SQX) au cours de l'irradiation.


Figure C6: A) Spectre de l'espèce transitoire observé après excitation laser à 355 nm, pour une solution désoxygénée de SQX dans l'acétonitrile de concentration $5,0x10^{-5}$ mol $L^{-1}.B$) Variation de l'absorbance à 440 en fonction de l'énergie du pulse laser.



Figure C7 : Signal observé à 440 nm en photolyse laser nanoseconde pour une solution de SQX de concentration $5,0x10^{-5}$ mol L^{-1} dans l'acétonitrile, en milieu désoxygéné, aéré et saturé en oxygène.

Dans le but de confirmer l'hypothèse de formation d'un état excité triplet, des expériences mettant en jeu des processus de transfert d'énergie Triplet-Triplet ont été envisagées. Dans ce but, nous avons utilisé le β -carotène (β CAR) comme substrat accepteur afin de former son état excité triplet ³ β CAR [126] [127] par excitation sélective de la sulfaquinoxaline selon le processus suivant :

SQX +
$$h\nu \rightarrow {}^{1}SQX$$
 eq.1
 ${}^{1}SQX \rightarrow {}^{3}SQX$ eq.2
 ${}^{3}SQX + \beta CAR \rightarrow SQX + {}^{3}\beta CAR$ eq 3

L'irradiation laser à 355 nm de la sulfaquinoxaline en solution dans l'acétonitrile à la concentration de $(5,0x10^{-5} \text{ mol } \text{L}^{-1})$ en milieu désoxygéné et en présence de β -carotène (β CAR) à la concentration de 7,5x10⁻⁵ mol L⁻¹ montre la formation initiale de T1 comme en témoigne le maximum d'absorption à 440 nm (**Figure C8**). L'analyse du signal à cette longueur d'onde montre la disparition rapide de T1 sur une durée d'une microseconde et la

formation simultanée d'une seconde espèce (**Figure C9**). Cette seconde espèce transitoire présente un maximum d'absorption à 520 nm et correspond à l'état excité triplet du β -carotène (³ β CAR) [126] [127]. Comme le suggère l'évolution du spectre d'absorption en fonction du temps (**Figure C9**), T1 est l'espèce précurseur. En effet, la diminution de la bande d'absorption à 440 nm coïncide avec l'augmentation de la bande d'absorption à 520 nm correspondant à l'état excité triplet du β -carotène. Nous sommes donc bien en présence d'un processus de transfert d'énergie (eq.3). Ceci permet de confirmer que l'état excité T1 est bien un état excité triplet (³SQX) (eq.2). La constante de vitesse de la réaction de transfert d'énergie entre ³SQXet ³ β CAR (eq.3), évaluée à partir de la disparition de ³SQX à 440 nm, est voisine de celle d'un processus contrôlé par la diffusion (~ 10¹⁰ mol⁻¹ L s⁻¹).



Figure C8: Spectre d'absorption UV-visible d'une solution de SQX (5,0 10^{-5} mol L^{-1}) et $de\beta CAR$ (5,7 10^{-5} mol L^{-1}) dans l'acétonitrile, 500 ns, 2 µs et 15 µs après le pulse laser à 355 nm.



Figure C9: Cinétique de la variation d'absorbance à 440 nm (rouge) et 520 nm (noir), flash laser à 355 nm, mélange $[SQX] = 5,0 \times 10^{-5} \text{ mol } L^{-1}$, $[\beta CAR] = 5,7 \times 10^{-5} \text{ mol } L^{-1}$; milieu désoxygéné.

II.3 Identification des photoproduits

L'analyse d'une solution aqueuse de sulfaquinoxaline (SQX) irradiée à 254 nm à pH=4,0 et en milieu aéré montre la formation de plusieurs photoproduits. L'analyse a été effectuée sur une solution ayant subi une conversion voisine de 50%. Tous les produits présentent des temps de rétention inférieurs à celui du composé parent à cause d'une augmentation de la polarité et/ou des masses moléculaires plus faibles (Figure C10).



Figure C10: Chromatogramme HPLC d'une solution irradiée de SQX 2,5x10⁻⁵ mol L⁻¹, pH = 4,0 ; solution aérée ; irradiation 254 nm. Détection UV-visible à 254 nm.

Les différents photoproduits observés à pH = 4,0 et 10,0 ont été identifiés par chromatographie couplée à la spectrométrie de masse (LC/ESI-Q-TOF). Les modes d'ionisation positif et négatif ont été utilisés, mais, dans nos conditions expérimentales, seul le mode positif a permis l'obtention de signaux intenses et exploitables. Dix photoproduits ont donné une réponse significative à la fois avec le détecteur DAD et le spectrométre de masse. Les produits ont été numérotés par ordre croissant de leurs temps de rétention dans les chromatogrammes HPLC présentés ci-dessous et correspondant aux différentes conditions d'irradiation (**Figure C11**).



Figure C11 : Chromatogrammes en mode TIC de solutions de SQX irradiées dans différentes conditions.

Comme le montre la **figure C11**, certains produits sont formés dans des conditions bien précises de pH et de longueurs d'onde d'excitation. Ces spécificités et conditions sont rassemblées dans le **tableau C3**. Nous pouvons remarquer que le milieu acide offre les meilleures conditions pour la formation de tous les produits à l'exception de **P6** qui est nettement privilégié en milieu basique. En ce qui concerne l'excitation à 365 nm, elle favorise particulièrement la formation de **P2**, **P5** et **P9**.

Produit	$\lambda_{irr} = 254 \text{ nm}$	$\lambda_{irr} = 254 \text{ nm}$	$\lambda_{irr} = 365 \text{ nm}$	$\lambda_{\rm irr} = 365 \ \rm nm$
	et à pH= 4,0	et à pH= 10,0	et à pH= 4,0	et à pH= 10,0
P1	Oui	Non	Non	Non
P2	Oui, faible intensité	Oui, faible intensité	Oui, intense	Oui intense
P3	Non	Non	Oui	Non
P4	Oui	Non	Non	Non
P5	Non	Non	Oui	Non
P6	Non	Oui	Non	Oui
P7	Oui	Non	Non	Non
P8	Oui	Non	Non	Non
P9	Non	Non	Oui, faible intensité	Non
P10	Oui	Non	Non	Non

Tableau C3 : Conditions de formation des photoproduits sous irradiation de la sulfaquinoxaline en solution aqueuse et en milieu aéré.

Afin de déterminer la structure chimique exacte des différents photoproduits formés, nous avons adopté la démarche suivante :

- Mesure de la masse exacte de l'ion [M+H]⁺ (spectrométrie HRMS) et détermination de la composition élémentaire la plus probable du composé
 - Proposition de(s) structure(s) compatible(s) avec cette composition élémentaire et avec le spectre d'absorption UV-Visible obtenu en DAD *
- Etude de la fragmentation MS/MS du composé en faisant varier l'énergie de collision (EC) et détermination des compositions élémentaires des ions fragments
 - Validation de(s) structure(s) proposé(es) en exploitant un mécanisme simple permettant de justifier la formation des différents fragments observés *
- Simulation informatique (B3LYP/6-31G(d,p)) de la fragmentation des différentes structures possibles et détermination des énergies nécessaires pour les fragmentations directes observées.

Validation de(s) structure(s) si le mode de fragmentation en simulation correspond aux observations expérimentales *

Pour chacune des étapes marquées d'une étoile (*), si une seule structure chimique est possible, alors la démarche expérimentale est stoppée et l'identification du composé inconnu est ainsi obtenue. Si à la fin de la dernière étape plusieurs structures sont encore possibles, une autre méthode d'analyse devrait être utilisée pour les distinguer.

L'analyse HPLC/MS en mode ESI+, a permis l'obtention de la masse exacte des photopotoproduits et ainsi la détermination de la composition élémentaire. Cette dernière a pu être trouvée avec une erreur entre les masses exactes expérimentale et théorique inférieure à 2,1 ppm (**Tableau C4**). La valeur voisine de 8% pour le rapport $[M+H+2]^+/[M+H]^+$ confirme la présence d'un seul atome de soufre dans la composition élémentaire (due à la présence de l'isotope ³⁴S). La structure chimique des photoproduits sera ainsi déterminée et confirmée par l'analyse des processus de fragmentation MS/MS. Sachant que la sulfaquinoxaline est le produit de départ, sa fragmentation sera étudiée dans le détail dans un premier temps. En effet, l'identification de ses différentes voies de fragmentation permet d'avoir une ligne directrice et indiscutable pour l'identification des voies de fragmentation des différents produits formés. A titre d'exemple, certains photoproduits ont été identifiés comme des isomères de **SQX**, nous nous sommes essentiellement appuyés sur la détermination de leurs voies de fragmentation et à leur comparaison avec celle du composé de départ.

Produit	t _{rét} (min)	Masse exacte mesurée (<i>m/z</i>)	Composition élémentaire de l'ion	Masse exacte théorique (<i>m/z</i>)	Erreur (ppm)	[M+H+2] ⁺ / [M+H] ⁺
[P1+H] ⁺	3,8	146,0719	$C_8H_8N_3^+$	146,0718	+0,7	
[P2+H] ⁺	7,4	237,1143	C ₁₄ H ₁₃ N ₄ ⁺	237,1140	+1,3	
[P3+H] ⁺	8,2	317,0705	$C_{14}H_{13}N_4SO_3^+$	317,0708	-0,8	8,0%
$[P4+H]^+$	8,5	237,1145	$C_{14}H_{13}N_4^+$	237,1140	+2,1	
[P5+H] ⁺	8,9	235,0987	$C_{14}H_{11}N_4^+$	235,0984	+1,4	
$[P6+H]^+$	9,5	238,0977	$C_{14}H_{12}N_3O^+$	238,0980	-1,2	
$[P7+H]^{+}$	9,6	301,0762	$C_{14}H_{13}N_4SO_2^+$	301,0759	+1,0	6,7%
$[P8+H]^+$	10,2	301,0754	$C_{14}H_{13}N_4SO_2^+$	301,0759	-1,7	6,8%
[P9+H] ⁺	10,6	317,0712	$C_{14}H_{13}N_4SO_3^+$	317,0708	+1,4	7,6%
[P10+H] ⁺	10,8	239,1062	$C_{14}H_{13}N_3O^+$	239,1059	+1,3	
[SQX+H] ⁺	11,1	301,0764	$C_{14}H_{13}N_4SO_2^+$	301,0759	+1,7	7,8%

Tableau C4 : Temps de rétention, masses exactes mesurées et théoriques, rapports $[M+H+2]^+/[M+H]^+$ et compositions élémentaires des photoproduits détectés en LC-ESI-QTOF.

II.3.1 Fragmentation ESI+/MS/MS de la sulfaquinoxanine

Le temps de rétention de SQX dans les conditions d'analyse en HPLC est de 11,1 minutes et l'ion $[SQX+H]^+$ a été détecté en mode positif avec m/z=301. La fragmentation MS/MS de l'ion $[SQX+H]^+$ avec une énergie de collision de 20 eV conduit au spectre MS/MS présenté sur la **figure C12** suivante.



Figure C12 : Spectre MS/MS obtenu avec EC = 15 eV pour SQX*. *Certains fragments de faible intensité sont indiqués dans cette figure car ils interviennent dans les mécanismes de fragmentation qui seront proposés par la suite.

Cinq ions fragments principaux sont détectés à m/z 208 (11e), 156 (11a), 145 (11b), 108 (11d) et 92 (11c) avec des abondances relatives très variables. Leurs masses exactes, leurs masses calculées et leurs compositions élémentaires sont répertoriés dans le tableau C5.

Fragments		Masse	Composition	Masse	
	m/z	Mesurée	élémentaire de	Calculée	Erreur
			l'ion		(ppm)
		(m/z)		(m/z)	
11e	208	208,0199	$C_8H_6N_3SO_2^+$	208,0181	+8,7
11a	156	156,0122	C ₆ H ₆ NSO ₂ ⁺	156,0119	+1,3
11b	145	145,0636	$C_{8}H_{7}N_{3}^{+}$	145,0640	-2,8
11d	108	108,0451	$C_6H_6NO^+$	108,0449	+1,9
11c	92	92,0510	$C_6H_6N^+$	92,0500	+10,9

Tableau C5: Masses exactes mesurées et théoriques et compositions élémentaires des fragments issus de la fragmentation de la sulfaquinoxaline (EC = 20 eV).

L'ion 11a (m/z 156), de composition élémentaire C₆H₆NSO₂⁺ avec une erreur de +1,3 ppm, est formé suite à la perte du motif neutre aminoquinoxaline. Il représente une abondance relative de 74%. Il est généré par une coupure hétérolytique de la liaison S-N. Les calculs théoriques montrent que cette réaction se produit avec une énergie de 25 kcal mol⁻¹. 11a subit ensuite un processus de désulfonation permettant la formation de l'ion fragment 11c (m/z92 ; 7%) dont la composition élémentaire est C₆H₆N⁺ obtenue avec une erreur de +10,9 ppm. Une augmentation de l'énergie de collision de 15 à 20 eV conduit une diminution de 35% de l'abondance de 11a et une augmentation significative de l'abondance de l'ion 11c. Ceci montre que 11a est le fragment précurseur de l'ion fragment 11c comme cela est décrit sur le schéma C12:



Schéma C12 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 11a, 11b et 11c

L'ion **11b** (*m/z* 145), de composition élémentaire $C_8H_7N_3^{+}$ avec une erreur de -2,8 ppm, correspond au radical chargé positivement du motif aminoquinoxaline, obtenu par coupure homolytique de la liaison S-N (**Schéma C12**). L'ion **11b** est formé avec une abondance relative très faible d'environ 2% (avec une énergie de collision de 15 eV) et l'énergie associée à cette réaction qui a été estimée par calcul à environ 35 kcal mol⁻¹ confirme l'implication minoritaire de cette voie dans la fragmentation de **SQX**

Ces premiers résultats montrent clairement que $[SQX+H]^+$ se fragmente principalement en mode positif par un processus hétérolytique conduisant au fragment **11a** au détriment de la coupure homolytique de la liaison S-N.

L'ion **11d** (m/z 108), de composition élémentaire C₆H₆NO⁺ avec une erreur de +1,9 ppm, correspond au cation 4-oxyaniline (ou quinone imine protonnée). Ce dernier peut être

généré par un réarrangement intramoléculaire de $[SQX+H]^+$ décrit dans le schéma ci-dessous, et il se produit avec une énergie de réaction d'environ 33 kcal mol⁻¹ (schéma C13).



Schéma C13 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 11d

L'ion11e (m/z 208), de composition élémentaire $C_8H_6N_3SO_2^+$, peut également provenir d'un processus de réarrangement intramoléculiare de [SQX+H]⁺ conduisant à la migration d'un atome d'hydrogène et la perte du motif aniline comme cela est présenté sur le schéma C14 :



Schéma C1 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 11e

Ainsi, nous pouvons remarquer que lors de l'application d'une énergie de collision conséquente (supérieure ou égale à 20 eV), $[SQX+H]^+$ peut se fragmenter selon plusieurs mécanismes : des coupures directes de liaisons, de façon hétérogène et/ou homogène (pour former les ions **11a** et **11b**) ainsi que des réarrangements intramoléculaires relativement complexes. En général, les coupures de liaisons sont des processus rapides, en une seule étape, pour lesquels l'énergie de réaction et l'énergie d'activation sont comparables. Les réarrangements, qui correspondent à des redistributions de l'énergie vibrationnelle reçue lors de la collision, sont par contre associés à des échelles de temps plus longues et peuvent se faire en plusieurs étapes. Les énergies calculées pour les formations de **11d** et **11e** ont des valeurs raisonnables (33 et 64 kcal mol⁻¹, respectivement) qui suggèrent que les voies de formation proposées sont possibles. Toutefois, il n'est pas possible de comparer directement ces énergies de réaction aux abondances des ions **11d** et **11e**. En effet, les énergies d'activation qui gouvernent les processus multi-étapes tels que les réarrangements peuvent être très différentes de leurs énergies de réaction. Les faibles abondances de **11d** (10%) et **11e**

(7%) suggèrent toutefois que dans le cas de $[SQX+H]^+$, la coupure directe de la liaison S-N est largement favorisée devant les réarrangements moléculaires. Le mécanisme globale de fragmentation de $[SQX+H]^+$ est représenté sur le schéma C15 ci-dessous :



Schéma C2 : Mécanisme de fragmentation proposé pour SQX. Les compositions élémentaires des fragments sont données.

II.3.2 Photoproduit P1

Le photoproduit **P1** présente un temps de rétention de 3,8 minutes. Son ion fragment $[\mathbf{P1}+\mathrm{H}]^+$ est de m/z= 146. De par la composition élémentaire de cet ion, $C_8\mathrm{H}_8\mathrm{N}_3^+$ (déterminée avec une erreur de +0,7 ppm) , nous avons proposé pour **P1** la structure chimique de 2-aminoquinoxaline (**AQX**). Cette hypothèse a pu être facilement validée après injection en HPLC-DAD du composé commercial et en comparant les temps de rétention et les spectres d'absorption UV-visible (**Figure C13**).



Figure C13: Spectre d'absorption UV-visible de AQX obtenu en HPLC-DAD

II.3.3 Photoproduits P2 et P4

Les photoproduits **P2** et **P4** ont respectivement des temps de rétention de 7,4 et 8,5 minutes. Leurs ions $[M+H]^+$ présentent des masses identiques et ainsi des compositions élémentaires similaires : m/z = 237 et $C_{14}H_{13}N_4^+$ avec une erreur maximale de +2 ppm. Ainsi, par comparaison avec la composition élémentaire du produit de départ (**SQX**), nous pouvons aisément conclure que la formation de ces deux isomères implique une perte de SO₂ (perte de 64 uma). Ceci peut se produire par un processus de désulfonation sous excitation lumineuse suivi d'un réarrangement intramoléculaire. Les structures proposées pour ces deux isomères pourraient être les suivantes (**schéma C16**) :



Schéma C3 : Structures proposées pour P2 et P4

Dans le but de confirmer ces structures et de les associer à chacun des deux isomères, des analyses MS/MS ont ainsi été réalisées. Les spectres obtenus avec une énergie de collision de 30 eV sont présentés sur la **figure C14**.



Figure C14: Spectres MS/MS obtenus avec EC = 30 eV pour P4 (A) et P2 (B)*. *Certains fragments de faible intensité sont indiqués dans cette figure car ils interviennent dans les mécanismes de fragmentation qui seront proposés par la suite

Sur la figure C14, on peut noter que les spectres de masse des deux composés sont relativement distincts en termes d'ions fragments détectés (abondance et masse). Ils présentent en commun plusieurs ions fragments (m/z 220, 145, 119, 108, 93 et 92) de haute intensité (10 % ou plus) mais avec des abondances relatives différentes. Dans le cas de P2, plusieurs ions fragments ont des abondances du même ordre de grandeur, alors que dans le cas de P4 l'abondance de l'ion 4g (m/z 108) est bien plus élevée que celle de tous les autres ions. Cette distinction importante des deux spectres permettra la détermination précise de deux structures. Le tableau C6 présente les masses exactes, les compositions élémentaires des différents ions et les masses exactes des différents fragments.

		Masse		Masse		
Fragment		Mesurée	Composition élémentaire	Calculée	Erreur (ppm)	
S	m/z	(<i>m</i> / <i>z</i>)		(m/z)		
2a	220	220,0855	$C_{14}H_{10}N_3^+$	220,0875	-9,5	
4 a		,				
2b	210	210,1042	$C_{13}H_{12}N_3^+$	210,1031	+9,5	
2c	193	193,0780	$C_{13}H_9N_2^+$	193,0766	+7,3	
2d	145	1.45	145.0625 C.H.N. ⁺		145.0640	19 2
4d		143,0023		143,0040	10,5	
2e	129	129.0458	$C_8H_5N_2^+$	125,0453	+3,9	
		-)		- ,	-)-	
2f	119	119 0629	CaHaNa ⁺	119 0609	+16.8	
4f	117	117,0027		119,0009	10,0	
2g	108	108,0695	$C_{6}H_{8}N_{2}^{.+}$	108,0687	+7,4	
4 g	100					
2h	93	03 03 0567	$C_6H_7N^{+}$	93,0578	-11.8	
4h		93,0307			11,0	
2i	02	02.0407	$C \parallel N^+$	02.0500	2.2	
4i	92	92,0497		92,0000	-3,3	

Tableau C6 : Masses exactes et compositions élémentaires des différents ions détectés en LC/MS ainsi que de leurs fragments.

L'ion fragment le plus abondant pour P4 est le fragment 4g de composition élémentaire $C_8H_5N_2^+$ avec une erreur entre masses exactes expérimentale et théorique de +8,3 ppm. 4g correspond vraisemblablement au radical cation de l'aminoaniline qui est formé à partir de l'élimination du radical quinoxaline à partir de [P4+H]⁺. Ceci nous a amené à proposer pour P4, et dans un premier temps, une structure qui regroupe ces deux motifs : la 2-(4-aminophénylamino)quinoxaline (Structure A). Afin de valider cette hypothèse, nous avons comparé les voies potentielles de fragmentation de la structure A et le spectre MS/MS expérimental obtenu pour [P4+H]⁺.

Le fragment **4g** est formé via la protonation du pont amine de **P4 (structure A)**, suivie de l'élimination du motif quinoxaline par rupture homolytique de la liaison C-N. Une rupture hétérolytique de cette même liaison conduit à la formation de l'ion **4e** (m/z 129 ; C₈H₅N₂⁺). La

rupture de l'autre liaison adjacente C-N du pont amine est également possible. Celle-ci conduit à l'élimination d'une molécule neutre d'aniline et la formation du fragment 4d (m/z 145, par une rupture homolytique) ou 4i (m/z 92, par un processus hétérolytique). Les résultats de calculs théoriques, présentés sur le schéma C17, montrent que la formation de 4g est fortement favorisée, par au moins 28 kcal mol⁻¹, devant la formation de 4d, 4i et 4e. Ce résultat est en parfait accord avec la prédominance de 4g lors de la fragmentation de l'ion moléculaire [P4+H]⁺.



Schéma C17 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 4d, 4e, 4g et 4i. Les compositions élémentaires des fragments sont données. Les abondances relatives des fragments pour EC = 25 eV sont données en pourcentage.

En plus des fragments cités ci-dessus, la fragmentation de $[\mathbf{P4}+\mathbf{H}]^+$ conduit à d'autres fragments mineurs que nous avons tenu à identifier :4a (*m/z* 220), 4f (*m/z* 119) et 4h (*m/z* 93) (schéma C18). La formation de 4a (C₁₄H₁₀N₃⁺) se produit via l'élimination de NH₃à partir de $[\mathbf{P4}+\mathbf{H}]^+$. Le fragment 4f (C₇H₇N₂⁺) correspond au cation 4-iminoaniline et suggère la perte d'un motif benzimidazole (C₇H₆N₂⁺). L'ion 4h est formé via la protonation de l'aniline de P4, suivie d'une rupture homolytique de la liaison C-N liant les motifs aniline et quinoxaline.



Schéma C18 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 4a, 4f et 4h. Les compositions élémentaires des fragments sont données.

Des études sur des dérivés de la sulfadiazines [128] ont montré que l'élimination photochimique de SO₂ pouvaient amener le motif aniline à se lier au l'un des azotes du cycle diazine. En s'inspirant de ces résultats, nous avons proposé pour **P2** la structure 1-(4-aminophényl)-2-iminoquinoxaline (**Structure B**). Pour valider cette hypothèse, les voies de fragmentation de cette structure en MS/MS ont été identifiées et comparées (**schéma C19**).



Schéma C19 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 2d, 2e, 2g et 2i. Les compositions élémentaires des fragments sont données. Les abondances relatives des fragments pour EC = 25 eV sont données en pourcentage.

Les ions 2d et 2i (respectivement identiques aux ions 4d et 4i) sont obtenus par

rupture homolytique et hétérolytique, respectivement, de la liaison C-N reliant la partie aniline et le motif quinoxaline. Les ions 2e et 2g (identiques aux ions 4e et 4g) sont obtenus par des réarrangements intramoléculaires. Si l'on ne s'intéresse qu'aux coupures de liaisons, alors les calculs théoriques suggèrent que [P4+H]⁺ est beaucoup facile à fragmenter que $[P2+H]^+$. En effet, la coupure directe la plus favorable requiert 51 kcal mol⁻¹ dans le cas de $[\mathbf{P4}+\mathbf{H}]^+$ (formation de 4g) et 100 kcal mol⁻¹ dans le cas de $[\mathbf{P2}+\mathbf{H}]^+$ (permettant la formation de 2d). Ceci est en plein accord avec le fait que pour une énergie de collision similaire, l'abondance relative de l'ion parent $[P4+H]^+$ est beaucoup plus élevée que celle de $[P2+H]^+$, comme on peut le voir dans leurs spectres MS/MS (Figure C14). En ce qui concerne la formation du fragment 2g, elle ne requiert que 71 kcal mol⁻¹ mais elle nécessite un réarrangement intramoléculaire. Il est donc impossible de comparer directement cette énergie avec les formations des autres fragments. Cet aspect explique que 2g ait une grande abondance sans pour autant « dominer » les autres fragments. L'ion 2i, malgré la forte énergie nécessaire à sa formation (104 kcal mol⁻¹), est clairement observé avec une abondance de 12%. Ceci s'explique par le fait qu'un autre mécanisme probablement plus favorable (schéma C19) permet sa formation.

D'autres ions (2a (m/z 220), 2b (m/z 210), 2c (m/z 193), 2f (m/z 119) et 2h (m/z 93)) ont été observés dans le spectre MS/MS de [P2+H]⁺ et leur mécanisme de formation est décrits dans le schéma C20. La formation de 2a ($C_{14}H_{10}N_3^+$) et 2h ($C_6H_7N_7^+$) implique des mécanismes similaires à ceux décrits plus hauts pour 4a et 4h. L'ion 2f ($C_7H_7N_2^+$) peut être obtenu par un réarrangement intramoléculaire, puis mener à la formation de 2i par l'élimination de HCN. Les fragments 2b et 2c sont générés via une élimination de HCN à partir de [P2+H]⁺ et de 2a, respectivement.



Schéma C20: Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 2a, 2b, 2c, 2i, 2f et 2h. Les compositions élémentaires des fragments sont données.

Ainsi, l'analyse des spectres de fragmentation MS/MS permet de valider de manière indiscutable les hypothèses structurales des produits **P2** et **P4**.

II.3.4 Photoproduits P5 et P10

Le photoproduit **P5** a un temps de rétention de 8,9 minutes et la composition élémentaire de l'ion $[\mathbf{P5}+\mathbf{H}]^+$ (m/z = 235) est $C_{14}H_{11}N_4^+$. Sa composition élémentaire ne diffère de celle de $[\mathbf{P2}+\mathbf{H}]^+$ et $[\mathbf{P4}+\mathbf{H}]^+$ ($C_{14}H_{13}N_3^+$) que par 2 atomes d'hydrogène. Cette perte de deux atomes d'hydrogène permet de suggérer pour **P5** une forme oxydée des composés **P2** ou **P4**.

Etant donnée la structure chimique proposée pour **P2**, cette oxydation est difficilement envisageable puisqu'elle impliquerait l'ouverture de l'un des cycles aromatiques. Par contre, dans le cas de **P4**, l'oxydation de l'aniline conduisant à la formation d'un motif de type quinone imine est parfaitement possible et peut même être très favorable. Cette éventualité est représentée sur le **schéma C21** suivant :



Schéma C21 : Oxydation du photoproduit P4 et formation de P5

La possibilité pour que cette réaction puisse se faire est en effet favorisée par la création d'une double liaison C=N sur le pont reliant l'aniline à la quinoxaline. Celle-ci permet à la formation d'une structure stable grâce à une hyper conjugaison du système π sur l'ensemble de la molécule. Une seule structure, correspondant à l'oxydation de P4, a donc été proposée pour P5. De plus, comme le montre la figure C15, le spectre d'absorption UV-Visible de P5 est très différent de celui de SQX et présente deux bandes d'absorption intenses autour de 250 et 340 nm. Cette seconde bande d'absorption à plus grande longueur d'onde par rapport à SQX traduit un effet bathochrome. Cet effet résulte de la stabilisation de l'énergie associée à l'état excité π^* notamment par augmentation du système conjuguée. Ce résultat est donc cohérent avec la structure proposée pour P5.



Figure C15: Comparaison des spectres d'absorption UV-visible obtenus en HPLC-DAD pour SQX et P5

Le photoproduit **P10** présente un temps de rétention de 10,8 minutes et la composition élémentaire de l'ion $[P10+H]^+$ (m/z = 236) est C₁₄H₁₀N₃O⁺. Cette composition élémentaire ne diffère de celle de $[P5+H]^+$ (C₁₄H₁₁N₄⁺) que par l'ajout d'un atome d'oxygène et la perte d'un atome d'azote et d'hydrogène. Cela suggère que **P10** est le résultat d'une substitution du groupement NH de **P5** par un atome d'oxygène. Le seul atome d'azote dans la structure de **P5** qui puisse subir cette transformation est l'azote de l'imine de bout de chaine. Ce dernier peut assez facilement subir une réaction d'hydrolyse conduisant à la formation d'un groupement carbonyle. Une seule formule a donc été proposée pour **P10**, qui est présentée dans la figure **C16**. Le spectre d'absorption UV-Visible de **P10**, qui présente trois bandes à 240, 268 et 349 nm (**Figur**) est parfaitement cohérent avec la structure proposée.



Figure C16 : Spectre d'absorption UV-Visible obtenu par HPLC-DAD et structure du produit *P10*

II.3.5 Photoproduit P6

Le photoproduit P6 a un temps de rétention de 9,5 minutes et la composition

élémentaire de l'ion $[\mathbf{P6}+\mathrm{H}]^+$ (*m*/*z* = 238) correspond à C₁₄H₁₂N₃O⁺. Si l'on compare sa composition élémentaire à celle de $[\mathbf{P2}+\mathrm{H}]^+$ et $[\mathbf{P4}+\mathrm{H}]^+$ (C₁₄H₁₃N₃⁺), on constate que celle-ci correspond à l'ajout d'un oxygène et la perte d'un atome d'azote et d'hydrogène à $[\mathbf{P2}+\mathrm{H}]^+$ et $[\mathbf{P4}+\mathrm{H}]^+$. De la même façon que pour le cas de **P10**, cela semble indiquer que **P6** est le résultat de la substitution du groupement NH par un atome d'oxygène dans la structure de **P2** ou de **P4**.

Cependant, il a été montré que dans des conditions basiques (pH = 10), les produits **P2** et **P6** sont détectés alors que **P4** est très minoritaire voire inexistant. Cette observation suggère que **P6** est donc très probablement issu de l'hydrolyse en milieu alcalin de **P2**. Cette réaction aura pour effet la conversion d'un groupement NH en un motif carbonyle. Nous pouvons ainsi proposer pour **P6** la formule ci-dessous (**Figure C17**) :



Figure C17: Spectre d'absorption UV-Visible obtenu par HPLC-DAD et structure du produit *P6*

Pour valider cette hypothèse, nous avons étudié la cohérence entre les voies potentielles de fragmentation de cette structure hypothétique et le spectre MS/MS expérimental obtenu pour $[P6+H]^+$.

Sur la **figure C18** est présenté le spectre MS/MS de $[P6+H]^+$ obtenu avec une énergie de collision de 25 eV. Ce spectre montre peu de fragmentation à cette énergie avec la formation de quatre ions fragments en faible abondance à *m/z* 221 (**6a**) ; 210 (**6b**) ; 93 (**6c**) et 92 (**6d**).



Figure C18 : Spectre MS/MS de $[P6+H]^+$ avec EC = 25 eV

L'ion **6a**, de formule élémentaire $C_{14}H_9N_2O^+$ est formé après la protonation de l'aniline de **P6** ($C_{14}H_{12}N_3O^+$) et par une coupure hétérolytique de la liaison C-N adjacente. Ceci conduit à l'élimination d'une molécule neutre de NH₃, qui correspond à la différence de formule élémentaire entre **P6** et **6a** (**schéma C22**). Par ailleurs, une coupure homolytique la liaison C-N en para de l'aniline de **P6** conduit à la formation du radical cation de la partie aniline et justifie la formation de l'ion fragment **6c** (*m/z* 93).



Schéma C22 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 6a et 6c

L'obtention des ions fragment **6b** (m/z = 210) et **6d** (m/z = 92) est détaillée sur le **schéma C23**. La formation de l'ion fragment **6b** s'explique par la perte du monoxyde de carbone selon un réarrangement intramoléculaire après protonation de la fonction amine adjacente du groupement carbonyle de **P6**. Le fragment **6d** est quant à lui issu de la coupure hétérolytique de la liaison C-N de la forme protonée de **P6**.



Schéma C23 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 6b et 6d

Il convient de noter que les deux ions fragments **6c** $(C_6H_7N^+)$ et **6d** $(C_6H_6N^+)$ correspondent des cations du motif aniline, formés par la rupture de la liaison C-N reliant le motif quinoxaline et l'aniline. La détection de ces fragments indique que l'atome d'oxygène supplémentaire par rapport à la formule élémentaire de **P2**est nécessairement positionné sur le motif quinoxaline de **P6** et non pas sur l'aniline De plus, la formation à la fois de l'ion **6b**, qui implique l'élimination de monoxyde de carbone CO, et de l'ion **6a** est cohérente avec la présence de la fonction carbonyle sur la partie quinoxaline. L'étude de la fragmentation de **P6**, résumée sur le **schéma C24**, permet de valider la formule proposée.



Schéma C24 : Mécanisme de fragmentation proposé pour [P7+H]⁺.

II.3.6 Photoproduits P7 et P8

Les photoproduits **P7** et **P8** (avec respectivement des temps de rétention de 9,6 et 10,2 min) sont des isomères du composé de départ (**SQX**) avec un rapport masse sur charge et une composition élémentaire comparable à celles de SQX (m/z = 301 et $C_{14}H_{13}N_4SO_2^+$). Afin de déterminer leurs structures chimiques, leurs fragmentations MS/MS ont été étudiées avec

différentes énergies de collision (10 eV \leq EC \leq 25 eV). Un travail identique a été réalisé avec **SQX** et l'abondance relative de l'ion moléculaire (m/z = 301) a été tracée en fonction de l'énergie de collision pour **SQX** et ses isomères (**figure C19**).



Figure C19 : Abondances relatives des ions parents dans le spectre MS/MS en fonction de l'énergie de collision : (I) SQX, (O) **P**7 *and (I)* **P**8.

Comme le montre la **figure C19**, pour une énergie de collision de 15 eV, les formes protonées de **SQX** et **P8** ont été dégradées de manière efficace (respectivement 59 et 38%) alors que $[\mathbf{P7}+\mathbf{H}]^+$ n'a été que faiblement fragmenté (7%). Un minimum de 22 eV est nécessaire pour obtenir une dégradation de 25% de $[\mathbf{P7}+\mathbf{H}]^+$, alors qu'avec cette énergie de collision, une fragmentation de 90 et de 75 % est respectivement obtenue pour $[\mathbf{SQX}+\mathbf{H}]^+$ et $[\mathbf{P8}+\mathbf{H}]^+$. Ces résultats montrent que le produit **P7** présente une structure beaucoup plus stable que **SQX** et **P8**.

La stabilité de $[P7+H]^+$ semble suggérer que sa structure ne contient pas de liaison sulfonamide, car celle-ci conduit généralement à une fragmentation à basse énergie, comme cela a été montré dans le cas de $[SQX+H]^+$. De ce fait, nous avons proposé pour P7 la structure du 4-amino-3-quinoxalinyl benzènesulfonamide, qui correspond à la condensation de 2-aminoquinoxaline et 4-sulfoaniline, avec une liaison S-C en position 3 du cycle quinoxaline. Afin de confirmer cette hypothèse, l'analyse des processus de fragmentations MS/MS associées à des calculs théoriques ont été effectués pour décrire la formation des principaux fragments détectés de **P7**. Quatre fragments **7a** (m/z 284), **7b** (m/z 145), **7c** (m/z 140) et **7d** (m/z 162) sont visibles sur la **figure C20** ainsi que leur formule élémentaire:



Figure C20: Spectres *MS/MS* de $[P7+H]^+$ (*EC* = 25 eV) et de $[P8+H]^+$ (*EC* = 20 eV)

D'après la formule élémentaire de l'ion **7a** ($C_{14}H_{10}N_3SO_2$), ce dernier est obtenu suite à la perte de la molécule NH₃ à partir de [**P7**+H]⁺. Son obtention s'explique par la coupure hétérolytique de la liaison C-N de [**P7**+H]⁺ qui conduit à l'élimination d'ammoniac (**schéma C25**). Le fragment **7b** ($C_8H_7N_3$) est le produit de la coupure homolytique de la liaison S-C et l'élimination d'un radical sulfoaniline ($C_6H_6NSO_2^+$). Les fragments **7c** et **7d** sont tous les deux formés par des réarrangements intramoléculaires faisant intervenir la rupture d'une liaison S-C et la migration d'un groupe hydroxyle sur le cycle quinoxaline. Les calculs indiquent que ces processus sont thermodynamiquement favorisés. Il convient de noter que nous ne pouvons pas comparer ces énergies aux abondances de **7c** et **7d**, car les réarrangements sont des processus multi-étapes dont les énergies d'activation diffèrent assez largement des énergies de réaction. Nous pouvons, par contre, en déduire que leur présence est compatible avec la structure proposée pour **P7**. Le processus de rupture directe de liaison le moins coûteux en énergie pour **P7** est donc la formation de **7b**, ce qui est cohérent avec le fait que c'est le fragment de plus haute abondance dans son spectre MS/MS. L'énergie de réaction associée à sa formation reste assez élevée (76 kcal mol⁻¹), ce qui est cohérent avec la stabilité observée de **P7** vis-à-vis de la fragmentation. Cependant, il est très intéressant de noter que les calculs théoriques montrent que la formation de l'ion m/z 156 qui était observé dans le cas de [**SQX**+H]⁺ (**figure C21**) est fortement défavorisée devant la formation de 7a et 7b (par au moins 33 kcal mol⁻¹). Ce résultat est parfaitement cohérent avec le fait que l'ion fragment m/z 156 n'a pas été détecté dans le spectre MS/MS de [**P7**+H]⁺.



Figure C21: Spectre MS/MS de [SQX+H] + (EC = 15 eV)





Schéma C25 : Mécanisme de fragmentation proposé pour $[P7+H]^+$. Les compositions élémentaires des fragments sont données et les erreurs entre les masses calculées et mesurées (ppm) sont indiquées entre parenthèses. Les abondances relatives des fragments pour EC = 25 eV sont données en pourcentage et en italique.

 $[\mathbf{P8}+\mathrm{H}]^+$ présentant une stabilité similaire à $[\mathbf{SQX}+\mathrm{H}]^+$ dans nos conditions expérimentales, sa structure contient certainement une liaison sulfonamide, qui s'est avéré être la principale liaison responsable de la fragmentation de $[\mathbf{SQX}+\mathrm{H}]^+$. Aussi, nous avons proposé pour **P8** la structure suivante : 4-amino-N-1-quinoxalinyl-benzènesulfonamide. L'analyse des processus de fragmentations associées à des calculs théoriques ont été effectués pour décrire la formation des trois principaux fragments de **P8** visibles sur le **schéma C26**: **8a** (m/z 156), **8b** (m/z 208) et **8c** (m/z 144).



Schéma C26 : Mécanisme de fragmentation proposé pour $[P8+H]^+$. Les compositions élémentaires des fragments sont données et les erreurs entre les masses calculées et mesurées (ppm) sont indiquées entre parenthèses. Les abondances relatives des fragments pour EC = 20 eV sont données en pourcentage et en italique.

Il apparait que le fragment **8a** $(C_6H_6NSO_2^+)$ est issu de l'élimination du motif

aminoquinoxaline suite à la rupture hétérolytique de la liaison S-N de $[P8+H]^+$. D'après les calculs théoriques et de la même façon que pour la fragmentation de $[SQX+H]^+$, la rupture hétérolytique de la liaison S-N est ici plus favorable que la rupture homolytique de 9 kcal mol⁻¹. Ceci permet d'expliquer l'absence de l'ion m/z = 145 dans le spectre MS/MS de **P8**.

L'obtention du fragment **8b** ($C_8H_6N_3SO_2^+$) est expliquée par un réarrangement intramoléculaire impliquant l'élimination du motif aniline et la migration d'un atome d'hydrogène. L'évolution de l'abondance de ce fragment lors de la modification de l'énergie de collision a permis d'établir une corrélation entre sa disparition **8b** et la formation de **8c** lorsque l'énergie de collision augmente. Cette relation nous a permis de confirmer que l'ion fragment **8b** est l'ion parent de **8c** ($C_8H_6N_3^+$), qui est formé une réaction d'élimination de SO₂. Par ailleurs, l'importante abondance de **8b** (42%) et **8c** (48%) en comparaison de **8a** (3%) montre que le réarrangement intramoléculaire est favorisé par rapport à la rupture directe dans le cas de [**P8**+H]⁺, contrairement à ce qui avait observé pour [**SQX**+H]⁺. Ceci est cohérent avec le fait que la rupture directe nécessite plus d'énergie pour [**P8**+H]⁺ (33 kcal mol⁻¹) que pour [**SQX**+H]⁺ (25 kcal mol⁻¹) et que le réarrangement nécessite moins d'énergie pour [**P8**+H+]⁺ (57 kcal mol⁻¹) que pour [**SQX**+H]⁺ (64 kcal mol⁻¹).

II.3.7 Photoproduits P3 et P9

Les photoproduits **P3** et **P9** (avec des temps de rétention de 8,2 et 10,6 min, respectivement) présentent des ions moléculaires $[M+H]^+$ de même m/z (317) et donc de même composition élémentaire ($C_{14}H_{13}N_4SO_3^+$). Leur formule élémentaire correspond à un ajout d'un atome d'oxygène à la structure de la sulfaquinoxaline. Nous avons proposé des structures dans lesquelles un groupe hydroxyle est substitué à un atome d'hydrogène sur l'un des cycles aromatiques de **SQX**. Afin de valider cette hypothèse et d'avoir plus d'informations sur la position du groupe hydroxyle, leurs fragmentations MS/MS ont été étudiées. Les spectres MS/MS de ces deux photoproduits sont présentés dans la **figure C22**.



Figure C22 : Spectres MS/MS des ions $[P3+H]^+$ (A) et $[P9+H]^+$ (B) pour EC = 15 eV

Les spectres de masse montrent qu'une énergie de collision de 15 eV permet de fragmenter efficacement les formes protonées de **P3** et **P9** (respectivement 53 et 58%). Cette forte aptitude à la fragmentation suggère que ces composés ont une structure proche de celle de SQX, qui présente dans les mêmes conditions un taux de fragmentation d'environ 59%.

Dans le cas de $[P3+H]^+$, quatre principaux fragments ont été détectés (**3a** (*m/z* 156), **3b** (*m/z* 224), **3c** (*m/z* 92) et **3d** (*m/z* 108)) et leurs voies de dégradation sont présentés dans le **schéma C27** ci-dessous.



Schéma C27: Mécanisme de fragmentation proposé pour $[P3+H]^+$. Les compositions élémentaires des fragments sont données et les erreurs entre les masses calculées et mesurées (ppm) sont indiquées entre parenthèses. Les abondances relatives des fragments pour EC = 15 eV sont données en pourcentage.

Les ions **3a**, **3c** et **3d** sont identiques aux ions **11a**, **11c** et **11d** observés dans la fragmentation de $[SQX+H]^+$. Ils incluent tous le motif aniline original sans substitution particulière. Par contre, la structure de l'ion **3e** ($C_8H_6N_3SO_3^+$) correspond à celle de l'ion **11e** ($C_8H_6N_3SO_2^+$) à laquelle serait ajouté un atome d'oxygène, porté par le motif quinoxaline. Ces résultats nous indiquent de façon indiscutable que **P3** est un dérivé hydroxylé de la sulfaquinoxaline avec une fonction hydroxyle portée par le cycle quinoxaline.

Dans le cas de $[P9+H]^+$, cinq principaux fragments ont été détectés (9a (*m/z* 156), 9b (*m/z* 124), 9c (*m/z* 108), 9d (*m/z* 146) et 9e (*m/z* 208)) et leurs voies de dégradation sont présentées dans le schéma C28.



Schéma C28: Mécanisme de fragmentation proposé pour $[P9+H]^+$. Les compositions élémentaires des fragments sont données et les erreurs entre les masses calculées et mesurées (ppm) sont indiquées entre parenthèses. Les abondances relatives des fragments pour EC = 15 eV sont données en pourcentage.

La présence des ions fragments **9a**, **9c**, **9d** et **9e** dans le spectre MS/MS du produit **P9** permet d'affirmer que **P9** est un dérivé de la sulfaquinoxaline avec un cycle aniline hydroxylé en position 2 ou en position 3. En effet, il est à noter que les ions **9a**, **9c** et **9d** ont des compositions élémentaires proches de celles des ions **3a**, **3c** et **3d** à un atome d'oxygène près.

Comme les ions **3a**, **3c** et **3d** correspondent à des ions dérivés de l'aniline, ceci nous indique donc que cet atome supplémentaire est porté par le motif aniline. De plus, comme l'ion **9e** $(C_8H_6N_3SO_2^+)$, qui contient le motif quinoxaline, est identique au fragment **11e** de **SQX**, cela confirme qu'aucune modification structurale ne se produit sur cette partie de la molécule dans **P9**.

Afin de déterminer la position du groupement hydroxyle sur l'aniline (position 2 ou 3), nous nous sommes intéressés à la formation du fragment **9b** ($C_8H_8N_3^+$). En effet, **9b** est formé par un réarrangement intramoléculaire qui implique le transfert d'un atome d'hydrogène et l'élimination d'un fragment neutre sulfoquinonimine (**schéma C29**). Ce mécanisme est facilité si le groupement hydroxyle est en alpha de la sulfone (position 3), mais non envisageable s'il est en position 2. La présence du fragment **9b** avec une intensité importante (30%) dans le spectre de [**P9+H**]⁺ suggère donc que le groupe hydroxyle est en position 3 du motif aniline dans la structure de **P9**.



Schéma C29 : Mécanisme de fragmentation proposé pour la formation de 9b.

Le schéma C30 ci-dessous regroupe les principaux photoproduits formés sous excitation à 254 ou 365 nm de la sulfaquinoxaline.



Schéma C30: Bilan analytique de la phototransformation de la sulfaquinoxaline sous excitation à 254 ou 365 nm.

Pour déterminer les mécanismes de formation des photoproduits observés, le suivi cinétique de leur formation dans différentes conditions expérimentales a été réalisé. De plus des études en photolyse laser nanoseconde ont été menées pour identifier les espèces transitoires formées lors de l'irradiation de **SQX**. Pour chaque photoproduit primaire (formé directement à partir de la photodégradation de **SQX**), le recoupement de ces deux approches a permis de proposer une voie de formation. Dans le cas des produits identifiés comme secondaires (c'est-à-dire formés par la dégradation d'un photoproduit primaire) des mécanismes ont également été proposés mais la validation complète de ces mécanismes nécessiterait des études plus approfondies des composés de dégradation primaires. Les formes neutre (pH = 4,0) et anionique (pH = 10,0) de **SQX** ayant des réactivités très différentes, elles seront présentées et discutées séparément.

II.3.8 Mécanisme de photodégradation de la sulfaquinoxalineà pH = 4,0

Quel que soit le pH utilisé lors de l'irradiation de la sulfaquinoxaline, nous avons observé un réel effet de la longueur d'onde d'excitation. Cet effet de longueur d'onde peut être expliqué par plusieurs processus différents qui peuvent se produire sous excitation d'une manière sélective ou simultanément :

- Une réactivité qui est spécifique à l'un des groupes chromophores de la molécule.
 En particulier l'absorption par *le motif aniline* est très défavorisée pour une irradiation à 365 nm, qui est éloignée de sa bande d'absorption.
- Une photoionisation qui se déroule à un état excité $S_n \longrightarrow M^+ + e^-$ (nécessitant donc un photon de haute énergie) avec production d'un radical cation et l'éjection d'un électron, rapidement solvaté.

La détermination des rendements quantiques a montré un réel effet du pH de la solution. Les dégradations en condition acide sont 10 à 12 fois plus efficaces qu'en condition basique, ce qui montre que la forme neutre de SQX est beaucoup plus réactive que la forme anionique.

a) Mécanisme de formation deP1 : 2-aminoquinoxaline (AQX)

Le photoproduit **P1** est formé sous irradiation à 254 nm mais il n'est pas détecté dans le cas d'une irradiation à plus grande longueur d'onde (365 nm). Le suivi cinétique de sa formation est représenté sur la **figure C23** pour différentes concentrations en oxygène dissous:



Figure C23: Cinétiques de formation de AQX dans une solution de SQX à $pH = 4.0 (2,5 \times 10^{-4} mol L^{-1})$ irradiée à 254 nm dans des conditions aérée, désoxygénée et saturée en oxygène.

Comme le montre la **figure C23**, la formation de **AQX** se fait dès les premiers instants de l'irradiation indiquant sa formation par un processus photochimique primaire. Sachant que ce composé est commercial, sa quantification a pu être réalisée. Il représente en milieu aéré et sous excitation à 254 nm environ 30% de la conversion de **SQX**. La concentration en oxygène dissous n'ayant pas d'effet significatif sur sa vitesse initiale de formation, sa formation est vraisemblablement due à un processus de photohydrolyse à partir de l'état excité singulet de **SQX** selon le processus suivant (**schéma C31**) :



Schéma C31: Formation de AQX par photohydrolyse

b) Mécanisme de formation de P2

Le photoproduit **P2** correspond au composé résultant d'une réaction de désulfonation à partir de SQX (élimination de SO₂). Cette réaction est observée sous irradiation à 254 et 365 nm. Le suivi



cinétique de son apparition est représenté dans la **figure C24** ci-dessous, pour une irradiation à 254 nm et dans différentes conditions expérimentales :



Figure C24: Formation de **P2** dans une solution de SQX à pH = 4,0 (2,5×10⁻⁴ mol L⁻¹) irradiée à 254 nm dans différentes conditions : (A) Aérée, désoxygénée et saturée en oxygène et (B) : Désoxygénée, en présence ou non d'isoprène.

La figure C24A montre clairement que la formation de P2 est très favorisée en absence d'oxygène, puisqu'il se forme 3 à 6 fois plus vite qu'avec des solutions aérée et saturée en oxygène. Cela suggère que le mécanisme de formation de P2 fait intervenir une espèce transitoire très sensible à l'oxygène. Les études par photolyse laser ont clairement montré la formation d'un état dont la durée de vie est sensible à l'oxygène moléculaire et qui a été identifiée comme étant l'état excité triplet (³SQX). Ce dernier pourrait être le précurseur du photoproduit P2. Pour valider cette hypothèse, la cinétique de formation de P2 a été suivie dans une solution de SQX désoxygénée contenant 0,1% en volume d'isoprène. En effet, comme il a été montré dans plusieurs études [129], l'isoprène agit comme un désactivateur de l'état excité triplet. Dans ces conditions et en milieu désoxygéné, nous avons observé une forte inhibition de la formation de P2 en présence d'isoprène (Figure C24B). Ce résultat indique que l'état excité triplet de la sulfaquinoxaline, ³SQX, joue un rôle important dans le processus de formation du photoproduit P2. L'état excité triplet met en jeu, vraisemblablement, un réarrangement intramoléculaire conduisant au processus de désulfonation (schéma C32).



Schéma C32: Mécanisme proposé pour la formation photochimique de P2

c) Mécanisme de formation de P3 et P9

Les photoproduits **P3** et **P9** se forment essentiellement lors d'une irradiation à 365 nm mais ils sont également présents à l'état de trace sous irradiation à 254 nm. Ils correspondent à des produits d'hydroxylation de la sulfaquinoxaline. Cette réaction est observée, comme l'ont montré les résultats par spectrométrie de masse, au niveau des deux parties aromatiques : le motif quinoxaline et le motif aniline (**schéma C33**).



Schéma C33 : Structures chimiques de P3 et P9

L'évolution de la concentration de **P3** et de **P9** dans différentes conditions d'oxygénation a été effectuée pour démontrer l'implication de l'oxygène dans le processus de leur formation. La **figure C25** ci-dessous présente cette évolution ($\lambda_{abs} = 254$ nm), déterminée par des analyses HPLC-UV en fonction du taux d'avancement de la photodégradataion de **SQX**.


Figure C25: Cinétiques de formation de **P3** (gauche) et **P9** (droite) en fonction de l'avancement de la dégradation de SQX: $[SQX]/[SQX]_0$, conditions désoxygénée, aérée ou saturée en oxygène

Ces cinétiques montrent que **P3** et **P9** apparaissent dès les premiers instants de la dégradation et que leur formation est favorisée en présence d'oxygène excluant ainsi l'implication de l'état excité triplet dans le processus de leur formation. Il s'agit probablement d'un processus mettant en jeu l'état excité singulet avec la formation intermédiaire d'un radical cation par un processus de photoéjection d'électron. En effet, la photoéjection d'un électron est généralement favorisée par la présence d'oxygène, qui réagit de manière efficace avec l'électron pour conduire à la formation du radical superoxyde, O_2^{-} [130]. Ce radical pouvant évoluer en solution aqueuse pour conduire à la formation du peroxyde d'hydrogène selon les réactions suivantes :

$$SQX \stackrel{hv}{\longleftarrow} \left\{ SQX^{\bullet +}_{+} e^{-} \right\}$$

$$\left\{ SQX^{\bullet +}_{+} e^{-} \right\} + O_{2} \stackrel{}{\longrightarrow} O_{2}^{\bullet -}_{-}_{+} SQX^{\bullet +}$$

$$O_{2}^{\bullet -}_{-} + H^{+} \stackrel{}{\longleftarrow} HO_{2}^{\bullet}$$

$$2 HO_{2}^{\bullet} \stackrel{}{\longrightarrow} H_{2}O_{2} + O_{2}$$

Afin de valider l'hypothèse d'une photoéjection d'électron, un suivi de la formation de H_2O_2 lors d'une irradiation à 365 nm d'une solution de **SQX** a été réalisé (**Figure C26**). En effet, la formation de l'eau oxygénée dans le milieu est un indicateur largement utilisé pour mettre en évidence la formation intermédiaire de radicaux superoxydes et/ou hydroperoxydes dans le milieu [130].



Figure C26: Cinétique de formation de H_2O_2 lors de l'irradiation à 365 nm d'une solution aqueuse de SQX (25 μ mol L⁻¹) à pH = 4.0.

Comme le montre la **figure C26**, le peroxyde d'hydrogène apparaît dès les premiers instants de l'irradiation et s'accumule de manière très importante dans le milieu. Ce résultat atteste de la formation intermédiaire des anions superoxydes et ainsi de l'implication d'un processus de photoéjection d'électrons dans les étapes primaires. On observe également le fait que la formation de H_2O_2 est plus efficace après 120 min d'irradiation, et va jusqu'à dépasser la concentration initiale de **SQX** (25 µmol L⁻¹) pour des longs temps. Cela nous indique qu'un ou plusieurs photoproduits primaires de **SQX** sont susceptibles de donner des produits secondaires par le biais d'un processus de photoéjection d'électrons. Nous n'avons pas étudié ces processus secondaires en détail, mais l'étude de la réactivité de **AQX** confirmera cette hypothèse.

Par ailleurs, lorsque la photoéjection d'un électron a lieu en solution aqueuse, il est possible de détecter directement l'électron solvaté notamment par photolyse laser nanoseconde [131]. En effet, l'électron solvaté présente, une absorption caractéristique autour de 700 nm, ce qui permet de la caractériser et de le distinguer des éventuelles autres espèces transitoires formées sous irradiation. Dans le cas de **SQX**, le faible rendement quantique de photodégradation et la faible solubilité du composé dans l'eau, ont rendu cette détection très difficile. Cependant, un très faible signal a été détecté à 700 nm avec un flash laser de forte énergie, mais il n'a pas pu être correctement exploité. Par contre, la photoéjection d'électron a été très clairement observée lors de l'étude de solutions d'aminoquinoxaline (voir paragraphe suivant) ce qui montre que ce mécanisme est fortement probable dans le cas de **SQX**.

Les résultats expérimentaux nous permettent donc de proposer le mécanisme suivant pour la formation de **P3** et **P9 (schéma C34)**. La première étape correspondrait à la formation d'un radical cation, au niveau du motif quinoxaline mais également de la partie aniline, par photoéjection d'électron. Cette étape est ensuite suivie d'une réaction avec l'oxygène dissous en solution, conduisant à l'hydroxylation de **SQX**.



Schéma C34 : Mécanisme proposé pour la formation des photoproduits P3 et P9

d) Etude de la réactivité de 2-aminoquinoxaline (AQX).

Lors des mécanismes décrits précédemment, nous avons vu que l'excitation de **SQX** pouvait conduire à la formation d'un état excité triplet et/ou à la photoéjection d'un électron. Afin de mieux comprendre le rôle du motif quinoxaline dans cette réactivité, l'étude photochimique du 2-aminoquinoxaline (**AQX**) a fait l'objet d'une étude détaillée.

Lors de l'irradiation d'une solution aqueuse d'aminoquinoxaline à 254 et 365 nm à la concentration de $1,0x10^{-4}$ mol L⁻¹et à pH = 4,0, un unique photoproduit a été détecté et il a été identifié comme étant un dérivé hydroxylé de **AQX**, que nous noterons **HO-AQX** par la suite (**figure C27**).



Figure C27 : Evolution du chromatogramme HPLC d'une solution aqueuse de $AQX 1, 0 \times 10^{-4}$ mol L^{-1} à pH = 4,0 et irradiée à 254 nm.

Le suivi cinétique de l'apparition de **HO-AQX** sous irradiation de solutions à différentes concentrations d'oxygène a montré que sa formation est favorisée par la présence d'oxygène. De plus, la formation de peroxyde d'oxygène a été clairement observée pendant l'irradiation, ce qui suggère que le mécanisme de formation de **HO-AQX** est identique à celui de la formation des produits d'hydroxylation de la sulfaquinoxaline : c'est-à-dire la formation d'un radical cation par photoéjection d'électron suivie d'une réaction avec l'oxygène dissous en solution (**Schéma C35**).



Schéma C35: Mécanisme proposé pour la formation de HO-AQX

Des expériences de photolyse laser nanoseconde sur une solution aqueuse de AQX désoxygénée ont mis en évidence la formation de deux espèces de courte durée de vie :

l'électron solvaté, caractérisé par sa bande d'absorption avec un maximum à 720 nm.
 Une relation de proportionnalité entre l'intensité du signal et l'énergie du laser a été observée, validant ainsi le caractère monophotonique du processus (Figure C28).



Figure C28 : (A) Suivi cinétique de la variation d'absorbance à 700 nm pour une solution aqueuse de AQX (50 μ mol L^{-1}) après un flash laser à 355 nm. (B) Evolution de l'intensité maximum pour le signal à 700 nm en fonction de l'énergie du laser.

- l'état excité triplet ³AQX présentant un maximum à 480 nm. La formation de ³AQX a été confirmée par des expériences en photolyse laser en présence de β -carotène (utilisé comme accepteur lors d'un processus de transfert d'énergie triplet-triple). Les **figures C29A et B** confirment le transfert d'énergie triplet-triplet entre AQX et le β -carotène avec la diminution concomitante de la bande d'absorption à 480 nm et l'augmentation de celle à 520 nm caractéristique de l'état excité triplet du β -carotène sous irradiation à 355 nm d'un mélange AQX / β CAR (5,0x10⁻⁵ mol L⁻¹/ 5,7x10⁻⁵ mol L⁻¹).



Figure C29 : (A) Spectre d'absorption UV-visible d'une solution de AQX (5,0 10^{-5} mol L^{-1}) et de β CAR (5,7 10^{-5} mol L^{-1}) dans l'acétonitrile pour t = 150 ns, 500 ns, 1 μ s et 2 μ s après un flash laser à 355 nm. (B) Suivi de la variation d'absorption à 480 et 520 nm au cours du temps.

Ces observations expérimentales montrent que le motif quinoxaline de **SQX** a une part importante dans la réactivité de **SQX** de par sa capacité à peupler son état excité triplet mais également à former un radical cation par photoéjection d'électron.

e) Mécanisme de formation des produits P7 et P8

Les photoproduits **P7** et **P8**, ont été identifiés comme étant des isomères de **SQX**. Ils ont été principalement détectés lors des irradiations à 254 nm. Aucun effet de l'oxygène moléculaire n'a été mis en évidence lors de l'irradiation dans différentes conditions d'oxygénation. En tenant compte ces informations, nous proposons un mécanisme de formation qui est amorcé par la rupture homolytique, sous excitation de haute énergie, de la liaison S-N permettant la formation des deux radicaux aminoquinoxaline et sulfoaniline. La recombinaison de ceux-ci via l'azote en position 1 de la quinoxaline conduit à la formation du produit **P8** alors que La formation du produit **P7** s'explique par la migration d'un atome d'hydrogène avant la recombinaison radicalaire, selon un mécanisme de type photo-Fries (**schéma C36**).



Schéma C36 : Mécanisme proposé pour la formation des produits P7 et P8

f) Mécanisme de formation de photoproduits P4, P5 et P10

Le photoproduit P4, qui est un isomère de P2, est un produit primaire détecté lors des irradiations à 254 nm mais qui n'est présent qu'à l'état de trace lors des irradiations à 365 nm. Le suivi



cinétique de l'apparition de P4 dans différentes conditions d'oxygénation a montré que, contrairement au cas de P2, l'oxygène n'a aucun impact sur sa vitesse de formation. On peut en conclure que son mécanisme de formation est différent de celui de P2, et ne met pas en jeu l'état excité triplet ³SQX. Nous proposons ainsi un mécanisme de formation qui est amorcé par la rupture homolytique de la liaison S-N, conduisant à la formation des radicaux aminoquinoxaline et sulfoaniline, de la même manière que pour P7 et P8. Une élimination du dioxyde de soufre pendant l'étape de recombinaison radicalaire génère ensuite le produit P4 (Schéma C37).



Schéma C37: Mécanisme proposé pour la formation du produit P4

Les structures chimiques de P5 et P10 indiqueraient probablement leurs formations via des réactions secondaires du composé P4. De ce fait leurs mécanismes de formation n'ont pas été étudiés en détail mais il s'agit d'une réaction d'oxydation conduisant à la formation de P5 suivie de son hydrolyse permettant la formation de P10 (Schéma C38):



Schéma C38: Formation de P5 et P10 à partir de P4

II.3.9 Mécanisme de transformation de SQX à pH = 10,0

a) Mécanisme de formation de P2

Lors de l'irradiation d'une solution de SQX (2,5x10⁻⁵ mol L⁻¹) à pH = 10, le photoproduit P2 est le seul produit primaire observé de manière très significative. Le suivi cinétique de sa formation a été réalisé dans différentes conditions d'oxygénation, et les résultats sont présentés dans la figure C30 ci-dessous :



Figure C30 : Suivi de l'apparition de *P2* dans des conditions désoxygénée, aérée ou saturée en oxygène, à des longueurs d'onde d'irradiation de (A) 254 nm et (B) 365 nm.

Comme on peut le voir sur la **figure C30**, la concentration en oxygène dissous n'a pas d'effet très significatif sur la vitesse initiale de formation de **P2**. Le mécanisme de sa formation n'est pas le même à pH = 10 qu'à pH = 4. En particulier, l'état excité triplet de **SQX** n'est pas particulièrement impliqué dans la formation de **P2** à pH = 10. Ceci a été confirmé par une étude en photolyse laser nanoseconde, effectuée pour une solution aqueuse de **SQX** à pH = 10 sous une excitation à 355 nm. En effet, aucune espèce transitoire n'a été détectée, ce qui cohérent avec le fait que l'état excité triplet n'intervient pas dans la réactivité de **SQX** à un tel pH de la solution. Dans la mesure où aucun isomère de **SQX** ou de **P2** n'est observé, il est peu probable qu'un mécanisme radicalaire soit responsable de la formation de **P2**.

Le mécanisme de formation proposé est donc un processus intramoléculaire de désulfonation à partir de l'état excité singulet S_1 de SQX, comme présenté dans le schéma C39 ci-dessous :



Schéma C39: Mécanisme proposé pour la formation de P2 à pH = 10

b) Mécanisme de formation de P6

La structure de P6 (Schéma 40) indique qu'il est un produit secondaire issu de P2, et de ce fait son mécanisme de formation n'a pas été étudié en détail. La formation de P6

correspond à l'hydrolyse thermique ou/et photochimique de la fonction imine de P2, selon le schéma C40 :



Schéma C40: Formation de P6 à partir de P2 à pH = 10

II.4 Evaluation de la toxicité des photoproduits

Cette étude a pu être réalisée en collaboration avec Pr. Polonca Trebse de l'Université de Nova Gorica en Slovénie

La toxicité a été évaluée en mesurant la bioluminescence d'une suspension de la bactérie *Vibrio fischeri* après 30 minutes d'incubation avec la solution à analyser (le protocole est décrit en détail dans la partie matériel et méthodes). La **figure C31** ci-dessous présente l'évolution de la toxicité de solutions aqueuses de **SQX** à la concentration de 5,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ irradiées à pH = 4 et 10 et aux longueurs d'ondes de 254 et 365 nm. Les temps d'irradiation ont été choisis pour une conversion de **SQX** allant de 0 à 70%.





Figure C31 : Evolution de la toxicité d'une solution de SQX ($C_0 = 5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1}) en fonction du temps d'irradiation dans différentes conditions (irradiation à 254 ou 365 nm ; pH = 4,0 ou 10,0).

Quelles que soient les conditions expérimentales, nous observons une augmentation de la toxicité tout au long de l'irradiation de la solution de **SQX**. La toxicité passe d'une valeur initiale de 2% environ à une valeur finale voisine de 12% environ. Cette évolution montre clairement que la toxicité du mélange de photoproduits formés est supérieure à celle de **SQX**. Dans les conditions basiques **P2** est le seul produit primaire formé en quantité importante. Le fait que l'évolution de la toxicité soit similaire dans les conditions acide et basique permet de conclure que **P2** est le principal responsable de l'augmentation de la toxicité de la solution. Sa phototransformation et/ou sa biodégradation serait très intéressante à étudier afin d'élucider le devenir de ce produit et ainsi de diminuer la toxicité dans le milieu.

III. Photodégradation de la pyriméthamine (PYR) dans l'eau

La phototransformation de la pyriméthamine (**PYR**) en solution aqueuse a été principalement suivie par HPLC pour les études cinétiques et analytiques et par HPLC/MS pour l'identification des différents photoproduits. Toutes les études ont pu être réalisées dans l'eau ultra-pure à des pH permettant la présence exclusive des formes neutre et cationique (pH= 10,0 pour la forme neutre et pH=5,0 pour la forme cationique (**schéma C41**)). Dans ces conditions, les solutions de **PYR** stockées dans le noir et au réfrigérateur se sont révélées être stables pendant au moins 48 h.



Schéma C41 : Formes neutre et cationique de la pyriméthamine

III.1 Propriétés spectroscopiques

Les spectres d'absorption UV-Visible des formes neutre et cationique de la pyriméthamine, obtenus respectivement pour des solutions de pH = 10,0 et pH = 5,0, sont présentés sur la **figure C32** ci-dessous.



Figure C32: Spectres d'absorption UV-visible de solutions aqueuses de PYR à pH = 5,0 (courbe rouge) et pH = 10,0 (courbe bleue) et spectre d'émission solaire à la surface de la terre.

Le spectre de la forme cationique (pH = 5,0) présente une bande d'absorption avec un maximum situé à 272 nm (ε = 8100 L mol⁻¹ cm⁻¹) et un léger épaulement vers 225 nm. Il montre un faible domaine de recouvrement avec le spectre d'émission solaire. Dans le cas de la forme neutre (pH = 10,0), la bande d'absorption est nettement déplacée vers les grandes longueurs d'ondes, avec un maximum situé à 287 nm (ε = 9460 L mol⁻¹ cm⁻¹). Cet important effet bathochrome favorise l'apparition d'une zone de recouvrement plus importante avec le spectre d'émission solaire. La photodégradation sous exposition naturelle est donc bien

possible pour la pyriméthamine et devrait être plus significative avec la forme neutre qu'avec la forme cationique.

III.2 Suivi cinétique de la photodégradation de pyriméthamine

III.2.1 Effet du pH et de la longueur d'onde d'irradiation

Le suivi HPLC de la disparition de **PYR** a été réalisé afin d'évaluer sa photodégradabilité dans différentes conditions. Des solutions à pH = 5,0 et à pH = 10,0 ont été étudiées, afin de séparer la réactivité des formes neutre et cationique de **PYR**. Des irradiations monochromatiques ont été effectuées à deux longueurs d'onde différentes : à 254 nm afin d'obtenir une dégradation plus rapide puisque l'absorbance est plus élevée et à 290 nm pour avoir une irradiation représentative de la dégradation sous exposition solaire. Comme le montre la **figure C33**, l'excitation à 254 nm d'une solution aqueuse de pyriméthamine à la concentration de 2,5x10⁻⁵ mol L⁻¹, à pH = 5,0 et en milieu aéré conduit à une photodégradation efficace. Celle-ci est totale au bout de 60 minutes d'irradiation. La disparition suit une cinétique d'ordre un apparent. Dans nos conditions expérimentales, la constante de vitesse a été estimée à 2,5x10⁻² min⁻¹. Un profil cinétique similaire est obtenu pour une excitation à plus grande longueur d'onde (290 nm).



Figure C33: (A) Evolution du chromatogramme HPLC d'une solution de PYR ($2,5 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , pH = 5,0) pendant une irradiation à 254 nm. (B) Suivi HPLC de la disparition de PYR durant la même expérience.

Dans le but de comparer les résultats dans différentes conditions de pH et de longueurs d'onde d'excitation, le rendement quantique de disparition a été déterminé (**Tableau C7**). Celui-ci est environ 100 fois plus élevé avec la forme neutre qu'avec la forme cationique démontrant ainsi la forte photoréactivité de la forme neutre. Ainsi, le faible rendement quantique de la forme cationique associé au faible recouvrement de son spectre d'absorption avec le spectre d'émission solaire nous permet de conclure que la forme cationique est très photostable. Il est à noter que la faible différence observée entre les rendements quantiques pour les irradiations à 254 et 290 nm permet de conclure à une réactivité indépendante de la longueur d'onde d'excitation dans le domaine étudié.

Φ	pH = 5,0	pH = 10,0
254 nm	3,0 10 ⁻⁴	4,3 10 ⁻²
290 nm	2,7 10 ⁻⁴	2,3 10 ⁻²
SUNTEST	2,6 10 ⁻⁴	1,9 10 ⁻²

Tableau C7: Rendements quantiques de photodégradation de la pyriméthamine dans différentes conditions de pH et d'irradiation. Les erreurs sur les valeurs sont de 10% environ

L'étude cinétique en enceinte SUNTEST a de plus permis, de la même manière que pour **SQX**, d'évaluer le temps de demi-vie $t_{1/2}$ de la **PYR** dans le cas d'une irradiation par le soleil au zénith à l'équateur (maximum de rayonnement solaire naturel). Il est estimé à 20h30 pour la forme cationique, démontrant sa forte photostabilité sous exposition naturelle, et de 10 minutes pour la forme neutre qui est très réactive et disparait rapidement dans le milieu.

III.2.2 Effet de la concentration d'oxygène dissous

La photodégradation de la **PYR** a été suivie pour des solutions contenant différentes concentration en oxygène moléculaire dissous : solutions aérée, désoxygénée et saturée en oxygène. Les irradiations ont été réalisées à 254 nm et pour les deux formes cationique et neutre. Le **tableau C8** ci-dessous regroupe les différents rendements quantiques sous irradiation d'une solution aqueuse à la concentration de $2,5x10^{-5}$ mol L⁻¹ :

	pH = 5,0		pH = 10,0			
Φ	désoxygénée	aérée	saturée	désoxygénée	aérée	saturée
254 nm	1,8 10 ⁻⁴	3,0 10 ⁻⁴	3,6 10 ⁻⁴	4,1 10 ⁻²	4,3 10 ⁻²	4,7 10-2

Tableau C8 : Rendements quantiques de photodégradation dans différentes conditions de pH et de concentration en O_2 , pour une irradiation à 254 nm. Les erreurs sur les valeurs sont de 10% environ.

Au contraire de la forme neutre qui ne montre aucun effet de l'oxygène moléculaire sur la disparition de la **PYR**, la disparition de la forme cationique dépend légèrement de la concentration d'oxygène. En effet, le rendement quantique à pH = 5 est environ deux fois plus élevé en milieu suroxygéné qu'en milieu désoxygéné. L'oxygène moléculaire est donc impliqué dans une voie minoritaire de la phototransformation de la **PYR**.

III.3 Identification des photoproduits

Les différents photoproduits observés à pH = 5,0 et pH = 10,0 ont été identifiés par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie (LC/ESI-Q-TOF). Les modes d'ionisation positif et négatif ont été utilisés, mais seul le mode positif a permis la détection de signaux intenses et exploitables. Cinq photoproduits principaux ont été détectés en absorption UV-visible (DAD) et en spectrométrie de masse. Les produits ont été numérotés par ordre croissant de leurs temps de rétention dans les chromatogrammes HPLC correspondant aux différentes conditions d'irradiation (**Figure C34**) :



Figure C34: Chromatogrammes HPLC-DAD à 254 nm pour des solutions de **PYR** irradiées dans différentes conditions. L'échelle temporelle est limitée car aucun photoproduit n'a été détecté en dehors de l'intervalle 6-10 min.

La détermination des masses exactes (HRMS) nous a permis d'obtenir la composition élémentaire de tous les produits formés. La présence d'un atome de chlore a pu être confirmée par le calcul du rapport $[[M+H+2]^+/[M+H]^+]$ (**Tableau C9**) :

Photoproduit	Temps de rétention (min)	Masse mesurée	Composition élémentaire	Masse Calculée	Erreur (ppm)
$[P1+H]^+$	7,0	231,1250	$C_{12}H_{15}N_4O^+$	231,1246	+1,8
$[P2+H]^+$	8,1	215,1595	$C_{12}H_{15}N_4^+$	215,1297	-0,8
$[P3+H]^+$	8,7	213.1139	$C_{12}H_{13}N_4^+$	213,1140	-0,6
$[P4+H]^+$	8,9	265,0852	$C_{12}H_{14}N_4ClO^+$	265,0856	-1,6
$[P5+H]^+$	9,2	265,0854	$C_{12}H_{14}N_4ClO^+$	265,0856	-0,8
[PYR+H] ⁺	9,6	249,0909	$C_{12}H_{14}N_4Cl^+$	249,0907	+0,8

Tableau C9: Temps de rétention, masses exactes mesurées et théoriques et composition élémentaires des photoproduits détectés en LC-ESI-QTOF.

Les compositions élémentaires des photoproduits détectés étant relativement proches de celle de **PYR**, la détermination de leur structure n'a pas nécessité d'analyse MS/MS. Ainsi, la comparaison de la composition élémentaire de **P1** ($C_{12}H_{15}N_4O^+$) avec celle du composé départ **PYR** ($C_{12}H_{14}N_4Cl^+$) montre clairement la substitution d'un atome de chlore par un groupement hydroxyle. De la même façon, **P2**, de composition élémentaire $C_{12}H_{15}N_4^+$, est le résultat d'une substitution du chlore par un atome d'hydrogène (**schéma C42**). Les spectres d'absorption UV de **P1** et de **P2** sont similaires à ceux de la pyriméthamine démontrant ainsi le maintien de la structure chimique chromophore (**figure C35**)



Schéma C42 : Structure des produits P1 et P2



Figure C35 : Spectres d'absorption des composés P1 et P2

Dans le cas des produits P4 et P5 de compositions élémentaires identiques $(C_{12}H_{14}N_4ClO^+)$, ils correspondent à la substitution d'un atome d'hydrogène de la pyriméthamine par un groupement hydroxyle (ajout global d'un atome d'oxygène) (Schéma C43). Ces deux isomères d'hydroxylation présentent des spectres d'absorption UV similaires à celui de la pyriméthamine (figure C36).



Schéma C43 : Structures possibles pour P4 et P5



Figure C36: Spectres d'absorption des composés P4 et P5

En ce qui concerne le composé **P3**, sa composition élémentaire $C_{12}H_{13}N_4^+$ est proche de celle obtenue pour **P2** $C_{12}H_{15}N_4^+$. Etant donnée la structure chimique de ce dernier, le départ de deux atomes d'hydrogène peut être le résultat d'un processus de cyclisation intramoléculaire conduisant à la formation d'une structure type carbazole (**schéma C44**)



Schéma C44 : Structure du produit P3

Au contraire des photoproduits **P1**, **P2**, **P4** et **P5**, l'analyse du spectre d'absorption UV de **P3** montre une réelle différence avec celui de la pyriméthamine. Il présente deux bandes d'absorption bien distinctes : une bande large avec un maximum à 315 nm et une bande étroite et intense avec un maximum à 268 nm (**figure C37**). Cette dernière est caractéristique d'une structure carbazole [132] et valide ainsi la structure chimique proposée pour **P3**.



Figure C37: Spectre d'absorption du produit P3

L'ensemble des produits formés sous irradiation de la pyriméthamine à 254 nm et en Suntest correspondent ainsi à des réactions de substitution de l'atome chlore par un groupement hydroxyle ou un atome d'hydrogène, à l'hydroxylation du noyau aromatique et une réaction de cyclisation conduisant à une structure type carbazole (**Schéma C45**)



Schéma C45 : Bilan des photoproduits formés lors de l'irradiation de PYR.

III.4 Etude par photolyse laser

Dans le but de détecter les espèces intermédiaires formées sous irradiation lumineuse de la pyriméthamine, nous avons entrepris une étude par photolyse laser nanoseconde sous excitation sélective à 266 nm ($4^{\text{ème}}$ harmonique d'un laser Nd :YAG). L'excitation laser d'une solution aqueuse de pyriméthamine à la concentration de 5,0x10⁻⁵ mol L⁻¹ et en solution désoxygénée conduit à l'observation d'un signal à 360 nm (**figure C38A**). Dans ces conditions, l'espèce formée disparaît selon un processus de premier ordre apparent. La durée de vie est estimée en milieu désoxygéné à environ 2,6 µs. Celle-ci diminue lorsque la concentration en oxygène dissous augmente. Elle est respectivement estimée à 900 et 300 ns en milieu aéré et suroxygéné. Le tracé de la constante de vitesse de disparition de premier ordre observée en fonction de la concentration d'oxygène permet la détermination de la constante de vitesse de second ordre de la réaction de l'oxygène moléculaire sur cette espèce (**figure C38B**). Elle est évaluée à environ 2,3 10⁹ L mol⁻¹ s⁻¹. Ce comportement est caractéristique d'un état excité triplet.



Figure C38 : Signal observé à 360 nm sous excitation laser à 266 nm d'une solution de PYR à la concentration de 5,0x10-5 mol L^{-1} . A) solution désoxygénée, B) évolution de la constante de vitesse de premier ordre en fonction de la concentration d'oxygène dissous.

La figure C39 présente l'évolution du spectre d'une solution de pyriméthamine (Δ Absorbance) en milieu désoxygéné pour des temps de 50, 250, 500 et 1000 ns après l'impulsion laser sur le domaine 300 nm – 750 nm. Elle montre l'apparition de deux bandes d'absorption bien distinctes. La première, bien intense, présente un maximum à 360 nm et correspond à l'état excité triplet. La seconde bande d'absorption, large, présente un maximum à environ 700 nm. Les deux bandes d'absorption disparaissent avec des vitesses différentes, ce qui implique la formation sous excitation de deux espèces bien distinctes. La seconde longueurs d'onde est vraisemblablement l'électron solvaté [131].



Figure C39 : Spectre de l'espèce transitoire observé après un flash laser à 266 nm, pour une solution de **PYR** à pH = 5,0, de concentration $5,0 \times 10^{-5}$ mol L^{-1} , dans des conditions désoxygénées. $E_{laser} = 20$ mJ.

Comme le montre la **figure C40B**, la constante de vitesse de disparition du signal à 700 nm augmente proportionnellement à la concentration en oxygène dissous. Cette réactivité avec l'oxygène moléculaire se produit avec une constante de vitesse proche d'un processus contrôlé par la diffusion. Elle a été évaluée à $9,2 \times 10^9$ L mol⁻¹ s⁻¹ et correspond à la capture de l'électron solvaté par l'oxygène permettant la formation du radical superoxyde [130]. Ce dernier présente un équilibre protolytique permettant la génération du radical hydroperoxyle de (pKa = 4,7) [130].



Figure C40: (A) Suivi cinétique de la variation d'absorbance à 700 nm pour une solution aqueuse de PYR (50 μ mol/L) après un flash laser à 266 nm. (B) Evolution de la constante de vitesse de disparition du signal à 700 nm en fonction de la concentration en oxygène dissous en solution.

En conclusion, l'excitation laser de la pyriméthamine conduit à la formation primaire de deux espèces transitoires : l'état excité triplet et l'électron solvaté. La seconde espèce est issue d'un processus de photoéjection d'électron, processus très rapide à partir de l'état excité singulet (**Schéma C46**).



Schéma C46 : Processus primaires observés suite à l'excitation de la pyriméthamine

III.5 Mécanismes de formation des photoproduits

III.5.1 Photoproduit P1

Le photoproduit **P1** est le photoproduit majoritaire dans toutes les conditions expérimentales d'irradiation et de pH. Le suivi cinétique de son apparition dans différentes conditions d'oxygénation a été effectué à pH = 5,0 et pH = 10,0 pour une irradiation à 254 nm. Comme le montre la **figure C41**, la vitesse initiale de formation du composé **P1** semble être indépendante de la concentration d'oxygène dans le milieu et ceci sous excitation aussi bien de la forme cationique que de la forme neutre de la pyriméthamine. Cependant, il convient de noter que **P1** s'accumule parfaitement en milieu basique alors qu'il semble être instable photochimiquement en milieu acide. Le produit **P1** subit donc une réaction de photodégradation qui dépend fortement de la concentration d'oxygène est importante plus la vitesse de le phototransformation est élevée empêchant ainsi son accumulation dans le milieu.



Figure C41 : Formation de *P1* dans une solution de PYR $(2,5 \times 10^{-4} \text{ mol } L^{-1})$ irradiée à 254 nm des conditions désoxygénées, aérées et saturées en oxygène à pH = 5,0 (A) et pH = 10,0 (B).

Le processus de formation du composé **P1** correspond vraisemblablement à une réaction de photohydrolyse permettant la substitution de l'atome de chlore par un groupement hydroxyle. Cette substitution a été largement observée pour des composés aromatiques hydroxylés [133],[134]. Etant donné que la vitesse de formation du composé **P1** est indépendante de la concentration d'oxygène, l'état excité singulet est donc l'état précurseur selon le mécanisme suivant (**Schéma C47**):



Schéma C47 : Mécanisme de formation du composé P1 à partir de la pyriméthamine

La présence des ions chlorure dans le milieu a été confirmée par des analyses par chromatographie ionique. Le suivi cinétique de l'apparition des ions chlorure a été effectué pour les premiers instants de la photodégradation de **PYR**. Le **tableau C10** présente les vitesses initiales de formation des ions chlorure, ainsi que les vitesses initiales de dégradation de **PYR** dans différentes conditions d'irradiation.

	Suntest		254 nm	
$v_0 (10^{-7} \text{ mol } L^{-1} \text{ min}^{-1})$	pH 10	pH 5	pH 10	рН 5
Dégradation de PYR	1,1	0,16	9,0	5,8
Formation de Cl ⁻	1,1	0,10	9,0	3,1

Tableau C10 : vitesse initiale de formation des ions chlorure sous irradiation à 254 nm et en Suntest de la forme neutre et protonée de la pyriméthamine en milieu aéré.

Nous pouvons clairement noter qu'en milieu alcalin, la vitesse initiale de formation des ions chlorure est égale à celle obtenue pour la dégradation de la **PYR**. Un tel résultat est parfaitement cohérent avec la formation sélective du photoproduit **P1**.

Par contre, en milieu légèrement acide, nous observons une différence entre les vitesses initiales. En effet, la voie permettant la formation des ions chlorure permet d'expliquer environ 60% de la disparition de la **PYR**.. En effet, **P1** et **P2** (les deux produits primaires non chlorés) représentent 63% de la transformation de **PYR** pour une irradiation à 254 nm et 53% dans le cas d'une irradiation en Suntest.

L'instabilité photochimique en milieu acide correspond fort probablement à une hydrolyse de la forme cationique du composé **P1**. Celle-ci semble être minoritaire en milieu alcalin.

III.5.2 Photoproduit P2

Le suivi cinétique de l'apparition du photoproduit **P2** a été réalisé pour une irradiation à 254 nm, à pH 5, en fonction de la concentration d'oxygène dissous et elle est représentée sur la **Figure C42**. Celle-ci montre que la vitesse initiale de sa formation ne semble pas être affectée de manière significative par l'oxygène moléculaire.



Figure C42 : Formation du composé P2 en fonction de la concentration d'oxygène

Dans toutes les conditions d'irradiation, **P2**, qui correspond à une substitution de l'atome de chlore par un atome d'hydrogène, demeure un produit minoritaire. Sa formation pourrait se produire dans un premier temps par la coupure homolytique sous irradiation de la liaison C-Cl suivie d'une réaction de réduction (schéma C48). Dans le milieu réactionnel, le réducteur pourrait être l'anion superoxyde ou un composé donneur d'hydrogène RH (photoproduit et/ou PYR).



Schéma C48 : Processus de formation du composé P2

III.5.3 Formation des produits P4 et P5

Les photoproduits P4 et P5 correspondent à des composés hydroxylés, au niveau du noyau aromatique de la PYR. Ils se forment de façon importante lors d'une irradiation à pH = 5 et sont présents à l'état de trace pour des irradiations en milieu alcalin. Ils constituent environ 50 % de la conversion de PYR. Le suivi de leur apparition dans différentes conditions d'oxygénation a été effectué à pH 5 pour une irradiation à 254 nm (Figure C43)



Figure C43: Suivi HPLC de la formation de **P4** et **P5** dans des conditions désoxygénée, aérée ou saturée en oxygène pour une solution de **PYR** (25 μ mol L⁻¹) à pH = 5,0 irradiée à 254 nm.

La vitesse de formation de **P4** et **P5** est fortement favorisée en présence d'oxygène. Le processus de formation n'implique pas ainsi l'état excité triplet. Il met en jeu l'état excité

singulet via le processus de photoéjection d'électron décrit précédemment. Ce dernier processus est favorisé en présence d'oxygène puisqu'il permet de piéger les électrons solvatés en évitant la recombinaison en cage de l'électron et du radical cation.

Le mécanisme de formation la formation de **P4** et **P5** intervient via la formation du radical cation au niveau du noyau aromatique de la **PYR**. Etant donné la forte accumulation de ces produits en milieu saturé en oxygène, le radical cation réagit vraisemblablement avec l'oxygène moléculaire permettant ainsi l'hydroxylation du noyau aromatique.(**Schéma C49**)



Schéma C49 : Mécanisme proposé pour la formation des photoproduits P4 et de P5

Ce mécanisme d'hydroxylation observé sur **PYR** peut également se produire avec les photoproduits issus de **PYR**, permettant ainsi la formation de nombreux photoproduits secondaires hydroxylés. Ainsi, pour des irradiations à pH 5, deux dérivés di-hydroxylés de la **PYR** ont également été détectés à l'état de trace, ainsi que deux dérivés hydroxylés de **P1**. Leurs formations n'ont pas été étudiées en détail car ce ne sont pas des photoproduits primaires, mais il est très probable que le mécanisme de leur formation soit similaire à celui des produits **P4** et **P5**.

III.5.4 Photoproduit P3

La structure cyclique de **P3** indique qu'il s'agit d'un produit secondaire issu de **P2**. De ce fait son mécanisme de formation n'a pas été étudié en détail. Il s'agit d'un processus de cyclisation similaire à celui largement étudié pour la diphénylamine [132] Le schéma représentant sa formation à partir de **P2** est donné ci-dessous (**schéma C50**) :



Schéma C50: Formation de P3 à partir de P2

III.6 Conclusion

La phototransformation de la sulfaquinoxaline sous excitation à 254 nm, 365 nm a pu être étudiée sur le plan cinétique mais également analytique.

D'un point de vue cinétique, un effet important du pH, de la longueur d'onde d'excitation et de la concentration d'oxygène dissous a pu être observée. Malgré des valeurs faibles du rendement quantique, plusieurs points expérimentaux peuvent être dégagés :

- le rendement quantique de disparition de la sulfaquinoxaline à 254 nm est environ 20 fois plus élevé que celui obtenu sous excitation à 365 nm.
- la phototransformation de la forme moléculaire de la sulfaquinoxaline montre une réactivité supérieure à celle de la forme anionique. Le rendement quantique est environ 10 fois plus important à pH = 4,0 qu'à pH = 10,0.
- en milieu acide, l'oxygène présente un fort effet inhibiteur mettant en évidence l'implication, en partie, d'un état excité triplet de **SQX**.La formation d'un tel état excité a pu être confirmée expérimentalement par photolyse et par un transfert triplettriplet en utilisant le β -carotène comme accepteur. Il présente un spectre d'absorption avec des maximums à 440 et 560 nm et il est fortement désactivé par l'oxygène moléculaire avec une constante de vitesse évaluée à 2,7x10⁹ mol⁻¹ L s⁻¹.

L'identification des photoproduits a pu être réalisée en utilisant la technique HPLC/MS et HPLC/MS/MS. En effet, l'étude détaillée des voies de fragmentations de la molécule initiale (SQX) mais également des photoproduits formés nous a permis d'établir et de confirmer les structures chimiques exactes. L'irradiation de la sulfaquinoxaline en solution aqueuse et en milieu acide conduit à différents types de processus photochimiques primaires issus à la fois de l'état excité singulet et de l'état excité triplet :

 une réaction de photohydrolyse à partir de l'état excité singulet conduisant à la rupture de la liaison N-SO₂ du pont et permettant la formation de l'aminoquinoxaline.

- une réaction de désulfonation suite à un réarrangement intramoléculaire à partir de l'état excité triplet permettant la formation.
- Un processus d'hydroxylation au niveau des deux groupements aromatiques de la sulfaquinoxaline. Celui-ci met en jeu un processus de photoéjection d'électron à partir de l'état excité singulet.
- des processus d'isomérisation issus d'une coupure homolytique, sous excitation, de la liaison N-SO₂ du pont suivie d'un réarrangement de type Photo Fries.

Lors de l'irradiation de SQX en milieu alcalin, seul un composé primaire de désulfonation a pu être observé. Le mécanisme de sa formation semble différent de celui observé en milieu acide puisqu'il implique l'état excité singulet.

L'évaluation de la toxicité de la solution irradiée a pu être réalisée en suivant la bioluminescence de la bactérie Vibrio Fischeri. Elle montre que les produits primaires, et en particulier le produit de désulfonation, présentent une toxicité plus élevée que celle du produit de départ.

Dans le cas de la pyriméthamine, la photoréactivité est nettement plus importante avec la forme neutre qu'avec la forme cationique avec un faible effet accélérateur de l'oxygène moléculaire dissous. Les principaux photoproduits primaires sont issus de réactions :

- de substitution de l'atome de chlore par un groupement hydroxyle ou par un atome d'hydrogène.
- d'hydroxylation du noyau aromatique

D. CHAPITRE D

Photodégradation d'antibiotiques à la surface de la kaolinite

CHAPITRE D

Photodégradation d'antibiotiques à la surface de la kaolinite

I. Introduction

La photodégradation de composés organiques à la surface de sols est de façon générale moins étudiée et moins bien comprise que celle en solution. Les molécules actives les plus étudiées sur les sols sont les pesticides puisque leur éventuelle photodégradation a un impact direct sur leur efficacité d'usage. Cependant, même pour cette classe de composés, les études sur les sols sont beaucoup moins nombreuses et les différents processus de photodégradation directe et/ou induite mis en jeu sur ce support particulier restent mal compris. Dans le cas des antibiotiques, les études de photodégradation directe à la surface de sol ou d'argile sont extrêmement rares voire inexistantes

Le présent travail concerne la photodégradation de deux antibiotiques à la surface de la kaolinite. Bien qu'un sol soit un milieu complexe qui n'est pas exclusivement composé d'argile, la kaolinite sera utilisée ici comme un modèle simplifié du sol, une étape indispensable vers la compréhension des processus mis en jeu dans les sols. Les antibiotiques utilisés dans le cadre de cette étude sont la sulfaquinoxaline (SQX) dont la photochimie en phase aqueuse a été décrite dans la partie précédente et le triclosan (TCL), dont la photochimie en phase aqueuse est bien connue et sera brièvement rappelée dans la suite de cette introduction.

I.1 Caractéristiques de l'argile utilisée

I.1.1 Composition de la kaolinite

Une maille élémentaire de kaolinite a pour composition $Al_2(OH)_4Si_2O_5$. Toutefois la présence d'impuretés dans les argiles a été largement reportée dans la littérature [135], [136]. La kaolinite, par exemple, peut présenter des traces d'éléments tels que le fer (sous forme de Fe^{3+} et Fe^{2+}) et le dioxyde de titane [136].

La composition élémentaire de la kaolinite distribuée par Fluka et utilisée pour les expériences suivantes a été mesurée par spectrométrie d'émission atomique ICP-AES (Inductive Coupled Plasma Atomic Emission) par M. Ménager [137] et des impuretés ont été

détectées en très faibles proportions (par exemple %Fe₂O₃ = 0,74 % en masse ; %TiO₂ = 0,05 % en masse), ce qui permet de supposer qu'ils seront peu impliqués dans la photochimie des composés organiques à la surface de cette argile.

I.1.2 Structure de la kaolinite

Les argiles sont organisées en feuillets, qui ont le plus souvent une maille de structure tétraédrique avec un cation au centre pouvant être un atome d'aluminium, de silicium ou de fer. La structure de la kaolinite est représentée sur la figure ci-dessous (**figure D1**) :



Figure D1 : Structure générale de la kaolinite

Cette structure a été confirmée pour la kaolinite Fluka utilisée dans nos expériences par diffraction aux rayons X. Les diffractogrammes ont été réalisés sur des poudres ou des films de poudres sédimentées sur lame de verre (Films préparés selon le protocole décrit dans la partie VI.1. du chapitre B) à l'aide d'un diffractomètre de poudre Siemens D501 équipé d'un tube de rayons X diffractometer avec une anticathode au Cu (K α , λ =0,15415 nm). Les diffractogrammes ont été enregistrés de 2° à 70° en 2 θ (pas angulaire de 0,04°, temps de comptage par pas de 8 s).

Le diagramme de poudre pour la kaolinite (**Figure D2**) est caractéristique d'une phase de pureté cristallographique élevée. La présence de magnétite (Fe_2O_3) en très faible quantité a été confirmée, grâce à ses raies caractéristiques à 17,8 et 30°. Celles-ci sont bien distinctes des raies de la kaolinite.



Figure D2 : Comparaison des diffractogrammes de la kaolinite en poudre (pointillé) et sédimentée (trait plein).

Les raies de diffraction caractéristiques de la structure sont clairement identifiées. En effet, l'exaltation des intensités des raies (0,0,1) par rapport aux réflexions (h,k,l) traduit une forte orientation préférentielle des plans (0,0,1) par rapport au substrat comme schématisé cidessous (schéma D1):



Schéma D1 : Disposition des feuillets de kaolinite après sédimentation

Afin d'évaluer la possibilité d'une intercalation d'eau ou de composés organiques dans la kaolinite, des diffractogrammes de lames de kaolinite préparée avec de l'eau ont été réalisés, ainsi que des diffractogrammes de lames préparées avec des solutions de triclosan (ou de sulfaquinoxaline) dans le méthanol. Les concentrations utilisées étaient de 1, 5 et 10 µmol par gramme d'argile. Aucune différence notable n'a pu être observée entre les diffractogrammes obtenus et le diffractogramme d'une lame de kaolinite préparée avec du méthanol anhydre. Ceci suggère que ni l'eau, ni les composés utilisés (TCL ou SQX) ne peuvent s'intercaler entre les feuillets de la kaolinite. Ceci est cohérent avec le fait que le spectre infra-rouge de la kaolinite Fluka [137] ne contient aucun pic caractéristique de l'eau.

I.1.3 Morphologie de la kaolinite

La morphologie de la kaolinite Fluka a été observée par M. Ménager [137] à l'aide d'un Microscope Electronique à Balayage (MEB). Les images ci-dessous (**Figure D3**) montrent que la kaolinite est très cristallisée : elle est constituée d'un assemblage de plaquettes individuelles agrégées suivant une morphologie de type « château de cartes » avec une forte tendance à s'associer entre faces parallèles. Les cristallites présentent en majorité une forme hexagonale ou pseudo-hexagonale avec des tailles comprises entre 500 nm et 2 μ m.



Figure D3: Image en microscopie électronique à balayage de la kaolinite.

Ces images sont parfaitement cohérentes avec les autres données morphologiques de la kaolinite obtenues par M. Ménager : un grand diamètre moyen de particules (770 nm), un faible volume poreux (0,05 cm³ g⁻¹) et une petite surface spécifique (Surface BET : $14,5 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$).

En conclusion, nous pouvons dire que :

- La kaolinite possède un volume poreux faible avec des particules de taille élevée qui

ont la forme de plaquettes bien cristallisées.

- La préparation de la kaolinite sédimentée entraîne une orientation des cristaux parallèles au plan de sédimentation.

- Ni l'eau, ni les molécules organiques étudiées ne peuvent s'intercaler entre les feuillets de la kaolinite. Leur adsorption se fera donc à la surface des plaquettes de la kaolinite.

- La kaolinite Fluka utilisée contient peu d'impuretés métalliques.

I.2 La sulfaquinoxaline dans les sols

Le suivi de la présence de sulfonamides dans les sols est difficile pour deux raisons essentielles :

- les sulfonamides sont connues pour être très mobiles dans les sols et avoir une forte tendance à être transportées vers les eaux de surface ou les eaux profondes. Leurs concentrations dans les sols sont donc généralement assez faibles [96], [138].
- le rendement d'extraction des sulfonamides d'un sol diminue fortement quelques semaines après l'ajout de composés organiques au sol. Ceci peut être dû à des processus divers tels que la diffusion dans les micropores des sols ou la formation de liaisons covalentes [139].

A notre connaissance, il n'existe pas d'études rapportant la présence de sulfaquinoxaline dans un sol naturel qui n'a pas été fraichement inoculé. Toutefois, les méthodes d'extraction actuelles ne permettant pas de garantir une récupération efficace de cette molécule dans un sol vieilli et on ne peut donc pas en conclure que sa présence et/ou que son impact environnement est négligeable.

D'autres sulfonamides, plus étudiées et plus abondantes, ont pu être détectées à des concentrations allant jusqu'à 0,40 mg kg⁻¹ dans des sols agricoles amendés avec du fumier [138], [140].

I.3 Le triclosan

I.3.1 Généralités, usage et présence dans l'environnement

Le triclosan (TCL) est un composé antibactérien utilisé dans de nombreux produits cosmétiques comme les dentifrices, les savons, les déodorants et les crèmes à une concentration allant de 0,1 à 0,3 % en masse mais aussi dans les détergents et même les vêtements [141]. En 2002, la production annuelle du triclosan a été évaluée à environ 350 tonnes [142]. Il est actif à la fois contre les bactéries Gram positif et négatif. Son mécanisme d'action est l'inhibition de la biosynthèse des lipides chez ces bactéries [143].

La principale voie d'entrée du triclosan dans l'environnement est le rejet des produits cosmétiques et des détergents dans les eaux usées lors de leur utilisation normale. Les concentrations observées du triclosan dans les boues de stations d'épuration sont de l'ordre de 10 μ g g⁻¹ aux USA [144]. En Allemagne, une étude a mesuré une concentration moyenne de 1,2 μ g L⁻¹ dans les eaux d'entrée de 20 stations d'épuration. Dans cette étude, il a été évalué que 30% du triclosan était adsorbé dans les boues de station et que 60% était dégradé, ce qui amenait à un taux de disparition de 90% du triclosan aqueux dans les stations d'épuration [143].

Même si le triclosan est stable chimiquement dans l'eau, sa photodégradation et sa biodédégradation sont efficaces en phase aqueuse. En effet, son temps de demi-vie a été estimé à moins d'une heure sous la lumière solaire naturelle [146]–[148]. Son temps de demi-vie en conditions naturelles a été mesuré dans la rivière Mac Brook (UK) aux alentours d'une sortie de station d'épuration et a été estimé à 2,7 heures, ce qui signifie qu'il n'est pas persistant dans la phase aqueuse de l'environnement [147].

C'est un composé non volatile (VP = $4 \ 10^{-6} \ \text{mmHg} \ a \ 20^{\circ}\text{C}$), peu soluble dans l'eau (10 mg L⁻¹ à 20°C) et lipophile (log K_{ow} = 4,8) [147]. Il est candidat à la bioaccumulation chez les espèces aquatiques. Il a d'ailleurs été détecté dans l'organisme de plusieurs espèces de poissons sauvages vivant dans des eaux suédoises [149].

I.3.2 Photodégradation du triclosan en phase aqueuse

La photodegradation du triclosan en phase aqueuse a été le sujet de plusieurs études au cours des dix dernières années [150]–[154]. Dans ce paragraphe, un résumé des résultats de la littérature est présenté. L'objectif est de décrire la réactivité du triclosan en phase aqueuse afin de pouvoir la comparer avec sa réactivité à la surface de la kaolinite.

Le triclosan est un acide de pK_a 7,9 [150] et son spectre d'absorption UV-visible dépend fortement du pH (**Figure D4**). A pH acide et neutre, il est sous forme moléculaire et son spectre d'absorption présente une bande avec un maximum à 280 nm ($\varepsilon_{280} = 4200 \text{ mol}^{-1} \text{ L} \text{ cm}^{-1}$). En milieu basique, le triclosan est sous forme anionique et présente une bande d'absorption à 291 nm ($\varepsilon_{291} = 8300 \text{ mol}^{-1} \text{ L cm}^{-1}$). Les spectres des formes moléculaire et anionique sont présentés dans la **figure D4** ci-dessous et sont comparés avec le spectre d'émission du soleil.



Figure D4: Spectre d'absorption d'une solution aqueuse de triclosan à pH = 5,5 et 11,8, comparée au spectre d'émission du soleil [150].

Nous pouvons ainsi clairement voir que le spectre d'absorption de la forme moléculaire du TCL présente un très faible recouvrement avec celui de l'émission solaire, alors que le recouvrement est beaucoup plus important dans le cas de la forme anionique. De plus, le rendement quantique de photodégradation de TCL en solution aqueuse aérée a été évalué à 0,30 pour la forme moléculaire et à 0,70 pour la forme anionique, pour des irradiations monochromatiques à 254 et 300 nm. Les deux formes du TCL sont donc dégradées sous exposition à la lumière solaire et la forme anionique semble plus photoréactive que la forme moléculaire.

Une étude mécanistique détaillée de Wong-Wah-Chung *et al.* [150] a permis de mettre en évidence quatre voies primaires dans le processus de photodégradation du triclosan :
- La rupture homolytique d'une liaison C-O du pont éther de la molécule conduisant à la formation de radicaux phénoxy, pouvant ensuite se recombiner pour former divers photoproduits :



- En milieu basique, l'état triplet du TCL subit une cyclisation directe permettant la formation d'une dioxine (**schéma D1**).



Schéma D1 : Cyclisation du triclosan en milieu basique

- Une réaction de photohydrolyse permettant la substitution d'un chlore par un groupe hydroxyle (**schéma D2**).



Schéma D2 : Photohydrolyse du triclosan

- Une hydroxylation de l'un ou l'autre des cycles aromatiques peut se produire en présence d'oxygène, par un mécanisme dont l'étape primaire est une photoéjection d'électron conduisant à la formation d'un radical cation (**schéma D3**).



De plus, pour des temps d'irradiation prolongés, la formation d'oligomères de TCL a été clairement mise en évidence. Cette formation est le résultat de réactions entre les différents intermédiaires radicalaires intervenant dans les réactions décrites plus haut.

I.4 Les différences attendues entre la photodégradation sur kaolinite et dans l'eau

On peut s'attendre à plusieurs différences entre la photodégradation d'un substrat organique à la surface de la kaolinite et sa photodégradation dans l'eau :

- L'adsorption d'une molécule organique sur une argile peut modifier de manière très significative son spectre d'absorption UV. Une augmentation du domaine de recouvrement entre le spectre d'absorption du composé et le spectre d'émission solaire est généralement observée. Celle-ci favorisera alors l'éventuelle photodégradation directe sous exposition naturelle.
- Plusieurs études montrent que les rendements quantiques de photodégradation de molécules organiques ainsi que les photoproduits observés sont très différents à la surface de l'argile et dans l'eau. Le mécanisme de photodégradation est donc différent à la surface d'une argile et dans l'eau. [69], [155]–[157].
- Une production de peroxyde d'hydrogène et de radicaux hydroxyles a été également été observée au cours de l'irradiation de la kaolinite [86]. Celle-ci est issue d'un processus de transfert d'électron impliquant l'oxygène moléculaire et l'argile sous excitation.
- Une autre voie réactionnelle possible expliquant la formation des radicaux hydroxyles est la rupture homolytique des liaisons Si-O-Si présentes dans l'argile [158]. Néanmoins, cette hypothèse n'a pas été validée.

II. Photodégradation de la sulfaquinoxaline (SQX) à la surface de la kaolinite

II.1 Adsorption de SQX sur la kaolinite

II.1.1 Propriétés spectroscopiques de SQX

Afin d'obtenir le spectre d'absorption de **SQX** dans la kaolinite, les spectres de reflectance (%R) de plusieurs films de kaolinite de 200 μ m contenant différentes concentrations de **SQX** ont été réalisées (**Figure D5A**). A cette épaisseur la transmission de la lumière est nulle et la réflexion est dite "infinie", notée R_∞, pour chaque longueur d'onde. Le tracé de la fonction de Kubelka-Munk, f(R_∞), en fonction de la concentration de SQX donne une relation affine (**Figure D5B**).



Figure D5 : (A) Spectres de réflectance de plaques de kaolinite contenant différentes concentration de SQX. (B) Tracé de la fonction de Kubelka-Munk $f(R_{\infty})$ en fonction de la concentration en SQX à la longueur d'onde de 370 nm

Selon le modèle de Kubelka-Munk, l'équation de cette relation affine est :

$$f(R_{\infty}) = \frac{k}{s} + \frac{2ln10 \times \varepsilon_{SQX}(\lambda) \times \rho}{s} \times C_{SXQ}$$

Avec *k* et *s* les coefficients d'absorption et de diffusion de la kaolinite en cm⁻¹, ρ la masse volumique de la kaolinite (1,8 g cm⁻³), $\varepsilon_{SQX}(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire de **SQX** dans la kaolinite en mol cm⁻² et C_{SQX} la concentration massique de **SQX** en mol g⁻¹. Les valeurs de *s* pour la kaolinite à différentes longueurs d'ondes ont été déterminées par Ciani *et al.* [81], [84], [89]. En traçant f(R_{∞}) en fonction de la concentration pour une longueur d'onde λ donnée et en déterminant la pente de la droite obtenue, il est donc possible d'obtenir la valeur de $\varepsilon_{SQX}(\lambda)$ avec l'équation :

$$\varepsilon_i(\lambda) = pente \times \frac{s}{2ln10 \times \rho}$$

L'utilisation de cette méthode et par soustraction du spectre, le spectre d'absorption UVvisible de **SQX** dans la kaolinite a été déterminé, et est représenté sur la **figure D6**:



Figure D6: Spectres d'absorption UV-visible de SQX dans la kaolinite et dans l'eau (pH = 4,0)

La comparaison avec le spectre d'absorption enregistré en solution aqueuse montre un effet hyperchrome très significatif sur l'ensemble du spectre d'absorption, en particulier pour la bande d'absorption à 340 nm, pour laquelle l'absorption est multipliée par un facteur 4,6. De plus, la bande d'absorption à 340 nm s'étend jusqu'à 500 nm pour SQX dans la kaolinite, au lieu de 420 nm pour SQX dans l'eau. C'est un effet bathochrome qui permet un recouvrement beaucoup plus important avec le spectre d'émission solaire, favorisant ainsi la dégradation de SQX sous excitation directe. Les différentes modifications observées sont vraisemblablement dues aux différentes interactions (chimisorption et/ou physisorption) entre la phase argile et le composé organique.

II.1.2 Etude de l'extraction de SQX de la kaolinite

Dans un premier temps et avant toute étude photochimique, nous avons voulu connaitre l'efficacité de l'extraction de SQX déposé sur l'argile. Celle-ci représente une étape indispensable pour le suivi cinétique de la photodégradation. L'extraction de SQX déposée sur la kaolinite par le méthanol a permis d'obtenir des rendements d'extraction compris entre 70 et 75% dans le domaine de concentrations 0,1 μ mol g⁻¹ – 2,0 μ mol g⁻¹ (**Figure D7**).



Figure D7 : Evolution du rendement d'extraction de SQX pour des lames de kaolinite de différentes concentrations en SQX.

La faible variation du rendement d'extraction avec la concentration valide le fait que le protocole choisi pourra être utilisé pour l'étude cinétique de la disparition de **SQX**. La valeur élevée de ce rendement permet de faire l'hypothèse raisonnable que les photoproduits, dont la structure est proche de **SQX**, seront également extraits de manière efficace et pourront, de ce fait, être étudiés.

II.2 Etude cinétique de la disparition de SQX

L'étude de la cinétique de disparition de la sulfaquinoxaline (**SQX**) à la surface de la kaolinite a été entreprise sous irradiation en enceinte Suntest ($I_o = 765 \text{ W m}^{-2}$, à la température de 15°C). L'influence de plusieurs paramètres (épaisseur du film d'argile, concentration du substrat, taux d'humidité) a été étudiée. A l'abri de la lumière et dans nos conditions expérimentales, **SQX** est stable.

L'irradiation d'un film de kaolinite d'épaisseur 50 μ m contenant **SQX** à la concentration de 60 μ g g⁻¹ (soit 0,20 μ mol g⁻¹) dans un réacteur Suntest conduit à la disparition efficace de **SQX** (**figure D8A**). Dans nos conditions expérimentales, la conversion de **SQX**, observée dès les premiers instants d'irradiation, représente environ 50% après une heure d'irradiation. La cinétique de dégradation suit une loi de premier ordre apparent (**figure D8B**) et la constante de vitesse observée est évaluée à environ 1,6 10⁻² min⁻¹.



Figure D8 : Cinétique de disparition de SQX dans la kaolinite. Irradiation Suntest (765 W m⁻, 15°C), épaisseur de la lame = 50µm, $C_0 = 60 \ \mu g \ g^{-1}$ (0,02 µmol g_{-1}). (A) $C/C_o = f(t)$; (B) $ln(C/C^o) = f(t)$.

II.2.1 Effet de la concentration en SQX

L'effet de la concentration initiale C₀ de **SQX** déposé sur la kaolinite sur la vitesse de disparition a été étudié sur une gamme de concentration allant de 0,02 à 2 μ mol g⁻¹ (**Figure D9A**). L'étude montre clairement que pour des concentrations allant de 0,02 à 0,1 μ mol g⁻¹, la constante de vitesse de la disparition de SQX ne dépend pas de la concentration initiale. Elle est constante dans ce domaine et évaluée à 4,3 10⁻² min⁻¹. Au-delà de 0,1 μ mol g⁻¹, cette valeur diminue rapidement pour atteindre la valeur de 2,1 10⁻³ min⁻¹ pour une concentration de 0,5 μ mol g⁻¹, soit une diminution d'un facteur 20 (**Figure D9B**). Ceci est principalement attribué à une absorption de la lumière par **SQX** sur les premiers micromètres de la kaolinite, diminuant la pénétration de la lumière dans le milieu (effet d'écran).



Figure D9 : Cinétique de disparition de SQX dans la kaolinite. Irradiation Suntest (765 W m⁻², 15°C), épaisseur de la lame = 50µm, $C_0 = 60 \ \mu g \ g^{-1}$ (0,02 µmol g^{-1}). (A) $C/C_o = f(t)$; (B) $ln(C/C_o) = f(t)$.

Afin de s'affranchir de cet effet d'écran et pour pouvoir déterminer le rendement quantique de photodégradation de SQX à la surface de la kaolinite, les expériences qui suivront seront réalisées avec une concentration en SQX ne dépassant pas 0,1 μ mol g⁻¹ (soit 30 μ g g⁻¹).

II.2.2 Effet de l'épaisseur de l'argile et évaluation du rendement quantique de disparition

L'épaisseur du film d'argile utilisée représente un paramètre essentiel dans l'évaluation de la vitesse de dégradation d'un composé organique. Cet effet a été étudié dans le domaine $20 - 125 \mu m$ pour une concentration de **SQX** de 0,1 μ mol g⁻¹ et une température constante et égale à 15°C. (**Figure D10**). Dans le domaine étudié, toutes les cinétiques suivent une loi du premier ordre apparent. La constante de vitesse observée diminue lorsque l'épaisseur augmente, en parfait accord avec une pénétration limitée du faisceau lumineux et une diffusion moins importante du composé organique de la zone interne vers la zone irradié [89], [91].



Figure D10: Evolution de la constante de vitesse k_p de disparition de SQX en fonction de l'épaisseur Z_{tot} de la lame de kaolinite. Irradiation Suntest (765 W m⁻², 15°C), $C_0 = 0,1 \ \mu mol \ g^{-1}$.

Dans une première approximation et lorsque la pénétration de la lumière est le seul paramètre qui induit la diminution de la vitesse observée, l'expression suivante peut être appliquée [90] :

$$k_p \times Z_{tot} = k_p^0 \times 1,443 \times Z_{0,5}$$

Avec k_p (min⁻¹) la constante de photodégradation moyenne sur l'épaisseur Z_{tot} (µm),

 k_p^0 (min⁻¹) la constante de photolyse à la surface du support, $Z_{0,5}(\mu m)$ l'épaisseur où 50% de l'énergie lumineuse est atténuée par le substrat [84]. Si on peut vérifier expérimentalement que la valeur de $k_p \ge Z_{tot}$ ne dépend pas de Z_{tot} , alors l'équation ci-dessus s'applique et permet de déterminer la valeur importante k_p^0 .

La **figure D11** représente l'évolution de la valeur de $k_p \ge Z_{tot}$ en fonction de Z_{tot} . Elle montre que sur le premier domaine (0 -75 µm environ), le produit $k_p \ge Z_{tot}$ est parfaitement constant. Cette dernière est évaluée à environ 2,60 µm min⁻¹. L'obtention de cette constante sur ce domaine d'épaisseur signifie que la diffusion de **SQX** vers la zone irradiée est très rapide par rapport à l'irradiation et que la pénétration de la lumière contrôle le processus de photodégradation. Par contre pour des épaisseurs supérieures à 75 µm, la diffusion de **SQX** intervient dans la cinétique de photodégradation et ainsi la valeur du produit $k_p \ge Z_{tot}$ diminue quand Z_{tot} augmente.



Figure D11 : Tracé de $k_p \ x \ Z_{tot}$ en fonction de Z_{tot} pour la disparition de SQX. Irradiation Suntest (765 W m⁻², 15°C), $C_0 = 0,1 \ \mu mol \ g^{-1}$.

La valeur obtenue dans la zone où $k_p \times Z_{tot}$ est constant (2,60 µm min⁻¹) permet, connaissant la valeur $Z_{0,5}$, d'estimer la constante de vitesse à la surface de l'argile, $k_p^{0} =$ 4,84×10⁻³ min⁻¹. Cette valeur permet ensuite de calculer le rendement quantique de formation Φ de SQX, à l'aide de la relation suivante:

$$\phi = \frac{k_p^0}{2,303 \times \int_{290}^{600} I_0(\lambda) \times \varepsilon(\lambda) d\lambda}$$

Avec $I_0(\lambda)$ le flux photonique incident en photons cm⁻² s⁻¹ et $\varepsilon(\lambda)$ le coefficient d'absorption molaire de SQX à la longueur d'onde λ en mol cm⁻².

En utilisant cette expression, le rendement quantique de disparition de SQX dans la kaolinite a été évalué à $3,5 \ 10^{-3}$. A titre de comparaison, le rendement quantique de **SQX** dans l'eau pour une irradiation à 365 nm était de $2,0 \ 10^{-4}$ en milieu aéré et de $1,5 \ 10^{-3}$ en solution désoxygénée. Ce résultat obtenu sur la kaolinite souligne un processus de transformation accentué pour **SQX** à la surface de ce support solide. Par comparaison avec les résultats en solution aqueuse, la durée de vie de la sulfaquinoxaline déposée sur l'argile est donc plus faible sous exposition naturelle.

II.3 Formation de photoproduits

Un seul photoproduit a donné une réponse significative à la fois avec le détecteur DAD et en spectrométrie de masse (**figure D12**). Ce produit avait déjà été détecté lors de l'étude de la photodégradation de SQX en phase aqueuse et avait été nommé **P2**.



Figure D12 : Chromatogramme HPLC/MS obtenu après extraction d'un film kaolinite/SQX avec du methanol. Irradiation Suntest (765 W m⁻², 15°C), $C_0 = 0,1 \ \mu \text{mol g}^{-1}$ épaisseur d'environ 70 μ m

Le mécanisme de formation de **P2** est probablement similaire à celui proposé en phase aqueuse, c'est-à-dire la formation de l'état excité triplet ³SQX, suivi d'une réaction intramoléculaire éliminant SO₂ (**schéma D4**).



Schéma D4 : Mécanisme de formation du produit P2

II.4 Conclusion

Nous avons montré, sur le plan cinétique, que la réactivité photochimique de la SQX est différente à la surface de la kaolinite et en phase aqueuse, les principaux points de différence étant :

- L'adsorption de SQX sur la kaolinite a un effet hyperchrome et bathochrome, qui permet d'accentuer le recouvrement entre le spectre d'absorption de SQX et le spectre d'émission solaire. Cet aspect favorise la photodégradation sous exposition naturelle.
- Le rendement quantique de photodégradation de SQX est beaucoup plus important à la surface de l'argile. En particulier, il est deux fois plus grand que dans le cas d'une solution aqueuse désoxygénée. La molécule de SQX est donc beaucoup plus photodégradable à la surface de l'argile que dans l'eau.
- Un photoproduit unique est formé de façon majoritaire. Il correspond au produit
 P2 issu de la désulfonation de SQX, qui se forme également en phase aqueuse et dont la voie réactionnelle fait intervenir l'état triplet ³SQX.

Nous pouvons ainsi en déduire que la photodégradation de **SQX** par la lumière solaire est favorisée par son adsorption à la surface de l'argile. En particulier les résultats obtenus suggèrent que la principale voie réactionnelle à la surface de l'argile est la formation de l'état triplet ³SQX suivie d'une réaction de désulfonation. Ce processus, qui est également présent en phase aqueuse, est fortement favorisé sur la kaolinite.

III. Photodégradation du triclosan à la surface de la kaolinite

III.1 Adsorption de TCL sur la kaolinite

III.1.1 Propriétés spectroscopiques de TCL

De même que pour la sulfaquinoxaline, le spectre d'absorption du triclosan à la surface de la kaolinite a été déterminé à partir des spectres de réflectance (%R) de films de kaolinite, de 200 µm d'épaisseur, contenant différentes concentrations de TCL (**Figure D13**). Nous pouvons remarquer que sur le domaine 220 - 293 nm, on observe un effet hypochrome de la kaolinite, le coefficient d'absorption dans la kaolinite étant environ deux fois moins important dans la kaolinite que dans l'eau. Par contre, au-delà de 293 nm, le spectre d'absorption de TCL est quasiment inchangé dans l'eau et dans la kaolinite. L'émission solaire ne commençant qu'à 295 nm, on peut en déduire que l'adsorption sur la kaolinite n'a aucun effet sur l'absorption par TCL. Toutefois les modifications du spectre d'absorption UV-visible de TCL observées de 220 à 293 nm indiquent la présence d'interactions entre TCL et la surface de la kaolinite, ce qui pourrait éventuellement modifier la réactivité photochimique.



Figure D13: Spectres d'absorption UV-visible de TCL dans la kaolinite et dans l'eau (pH = 5, 5)

III.1.2 Etude de l'extraction de TCL de la kaolinite

L'extraction du triclosan déposée sur la kaolinite par le méthanol a permis d'obtenir des rendements d'extraction compris entre 70 et 75% dans le domaine de concentrations 0,1 μ mol g⁻¹ – 5,0 μ mol g⁻¹ (**Figure D14**). La valeur élevée et la faible variation du rendement d'extraction avec la concentration valident le fait que le protocole choisi pourra être utilisé pour le suivi cinétique de la disparition de TCL et de la formation de ses photoproduits.



Figure D14 : Evolution du rendement d'extraction de TCL pour des lames de kaolinite de différentes concentrations en TLC.

III.2 Etude cinétique de la disparition de triclosan

III.2.1 Effet de la concentration en triclosan

L'effet de la concentration initiale C_0 de TCL sur la cinétique de sa disparition a été étudié sur le domaine $0,05 - 5 \ \mu mol g^{-1}$. Le tracé de la constante de vitesse de premier ordre apparent k_p en fonction de la concentration initiale de TCL est représenté sur la **figure D15**.



Figure D15 : Constante cinétique de disparition de TCL dans la kaolinite. Irradiation Suntest (765 W m⁻², 15°C), épaisseur de la lame = 50µm.

Pour des concentrations allant de $2,0 \times 10^{-2}$ à 1 µmol g⁻¹, la constante de vitesse de la disparition de TCL ne dépend pas de sa concentration et vaut en moyenne $3,2 \ 10^{-3} \ \text{min}^{-1}$. Pour des concentrations supérieures à 1 µmol g⁻¹, cette valeur diminue rapidement pour atteindre la valeur de $2,0 \ 10^{-3} \ \text{min}^{-1}$ pour une concentration de 5 µmol g⁻¹, soit une diminution d'un facteur 16. De la même manière que pour **SQX**, ceci est principalement attribué à un effet d'écran dû à l'absorption de la lumière par **TCL**, diminuant la pénétration de la lumière dans le milieu. Afin de s'affranchir de cet effet d'écran pour pouvoir évaluer le rendement quantique de photodégradation de TCL à la surface de la kaolinite, les expériences qui suivront seront réalisées avec une concentration en TCL de 1,0 µmol g⁻¹ (soit 290 µg g⁻¹).

III.2.2 Effet de l'épaisseur de l'argile et évaluation du rendement quantique de disparition

L'effet de l'épaisseur du film de kaolinite a été étudié dans le domaine $20 - 100 \ \mu m$ pour une concentration de TCL de 0,1 $\mu mol g^{-1}$ et une température constante et égale à 15°C. Ainsi les constantes cinétiques du premier ordre k_p ont été déterminées à différentes épaisseur Z_{tot} (**Figure D16A**) et le tracé de k_p x Z_{tot} en fonction de Z_{tot} a été réalisé (**Figure D16B**).



Figure D16 : (A) Tracé de k_p en fonction de Z_{tot} ; (B) Tracé de $k_p x Z_{tot}$ en fonction de Z_{tot} . Irradiation Suntest (765 W m⁻², 15°C) de plaques de kaolinite contenant TCL à la concentration $C_0 = 1,0 \ \mu mol \ g^{-1}$ (290 $\mu g \ g^{-1}$).

De la même manière que pour SQX, le tracé de $k_p \ge Z_{tot}$ en fonction de Z_{tot} a deux domaines distincts : Jusqu'à environ 65 µm d'épaisseur le produit $k_p \ge Z_{tot}$ est constant avec une valeur voisine de 1,6×10⁻¹ µm cm⁻¹. Ce qui signifie que la pénétration de la lumière contrôle le processus de photodégradation de TCL et que la vitesse de diffusion (permettant une certaine mobilité des molécules de la partie interne vers la partie exposée à la lumière) est plus importante que la vitesse de photolyse. A partir d'une épaisseur de 65 µm, le produit $k_p \ge Z_{tot}$ n'est plus constant.

A partir la valeur obtenue dans le premier domaine, la constante de vitesse à la surface de l'argile k_p^{0} et le rendement quantique Φ de disparition de TCL ont été respectivement évalués à 2,9×10⁻⁴ min⁻¹ et 0,90. A titre de comparaison, le rendement quantique de TCL en solution aqueuse pour une irradiation à 254 est de 0,30 en milieu aéré [150]. La photodégradation est donc trois fois plus efficace à la surface de la kaolinite qu'en solution.

III.3 Photoproduits formés

Les différents photoproduits observés ont été identifiés par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie (LC/ESI-Q-TOF). Les modes d'ionisation positif et négatif ont été utilisés, mais seul le mode négatif a permis la détection de signaux intenses. 7 photoproduits ont donné une réponse significative à la fois avec le détecteur DAD et le spectromètre de masse. Les produits ont été numérotés par ordre croissant de temps de rétention dans les chromatogrammes HPLC (**Figure D17**) :



Figure D17 : Chromatogrammes HPLC-DAD à 254 nm. Extrait d'une plaque d'une plaque de kaolinite contenant du triclosan ($C_0 = 1,0 \ \mu mol \ g^{-1}$) irradiée au SUNTEST pendant une durée de 180 min.

Photoproduit	Temps de rétention (min)	Masse mesurée (<i>m</i> / <i>z</i>)	Composition élémentaire	Erreur (ppm)
[P1-H] ⁻	10,0	142,9898	$C_6H_4O_2Cl^-$	-1,4
[P2-H] ⁻	10,2	160,9558	$C_6H_3OCl_2^-$	-1,9
[P3-H] ⁻	16,1	250,9665	$C_{12}H_5O_2Cl_2^-$	-0,8
[TCL-H] ⁻	16,6	-	$C_{12}H_6O_2Cl_3^-$	-
[P4-H] ⁻ [P5-H] ⁻	18,9	538,9171	$C_{24}H_{12}O_4Cl_5^-$	-1,3
[P6-H] ⁻ [P7-H] ⁻	19,9	572,8778	$C_{24}H_{11}O_4Cl_6^-$	-1,3

III.3.1 Photoproduit P1

Le photoproduit **P1** présente un temps de rétention de 10,0 minutes et un ion [**P1**-H]⁻ détecté à m/z = 143. Sa composition élémentaire (C₆H₄O₂Cl⁻) OH correspond à celle d'un chlorobenzènediol. Ce motif étant présent HO



dans la molécule de TCL, cela suggère que **P1** est le résultat d'une rupture d'une liaison C-O du pont éther pour former le 4-chloro-1,2-benzènediol.

III.3.2 Photoproduit P2

Le photoproduit **P2** a un temps de rétention de 10,2 minutes et un ion $[P2-H]^-$ détecté à m/z = 161. Sa composition élémentaire (C₆H₃OCl₂⁻) correspond à celle d'un dichlorophénol. De la même façon que pour **P1**, ce motif étant présent dans la molécule de TCL, il suggère que **P2** est le résultat d'une rupture de l'autre liaison C-O du pont éther pour former le 2,4dichlorophénol. **P2**

III.3.3 Photoproduit P3

Le photoproduit P3 (m/z 251) a un temps de rétention de 16,1 minutes et un ion [P3-

H]⁻ de composition élémentaire $C_{12}H_5O_2Cl_2^-$. Son temps de rétention et sa composition élémentaire ont permis de l'identifier comme la 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxine qui avait été observée lors de l'irradiation de **TCL** en phase aqueuse.



III.3.4 Photoproduits P4 et P5

Les photoproduits P4 et P5 (m/z 539) forment un double pic avec un temps de rétention de 18,9 minutes, et leurs ions [M-H]⁻ ont la même composition élémentaire C₂₄H₁₂O₄Cl₅⁻. Cette composition correspond à celle d'un dimère de TCL monochargé (C₂₄H₁₃O₄Cl₆) auquel on aurait soustrait un atome de chlore et d'hydrogène. Ceci indique que P4 et P5 sont des dimères de TCL, dont les structures sont constituées de 2 motifs de TCL dont l'un a perdu un atome de chlore et l'autre a perdu un atome d'hydrogène afin de réaliser une liaison entre les deux motifs. Trois structures sont donc possibles pour P4 et P5, et sont présentées dans le schéma D5 ci-dessous.



Schéma D5 : Structures proposées pour les photoproduits P4 et P5

III.3.5 Photoproduit P6 et P7

Les photoproduit P6 et P7 (m/z 573) forment un pic large au temps de rétention de 19,7 minutes et leurs ion [M-H]⁻ ont la même composition élémentaire C₂₄H₁₁O₄Cl₆⁻. Cette composition correspond à celle d'un dimère de TCL (C₂₄H₁₂O₄Cl₆) avec élimination de deux atomes d'hydrogène due à la formation d'une liaison, de type C-C ou C-O entre deux motifs TCL. Plusieurs structures sont donc possibles pour P6 et P7. Quelques exemples de structures sont présentés dans le schéma D6 ci-dessous.



Schéma D6 : Exemples de structures pour les photoproduits P6 et P7

Le bilan des photoproduits obtenus sous irradiation au Suntest du triclosan déposé à la surface de l'argile est présenté sur le **schéma D7** suivant.



Schéma D7: Bilan des photoproduits détectés après irradiation de TCL sur lame de kaolinite.

III.4 Effet de la concentration en triclosan sur la formation des photoproduits

L'effet de la concentration initiale C_0 de TCL sur la cinétique de formation des photoproduits a été étudié pour une gamme de concentration allant de 0,1 à 5,0 µmol g⁻¹. Comme cela a été montré précédemment, la concentration C_0 a une influence importante sur la vitesse de photodégradation de TCL. Afin de pouvoir comparer plusieurs expériences sur un même graphe, nous avons choisi de traiter les résultats de la façon suivante :

- Pour un suivi cinétique à une concentration initiale C₀ donnée, l'aire HPLC du TCL, notée $A_{TCL}(t)$ et l'aire HPLC du produit P_i suivi, notée $A_{Pi}(t)$ sont mesurées après chaque temps d'irradiation.

- On trace ensuite l'évolution du rapport $\frac{A_{Pi}}{A_{TCL}(0)}$ en fonction du taux d'avancement de la photodégradation τ_{TCL}

En traçant l'apparition du produit en fonction du taux d'avancement τ_{TCL} au lieu du temps d'irradiation, il est possible de comparer sur un même graphe la formation d'un

photoproduit dans plusieurs expériences avec des vitesses de photodégradation de TCL différentes. En divisant l'aire A_{Pi} par l'aire $A_{TCL}(0)$, il est ainsi possible de comparer sur un même graphe des expériences de concentrations initiales C₀ différentes.

La **figure D18** ci-dessous représente le tracé de $\frac{A_{P2}}{A_{TCL}(0)} = f(\tau_{TCL})$ pour des concentrations allant de 0,1 à 5 µmol g⁻¹.



Figure D18: Evolution de P2 en fonction de la concentration initiale du triclosan.

La formation de **P2** est favorisée pour des faibles concentrations initiales C₀. En particulier, le produit **P2** n'a pas été détecté dans l'expérience avec $C_0 = 5 \mu mol g^{-1}$. Les pics HPLC de **P1** et **P2** étant confondus avec le pic de **P1** beaucoup moins intense que le pic de **P2** (d'un facteur 10 au moins), il n'a pas été possible de faire une mesure précise de l'aire du produit **P1** quelle que soit la longueur d'onde de détection. Toutefois, nous avons pu observer que le produit **P1** n'était pas détecté dans l'expérience avec $C_0 = 5 \mu mol g^{-1}$, et qu'il était détecté dans les autres expériences. Il semble suivre la même tendance que **P2**, c'est-à-dire une formation favorisée pour les faibles concentrations.

La **figure D19** ci-dessous représente le tracé de $\frac{A_{P3}}{A_{TCL}(0)} = f(\tau_{TCL})$ pour des concentrations initiales de TLC comprises entre 0,1 et 5 µmol g⁻¹.



Figure D19 : Evolution de P3 en fonction de la concentration initiale du triclosan

Aucune tendance nette ne semble se dégager lors de l'augmentation de la concentration initiale C_0 . La formation de **P3** n'est donc pas influencée par la concentration initiale du triclosan.

En ce qui concerne les produits **P4** et **P5**, les pics étant confondus, nous avons choisi de mesurer l'aire HPLC A_{P4+P5} des deux produits et de suivre l'évolution de $\rho_{P4+P5} = f(\rho_{TCL})$. De même, pour produits **P6** et **P7** où nous avons suivi l'évolution de $\rho_{P6+P7} = f(\rho_{TCL})$ pour des concentrations allant de 0,1 à 5 µmol g⁻¹. Ces évolutions sont présentées sur les **figures D20** ci-dessous :



Figure D20 : Evolution de A) *P4+P5* et B) *P6+P7* en fonction de la concentration initiale du triclosan

On voit que la formation des photoproduits P4, P5, P6 et P7 est fortement favorisée par une augmentation de la concentration initiale C_0 . Malgré le fait que cette mesure soit une moyenne des pics P4 et P5 (resp. P6 et P7), il est raisonnable d'affirmer que P4 et P5 (resp. P6 et P7) ont le même comportement vis à vis de la concentration initiale du triclosan. Ces produits sont des isomères qui sont très probablement issus de voies réactionnelles similaires.

III.5 Mécanismes de formation des photoproduits

Les photoproduits **P1** et **P2** peuvent provenir d'une rupture homolytique de l'une des liaisons C-O du pont éther de la molécule, suivie d'une réaction avec l'oxygène de l'air, tel que présenté sur le **schéma D8**.



Schéma D8 : Mécanisme de formation des produits P1 et P2

Les mêmes processus primaires de rupture homolytique ont été observés en phase aqueuse, mais ils n'ont pas conduit aux mêmes photoproduits [150]. La plus faible abondance du photoproduit **P1** par rapport à **P2** s'explique par le fait que **P1** a une fonction cathécol qui est très sensible à la photoxydation. Il est donc probablement consommé au fur et à mesure de sa formation. Le fait que leur formation soit favorisée par une faible concentration initiale C_0 est cohérent avec un processus monomoléculaire impliquant une rupture homolytique de la liaison C-O.

Le photoproduit **P3** est une dioxine issue de la cyclisation du **TCL**. Cette réaction a été observée en phase aqueuse en milieu basique, lorsque la forme ionique du **TCL** est majoritaire (**schéma D9**) [150], [151], [154]. Ce processus intramoléculaire est parfaitement cohérent avec le fait que la formation de **P3** est indépendante de la concentration initiale du triclosan.

$$c_{1} \xrightarrow{c_{1}} o \xrightarrow{c_{1}} c_{1} \xrightarrow{c_{1}} c_{2} \xrightarrow{c_{1}} c_{2} \xrightarrow{c_{1}} c_{2} \xrightarrow{c_{2}} c_{2} \xrightarrow{c_{1}} c_{2} \xrightarrow{c_{2}} c_{2} \xrightarrow{c_{1}} c_{2} \xrightarrow{c_{2}} c_{2} \xrightarrow{c_{1}} c_{2} \xrightarrow{c_{2}} c_{2} \xrightarrow{$$

Schéma D9: Photocyclisation de la forme anionique du triclosan

En phase aqueuse acide, lorsque que la forme moléculaire du TCL est majoritaire, la formation de la dioxine n'a pas été observée. Or, à la surface de la kaolinite, le TCL est majoritairement présent sous forme moléculaire. La formation de la dioxine observée sur la kaolinite peut alors s'expliquer de différentes façons :

- L'adsorption du TCL sur la kaolinite modifie l'état électronique du TCL ou d'un de ses états excités, ce qui favorise la réaction de cyclisation à partir de la forme moléculaire.
- La configuration spatiale de la molécule adsorbée sur la kaolinite favorise une réaction intramoléculaire.
- On peut également envisager une déprotonation partielle du TCL à la surface de la kaolinite, permettant la formation d'une petite quantité de forme anionique qui peut ensuite subir une cyclisation selon le même mécanisme qu'en solution aqueuse.

La formation des dimères P4, P5 correspond à une réaction dans laquelle une molécule de TCL est liée à une autre molécule, avec une perte globale d'un atome hydrogène et de chlore. Ce processus est similaire à la réaction de substitution intramoléculaire responsable de la formation de P3, qui se produit de façon intermoléculaire pour permettre la formation de P4 et P5 comme cela est présenté (schéma D10). La formation des produits P4 et P5 est fortement favorisée par une concentration élevée en TCL, ce qui est cohérent avec un processus intermoléculaire.



Schéma D10 : Mécanisme de formation des produits P4 et P5

La formation des dimères **P6** et **P7** correspond à une réaction dans laquelle une molécule de TCL est liée à une autre molécule, avec une perte globale de deux atomes d'hydrogène comme cela est décrit dans le **schéma D11**. Ceci peut s'expliquer par la formation d'un radical cation issu d'une photoéjection d'électron en présence d'oxygène, suivie d'une réaction entre le radical cation et une autre molécule de TCL, similaire aux réactions pouvant se produire lors de l'irradiation du phénol et du chlorophénol [159]–[161].



(ou d'autres isomères de position)

Schéma D11: Mécanisme de formation des produits P6 et P7

Le fait que la formation des photoproduits **P4**, **P5**, **P6** et **P7** soit favorisée avec des fortes concentrations en TCL est cohérent avec l'implication d'un processus bimoléculaire.

III.6 Effet des acides humiques (HA)

Afin de se rapprocher de la situation réelle, nous avons étudié l'effet des acides humiques sur la photodégradation de TCL. Les acides humiques ont été ajoutés dans l'échantillon à des pourcentages massiques variant de 0,1 à 2%. La vitesse de photodégradation de TCL à la surface de l'argile a été étudiée pour des films de kaolinite de 30 µm d'épaisseur. La **figure D21** représente le tracé de la fonction $ln\left(\frac{[SQX]}{[SQX]_0}\right)$ en fonction du temps pour différentes proportions d'acides humiques.



Figure D21 : Evolution de la fonction $ln\left(\frac{[SQX]}{[SQX]_0}\right)$ en fonction du temps d'irradiation et à différentes concentrations initiales d'acides humiques. Film d'épaisseur 30 µm , irradiation au Suntest.

Elle montre clairement que la constante de vitesse de pseudo premier ordre de photodégradation du TCL diminue lorsque la proportion d'acides humiques augmente. cet aspect est principalement dû à l'absorption de la lumière par les acides humiques. En effet, l'absorption importante des acides humiques dans le domaine d'irradiation provoque un effet d'écran qui diminue la lumière accessible pour la photodégradation du TCL. Aucune corrélation entre la formation des photoproduits et la présence d'acides humiques n'a été mise en évidence. L'effet des acides humiques est donc principalement un effet d'écran qui ralentit la photodégradation du TCL.

III.7 Conclusion

Nous avons montré que la réactivité photochimique du triclosan est différente à la surface de la kaolinite et en phase aqueuse, les principaux points à noter étant :

 L'adsorption du TCL sur la kaolinite est responsable d'une forte modification du spectre d'absorption UV-visible de TLC (effet hypochrome), mais cela ne modifie pas le recouvrement entre le spectre d'absorption de SQX et le spectre d'émission du soleil (pas d'effet bathochrome).

- Le rendement quantique de photodégradation du TCL est plus important à la surface de l'argile (0,90) qu'en solution aqueuse (0,30). La molécule de TLC est donc beaucoup plus photodégradable à la surface de l'argile que dans l'eau.
- De nombreux photoproduits sont formés et résultent de différentes voies réactionnelles :
 - P1 et P2 sont des mono et dichlorophénols résultant de la rupture homolytique des liaisons C-O du pont éther puis d'une réaction avec l'oxygène. Bien que les mêmes processus primaires de rupture homolytique aient été observés en phase aqueuse, ils n'ont pas conduit aux mêmes photoproduits.
 - P3 est une dioxine issue d'une substitution intramoléculaire d'un atome de chlore par la fonction alcool de la partie phénolique de TCL. La formation de P3 à partir de la forme moléculaire du TCL n'est pas favorisée en phase aqueuse.
 - Les dimères **P4** et **P5** sont issus d'une substitution intermoléculaire d'un atome de chlore par la fonction alcool de la partie phénolique de TCL .
 - Les dimères P6 et P7 résultent de la réaction entre un radical cation du TCL^{•+}
 et une molécule de TCL.

Nous pouvons en déduire que l'adsorption de TCL à la surface de la kaolinite favorise la formation de certains photoproduits. En particulier la formation de dioxine à partir de la forme moléculaire du TCL est observée, ce qui n'est pas le cas en phase aqueuse. La formation de ce photoproduit est importante sur le plan écologique, car les dioxines sont connues pour être des polluants très toxiques. La formation de dimères même à très faible concentration ($C_0 \le 1 \ \mu mol \ g^{-1}$) suggère que la répartition des molécules de TCL à la surface de l'argile n'est pas homogène mais que les molécules de TCL se regroupent en clusters à la surface de l'argile.

Afin de mieux comprendre le processus d'adsorption du TCL à la surface de la kaolinite et pour vérifier l'hypothèse de la formation de clusters de TCL, une étude de modélisation par dynamique moléculaire a été entreprise.

IV. Modélisation par dynamique moléculaire : étude de l'adsorption de TCL sur argile et étude de la formation de clusters

Cette partie a été effectuée en collaboration avec le Pr Patrice Malfreyt et Dr. Florent Goujon de l'équipe TIM de l'institut de Chimie de Clermont Ferrand (ICCF, UMR 6296)

IV.1 Introduction/problématique

Dans la partie précédente, nous avons observé que la photodégradation du triclosan à la surface de la kaolinite conduit à la formation de dimères alors même que la concentration en triclosan est faible. Ceci suggère que, dans ces conditions, les molécules de TCL adsorbées à la surface de l'argile sont très proches les unes des autres à la surface de l'argile sous forme de clusters. En effet, il est possible de montrer par un calcul assez simple que la faible concentration initiale utilisée dans les expériences précédentes ($C_0 = 1 \mu mol g^{-1}$) permet théoriquement aux molécules de TCL de se répartir à la surface de la kaolinite sans se toucher. Une molécule de TCL présente une longueur d'environ 10 Å et une largeur d'environ 5 Å (**figure D22**).



Figure D22 : Dimensions approximatives d'une molécule de TCL

En considérant qu'une molécule de TCL présente une surface totale (S_{molec}) de 50 Å², alors la surface occupée par 1 µmole de TCL répartie en monocouche sur la kaolinite serait de 0,30 m² (S_1). De plus, la surface spécifique de la kaolinite Fluka utilisée est de 14,5 m² g⁻¹ (surface spécifique mesurée par adsorption gazeuse [137]). Alors, dans le cas d'une concentration $C_0 = 1$ µmol g⁻¹ de TCL avec une répartition homogène en monocouche du TCL, les molécules occuperaient seulement 2 % de la surface disponible. Ceci implique que les molécules de TCL seraient donc très éloignées les unes des autres empêchant toute formation de dimères. La formation de dimères que nous avons observés expérimentalement semble dans un premier temps indiquer que les molécules de TCL ne se répartissent pas de façon homogène mais se regroupent en clusters à la surface de l'argile. L'objectif de cette partie est donc d'étudier, au moyen de la modélisation par dynamique moléculaire, l'adsorption du TCL sur la kaolinite ainsi que la stabilité et la structure d'un cluster de TCL à la surface de l'argile. Cette étude devrait permettre une meilleure compréhension des résultats expérimentaux obtenus lors du travail effectué sur la photodégradation du TCL à la surface de la kaolinite.

La démarche suivie pour la réalisation de cette étude est la suivante :

- Dans un premier temps, nous allons déterminer la nature des interactions entre une molécule de TCL et la surface de l'argile. Afin de réaliser cette première étude, nous avons pris en considération la structure particulière de la kaolinite. En effet, il est important de se rappeler que la morphologie de la kaolinite, décrite dans la partie I.1.2. du chapitre D, est un assemblage de plaquettes individuelles associées entre-elles faces à faces. De plus, étant donné la structure de la kaolinite, il est possible de distinguer deux faces externes de compositions différentes pour chaque plaquette : l'une des faces est similaire à la surface d'un siloxane SiO₂ et l'autre face est similaire à celle d'une gibbsite Al(O)OH. Compte-tenu de la nature différente de ces deux faces, nous avons envisagé séparément deux situations : soit l'adsorption de TLC se fait sur la face siloxane, soit elle se produit sur la face gibbsite d'un cristal de kaolinite. En pratique, d'autres faces de compositions différentes sont également possibles, mais la morphologie hautement cristallisée et en plaquette de la kaolinite suggère que les faces siloxane et gibbsite sont des modèles assez largement représentatifs de la surface de la kaolinite.
- Dans un second, après l'identification des interactions entre TCL et la kaolinite, nous avons cherché à élucider la nature des interactions entre les molécules de TLC. Ce travail a été réalisé en modélisant ces interactions intermoléculaires par l'étude du comportement d'une paire de molécules de TCL dans le vide et dans l'eau afin d'appréhender l'origine de la formation de clusters et d'étudier la structure d'un dimère de TCL dans ces conditions.
- Enfin, dans une dernière étape, la modélisation de plusieurs molécules de TCL à la surface d'un cristal de kaolinite a été envisagée afin d'étudier le mécanisme de formation d'un cluster de TCL à la surface de la kaolinite.

Il est à noter que l'ensemble des modélisations envisagées par dynamique moléculaire nous permettra d'accéder à des données géométriques (distances et angles), afin de mettre en évidence les interactions entre la molécule de TCL et le milieu environnant (interactions de Van der Waals, liaisons hydrogènes...). Par ailleurs, les temps de simulation seront courts (de l'ordre de la nanoseconde) car ces temps sont suffisants à l'étude de la structure et de la stabilité d'un cluster de TCL à la surface de la kaolinite. Toutefois ces temps courts ne suffisent pas à l'étude de la migration des molécules de TCL sur de grandes distances sur l'argile. De ce fait, cette étude est focalisée sur les interactions qui justifient la stabilité et l'existence des clusters et non pas sur les processus permettant leur formation.

IV.2 La dynamique moléculaire

IV.2.1 Principe

La description complète de la matière à l'échelle atomique nécessiterait en toute rigueur la résolution de l'équation de Schrödinger dépendante du temps pour le système {*électrons* + *noyaux*}. Or, une telle modélisation n'est pas envisageable pour des systèmes d'une taille supérieure à quelques dizaines d'atomes et ce, malgré les évolutions récentes des moyens de calcul. La dynamique moléculaire permet ainsi l'étude de la structure et de la dynamique de systèmes moléculaires pouvant aller jusqu'à quelques centaines de milliers d'atomes tout en restant dans le cadre de la mécanique classique. Néanmoins, ceci n'est possible qu'en faisant certaines approximations :

- L'approximation de Born-Oppenheimer (1927), selon laquelle le mouvement des électrons est beaucoup plus rapide que celui des noyaux. Celle-ci permet la description d'un système à partir des positions et des impulsions des noyaux sans prendre en considération les mouvements des électrons.
- Les effets quantiques sont négligeables car la longueur d'onde de De Broglie associée à une particule est inférieure à la distance intermoléculaire.
- Les effets relativistes ne sont pas pris en compte puisque la vitesse des particules est considérée faible lorsqu'elle est comparée à celle de la lumière.

En dynamique moléculaire, les positions $\vec{r_i}$ et vitesse $\vec{v_i}$ d'une particule *i* sont alors données par les équations du mouvement de Newton :

$$\frac{\overline{dr_i}}{dt} = \overline{v_i} \quad et \quad m_i \frac{d\overline{v_i}}{dt} = -\vec{v}_{\overrightarrow{r_i}} U \left(\overrightarrow{r_1}, \ \overrightarrow{r_2}, \dots, \ \overrightarrow{r_N}\right) = \vec{f_i} \quad avec \ i = 1, \ \dots, \ N$$
(1)

où $\vec{f_i}$ est la force s'exerçant sur la particule *i*, *U* est l'énergie potentielle et *N* est le nombre total de particules.

Par conséquent, si les positions et les vitesses initiales des particules sont données, l'évolution temporelle du système ne dépend que de l'énergie potentielle gouvernant les interactions entre les particules.

L'énergie potentielle se décompose dans sa forme la plus complète en une somme de N termes associés respectivement aux atomes seuls, aux doublets, aux triplets, etc. Son expression est la suivante :

$$U(\overrightarrow{r_1}, \overrightarrow{r_2}, \dots, \overrightarrow{r_N}) = \sum_i u_1(\overrightarrow{r_i}) + \sum_i \sum_{j>i} u_2(\overrightarrow{r_i}, \overrightarrow{r_j}) + \sum_i \sum_{j>i} \sum_{k>j>i} u_3(\overrightarrow{r_i}, \overrightarrow{r_j}, \overrightarrow{r_k}) + \cdots$$
(2)

 $u_1(\vec{r_l})$ représente le potentiel associé à un champ extérieur tandis que les termes suivants correspondent aux interactions entre particules. $u_2(\vec{r_l}, \vec{r_j})$ décrit les interactions de paires, il est prépondérant et dépend de la distance entre les particules. $u_3(\vec{r_l}, \vec{r_j}, \vec{r_k})$ est un potentiel à trois corps. Ce terme n'est pas négligeable devant $u_2(\vec{r_l}, \vec{r_j})$, contrairement aux termes supérieurs. Cependant, ce terme est rarement inclus dans les simulations car sa prise en compte est coûteuse en temps de calcul mais il est généralement considéré implicitement sous forme d'un potentiel de paires effectif $u_2^{eff}(\vec{r_l}, \vec{r_j})$. Dans ce cas, l'énergie potentielle est sous forme:

$$U(\overrightarrow{r_1}, \overrightarrow{r_2}, \dots, \overrightarrow{r_N}) = \sum_i u_1(\overrightarrow{r_i}) + \sum_i \sum_{j>i} u_2^{eff}(\overrightarrow{r_i}, \overrightarrow{r_j})$$
(3)

IV.2.2 Intégration des équations du mouvement

L'intégration numérique des équations du mouvement fait intervenir la notion de discrétisation du temps. Ceci est réalisé en utilisant la méthode des différences finies. Les équations différentielles sont résolues en étant transformées en équations discrètes dont les solutions approximent celles des équations analytiques seulement en certains points. Nous avons utilisé l'algorithme de Verlet-Leapfrog [162], [163], qui est probablement l'un des plus utilisés aujourd'hui, pour les simulations. Cet algorithme permet la résolution des équations du mouvement en considérant la décomposition d'un intervalle de temps en intervalle de temps Δt . Dans le cadre de la dynamique moléculaire, cela permet de calculer les nouvelles positions et vitesses des particules à partir des anciennes positions, vitesses et forces. Plus la valeur de Δt sera petite et plus la solution obtenue sera exacte. Cependant, il est nécessaire de trouver un bon compromis entre précision et temps de calcul. Dans tous les cas, Δt doit être inférieur au plus petit temps de relaxation du système.

IV.2.3 Contrôle de la température et de la pression

Le système étudié étant considéré comme isolé, son énergie totale E est une constante du mouvement. Une simulation dynamique basée sur la relation (1) échantillonne donc l'ensemble microcanonique (NVE).

Si l'on souhaite échantillonner d'autres ensembles statistiques tels que les ensembles canonique (NVT) ou isobarique-isothermique (NpT), il faut alors coupler le système à un thermostat ou un barostat qui permettent de maintenir la température et la pression proches des valeurs imposées. Dans nos simulations, nous avons utilisé les thermostats et barostats de Hoover, pour lesquels un terme de friction est ajouté aux équations du mouvement [164], [165].

IV.2.4 Conditions aux limites

En simulation moléculaire, la taille du système étudié est limitée par le temps de calcul et par les capacités de stockage. Les systèmes étudiés sont généralement constitués d'un nombre de particules N compris entre 10^2 et 10^6 . Le temps nécessaire pour calculer l'énergie potentielle est proportionnel à N^2 . Pour réduire les temps de calcul tout en reproduisant correctement les conditions expérimentales sur un système fini contenant un nombre de particules raisonnable, nous appliquons les conditions aux limites périodiques, la convention d'image minimum et nous utilisons un rayon de coupure pour le calcul des interactions entre les particules.

a) Conditions aux limites périodiques

Pour s'affranchir des effets de bord pouvant exister aux limites de la cellule de simulation, il est nécessaire d'appliquer les conditions aux limites périodiques. Dans le cas d'une cellule de simulation de géométrie parallélépipédique, ceci revient à répliquer la cellule de simulation, appelée cellule centrale, dans les trois directions de l'espace afin de simuler un réseau infini. Au cours de la simulation, les molécules se déplacent de la même manière dans la cellule centrale et dans les cellules images. Lorsqu'une molécule sort de la cellule centrale par une face, une de ses molécules images entre par la face opposée. La **figure D23** cidessous illustre les conditions périodiques aux limites pour un système à 2 dimensions.



Figure D23: Conditions aux limites périodiques à deux dimensions

b) Convention d'image minimum et rayon de coupure

Dans une simulation de dynamique moléculaire, le calcul des interactions intermoléculaires est le plus coûteux en temps de calcul. Selon le type de potentiel utilisé, il n'est pas forcément nécessaire de prendre en compte les interactions entre chaque atome. Pour cela, il est fréquent d'appliquer la convention d'image minimum. Ceci consiste à définir, pour un atome i, une cellule centrée sur i de même forme et de même dimension que la boite centrale. Ainsi, l'atome i interagit avec les N– 1 particules de cette nouvelle cellule. Pour réduire encore le temps de calcul, il est possible d'utiliser un rayon de coupure à partir duquel les interactions entre les particules ne seront plus prises en compte. Ce rayon de coupure est choisi pour être inférieur à une demi-longueur de boite de sorte qu'il n'y ait pas plus d'une image de chaque particule prise en compte. Les notions de cellule image et de rayon de coupure sont illustrées sur la **Figure D24** ci-dessous.



Figure D24 : Convention d'image minimum et de rayon de coupure

IV.2.5 Potentiel d'interaction

Le potentiel utilisé pour décrire les interactions de paires intra et intermoléculaires considère plusieurs contributions dont la forme et le nombre peuvent dépendre du champ de force. Le plus souvent, l'énergie totale peut s'écrire :

$$U = U_{liaison} + U_{angle} + U_{dièdre} + U_{LJ} + U_{\acute{e}lec}$$
(4)

Termes d'interactions intramoléculaires liées

Les termes $U_{liaison}$, U_{angle} et $U_{dièdre}$ traduisent les interactions intramoléculaires liées. Ils décrivent l'élongation des liaisons, la déformation des angles et la torsion des angles dièdres. Leur expression dans le champ de force AMBER développé par Cornell *et al.* [169] est de la forme,

$$U_{liaison} = \sum_{liaisons} \frac{1}{2} k_b (r - r_0)^2$$
$$U_{angle} = \sum_{angles} \frac{1}{2} k_\theta (\theta - \theta_0)^2$$
$$U_{dièdre} = \sum_{dièdres} \frac{1}{2} k_\phi (1 + \cos(n\phi - \delta))^2$$

Où k_b , k_θ et k_{Φ} sont les constants de force pour les déformations des liaisons, des angles et des dièdres, respectivement. r_0 et θ_0 sont les distances d'équilibre des liaisons et des angles de valence. Dans le terme correspondant aux angles dièdres, n est la périodicité et δ le facteur de phase.

Termes de répulsion-dispersion

Les interactions intra et intermoléculaires traduisant la répulsion des atomes à courte distance et les interactions attractives dipôle-dipôle de Van der Waals sont représentées par le potentiel de Lennard-Jones,

$$U_{LJ} = \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>1}^{N} 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{6} \right]$$

Dans le champ de force AMBER, les interactions de Lennard-Jones intramoléculaires 1-4 entre les atomes séparés par 3 liaisons sont multipliés par un facteur 0,5. Les paramètres de Lennard-Jones σ_{ij} et ε_{ij} pour les interactions croisées entre les atomes i et j peuvent être obtenus à partir des termes d'interaction purs σ_{ii} , σ_{jj} , ε_{ii} et ε_{jj} grâce aux relations de Lorentz-Berthelot,

$$\sigma_{ij} = \frac{1}{2} \left(\sigma_{ii} + \sigma_{jj} \right)$$
$$\varepsilon_{ij} = \sqrt{\varepsilon_{ii} \epsilon_{jj}}$$

Terme électrostatique

Le terme électrostatique U_{élec} est calculé par la méthode de la sommation d'Ewald [166], [167]. Dans le cas de systèmes périodiques, des difficultés surviennent lorsque la portée des interactions devient supérieure à une demi-longueur de cellule de simulation. C'est le cas du potentiel coulombien qui décroît faiblement en $\frac{1}{r}$. La méthode d'Ewald a été mise au point en 1921 pour prendre en compte ces interactions à longue distance. Dans cette méthode, une particule interagit avec les particules de la cellule de simulation mais aussi avec toutes celles des cellules périodiques images. Le potentiel d'interaction pour un système comprenant N particules est de la forme :

$$U = \frac{1}{2} \sum_{n}^{*} \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=1}^{N} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 |\overrightarrow{r_{ij}} + \overrightarrow{n}|}$$

Où \vec{n} est un vecteur du réseau périodique, $\vec{n} = (n_x L_x, n_y L_y, n_z L_z)$, n_x , n_y et n_z étant des nombres entiers et L_x , L_y et L_z étant les dimensions de la cellule de simulation selon les axes x, y et z. $\sum_{n=1}^{\infty}$ signifie que $i \neq j$ pour $\vec{n} = \vec{0}$.

Le calcul de cette série, qui converge extrêmement lentement, est réalisé par la méthode Smooth Particule Mesh Ewald (SPME) [168], qui décompose le potentiel en série de Fourier dont les termes sont plus rapidement convergents.

IV.3 Champs de force

IV.3.1 Molécules de triclosan

Le champ de force utilisé pour décrire le triclosan est la version "tout atome" du champ de force AMBER de Cornell *et al.* [169] décrit précédemment. Les charges ponctuelles de la molécule ont été calculées par la méthode de la fonctionnelle de la densité (DFT) [170], [171] (B3LYP 6-31G (d,p)) [172], [173] avec le logiciel Gaussian 03 [94] et la procédure

CHELPG [174]. Le **schéma D12** ci-dessous montre la numérotation des atomes de TCL et les **tableaux D1 et D2** reportent les paramètres du champ de force utilisé pour modéliser TCL.



Schéma D12: Numérotation des atomes dans une molécule de TCL

Numéro	Туре	Charge	Numéro	Туре	Charge
	d'atome			d'atome	
1	Ca	0,02200	13	Ca	0,23870
2	Ca	-0,06270	14	Oh	-0,52610
3	Ca	-0,22960	15	CL	-0,12600
4	С	0,38290	16	CL	-0,08950
5	Ca	-0,04730	17	CL	-0,12520
6	Ca	-0,04350	18	На	0,12160
7	Os	-0,35980	19	На	0,09680
8	С	0,29590	20	На	0,11040
9	Ca	-0,21670	21	На	0,14740
10	Ca	-0,11820	22	На	0,12300
11	Ca	0,10490	23	На	0,13890
12	Ca	-0,25880	24	Но	0,42090

Tableau D1: Type d'atomes et charges ponctuelles des atomes de TCL

Type d'atome	ε (kJ.mol ⁻¹)	σ (Å)	
Ca (C aromatique)	3,5982.10 ⁻¹	3,3997	
C (C aromatique lié à un	3 5982 10 ⁻¹	3,3997	
atome électronégatif)	5,5962.10		
Os (O pontant entre 2 C)	7,1128.10 ⁻¹	3,0000	

Oh (O d'hydroxyle)	8,8031.10 ⁻¹	3,0665		
CL (Cl)	1,10876.10-1	3,4709		
Ha (H aromatique)	6,2760.10 ⁻²	2,5996		
Ho (H d'un hydroxyle)	8,3680-10 ⁻²	3,5640		
Liaisons	$k_r (kJ.mol^{-1} Å^{-2})$	r ₀ (Å)		
Ca – Ca	3294,6	1,4000		
Ca – C	3294,6	1,4	090	
Ca – Oh	3765,6	1,3640		
Ca – CL	1615,0	1,7	270	
Ca — Ha	3071,1	1,0	800	
C – Os	3765,6	1,3230		
Oh – Ho	4627,5	0,9600		
Angles	k_{θ} (kJ.mol ⁻¹ rad ⁻²)	θ ₀ (°)		
Ca – Ca – Ca				
Ca – Ca – C	527,2		120,0	
Ca – C – Ca				
Ca – Ca – Oh	505 0	120.0		
Ca – C – Os	383,8	12	120,0	
C – Ca – Oh				
Ca – Ca – CL	Ca - CL 585,8 118,8		8,8	
C – Ca – CL		,		
Ca – Ca – Ha	418,4	120,0		
С – Са – На				
Ca – Oh – Ho	418,4	113,0		
C - Os - C	502,1	117,0		
Dièdres	k_{Φ} (kJ.mol ⁻¹)	Φ_0 (°)	n	
Ca – Ca – Ca – Oh	4,60	180,0	2	
Ca – Ca – Oh – Ho	3,77	180,0	2	
Ca – C – Os – C	11,30	180,0	2	
C – Ca – Oh – Ho	3,77	180,0	2	
Autres dièdres de TCL	15,17	180,0	2	

 Tableau D2: Paramètres du champ de force AMBER utilisés pour modéliser TCL

IV.3.2 Cristal de kaolinite

Le champ de force utilisé pour décrire un cristal de kaolinite est le champ de force Clayff décrit par Cygan *et al.* [175], dont les paramètres sont donnés dans le **tableau D3** cidessous.

Type d'atome	q	ε (kJ.mol ⁻¹)	σ (Å)
ALoc (Al octaédrique)	1,5750	5,5639.10 ⁻⁶	4,2445
SItc (Si tétraédrique)	2,1000	7,7007.10 ⁻⁶	3,3020
Obc (O pontant)	-1,0500	6,5019.10 ⁻¹	3,1658
Ohc (O d'un hydroxyle)	-0,9500	6,5019.10 ⁻¹	3,1658
Hoc (H d'un hydroxyle)	0,4250	0,0000	0,0000
Liaison	k _r (kJ.mol ⁻¹ Å ⁻²)	r ₀ (Å)	
Ohc – Hoc	4636,4365	1,0000	
Angle	k_{θ} (kJ.mol ⁻¹ rad ⁻²)	θ_0 (deg)	
ALoc – Ohc – Hoc	251,0400	109,4700	

Tableau D3 : Paramètres du champ de force Clayff utilisés pour modéliser la kaolinite

IV.3.3 Molécules d'eau

Les molécules d'eau sont représentées par le modèle TIP4P/2005 [176]. Dans ce modèle la molécule d'eau est rigide et la charge négative n'est pas portée par l'oxygène mais par un pseudo-atome (noté M) placé près de l'oxygène le long de la bissectrice de l'angle HOH. Ceci permet une meilleure distribution de la charge électrostatique autour de la molécule d'eau. Les paramètres géométriques et ceux du champ de force sont donnés dans le **tableau D4** ci-dessous.



Paramètre	Valeur		
r(OH) (Å)	0,9572		
HOH (°)	104,52		
r(OM) (Å)	0,1546		
Type d'atome	q	ε (kJ.mol ⁻¹)	σ (A)
--------------	---------	---------------------------	--------
Ow	0,0000	7,7491.10 ⁻¹	3,1589
Hw	0,5564	0,0000	0,0000
Hw	0,5564	0,0000	0,0000
Mw	-1,1128	0,0000	0,0000

Tableau D4 : Paramètres géométrique et paramètre du champ de force Clayff utilisés pour modéliser la molécule d'eau

IV.4 Création des configurations initiales

IV.4.1 Conformation initiale de la molécule de TCL

Dans la configuration initiale des systèmes étudiés, la molécule de triclosan utilisée correspond à la conformation la plus stable de TCL dans le vide, optimisée par la méthode DFT avec Gaussian03, au niveau de théorie B3LYP/6-31 G (d,p), telle que représentée sur la **figure D25** ci-dessous :



Figure D25: Représentation de la molécule de TCL dans le vide

IV.4.2 Conformation initiale d'un dimère de TCL

Pour étudier la structure d'un dimère du triclosan dans le vide ou dans l'eau, un dimère préalablement formé dans le vide a été utilisé pour construire le système initial. La conformation de ce dimère a été optimisée par la méthode DFT avec Gaussian03, au niveau de théorie B3LYP/6-31 G (d,p), à partir de deux molécules de TCL placée côte à côte (**figure D26**).



Figure D26: Représentation de deux molécules de TCL représentant un dimère du triclosan

IV.4.3 Structure initiale du cristal de kaolinite

La kaolinite a été créée à partir de la maille primitive décrite par Bish [177] dans le groupe de symétrie C_1 . La maille conventionnelle a été dessinée en coordonnées réduites puis répliquée sur les 3 axes avec 8 fois sur l'axe x, 5 fois sur l'axe y et 4 fois sur l'axe z. Le cristal de kaolinite obtenu après passage en coordonnées réelles est représenté dans la **figure D27**.



Figure D27: Représentation du cristal de kaolinite

Vecteurs	x (Å)	y (Å)	z (Å)	Norme (Å)
$\overrightarrow{e_1}$ (8 mailles selon a)	41,2280	0,0000	0,0000	41,2280
$\overrightarrow{e_2}$ (5 mailles selon b)	0,1584	44,7092	0,0000	44,7095
$\overrightarrow{e_3}$ (4 mailles selon c)	- 7,6742	- 0,9664	28,5357	29,5654
Angles	α ($\vec{e_2}, \vec{e_3}$)	$\beta(\overrightarrow{e_1},\overrightarrow{e_3})$	$\gamma \left(\overrightarrow{e_1}, \overrightarrow{e_2} \right)$	
	91,93°	105,04°	89,78°	

Les coordonnées des vecteurs définissant le cristal d'argile simulé dans le repère (O,x,y,z) sont donnés dans le **tableau D5** ci-dessous.

Tableau D5: Paramètres du champ de force Clayff utilisés pour modéliser la kaolinite

Afin d'étudier l'adsorption du triclosan sur les deux surfaces : gibbsite (Al(O)OH) et de siloxane (SiO₂) de la kaolinite, il est nécessaire de créer un espace vide au-dessus de ces surfaces, de taille suffisante dans le but d'éviter les interactions avec les images de la kaolinite créées par les conditions aux limites périodiques. La kaolinite a donc été créée dans une boite dont les vecteurs sont $\vec{v_1} = \vec{e_1}$, $\vec{v_2} = \vec{e_2}$ et $\vec{v_3} = 5 * \vec{e_3}$. De cette façon les conditions aux limites périodiques permettent de créer une lame infinie de kaolinite dans le plan Oxy, d'épaisseur 28,5 Å. Les surfaces de gibbsite et de siloxane sont au contact du vide, avec un écart entre la lame et ses images périodiques de 114,2 Å (5×28,54 – 28,54 = 114,16) selon l'axe des z (**figure D28**).



Figure D28 : Représentation du cristal de kaolinite dans la boite de simulation

Avant toute étude en présence de triclosan, une simulation avec la kaolinite seule a été réalisée afin de s'assurer de la stabilité du film de kaolinite en présence de vide. La simulation a consisté en une phase d'équilibration de 500 ps suivie d'une phase d'acquisition de 2 ns, avec un pas de 0,5 fs. L'échantillonnage a été réalisé toute les 250 fs (1 configuration sauvée tous les 500 pas) afin d'obtenir 8000 configurations au total. Les longueurs des liaisons Ohc-Hoc, SItc-Obc, ALoc-Ohc et ALoc-Obc ont été mesurées dans l'intervalle de temps de la simulation et les distributions sont reportées sur la **figure D29**.



Figure D29: Distributions des longueurs des liaisons Ohc-Hoc, Sitc-Obc, Aloc-OHhc et ALoc-Obc dans la particule de kaolinite pendant la simulation (protocole décrit en partie II.5. du chapitre D).

Nous pouvons remarquer que les longueurs des liaisons Al-O et Al-OH ne suivent pas une distribution gaussienne et s'étirent vers des valeurs élevées. En particulier, les longueurs maximales observées pour les liaisons ALoc-Obc sont de 2,6 Å alors que la valeur obtenue pour cette liaison par Cygan *et al.* [175] dans leur simulation étaient de 1,99 Å. Ceci montre que le champ de force utilisé, dans lequel la cohésion de l'argile est assurée par des interactions purement électrostatiques, ne permet pas d'avoir une lame de kaolinite stable sous vide.

Dans le but de remédier à ce problème, nous avons ajouté au champ de force précédent trois potentiels de liaisons harmoniques de constantes k_r très faibles (environ 10 fois inférieures à la constante d'une liaison covalente). Ces potentiels ont pour rôle d'agir comme de simples forces de rappel qui empêche les atomes d'oxygène de s'éloigner trop loin de leurs positions initiales, sans pour autant changer la structure de la kaolinite. Les paramètres de ces liaisons sont présentés dans le **tableau D6** ci-dessous :

Liaison	k _r (kJ.mol ⁻¹ Å ⁻²)	r ₀ (Å)
ALoc – Obc	200,0	1,8880
ALoc – Ohc	200,0	1,9240
Sitc – Obc	200,0	1,6230

Tableau D6 : Paramètres du champ de force Clayff utilisés pour modéliser la kaolinite

Avec ce nouveau champ de force, une simulation dans les mêmes conditions que précédemment a permis d'obtenir des distributions gaussiennes pour les liaisons Al-O, Al-OH et Si-O, et des valeurs très proches de celles obtenus par Cygan *et al.* [175] (écart < 1%) comme cela est visible sur la **figure D30** et dans le **tableau D7**:



Figure D30 : Distributions des longueurs des liaisons Ohc-Hoc, Sitc-Obc, Aloc-OHhc et ALoc-Obc dans la particule de kaolinite pendant la simulation (protocole décrit en partie II.5. du chapitre D)

Liaisons	Situation	Moyenne de la	Cygan et al.
	initiale	distribution (Å)	[175]
0 – H	0,97	1,02	1,01
Si - O	1,61	1,57	1,57
Al - OH	1,89	1,96	1,99
A1 - O	1,92	1,98	2,00

Tableau D7 : Paramètres du champ de force Clayff utilisés pour modéliser la kaolinite

Dans les systèmes qui suivront, le cristal de kaolinite utilisé pour la construction initiale du système sera le cristal de kaolinite obtenu à la fin de cette simulation, avec le champ de force contenant les liaisons supplémentaires décrites dans cette partie, afin de faire des simulations avec une lame de kaolinite stable et équilibrée à T = 298 K.

IV.5 Protocoles de simulation

Les simulations sont réalisées dans l'ensemble statistique NVT afin de préserver le vide entre les images périodiques selon l'axe des z (seules les simulations dans l'eau ont été réalisées dans l'ensemble statistique NpT, ce qui a permis de reproduire la densité de l'eau à 298 K). La température est maintenue constante en utilisant le thermostat de Nosé-Hoover avec une constante de couplage de 0,5 ps. Les équations du mouvement sont intégrées avec

l'algorithme de Verlet Leapfrog à T = 298 K avec un pas de temps δt = 0,5 fs. Le rayon de coupure pour les interactions de Lennard-Jones et les interactions électrostatiques dans l'espace réel est fixé à 12 Å. Le rayon de coupure dans l'espace réciproque est de 1,14 Å. Les calculs des interactions électrostatiques à longue distance selon la méthode SPME ont été paramétrés pour satisfaire une erreur relative de 10⁻⁶.

Les configurations du système sont générées en utilisant la version 2.20 modifiée du logiciel DL_POLY_MD [95] en parallèle sur 12 processeurs. Une simulation consiste en une phase d'équilibration de 500 ps et une phase d'acquisition de 2 ns, avec un pas de 0,5 fs (soit 4 millions de pas au total). L'échantillonnage a été réalisé toute les 250 fs (1 configuration sauvée tous les 500 pas) afin d'obtenir 8000 configurations par simulation.

Un traitement analytique des configurations sauvées a été réalisé post-simulation afin de mesurer les différents paramètres d'intérêt répondant aux problématiques du sujet. Une partie importante du travail de cette thèse a été l'élaboration des programmes d'analyse spécifiques aux systèmes étudiés et aux paramètres mesurés.

IV.6 Description des systèmes simulés

- 1 molécule de triclosan dans le vide : La cellule de simulation est cubique, de taille 100×100×100 Å³ et contient une molécule de TCL.
- Un dimère de triclosan dans le vide : la cellule de simulation est cubique, de taille 100×100×100 Å³ et contient 2 molécules de TCL organisées en un dimère stable.
- *1 molécule de triclosan dans l'eau :* La cellule de simulation est cubique, de taille initiale 51×51×51 Å³, et contient une molécule de TCL entourée de 4445 molécules d'eau. Ce nombre a été ajusté afin de respecter la densité de l'eau à T = 298 K. L'utilisation d'un barostat dans la simulation a permis d'assurer une valeur correcte de la densité de l'eau dans la simulation.
- Un dimère de triclosan dans l'eau : La cellule de simulation est cubique, de taille initiale 51×51×51 Å³, et contient 2 molécules de TCL organisée en un dimère stable entourées de 4438 molécules d'eau, la densité de l'eau à T = 298 K étant respectée.
- 1 molécule de triclosan sur la face gibbsite de la kaolinite : La cellule de simulation triclinique respecte la géométrie du cristal de kaolinite décrit précédemment. Elle contient une lame de kaolinite de dimensions 41,2×44,7 Å² et d'épaisseur 28,5 Å qui est surmontée d'un espace vide de 114,2 Å, selon l'axe z.

Une molécule de TCL est placée dans l'espace vide au-dessus du cristal de kaolinite, faisant face à la surface de gibbsite du cristal. Dans la configuration initiale, la molécule de TCL est placée de telle sorte que l'atome de TCL le plus proche de la kaolinite soit à une distance de 2 Å de la surface gibbsite.

- Plusieurs molécules de triclosan sur la face gibbsite de la kaolinite : Le système est similaire à celui décrit ci-dessus, à la différence qu'au lieu d'une molécule de TCL, nous place 2, 3, 4, 6, 8, 10 ou 12 molécules de TCL au-dessus du cristal de kaolinite, chacune faisant face à la surface de gibbsite du cristal. Dans la configuration initiale, les molécules de TCL sont positionnées arbitrairement à la surface de la kaolinite de façon à respecter un critère de non recouvrement et que, pour chaque TCL, l'atome de la molécule le plus proche de la kaolinite soit à une distance de 2 Å de la surface gibbsite (figure D31A)
- 1 molécule de triclosan sur la face siloxane de la kaolinite : Le système est similaire à celui décrit pour 1 TCL sur la face gibbsite de la kaolinite, à la différence que la molécule de TCL est cette fois placée sur la face inférieure de la kaolinite, faisant face à la surface de siloxane du cristal. Dans la configuration initiale, la molécule de TCL est placée de telle sorte que l'atome de TCL le plus proche de la kaolinite soit à une distance de 2 Å de la surface siloxane.
- Plusieurs molécules de triclosan sur la face siloxane de la kaolinite : Le système est similaire à celui décrit ci-dessus, à la différence qu'au lieu d'une molécule de TCL, nous avons placé 2, 3, 4, 6, 8, 10 ou 12 molécules de TCL au-dessus du cristal de kaolinite. Chaque molécule est positionnée en face de la surface de siloxane du cristal. Dans la configuration initiale, les molécules de TCL sont positionnées arbitrairement à la surface de la kaolinite de façon respecter un critère de non recouvrement et que, pour chaque TCL, l'atome de la molécule le plus proche de la kaolinite soit à une distance de 2 Å de la surface siloxane (figure D31B).



Figure D31: Configurations initiales avec 6 molécules de TCL positionnées sur *a*) la surface gibbsite et *b*) la surface siloxane de la kaolinite.

IV.7 Résultats des simulations

Les résultats des simulations seront présentés dans cet ordre :

- Premièrement, la modélisation d'une molécule de triclosan seule dans différents milieux (dans le vide, dans l'eau et sur les deux faces de la kaolinite : siloxane et gibbsite) permettra de connaître la nature des interactions qui sont susceptibles d'exister entre la molécule de triclosan et la surface de la kaolinite.

- Par la suite, la modélisation d'une paire de molécules de TCL dans le vide et dans l'eau devrait mettre en évidence les interactions intermoléculaires qui pourraient être à l'origine de la formation de clusters et d'étudier la structure d'un dimère de TCL.

- Enfin, la modélisation de plusieurs molécules de TCL sur les surfaces siloxanes ou gibbsite de la kaolinite devrait permettre d'étudier la structure et la stabilité d'un cluster de TCL sur un cristal de kaolinite.

IV.7.1 Simulation d'une molécule de TCL dans le vide, dans l'eau et sur la kaolinite

Les simulations de TCL dans le vide, TCL dans l'eau, TCL sur la surface gibbsite et TCL sur la surface siloxane ont été réalisées dans le but d'évaluer les interactions potentielles avec la kaolinite.

a) Observations qualitatives

Suite à ces simulations, plusieurs observations qualitatives, concernant le comportement du TCL ont pu être dégagées :

- Le TCL adopte des conformations différentes et assez caractéristique de son environnement.
- Dans le cas de *TCL dans l'eau* et *sur la surface gibbsite*, la fonction hydroxyle a tendance à s'orienter de façon à créer des liaisons hydrogène avec le milieu extérieur. Cela ne semble par contre pas être le cas pour *TCL sur la surface siloxane*.

Les figures D32 et D33 ci-dessous permettent de visualiser ces phénomènes.



Figure D32 : Molécule de TCL dans l'eau. Les molécules d'eau ne sont pas représentées mais les volumes en bleu représentent la distribution dans l'espace des atomes d'oxygène (bleu foncé) et d'hydrogène (bleu clair) des molécules d'eau au voisinage du groupement OH du TCL pendant la simulation. Les atomes C-O-H du TCL sont utilisés comme positions de référence (La probabilité de présence des atomes dans le référentiel centré sur COH est calculée dans un champ scalaire, dont on extrait une isosurface correspondant à 40% de la valeur maximale de densité).



Figure D33 : Molécule de TCL positionnée sur a) la surface gibbsite et b) la surface siloxane de la kaolinite après 2 ns de simulation.

En effet, la **figure D32** montre clairement que les atomes d'oxygène de l'eau (bleu foncé) se positionnent selon une géométrie caractéristique indiquant que l'eau reçoit une liaison hydrogène du groupement hydroxyle du TCL (positionnement sur la droite portée par la liaison O-H du TCL). De plus, la proximité des atomes d'hydrogène de l'eau suggère que l'eau intervient également en tant que donneur de liaison hydrogène vis à vis de du TCL.

Sur la **figure D33A**, nous pouvons remarquer que la fonction hydroxyle du triclosan (atome d'oxygène en rouge) se rapproche en s'orientant vers un oxygène de la surface gibbsite, ce qui est caractéristique d'une liaison hydrogène. Ainsi, la conformation du TCL est telle que l'atome de chlore Cl 16 est éloigné de la fonction hydroxyle. A l'inverse, dans l'image de la **figure D33B** concernant la surface siloxane de la kaolinite, l'orientation de la fonction hydroxyle est incompatible avec l'existence d'une liaison hydrogène.

De plus, il est très intéressant de noter que la conformation de TCL est identique sur les **figures D32** et **D33A** où l'atome de chlore 16 est éloigné de la fonction hydroxyle, alors qu'elle est différente sur la **figure D33B** où l'atome de chlore 16 est plus proche de cette fonction..

b) Mesures effectuées

Afin de confirmer les observations qualitatives précédentes, plusieurs mesures quantitatives ont été effectuées. Pour cela, des critères géométriques simples ont été choisis pour mesurer quantitativement la conformation de TCL tels que le nombre moyen de liaisons hydrogène entre TCL et le milieu et la distance entre la molécule de TCL et la surface de kaolinite. L'objectif de ce paragraphe est de décrire précisément les critères choisis et les mesures effectuées.

Le suivi de la conformation de TCL a été réalisé en mesurant l'angle θ_{cycles} entre les 2 plans des cycles aromatiques. Le **Schéma** ci-dessous représente une molécule de TCL ainsi que la notation choisie pour différencier les deux cycles aromatiques, notés **cycle 1** et **cycle 2**. L'angle θ_{cycles} est défini de façon à ce que lorsque $\theta_{cycles} = 0$, les deux cycles sont dans le même plan et l'atome de Cl 16 est du même côté que l'atome O14 (**Schéma D13**). Lorsque θ_{cycles} vaut 90°, les cycles sont dans des plans perpendiculaires entre eux. Lors de l'analyse post-simulation, la distribution de cet angle a été obtenue en calculant l'angle entre les normales aux plans moyens des cycles pour chaque configuration.



Schéma D13 : Les deux cycles aromatiques du TCL. Dans cette figure $\theta_{cycles} = 0$

Le suivi des liaisons hydrogène formées par TCL a été effectué en mesurant le nombre moyen de liaisons hydrogène à la fois données et reçues par chacun des atomes d'oxygène et de chlore de TCL. Le groupe hydroxyle O14-H24 peut donner et recevoir des liaisons hydrogène alors que l'oxygène pontant O7 et les atomes de chlore aromatique Cl 15, 16 et 17 ne peuvent qu'en recevoir. La détection d'une liaison hydrogène est faite à l'aide des critères géométriques suivants [178] : pour un trio d'atomes de type O–H…Y, nous pouvons considérer qu'il se forme une liaison hydrogène (H-Y) si les critères suivants sont atteints :



Nous pouvons ainsi calculer pour chaque atome de TCL un nombre moyen de liaisons hydrogène durant la simulation. Le groupe hydroxyle ne pouvant être impliqué que dans une seule liaison hydrogène à la fois, le nombre moyen de liaison hydrogène donnée par O14-H24 sera ainsi compris entre 0 et 1. Dans le cas d'un atome récepteur de liaisons hydrogène, par contre, ce nombre peut aller jusqu'à un maximum de 2.

Le suivi de la distance entre TCL et la surface de la kaolinite a été réalisé en mesurant la densité atomique dans le système en fonction de la distance à la surface de la kaolinite. L'axe z étant normal à la surface de la kaolinite, la distance d_i entre un atome i et la surface de la kaolinite correspond à :

$$d_i = z_i - z_{kaolinite}$$

avec z_i l'altitude de l'atome i et $z_{kaolinite}$ l'altitude de l'atome le plus haut appartenant au cristal de la kaolinite. Si l'origine de l'axe z est tel que $z_{kaolinite} = 0$, alors la mesure de l'altitude z_i d'un atome revient à mesurer sa distance d_i avec la surface de la kaolinite.

c) Résultats et discussion

La figure **D34** représente la distribution de θ_{cycles} pour les différentes simulations réalisées avec une molécule de triclosan.



Figure D34: Distribution de l'angle θ_{cycles} pour les simulations de TCL dans le vide, dans l'eau, sur la surface gibbsite et siloxane de la kaolinite.

Nous pouvons remarquer que dans le cas de *TCL dans le vide*, la distribution de θ_{cycles} est un fin pic autour de 120°. Cette disposition représente la conformation la plus stable pour

TCL dans le vide et il convient de noter que l'énergie thermique n'est pas suffisante pour lui faire changer de conformation dans ces conditions. En ce qui concerne le *TCL dans l'eau*, la distribution de θ_{cycles} est représentée par deux bandes : une bande intense autour de 55° et une bande de faible intensité autour de 120°. Celles-ci sont très larges et présentent un faible recouvrement. Ce résultat montre clairement que la molécule de Triclosan présente deux conformations possibles dans l'eau, avec passage de l'une à l'autre mais que la conformation correspondant à $\theta_{cycles} = 55^{\circ}$ est la plus stable. La grande différence entre les distributions dans le vide et dans l'eau met clairement en évidence le fait qu'il existe une interaction entre le triclosan et le solvant. Il est très intéressant de noter que les profils des distributions de θ_{cycles} pour les simulations où TCL est adsorbé sur les surfaces gibbsite et siloxane de la kaolinite, sont également très différents. Pour la surface gibbsite, la distribution présente un maximum à 120° et une seconde bande large et moins intense dont le maximum est situé à 65°. Dans le cas de la surface siloxane, la distribution est constituée d'une unique bande, centrée autour de 50°. En conclusion, il y a une forte dépendance de la conformation de TCL avec le milieu avec lequel il interagit.

Le **tableau D8** ci-dessous présente le nombre moyen de liaisons hydrogène réalisées par les atomes d'oxygène et de chlore de TCL avec le milieu extérieur dans les différentes simulations réalisées :

	TCL dans l'eau	TCL sur la face gibbsite de la kaolinite	TCL sur la face siloxane de la kaolinite
Atome	Nombre de liaisons H	Nombre de liaisons H	Nombre de liaisons H
	avec l'eau	avec la kaolinite	avec la kaolinite
TCL donneur			
O14-H24	0,60	0,77	0,09
TCL accepteur			
O14	0,36	0,23	-
07	0,09	0,00	-
Cl 15	0,04	0,12	-
Cl 16	0,03	0,05	-
Cl 17	0,05	0,02	-

Tableau D8: Nombre moyen de liaisons hydrogène réalisés par les atomes du TCL durant les simulations dans l'eau, sur la surface gibbsite et sur la surface siloxane de la kaolinite.

Lorsque TCL est dans l'eau, le groupe hydroxyle O14-H24 donne en moyenne 0,60 liaison hydrogène, et en reçoit en moyenne 0,36 démontrant ainsi que les liaisons hydrogène sont importantes entre l'eau et le TCL. Les nombres moyens obtenus pour les autres atomes étant très petits (< 0,1), nous pouvons en conclure qu'aucune liaison hydrogène n'a lieu entre ces atomes et le milieu extérieur. Cet aspect est parfaitement cohérent avec le fait que les charges partielles portées par ces atomes dans le champ de force de TCL soient faibles, alors que la charge partielle portée par l'atome d'oxygène de la fonction hydroxyle est plus importante, comme rappelé dans le **schéma D14** ci-dessous.



Schéma D14 : Charges portées par les hétéroatomes du TCL

Dans le cas de *TCL sur la surface gibbsite*, le groupe O14-H24 est également fortement impliqué dans une liaison hydrogène, puisqu'il donne et reçoit en moyenne 0,77 et 0,23 liaisons hydrogène, respectivement. Les autres atomes de TCL ne sont pas impliqués dans des liaisons hydrogène. Ceci permet d'affirmer que TCL se lie fortement à la surface gibbsite par des liaisons hydrogène semblables à celles obtenues avec l'eau.

A l'inverse, dans le cas de *TCL sur la surface de siloxane*, le groupe O14-H24 ne fait aucune liaison hydrogène avec la surface de kaolinite. Ainsi, l'interaction de TCL avec la kaolinite dépend fortement de la surface sur laquelle il est adsorbe en parfait accord avec le fait que la conformation de TCL présente des différences sur la surface de siloxane et sur celle de gibbsite, comme nous l'avions vu précédemment.

La **figure D35** représente la densité atomique en fonction de l'altitude z aux abords de la surface de la kaolinite, l'origine de l'axe des z étant fixée pour que l'atome de kaolinite le plus haut soit à une altitude $z_{\text{kaolinite}} = 0$.



Figure D35: Densité atomique en fonction de l'altitude z aux abords de la surface de kaolinite. L'origine de l'axe des z est fixée telle que l'atome de kaolinite le plus haut ait une altitude z = 0. Les profils de densité pour la kaolinite et le TCL ont été calculés et normés séparément.

Dans le cas de TCL sur la surface siloxane, on observe un pic étendu de 0,5 à 7,5 Å, avec un maximum situé à environ 2,2 Å. Dans le cas de TCL sur la surface gibbsite, on observe un pic allant de -0,4 à 6,0 Å avec 3 maximums situés à 0; 0,8 et 1,8 Å ainsi qu'un épaulement à environ 2,7 Å. Les faibles intensités des maximums de densités et la forte structuration du pic indiquent que le positionnement de TCL sur la surface gibbsite est plus rigide que sur la surface siloxane. Les maximums à 0 et 0,8 Å peuvent être attribués aux atomes O14 et H24 de TCL, qui sont impliqués dans des liaisons hydrogène avec la surface gibbsite.

En conclusion, ces premiers résultats montrent que l'adsorption du TCL est très différente sur les deux surfaces de la kaolinite : gibbsite et siloxane. Sur la surface gibbsite, il y a une importante liaison hydrogène entre la fonction phénol de TCL et les groupements hydroxyles de l'argile. Sur la surface siloxane, par contre, il n'y a pas de liaison hydrogène entre le TCL et l'argile. L'adsorption du TCL s'avère donc être plus forte et plus rigide sur la surface gibbsite que sur la surface siloxane.

IV.7.2 Simulation d'un dimère de TCL dans le vide et dans l'eau

Le comportement d'un dimère de TCL a été étudié dans le vide et dans l'eau avec trois objectifs :

- Confirmer la stabilité d'une association de deux molécules de TCL dans le vide et dans un milieu pouvant interagir avec le triclosan, comme l'eau.
- Etudier la structure du dimère afin de trouver un critère géométrique simple permettant de détecter et dénombrer l'association de deux molécules de TCL dans les futures simulations.
- Etudier l'influence de la dimérisation sur la capacité de TCL à réaliser des liaisons hydrogène avec le milieu extérieur.

a) Observations qualitatives

A l'issu des simulations, plusieurs observations qualitatives ont pu être obtenues :

• Les molécules de TCL restent proches l'une de l'autre dans le vide et dans l'eau et ceci durant tout le temps de la simulation (comme représenté dans la **figure D36**).

• Les molécules du dimère s'organisent de façon à ce que leurs cycles aromatiques s'associent deux à deux, avec des plans parallèles. Ceci suggère qu'une interaction de type π -stacking entre les deux cycles aromatiques est responsable de la stabilité du dimère.

• Dans le cas du dimère dans l'eau, l'orientation des fonctions hydroxyles des deux molécules de triclosan et des molécules d'eau périphériques suggère que de nombreuses liaisons hydrogène sont mises en jeu. La géométrie du dimère, par contre, ne semble pas compatible avec l'existence de liaisons hydrogène entre les deux molécules de TCL.



Figure D36 : Dimère de TCL dans l'eau après 2 ns de simulation. Les molécules d'eau ne sont pas représentées.

b) Mesures effectuées

Afin de confirmer la présence d'une interaction de type π -stacking dans le dimère, une mesure de la distance entre les cycles aromatiques est réalisée de la manière suivante:

- La position de chaque cycle aromatique du système est repérée par la position du centre géométrique des six atomes de carbone constituant son squelette.
- On définit la distance d_{cycles} comme la distance séparant les positions de deux cycles aromatiques quelconques présents dans le système et n'appartenant pas à la même molécule de TCL.
- Les différentes valeurs de d_{cycles} dans le système sont mesurées pour chaque étape de la simulation, et la distribution normée des valeurs de d_{cycles} est tracée à la fin de la simulation.

Cette mesure, dans le cas d'un dimère de TCL, correspond donc à mesurer 4 valeurs de d_{cycles} ($d_{1-1'}$, $d_{1-2'}$, $d_{2-1'}$ et $d_{2-2'}$) par étape de simulation, tel que cela est représenté dans le **schéma D15** ci-dessous :



Schéma D15: Représentation des 4 valeurs mesurées pour d_{cvcles} dans un dimère de TCL

De plus, le nombre moyen de liaisons hydrogène par molécule de TCL a été déterminé pour le dimère de TCL dans le vide et dans l'eau en utilisant le critère décrit dans la partie *II.7.1.2.* Les différents atomes de TCL, pouvant être impliqués dans une liaison hydrogène, ont été étudiés séparément. Les liaisons hydrogène pouvant exister entre 2 molécules de TCL et celles entre le TCL et l'eau ont également été distinguées.

c) Résultats et discussion

Les distributions des valeurs de d_{cycles} obtenues après la simulation pour un dimère dans le vide et pour un dimère dans l'eau sont présentées sur la **figure D37** :



Figure D37 : Distributions normées des valeurs de d_{cycles} *obtenues après la simulation pour un dimère dans le vide et pour un dimère dans l'eau*

Dans les deux cas étudiés, dans le vide et dans l'eau, nous observons une distribution étendue de 3 à 13 Å, avec deux maximums pour d_{cycles} à 4,0 et 6,5 Å. La présence de deux maximums distincts séparés de 2,5 Å confirme la stabilité du dimère dans le vide et dans l'eau. De plus, il convient de noter que les cycles sont associés deux à deux : le premier maximum (4,0 Å) correspondant aux distances d_{cycles} entre deux cycles liés par une interaction de π -stacking (distance d₁₋₂, et d₂₋₁, dans **la figure D37**) et le deuxième maximum (6,5 Å) correspond aux distances d_{cycles} entre les cycles non liés (distance d₁₋₁, ou d₂₋₂).

A partir du résultat précédent, on peut établir un critère géométrique simple permettant de repérer une interaction de type π -stacking entre deux cycles aromatiques. En effet, le pic sur le domaine 3 à 5 Å dans la distribution précédente sera considéré comme correspondant à une interaction de π -stacking. Nous pouvons donc estimer, en première approximation, que si $d_{cycles} \leq 5$ Å, alors il existe une interaction de type π -stacking entre 2 cycles aromatiques. L'utilisation de ce critère lors du traitement des configurations d'une simulation, permet de calculer le nombre moyen d'interactions de type π -stacking par molécule, noté η .

Si on considère un système extrême qui serait constitué d'un dimère de TCL figé dans une position où les cycles aromatiques des 2 molécules sont en permanence en interaction, il y aurait en moyenne 2 interactions de type π -stacking dans le système (2 cycles par molécule) pour un total de 2 molécules. La valeur de η attendue pour un tel système serait donc de 1.

Les valeurs de η calculées pour les simulations d'un dimère de TCL dans le vide et dans l'eau sont respectivement de 0,5 et 0,7. Bien que les valeurs de η déterminées ici soient inférieures à l'unité, cela ne signifie pas pour autant que le dimère étudié soit instable. En effet, l'agitation thermique peut éloigner deux cycles de façon temporaire, ce qui diminue la valeur de η sans pour autant que le dimère ne se soit brisé. La simulation de 2 molécules de TCL proches dans le vide représente un cas très favorable à la formation d'un dimère, car une séparation des molécules serait nécessairement défavorisée énergétiquement. Nous pouvons donc considérer que la valeur de η de 0,50 obtenu pour cette simulation correspond déjà à celle d'un dimère stable. Dans le cas d'un dimère de TCL dans l'eau, la valeur importante de η obtenue (0,70) signifie que le dimère est également stable.

Les nombres moyens de liaisons hydrogène réalisées par les molécules de TCL d'un dimère lors des simulations dans le vide et dans l'eau sont présentés dans le **tableau D9** ci-dessous :

	Dimère dans le vide	Dimère dans l'eau	
Atome	Nombre de liaisons H entre molécules de TCL	Nombre de liaisons H entre molécules de TCL	Nombre de liaisons H avec l'eau
TCL donneur			
O14-H24	0,07	0,01	0,60
TCL accepteur			
O14	0,06	0,01	0,40
07	0,00	0,00	0,05

Tableau D9 : Nombres moyens de liaisons hydrogène réalisées par les molécules de TCL d'un dimère lors des simulations dans le vide et dans l'eau

Les résultats obtenus pour le dimère dans le vide montrent que les liaisons hydrogène sont inexistantes au sein d'un dimère de TCL (0,07 liaison H donnée et reçue en moyenne). Un résultat comparable est obtenu pour le dimère dans l'eau (0,01 liaison H donnée et reçue en moyenne entre les molécules de TCL). Cependant, d'importantes liaisons hydrogène ont été mises en évidence entre l'eau et le groupe hydroxyle de TCL, qui intervient en tant que donneur (0,60 liaison H donnée en moyenne) et accepteur de liaison H (0,40 liaison acceptée en moyenne). Ces résultats sont très proches de ceux trouvés pour une molécule de TCL seule dans l'eau (0,60 liaison H donnée et 0,36 liaison H reçue). Ce résultat démontre que la

dimérisation ne modifie pas la capacité de TCL à réaliser des liaisons hydrogène avec le milieu extérieur. Il est important de noter que le nombre moyen de liaisons hydrogène réalisées par les atomes de chlore du TCL est relativement faible (< 0,01 liaison H intermoléculaire et < 0,04 liaison H avec l'eau).

IV.7.3 Etude de la formation de clusters de TCL à la surface de la kaolinite

Afin d'étudier l'éventuelle formation de clusters du triclosan à la surface de la kaolinite, des simulations ont été effectuées en plaçant un nombre croissant de molécules de TCL à la surface d'un cristal. L'adsorption du TCL dépendant de la nature de la surface, les simulations ont été effectuées pour les deux surfaces de la kaolinite: siloxane et gibbsite

a) Simulation de plusieurs TCL sur la surface siloxane SiO₂

(1) **Observations qualitatives**

Les observations qualitatives ont été extraites pour le cas de la simulation de 12 molécules de TCL. Les **figures D38** suivantes représentent les douze molécules de TCL dans leurs positions initiales au lancement de la simulation et dans leurs positions finales (après 500 ps d'équilibration et 2 ns de simulation).



Figure D38: Configurations initiales et finales de la simulation de 12 TCL sur la face siloxane de la kaolinite. Afin de mieux visualiser l'orientation des cycles, seuls les carbones des cycles ont été représentés. Les sphères des carbones ont été élargies pour représenter le volume exclu du cycle. Pour chaque molécule de TCL, le cycle 1 est vert et le cycle 2 est bleu.

Plusieurs observations qualitatives peuvent être déduites :

- Les molécules de TCL ne se sont pas réparties sur toute la surface de siloxane disponible, mais se sont rassemblées de façon compacte, ce qui met en évidence la formation d'un cluster.
- Les molécules sont très proches les unes des autres. De plus, de nombreux cycles aromatiques sont parfaitement alignés suggérant d'importantes interactions de type π-stacking entre eux.
- Une grande partie des molécules de TCL est en contact avec la surface de siloxane, mais certaines se superposent, ce qui provoque un éloignement de ces molécules de la surface. Ce résultat est en faveur d'une interaction intermoléculaire plus importante lorsqu'elle est comparée à l'interaction avec le support kaolinite.

(2) Mesures effectuées

Dans le but de confirmer les observations qualitatives précédentes, les grandeurs suivantes ont été mesurées :

- La superposition de certaines molécules et leur éloignement de la surface est un bon indicateur de la formation d'un cluster. Afin de mesurer cet éloignement, la densité atomique a été mesurée le long de la normale à la surface, selon le protocole décrit dans la partie II.7.1.1.
- Un deuxième indicateur de la formation d'un cluster est la mesure de η représentant le nombre moyen d'interactions intermoléculaires de type π-stacking par molécule. Celui-ci traduit la proximité des molécules entre elles. Le protocole de mesure utilisé est celui de la partie II.7.2.2.
- Afin d'évaluer l'importance des liaisons hydrogène, le nombre moyen de liaisons hydrogène par molécule de TCL a été évalué. Comme le groupe hydroxyle de TCL est le principal donneur et receveur de liaison H, l'étude a été limitée aux liaisons réalisées par ce groupement. Les liaisons hydrogène existant entre 2 molécules de TCL et celles entre une molécule et la surface de kaolinite ont été étudiées séparément. Le protocole de mesure adopté est celui de la partie II.7.2.1.

(3) Résultats et discussion

La **figure D39** suivante représente l'évolution de la densité atomique à proximité de la surface de la kaolinite en fonction de la distance avec la surface et ceci pour des simulations avec 1, 2, 3, 4, 8, 10 et 12 molécules de TCL :



Figure D39 : Densité atomique en fonction de l'altitude z aux abords de la face siloxane de kaolinite, pour des simulations contenant de 1 à 12 TCL. L'origine de l'axe des z est fixée telle que l'atome de kaolinite le plus haut ait une altitude z = 0.

Dans le cas d'une seule molécule de TCL unique, le pic de densité atomique présenté est celui qui avait été obtenu dans la partie II.7.1. Il s'étend de 1 à 6 Å. Par conséquent, si on imagine un cas extrême où il n'y aurait aucun chevauchement des molécules de TCL entre elles, alors le profil de densité atomique observé pour plusieurs molécules de TCL ne devrait pas s'étendre au-delà de 6 Å. Or l'augmentation du nombre de molécules de TCL provoque l'apparition d'une large bande qui s'étend au-delà de 6 Å (jusqu'à environ 10 Å). Cette bande devient de plus en plus intense et étendue lorsque le nombre de TCL augmente. Ce résultat est en parfait accord avec la présence d'interaction entre les molécules de TCL modifiant ainsi l'adsorption de TCL à la surface de la kaolinite avec des chevauchements entre les molécules.

La figure D40 ci-dessous représente l'évolution du nombre moyen d'interactions intermoléculaires de type π -stacking par molécule, η , en fonction du nombre de molécules de TCL. Elle montre que η atteint une valeur comparable à celle du dimère dans le vide ($\eta = 0,5$) pour des systèmes contenant 4 TCL ou plus. Ceci est en parfait accord avec le fait que les molécules de TCL sur la surface siloxane de la kaolinite s'associent fortement confirmant ainsi la formation d'un cluster. Pour les systèmes contenant 2 et 3 TCL, les valeurs de η sont évaluées à 0,14 et 0,22, respectivement. Ce résultat peut être expliqué par le fait qu'il y a trop peu de molécules de TCL pour avoir une statistique correcte de la formation de cluster, puisque le temps de simulation est de 2 ns.



Figure D40: Evolution de η , le nombre moyen d'interactions intermoléculaires de type π -stacking par molécule, en fonction du nombre de molécules de TCL sur la face siloxane de la kaolinite.

Le nombre moyen de liaisons hydrogène par molécule de TCL a été mesuré comme étant inférieur à 0,15 liaison par molécule quel que soit le nombre de molécules de TCL. Ainsi, nous pouvons conclure que les liaisons hydrogène n'interviennent ni dans l'adsorption de TCL à la surface, ni dans la formation de clusters.

b) Simulations de plusieurs TCL sur la surface gibbsite Al(0)OH

Dans la partie précédente, la simulation de plusieurs molécules de TCL sur la surface siloxane de la kaolinite a clairement mis en évidence la formation de clusters. L'interaction principale responsable de leur formation est de type π -stacking sans aucune implication de liaisons hydrogène. L'objectif de cette seconde partie est de comparer les résultats obtenus sur la surface siloxane (résultats précédents) à ceux de plusieurs molécules de TCL sur la surface gibbsite de la kaolinite. En effet, comme nous l'avons déjà montré, l'adsorption de TCL est plus forte sur la face gibbsite que sur la face siloxane puisqu'il existe de nombreuses liaisons hydrogène entre TCL. Il s'agit ainsi ici d'évaluer l'influence de ces liaisons hydrogène sur la formation d'éventuels clusters.

(1) **Observations qualitatives**

Les **figures D41** représentent la simulation de 12 molécules de TCL dans leur position initiale (au lancement de la simulation) et dans leur position finale.



Figure D41: Configurations initiales et finales de la simulation de 12 TCL sur la face gibbsite de la kaolinite. Afin de mieux visualiser l'orientation des cycles, seuls les carbones des cycles ont été représentés. Les sphères des carbones ont été élargies pour représenter le volume exclu du cycle. Pour chaque molécule de TCL, le cycle 1 est vert et le cycle 2 est bleu.

Plusieurs observations qualitatives peuvent être ainsi déduites :

- Les molécules de TCL ne se sont pas réparties sur toute la surface de gibbsite disponible, mais se sont rassemblées de façon compacte : il y a donc bien formation de clusters. Toutefois, cette compacité des molécules semble nettement moins importante que dans le cas de la surface siloxane.
- Les molécules sont proches les unes des autres, et on observe plusieurs cycles aromatiques parallèles entre eux, ce qui suggère la présence d'interactions de type π-stacking entre les cycles similaires à celles obtenues sur la surface siloxane.
- Un net chevauchement entre les molécules est observé provoquant un éloignement de la molécule de la surface du support. Cependant aucun des cycles aromatiques possédant une fonction hydroxyle (cycle 2) ne se trouve éloigné de la surface. Pour chacun d'entre eux, on observe que le groupement hydroxyle est extrêmement proche de la surface et dans une orientation qui suppose la présence d'une liaison hydrogène. Les cycles aromatiques qui se trouvent éloignés de la surface sont uniquement des cycles sans fonction hydroxyle (cycle 1).

(2) Mesures effectuées

Les grandeurs mesurées pour confirmer les observations qualitatives sont les mêmes que celles mesurées pour les simulations sur la surface siloxane :

• La densité atomique le long de la normale à la surface.

- Le nombre moyen d'interactions intermoléculaires de type π -stacking par molécule, η .
- Le nombre moyen de liaisons hydrogène intermoléculaires par molécule et le nombre moyen de liaisons hydrogène entre une molécule de TCL et la kaolinite ont été mesurés.

De plus, afin d'affiner l'analyse des profils de densité, la mesure de la distance entre les cycles aromatiques et la surface de l'argile, notée $d_{cycle-argile}$, a été effectuée. Dans ce but, la position de chaque cycle aromatique du système est repérée par la position du centre géométrique des six carbones constituant son squelette. La distance $d_{cycle-argile}$ est alors définie comme la distance entre le centre du cycle et la surface de kaolinite. Cette mesure permet de différencier le comportement des deux cycles 1 et 2 du TCL.

(3) Résultats et discussion

La **figure D42** représente l'évolution de la densité atomique aux abords de la surface de kaolinite en fonction de la distance avec la surface :



Figure D42 : Densité atomique en fonction de l'altitude z aux abords de la face gibbsite de kaolinite, pour des simulations contenant de 1 à 12 TCL. L'origine de l'axe des z est fixée telle que l'atome de kaolinite le plus haut ait une altitude z = 0.

Nous pouvons remarquer, de la même façon que pour la surface siloxane, que l'augmentation du nombre de molécules de TCL sur la surface gibbsite provoque un étalement du profil de densité au-delà de 6 Å. Toutefois la bande est moins étendue dans le cas de la surface gibbsite que dans le cas de la surface de siloxane où l'étalement atteint environ 10 Å. Par exemple, dans le cas de 12 TCL, la densité atomique pour une distance de 6 Å est environ 2 fois plus

petite sur la face gibbsite (1,3) que sur la surface siloxane (3,5). Cela montre la présence d'un chevauchement entre les molécules et formation de clusters sur la surface gibbsite, mais que le chevauchement est moins marqué et le cluster moins compact que sur la surface siloxane.

La figure D43 représente l'évolution du nombre moyen d'interactions intermoléculaires de type π -stacking par molécule, η , en fonction du nombre de molécules de TCL. Elle montre, pour des systèmes contenant 4 TCL ou plus, que η atteint une valeur comparable à celle obtenue pour le dimère dans le vide ($\eta = 0,5$). Un tel résultat montre que les molécules de TCL sur la surface siloxane de la kaolinite s'associent fortement confirmant ainsi la formation de clusters. Par contre, pour les systèmes contenant deux et trois molécules de triclosan, les valeurs de η sont voisines de 0,14 et 0,22, respectivement. Ces faibles valeurs sont dues à l'utilisation de très peu de molécules pour espérer une statistique correcte de la formation de cluster, compte tenu du temps simulé (2 ns).



Figure D43 : Evolution de η , le nombre moyen d'interactions intermoléculaires de type π -stacking par molécule, en fonction du nombre de molécules de TCL sur la face gibbsite de la kaolinite.

La **figure D44** présente les nombres moyens de liaisons hydrogène que le groupement hydroxyle d'une molécule de TCL peut donner et accepter de la surface gibbsite de la kaolinite. Ces nombres sont donnés en fonction du nombre de molécules de TCL dans le système.



Figure D44 : Evolution de η , le nombre moyen d'interactions intermoléculaires de type π -stacking par molécule, en fonction du nombre de molécules de TCL sur la face gibbsite de la kaolinite.

Elle montre clairement que les nombres moyens de liaisons hydrogène données $(0,67\pm0,1)$ et reçues $(0,23\pm0,02)$ par le groupe hydroxyle dépendent peu du nombre de molécules de TCL. Ainsi, malgré la formation de clusters, l'organisation des molécules est faite dans le but de maintenir les liaisons hydrogène avec la kaolinite. Un tel résultat est parfaitement cohérent avec ceux résultats obtenus pour le dimère dans l'eau qui montraient que la formation d'un dimère ne diminuait pas la capacité de TCL à donner des liaisons hydrogène avec le milieu extérieur.

La **figure D45** ci-dessous représente la densité de présence par cycle en fonction de la distance $d_{cycle-argile}$ pour différentes simulations.



Figure D45: Densité de présence par cycle en fonction de la distance $d_{cycle-argile}$ pour des simulations allant de 1 à 12 TCL sur les faces gibbsite (à gauche) et siloxane (à droite).

Dans le cas de la surface gibbsite, les profils de densité des cycles 1 et 2 évoluent très différemment lorsque le nombre de molécules de TCL augmente. En effet, le profil du cycle 2 ne change pas de forme de manière significative lorsque le nombre de TCL augmente. Un tel résultat permet de conclure que tous les cycles 2 restent bien adsorbés sur la gibbsite quel que soit le nombre de molécules de TCL. Ceci est cohérent avec le fait que les liaisons hydrogène issues de la fonction hydroxyle du cycle 2, sont maintenues malgré la formation de clusters. Au contraire, le profil de densité des cycles 1 change fortement lorsque le nombre de molécules de TCL augmente, avec l'apparition d'une bande qui s'étend jusqu'à environ 7 Å. Cela montre que l'adsorption des cycles de type 1 est modifiée par les interactions intermoléculaires, et que certains peuvent s'éloigner de la surface lors du chevauchement de deux molécules. Au contraire de la surface gibbsite, la surface siloxane se comporte de manière différente. En effet, l'augmentation du nombre de molécules de TCL engendre l'apparition de plusieurs bandes allant jusqu'à 8 Å pour les cycles 1 et 2. Les deux cycles peuvent ainsi s'éloigner de la surface siloxane en parfait accord avec le fait que TCL est moins lié à la surface siloxane. Les molécules de triclosan présentent des interactions bien importantes avec la surface gibbsite en comparaison avec la surface siloxane.

IV.8 Conclusion

L'utilisation de la dynamique moléculaire a permis d'obtenir des informations très importantes sur l'organisation des molécules de triclosan à la surface de la kaolinite. Les principaux résultats sont ainsi que :

- L'adsorption du triclosan sur la surface gibbsite de la kaolinite met en jeu de nombreuses liaisons hydrogène entre la fonction phénol de TCL et les fonctions hydroxyles de la surface d'argile. Ceci confère une conformation particulière à TCL adsorbé, différente de celle obtenue dans l'eau.

- Sur la surface siloxane de la kaolinite, il n'y a pas de liaison hydrogène entre le triclosan et l'argile, et la conformation de la molécule reste identique à celle obtenue dans l'eau.

- Au sein d'un dimère de triclosan, il y a une importante interaction de type π -stacking qui gouverne la géométrie du dimère. Cette organisation conduit les cycles aromatiques à s'organiser face à face. La structure du dimère ne modifie pas la capacité de chaque molécule de triclosan à être impliquée dans des liaisons hydrogène avec le milieu extérieur comme l'eau ou la surface de gibbsite.

- Lorsque plusieurs molécules de triclosan sont placées à proximité les unes des autres à la surface de la kaolinite, celles-ci s'organisent spontanément en clusters. Elles privilégient les interactions de π -stacking entre leurs cycles aromatiques. Ce phénomène se produit même sur la surface de gibbsite avec laquelle la molécule triclosan établit de nombreuses liaisons hydrogène. Ainsi, la formation de clusters n'empêche pas les molécules de triclosan d'être impliquées dans des liaisons hydrogène avec la kaolinite.

Ces résultats permettent de mieux comprendre l'adsorption du TCL à la surface de la kaolinite et confirment les résultats déduits expérimentalement : TCL ne se répartit pas de façon homogène à la surface de la kaolinite mais sous forme de clusters favorisant ainsi la formation de dimères, même avec de faibles concentrations.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Cette étude a eu pour objectif de contribuer à une meilleure compréhension du comportement photochimique de certains micropolluants de type antibiotiques vétérinaires (sulfaquinoxaline, pyriméthamine) ou antibactérien (triclosan) en solution aqueuse et à la surface de la kaolinite, utilisée comme un modèle de sol.

L'étude du comportement photochimique de la sulfaquinoxaline a été réalisée sous excitation à 254 nm et 365 nm. Dans tous les cas, une dégradation efficace est observée avec un rendement quantique qui dépend de la longueur d'onde d'excitation, du pH et la concentration d'oxygène dissous. Ainsi, la photodégradation de la sulfaquinoxaline sous sa forme moléculaire est beaucoup plus efficace sous irradiation à courte longueur d'onde reflétant un important effet de la longueur d'onde d'excitation. De plus, la présence de l'oxygène moléculaire dans le milieu conduit à une inhibition partielle la photodégradation mettant en évidence l'implication partielle de l'état excité triplet. Ce dernier a pu être mis en évidence par photolyse laser nanoseconde à travers un transfert Triplet-Triplet (T-T) en employant le b-carotène comme accepteur. Sur le plan analytique, la phototransformation de la sulfaquinoxaline conduit à la formation d'un grand nombre de produits pour lesquels l'identification était nécessaire. Pour atteindre cet objectif, nous avons utilisé toutes les possibilités qui sont offertes par la technique HPLC/ESI/MS/MS. L'identification des processus de fragmentation de la molécule initiale et des photoproduits, en association avec des calculs théoriques a permis l'élucidation précise des différentes structures chimiques. Différents processus ont pu ainsi être mis en évidence : photohydrolyse permettant la rupture du pont reliant les deux motifs de la molécule (motif sulfaquinoxaline et motif aniline), désulfonation avec un réarrangement intramoléculaire, hydroxylation des motifs aromatiques sulfaquinoxaline et aniline, isomérisation suite à un processus de type photo Fries. L'étude de l'évolution de la concentration des différents métabolites a permis de montrer que les deux états excités sont impliqués dans la phototransformation de la sulfaquinoxaline.

L'étude de la photoréactivité de la pyriméthamine a montré que la dégradation est plus efficace avec la forme neutre. Le rendement quantique a été évalué à environ $4,0x10^{-2}$ en milieu aéré et sous excitation à 254 nm. L'étude par photolyse laser a montré la formation intermédiaire de l'état excité triplet mais également de l'électron solvaté (absorption à 700 nm). Le premier état est issu d'un transfert inter système singulet-triplet alors que la seconde espèce met en jeu un processus de photoéjection d'électron. Les processus de formation des photoproduits primaires sont : substitution de l'atome de chlore par un groupement hydroxyle ou par un atome d'hydrogène et l'hydroxylation du noyau aromatique.

La dégradation des micropolluants à la surface du sol a pu être abordée en utilisant l'argile kaolinite comme support modèle. Ce système simplifié nous a permis d'étudier la photodégradation sous excitation en Suntest sur le plan cinétique et analytique. L'étude cinétique a été entreprise en fonction de différents paramètres tels que : l'épaisseur de la kaolinite, la concentration initiale du substrat. Le premier effet nous a permis de montrer que pour des épaisseurs inférieures à 70 µm, la vitesse de diffusion du composé des zones sombres vers les zones irradiées est très rapide devant la photolyse et de ce fait, elle peut être négligée. Cet aspect a conduit à la détermination du rendement quantique de disparition à la surface de la kaolinite. En ce qui concerne l'effet de la concentration, nous avons montré que la vitesse de dégradation diminue lorsque la concentration du substrat augmente. Un aspect qui est probablement dû à un effet d'écran des molécules de surface. Sur le plan analytique, les réactions observées sur l'argile sont différentes de celles observées en solution aqueuse. En effet, dans le cas de la sulfaquinoxaline, l'étude complète de la molécule de triclosan a montré la formation de plusieurs produits et notamment des dimères ou des oligomères ce qui suggère la

présence du substrat sous forme d'agrégats à la surface de l'argile. Afin de confirmer cette observation expérimentale, nous avons abordé une étude de modélisation par dynamique moléculaire. Celle-ci a donnée des informations très importantes sur l'organisation des molécules à la surface de la kaolinite. Ainsi, l'adsorption du triclosan sur la kaolinite est essentiellement observée sur la face gibbsite, avec laquelle les molécules mettent en jeu de nombreuses liaisons hydrogènes. En présence de plusieurs molécules, la formation d'agrégats est gouvernée par une importante interaction entre les noyaux aromatiques de type π -stacking.

REFERENCES:

- [1] "Le protocole de Kyoto est un accord international visant à la réduction des émissions de gaz à effet de serre, signé en 1997 et entré en vigueur en 2005."
- [2] "REACH est un règlement européen (règlement n°1907/2006) entré en vigueur en 2007 pour sécuriser la fabrication et l'utilisation des substances chimiques dans l'industrie européenne."
- [3] "Directive 96/92/CE du 27 septembre 1996, établissant les principes de base d'une stratégie commune visant à définir et fixer des objectifs concernant la qualité de l'air ambiant au niveau européen."
- [4] "Directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000, visant à donner une cohérence à l'ensemble de la législation avec une politique communautaire globale dans le domaine de l'eau au niveau européen."
- [5] "Le Plan National Santé Environnement (PNSE), lancé en 2004 par le gouvernement français, vise à répondre aux interrogations des Français sur les conséquences sanitaires à court et moyen terme de l'exposition à certaines pollutions de leur environnement."
- [6] "La Loi sur l'Eau et les Milieux Aquatiques (LEMA) du 30 décembre 2006 a pour objectif d'améliorer le service public de l'eau et de l'assainissement afin d'atteindre l'objectif de 'bon état' des eaux fixé par la directive cadre sur l'eau."
- [7] R. L. Carson, *Silent Spring*. Boston: Houghton Mifflin Company, 1962.
- [8] Eau France, "Les efforts de surveillance de la qualité des cours d'eau," *Les synthèses*, vol. 2, 2010.
- [9] Eaufrance, "De l'état des eaux en 2009 aux objectifs 2015," 2010.
- [10] Gis Sol, "L'état des sols de France," Group. d'intéret Sci. sur les sols, p. 188, 2011.
- [11] Y. M. Cabidoche and J. Lesueur, "Pollution durable des sols par la chlordécone aux Antilles : comment la gérer ?," *Innov. Agron.*, vol. 16, pp. 117–133, 2011.

- [12] Y.-M. Cabidoche, R. Achard, P. Cattan, C. Clermont-Dauphin, F. Massat, and J. Sansoulet, "Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: a simple leaching model accounts for current residue.," *Environ. Pollut.*, vol. 157, no. 5, pp. 1697–705, May 2009.
- [13] L. Citeau, A. Bispo, M. Bardy, and D. King, *Gestion durable des sols*. Editions Quae, 2008.
- [14] L. Alletto, Y. Coquet, P. Benoit, D. Heddadj, and E. Barriuso, "Tillage management effects on pesticide fate in soils. A review," *Agron. Sustain. Dev.*, vol. 30, no. 2, pp. 367–400, 2010.
- [15] D. A. J. Weed, "Dissipation and distribution of herbicides in the soil profile," J. Environ. Qual., vol. 24, no. 1, pp. 68–79, 1995.
- [16] Cemagref, "Synthèse du projet ANR AMPERES (Analyse de Micropolluants Prioritaires et Emergents dans les rejets et les eaux superficielles 2006-2009)."
- [17] K. Kümmerer and a Henninger, "Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent.," *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 9, no. 12, pp. 1203–14, Dec. 2003.
- [18] K. Kümmerer, "Antibiotics in the aquatic environment--a review--part I.," *Chemosphere*, vol. 75, no. 4, pp. 417–34, Apr. 2009.
- [19] EMA (European Medicines Agency), "Sales of veterinary antimicrobial agents in 19
 EU / EEA countries in 2010," 2012.
- [20] N. Kemper, "Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment," *Ecol. Indic.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–13, Jan. 2008.
- [21] K. Kümmerer, *Pharmaceuticals in the Environment*. Springer, 2008.
- [22] N. M. Vieno, H. Härkki, T. Tuhkanen, and L. Kronberg, "Occurrence of pharmaceuticals in river water and their elimination in a pilot-scale drinking water treatment plant.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 41, no. 14, pp. 5077–84, Jul. 2007.
- [23] M. J. M. Bueno, M. J. Gomez, S. Herrera, M. D. Hernando, a Agüera, and a R. Fernández-Alba, "Occurrence and persistence of organic emerging contaminants and priority pollutants in five sewage treatment plants of Spain: two years pilot survey monitoring.," *Environ. Pollut.*, vol. 164, pp. 267–73, May 2012.
- [24] P. Gao, Y. Ding, H. Li, and I. Xagoraraki, "Occurrence of pharmaceuticals in a municipal wastewater treatment plant: mass balance and removal processes.," *Chemosphere*, vol. 88, no. 1, pp. 17–24, Jun. 2012.
- [25] M. J. Capdeville, "Études Des Cycles Biogéochimiques Des Contaminants Organiques Dits «Émergents» dans les systèmes aquatiques." Université de Bordeaux 1, Bordeaux, 2011.
- [26] W. C. Li, "Occurrence, sources, and fate of pharmaceuticals in aquatic environment and soil.," *Environ. Pollut.*, vol. 187, pp. 193–201, Apr. 2014.
- [27] C. J. Gurr, "Harnessing Natural Attenuation," pp. 2872–2876, 2006.
- [28] P. Sukul and M. Spiteller, "Sulfonamides in the environment as veterinary drugs," *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 187, pp. 67–101, 2006.
- [29] J. Tolls, "Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils : A Review," vol. 35, no. 17, pp. 3397–3406, 2001.
- [30] A. K. Sarmah, M. T. Meyer, and A. B. a Boxall, "A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment," *Chemosphere*, vol. 65, no. 5, pp. 725–759, 2006.
- [31] W. Baran, E. Adamek, J. Ziemiańska, and A. Sobczak, "Effects of the presence of sulfonamides in the environment and their influence on human health," *J. Hazard. Mater.*, vol. 196, pp. 1–15, 2011.
- [32] "Norme ISO 11734:1995 Qualité de l'eau Évaluation de la biodégradabilité anaérobie 'ultime' des composés organiques dans les boues de digesteurs - Méthode par mesurage de la production de biogaz.".

- [33] "Les tests OECD 301A, 301B, 301C, 301D et 301E sont des tests standards dits de 'biodégradabilité facile' mis en place par l'OCDE et nécessaire pour la classification et l'approbation des substances chimiques."
- [34] R. Xuan, L. Arisi, Q. Wang, S. R. Yates, and K. C. Biswas, "Hydrolysis and photolysis of oxytetracycline in aqueous solution.," *J. Environ. Sci. Health. B.*, vol. 45, no. 1, pp. 73–81, 2010.
- [35] B. Halling-Sørensen, "Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming.," *Chemosphere*, vol. 40, no. 7, pp. 731–9, Apr. 2000.
- [36] A. Längin, R. Alexy, A. König, and K. Kümmerer, "Deactivation and transformation products in biodegradability testing of β-lactams amoxicillin and piperacillin," *Chemosphere*, vol. 75, no. 3, pp. 347–354, 2009.
- [37] A. L. Boreen, W. a. Arnold, and K. McNeill, "Photochemical fate of sulfa drugs in then aquatic environment: Sulfa drugs containing five-membered heterocyclic groups," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 38, no. 14, pp. 3933–3940, 2004.
- [38] H.-T. Lai and J.-J. Lin, "Degradation of oxolinic acid and flumequine in aquaculture pond waters and sediments.," *Chemosphere*, vol. 75, no. 4, pp. 462–8, Apr. 2009.
- [39] H. Pouliquen, R. Delépée, M. Larhantec-Verdier, M.-L. Morvan, and H. Le Bris, "Comparative hydrolysis and photolysis of four antibacterial agents (oxytetracycline oxolinic acid, flumequine and florfenicol) in deionised water, freshwater and seawater under abiotic conditions," *Aquaculture*, vol. 262, no. 1, pp. 23–28, Feb. 2007.
- [40] P. L. Brezonik and J. Fulkerson-Brekken, "Nitrate-induced photolysis in natural waters: Controls on concentrations of hydroxyl radical photo-intermediates by natural scavenging agents," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 32, no. 19, pp. 3004–3010, 1998.
- [41] D. Vione, G. Falletti, V. Maurino, C. Minero, E. Pelizzetti, M. Malandrino, R. Ajassa, R.-I. Olariu, and C. Arsene, "Sources and sinks of hydroxyl radicals upon irradiation of natural water samples.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 40, no. 12, pp. 3775–3781, 2006.

- [42] J. J. Guerard, P. L. Miller, T. D. Trouts, and Y. P. Chin, "The role of fulvic acid composition in the photosensitized degradation of aquatic contaminants," *Aquat. Sci.*, vol. 71, no. 2, pp. 160–169, 2009.
- [43] Y. P. Chin, P. L. Miller, L. Zeng, K. Cawley, and L. K. Weavers, "Photosensitized degradation of bisphenol A by dissolved organic matter," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 38, no. 22, pp. 5888–5894, 2004.
- [44] M. L. Randall S Singer, Roger Finch, Henrik C Wegener, Robin Bywater, John Walters, "Forum Antibiotic resistance — the interplay between antibiotic use in animals and human beings," no. Lancet Infect. Dis., pp. 47–51, 2003.
- [45] J. L. Martinez, "Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants.," *Environ. Pollut.*, vol. 157, no. 11, pp. 2893–902, Nov. 2009.
- [46] F. Baquero, J.-L. Martínez, and R. Cantón, "Antibiotics and antibiotic resistance in water environments.," *Curr. Opin. Biotechnol.*, vol. 19, no. 3, pp. 260–5, Jun. 2008.
- [47] O. a H. Jones, N. Voulvoulis, and J. N. Lester, "Aquatic environmental assessment of the top 25 English prescription pharmaceuticals.," *Water Res.*, vol. 36, no. 20, pp. 5013–22, Dec. 2002.
- [48] J. Krajcovic, L. Ebringer, and J. Polonyi, "Quinolones and coumarins eliminate chloroplasts from Euglena gracilis.," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 33, no. 11, pp. 1883–1889, Nov. 1989.
- [49] L. Aristilde, A. Melis, and G. Sposito, "Inhibition of photosynthesis by a fluoroquinolone antibiotic.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 4, pp. 1444–50, Feb. 2010.
- [50] R. Hirsch, T. Ternes, K. Haberer, and K. L. Kratz, "Occurrence of antibiotics in the aquatic environment.," *Sci. Total Environ.*, vol. 225, no. 1–2, pp. 109–18, Jan. 1999.
- [51] L. H. M. L. M. Santos, a N. Araújo, A. Fachini, a Pena, C. Delerue-Matos, and M. C. B. S. M. Montenegro, "Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment.," *J. Hazard. Mater.*, vol. 175, no. 1–3, pp. 45–95, Mar. 2010.

- [52] S. E. Jorgensen and B. Halling-Sørensen, "Drugs in the environment 1.," *Chemosphere*, vol. 40, pp. 691–699, 2000.
- [53] D. J. Lapworth, N. Baran, M. E. Stuart, and R. S. Ward, "Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence.," *Environ. Pollut.*, vol. 163, pp. 287–303, Apr. 2012.
- [54] D. Patureau, M. Luneau, N. Delgenes, and S. Houot, "Evaluation des flux de micropolluants prioritaires et émergents sur les sols via les apports de produits résiduaires organiques : efficacité des procédés de traitement et impact potentiel sur les plantes et les écosystèmes aquatiques;," 2013.
- [55] Direction de l'eau et de la biodiversité, "Eléments de contexte et réglementation française relatifs à la valorisation des boues issues du traitement des eaux usées," Paris, 2009.
- [56] G. Hamscher, S. Sczesny, H. Höper, and H. Nau, "Determination of persistent tetracycline residues in soil fertilized with liquid manure by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry.," *Anal. Chem.*, vol. 74, no. 7, pp. 1509–18, Apr. 2002.
- [57] A. B. a Boxall, P. Blackwell, R. Cavallo, P. Kay, and J. Tolls, "The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems.," *Toxicol. Lett.*, vol. 131, no. 1–2, pp. 19–28, May 2002.
- [58] S. Thiele, "Adsorption of the antibiotic pharmaceutical compound sulfapyridine by a long-term differently Adsorption of the antibiotic pharmaceutical compound sulfapyridine by a long-term differently fertilized loess Chernozem," *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, vol. 163, no. 6, pp. 589–594, 2000.
- [59] S. Thiele-Bruhn, "Pharmaceutical antibiotic compounds in soils a review," J. Plant Nutr. Soil Sci., vol. 166, no. 2, pp. 145–167, Apr. 2003.
- [60] A. Nowara and M. Spiteller, "Binding of Fluoroquinolone Carboxylic Acid Derivatives to Clay Minerals," J. Agric. Food Chem., vol. 12, no. 45, pp. 1459–1463, 1997.

- [61] E. R. Campagnolo, K. R. Johnson, A. Karpati, C. S. Rubin, D. W. Kolpin, M. T. Meyer, J. E. Esteban, R. W. Currier, K. Smith, K. M. Thu, and M. McGeehin, "Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations.," *Sci. Total Environ.*, vol. 299, no. 1–3, pp. 89– 95, Nov. 2002.
- [62] J. V. Holm, K. Rügge, P. L. Bierg, and T. H. Christensen, "Occurrence and distribution of pharmaceutical organic compounds in the groundwater downgradient of a landfill (Grindsted, Denmark)," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 29, no. 5, pp. 1415–1420, 1995.
- [63] O. B. Samuelsen, B. T. Lunestad, A. Ervik, and S. Fjelde, "Stability of antibacterial agents in an artificial marine aquaculture sediment studied under laboratory conditions," *Aquaculture*, vol. 126, pp. 283–290, 1994.
- [64] C. Accinelli, W. C. Koskinen, J. M. Becker, and M. J. Sadowsky, "Environmental fate of two sulfonamide antimicrobial agents in soil.," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, no. 7, pp. 2677–82, Apr. 2007.
- [65] M. P. Schlüsener and K. Bester, "Persistence of antibiotics such as macrolides, tiamulin and salinomycin in soil.," *Environ. Pollut.*, vol. 143, no. 3, pp. 565–71, Oct. 2006.
- [66] F. Ingerslev and B. Halling-Sørensen, "Biodegradability of metronidazole, olaquindox, and tylosin and formation of tylosin degradation products in aerobic soil--manure slurries.," *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 48, no. 3, pp. 311–20, Mar. 2001.
- [67] V. R. Hebert and G. C. Miller, "Depth Dependence of Direct and Indirect Photolysis on Soil Surfaces," J. Agric. Food Chem., vol. 38, pp. 913–918, 1990.
- [68] I. K. Konstantinou, A. K. Zarkadis, and A. T. Albanis, "Photodegradation of Selected Herbicides in Various Natural Waters and Soils under Environmental Conditions," J. Environ. Qual., vol. 30, pp. 121–130.
- [69] T. Katagi, "Photodegradation of pesticides on plant and soil surfaces," *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 182, pp. 1–78, 2004.
- [70] W. Witte, "Medical consequences of antibiotic use in agriculture," *Science (80-.).*, vol. 279, no. 5353, pp. 996–997, 1998.

- [71] C. W. Knapp, J. Dolfing, P. a I. Ehlert, and D. W. Graham, "Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 2, pp. 580–7, Jan. 2010.
- [72] L. Du and W. Liu, "Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review," *Agron. Sustain. Dev.*, vol. 32, no. 2, pp. 309–327, Nov. 2011.
- [73] X. Wei, S. C. Wu, X. P. Nie, A. Yediler, and M. H. Wong, "The effects of residual tetracycline on soil enzymatic activities and plant growth," *J. Environ. Sci. Heal. . Part B*, vol. 44, no. 5, pp. 461–471, 2009.
- [74] F. Liu, G.-G. Ying, R. Tao, J.-L. Zhao, J.-F. Yang, and L.-F. Zhao, "Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities.," *Environ. Pollut.*, vol. 157, no. 5, pp. 1636–42, May 2009.
- [75] C. Ding and J. He, "Effect of antibiotics in the environment on microbial populations.," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 87, no. 3, pp. 925–41, Jul. 2010.
- [76] C. Jin, Q. Chen, R. Sun, Q. Zhou, and J. Liu, "Eco-toxic effects of sulfadiazine sodium, sulfamonomethoxine sodium and enrofloxacin on wheat, Chinese cabbage and tomato.," *Ecotoxicology*, vol. 18, no. 7, pp. 878–85, Oct. 2009.
- [77] A. B. a Boxall, P. Johnson, E. Smith, C. Sinclair, E. Stutt, and L. Levy, "Uptake of veterinary medicines from soils into plants," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 6, pp. 2288–2297, 2006.
- [78] K. Kumar, S. Gupta, S. Baidoo, Y. Chander, and C. Rosen, "Antibiotic Uptake by Plants from Soil Fertilized with Animal Manure," *J. Environ. Qual.*, vol. 34, no. 6, pp. 2082–2085, 2005.
- [79] P. Atkins and J. De Paula, *Chimie Physique, 3ème édition.* 2008.
- [80] R. A. Larson and M. R. Berenbaum, "Environmental phototoxicity," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 22, no. 4, pp. 354–360, 1988.

- [81] A. Ciani, K.-U. Goss, and R. P. Schwarzenbach, "Determination of molar absorption coefficients of organic compounds adsorbed in porous media.," *Chemosphere*, vol. 61, no. 10, pp. 1410–8, Dec. 2005.
- [82] B. Philips-Invernizzi, D. Dupont, and C. Caze, "Bibliographical review for reflectance of diffusing media," *Opt. Eng.*, vol. 40, no. 6, pp. 1082–1092, 2001.
- [83] P. Kubelka, "New contributions to the optics of intensely light-scattering materials .1.,"
 J. Opt. Soc. Am., vol. 38, no. 5, pp. 448–457, 1948.
- [84] A. Ciani, K. U. Goss, and R. P. Schwarzenbach, "Light penetration in soil and particulate minerals," *Eur. J. Soil Sci.*, vol. 56, no. 5, pp. 561–574, 2005.
- [85] W. B. Jepson, "Structural iron in kaolinite and in associated ancillary minerals," *Iron soil clay Miner.*, pp. 467–536, 1988.
- [86] T. Katagi, "Photoinduced oxidation of the organophosphorus fungicide tolclofosmethyl on clay minerals," J. Agric. Food Chem., vol. 38, pp. 1595–1600, 1990.
- [87] K. Takagi and T. Shichi, "Photophysics and photochemistry in clay mineral," Mol. Supramol. Photochem., vol. 5, pp. 31–110, 2000.
- [88] T. Katagi, "Photodegradation of Esfenvalerate in clay suspension," J. Agric. Food Chem., vol. 41, pp. 2176–2183, 1993.
- [89] A. Ciani, K.-U. Goss, and R. P. Schwarzenbach, "Photodegradation of organic compounds adsorbed in porous mineral layers: determination of quantum yields.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, no. 17, pp. 6712–20, Sep. 2005.
- [90] M. E. Balmer, K.-U. Goss, and R. P. Schwarzenbach, "Photolytic Transformation of Organic Pollutants on Soil Surfaces s An Experimental Approach," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 34, no. 7, pp. 1240–1245, 2000.
- [91] V. R. Hebert and G. C. Miller, "Depth Dependence of Direct and Indirect Photolysis on Soil Surfaces," J. Agric. Food Chem., vol. 38, pp. 913–918, 1990.
- [92] J. G. Calvert and J. N. Pitts Jr., *Photochemistry*. New York: Wiley, 1966.

- [93] A. L. Lazrus, G. L. Kok, S. N. Gitlin, J. a Lind, and S. E. Mclaren, "Automated fluorometric method for hydrogen peroxide in atmospheric precipitation," *Anal. Chem.*, vol. 57, pp. 917–922, 1985.
- [94] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. and Pople, "Gaussian 03, Revision C.02." Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
- [95] "DL_POLY_MD is a parallel molecular dynamics simulation package developed at the Daresbury Laboratory Project for Computer Simulations.".
- [96] K. M. Doretto, L. M. Peruchi, and S. Rath, "Sorption and desorption of sulfadimethoxine, sulfaquinoxaline and sulfamethazine antimicrobials in Brazilian soils," *Sci. Total Environ.*, vol. 476–477, pp. 406–414, 2014.
- [97] M. J. García-Galán, T. Garrido, J. Fraile, A. Ginebreda, M. S. Díaz-Cruz, and D. Barceló, "Simultaneous occurrence of nitrates and sulfonamide antibiotics in two ground water bodies of Catalonia (Spain)," *J. Hydrol.*, vol. 383, no. 1–2, pp. 93–101, 2010.
- [98] N. T. Malintan and M. A. Mohd, "Determination of sulfonamides in selected Malaysian swine wastewater by high-performance liquid chromatography," J. Chromatogr. A, vol. 1127, no. 1–2, pp. 154–160, 2006.

- [99] B. Shao, D. Chen, J. Zhang, Y. Wu, and C. Sun, "Determination of 76 pharmaceutical drugs by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in slaughterhouse wastewater," *J. Chromatogr. A*, vol. 1216, no. 47, pp. 8312–8318, 2009.
- [100] H. Chang, J. Hu, M. Asami, and S. Kunikane, "Simultaneous analysis of 16 sulfonamide and trimethoprim antibiotics in environmental waters by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, vol. 1190, no. 1–2, pp. 390–393, 2008.
- [101] A. Jia, J. Hu, X. Wu, H. Peng, S. Wu, and Z. Dong, "Occurrence and source apportionment of sulfonamides and their metabolites in Liaodong Bay and the adjacent Liao River basin, North China," *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 30, no. 6, pp. 1252– 1260, 2011.
- [102] H. Chen, S. Liu, X.-R. Xu, G.-J. Zhou, S.-S. Liu, W.-Z. Yue, K.-F. Sun, and G.-G. Ying, "Antibiotics in the coastal environment of the Hailing Bay region, South China Sea: Spatial distribution, source analysis and ecological risks," *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 95, no. 1, pp. 365–373, 2015.
- [103] A. Jurado, E. Vàzquez-Suñé, J. Carrera, M. López de Alda, E. Pujades, and D. Barceló, "Emerging organic contaminants in groundwater in Spain: A review of sources, recent occurrence and fate in a European context," *Sci. Total Environ.*, vol. 440, pp. 82–94, 2012.
- [104] M. De Liguoro, V. Di Leva, G. Gallina, E. Faccio, G. Pinto, and A. Pollio, "Evaluation of the aquatic toxicity of two veterinary sulfonamides using five test organisms," *Chemosphere*, vol. 81, no. 6, pp. 788–793, 2010.
- [105] M. J. García-Galán, M. S. Díaz-Cruz, and D. Barceló, "Kinetic studies and characterization of photolytic products of sulfamethazine, sulfapyridine and their acetylated metabolites in water under simulated solar irradiation," *Water Res.*, vol. 46, no. 3, pp. 711–722, 2012.
- [106] A. G. Trovó, R. F. P. Nogueira, A. Agüera, C. Sirtori, and A. R. Fernández-Alba, "Photodegradation of sulfamethoxazole in various aqueous media: persistence, toxicity and photoproducts assessment.," *Chemosphere*, vol. 77, no. 10, pp. 1292–8, Nov. 2009.

- [107] A. L. Boreen, W. a. Arnold, and K. McNeill, "Triplet-sensitized photodegradation of sulfa drugs containing six-membered heterocyclic groups: Identification of an SO2 extrusion photoproduct," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 39, no. 10, pp. 3630–3638, 2005.
- [108] J. J. Guerard, Y. P. Chin, H. Mash, and C. M. Hadad, "Photochemical fate of sulfadimethoxine in aquaculture waters," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 43, no. 22, pp. 8587–8592, 2009.
- [109] N. D. H. Khaleel, W. M. M. Mahmoud, G. M. Hadad, R. a. Abdel-Salam, and K. Kümmerer, "Photolysis of sulfamethoxypyridazine in various aqueous media: Aerobic biodegradation and identification of photoproducts by LC-UV-MS/MS," *J. Hazard. Mater.*, vol. 244–245, pp. 654–661, 2013.
- [110] H. D. Chapman, "The treatment of coccidiosis: studies on the sensitivity of recent field isolates of eimeria acervulina type to anticoccidial drugs given in the drinking water," *J. Comp. Pathol.*, vol. 92, pp. 213–218, 1982.
- [111] R. J. MacKay, "Equine Protozoal Myeloencephalitis: Treatment, Prognosis, and Prevention," *Clin. Tech. Equine Pract.*, vol. 5, no. 1, pp. 9–16, 2006.
- [112] F. Derouin, F. Chau, B. Caroff, S. Romand, and J. J. Pocidalo, "Bases expérimentales du traitement de la toxoplasmose," *Médecine Mal. Infect.*, vol. 23, pp. 162–169, 1993.
- [113] H. M. Archibald, "Preliminary field trial on a new schizonticide," *Br. Med. J.*, vol. 2, pp. 821–823, 1951.
- [114] P. E. Kofoed, A. Rodrigues, P. Aaby, and L. Rombo, "Continued efficacy of sulfadoxine-pyrimethamine as second line treatment for malaria in children in Guinea-Bissau," *Acta Trop.*, vol. 100, no. 3, pp. 213–217, 2006.
- [115] World Health Organization, "WHO Model List of Essential Medicines 18th list," 2013.
- [116] A. Azzouz and E. Ballesteros, "Combined microwave-assisted extraction and continuous solid-phase extraction prior to gas chromatography-mass spectrometry determination of pharmaceuticals, personal care products and hormones in soils, sediments and sludge," *Sci. Total Environ.*, vol. 419, pp. 208–215, 2012.

- [117] A. Azzouz and E. Ballesteros, "Gas chromatography-mass spectrometry determination of pharmacologically active substances in urine and blood samples by use of a continuous solid-phase extraction system and microwave-assisted derivatization," J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci., vol. 891–892, pp. 12–19, 2012.
- [118] U. Koesukwiwat, S. Jayanta, and N. Leepipatpiboon, "Solid-phase extraction for multiresidue determination of sulfonamides, tetracyclines, and pyrimethamine in Bovine's milk," J. Chromatogr. A, vol. 1149, no. 1, pp. 102–111, 2007.
- [119] J. H. Canton and G. J. van Esch, "The short-term toxicity of some feed additives to different freshwater organisms.," *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 15, no. 6, pp. 720–725, 1976.
- [120] R. S. Davidson, J. W. Goodln, and G. Kemp, "The Photochemistry of Aryl Halides and Related Compounds," in *Advances in physical organic chemistry*, vol. 20, 1984, pp. 191–229.
- [121] G. Dedola, E. Fasani, and a. Albini, "The photoreactions of trimethoprim in solution," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 123, no. 1–3, pp. 47–51, 1999.
- [122] J. J. Bergh, J. C. Breytenbach, and P. L. Wessels, "Degradation of trimethoprim," J. Pharm. Sci., vol. 78, no. 4, pp. 348–350, 2006.
- [123] A. Tissot, P. Boule, and J. Lemaire, "Photochemistry and environment. VII the photohydrolysis of chlorobenzene: Studies of the excited state involved," *Chemosphere*, vol. 13, no. 3, pp. 381–389, 1984.
- [124] N. J. Bunce, Y. Kumar, L. Ravanal, and S. Safe, "Photochemistry of chlorinated biphenyls in iso-octane solution," *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* 2, no. 2, pp. 880–884, 1978.
- [125] A. Rifai, "Etude de la dégradation par photolyse directe de pesticides Caractérisation structurale et toxicité potentielle des photoproduits." Ecole Polytechnique, Paris, 2013.
- [126] M. Chessin, R. Livington, T.G. Truscott., Trans. Faraday. Soc., 62, (1962) 929
- [127] R.J. Cogdell, E. J. Land, T.G. Truscott, Photochem. Photobiol., 38 (1983) 723

- [128] Yingje Li, Xiaoxuan Wei, Jingwen Chen, Hongbin Xie, Ya-nan Zhang, J. Hazardous Materials, 290, (2015) 9-15
- 129] A.P. Pyraeva, V., G. Goldart, S. A. Kochubei, A.V. Baklanov, "Singlet Oxygen O₂ (a₁ Δg) formation via UV excitation of isoprene-oxygen C₅H₈-O₂ encounter complex in gaz pahse", Chem Phys. Letters, 610-611 (2014) 8-13.
- [130] B.H.J Bielski, D.E. Cabelli, R.C. Arudi, A.B. Ross, J. Phys. Chem. Ref. Data, 14; 4 (1985) 1041-1100.
- [131] H.G.C. Bates, N. Uri, Nature, 1953, 75, 2754.
- [132] R. Kumar Garg, K. Malhota, K.S. Sidhu, "Dye sensititized cyclization of diphenylamine", J. Photochem., 17; 1; 1981, 27.
- [133] C. Busset, P. Mazellier, M. Sarakha, J. DeLaat, "generation of carbonate radicals and their reactivity with phenols" J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 185, 2-3 (2007) 127-132.
- 134] S. Rafqah, P. Wong Wag Chung, A. Aamili, M. Sarakha, J. mol. catal. A: Chem, 237; 1-2 (2005) 50-59
- [135] A. W. Fordham, "Sorption and precipitation of iron of Kaolinite," Aust. J. Soil Res., vol. 7, no. 3, pp. 199–212, 1969.
- [136] D. Gournis, M. a. Karakassides, and D. Petridis, "Formation of hydroxyl radicals catalyzed by clay surfaces," *Phys. Chem. Miner.*, vol. 29, no. 2, pp. 155–158, Mar. 2002.
- [137] M. Ménager, "Photodégradation de pesticides organophosphorés en solution aqueuse et sur argiles : Etude mécanistique," Université Blaise Pascal - Clermont- Ferrand II, 2007.
- [138] A. Karci and I. A. Balcioğlu, "Investigation of the tetracycline, sulfonamide, and fluoroquinolone antimicrobial compounds in animal manure and agricultural soils in Turkey," *Sci. Total Environ.*, vol. 407, no. 16, pp. 4652–4664, 2009.

- [139] J. Raich-Montiu, J. L. Beltrán, M. D. Prat, and M. Granados, "Studies on the extraction of sulfonamides from agricultural soils," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 397, no. 2, pp. 807–814, 2010.
- [140] W. L. Shelver, H. Hakk, G. L. Larsen, T. M. DeSutter, and F. X. M. Casey, "Development of an ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry multi-residue sulfonamide method and its application to water, manure slurry, and soils from swine rearing facilities," *J. Chromatogr. A*, vol. 1217, no. 8, pp. 1273–1282, 2010.
- [141] C. G. Daughton and T. a. Ternes, "Pharmaceuticals and personal care products in the environment: Agents of subtle change?," *Environ. Health Perspect.*, vol. 107, no. SUPPL. 6, pp. 907–938, 1999.
- [142] H. Singer, S. Müller, C. Tixier, and L. Pillonel, "Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 36, no. 23, pp. 4998–5004, 2002.
- [143] C. W. Levy, a Roujeinikova, S. Sedelnikova, P. J. Baker, a R. Stuitje, a R. Slabas, D. W. Rice, and J. B. Rafferty, "Molecular basis of triclosan activity.," *Nature*, vol. 398, no. 6726, pp. 383–384, 1999.
- [144] D. C. McAvoy, B. Schatowitz, M. Jacob, A. Hauk, and W. S. Eckhoff, "Measurement of triclosan in wastewater treatment systems.," *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 21, no. 7, pp. 1323–1329, 2002.
- [145] K. Bester, "Triclosan in a sewage treatment process Balances and monitoring data," *Water Res.*, vol. 37, no. 16, pp. 3891–3896, 2003.
- [146] C. Tixier, H. P. Singer, S. Canonica, and S. R. Müller, "Phototransformation of triclosan in surface waters: a relevant elimination process for this widely used biocide-laboratory studies, field measurements, and modeling.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 36, no. 16, pp. 3482–3489, 2002.

- [147] D. Sabaliunas, S. F. Webb, A. Hauk, M. Jacob, and W. S. Eckhoff, "Environmental fate of Triclosan in the River Aire Basin, UK," *Water Res.*, vol. 37, no. 13, pp. 3145– 3154, 2003.
- [148] A. Lindström, I. J. Buerge, T. Poiger, P. A. Bergqvist, M. D. Müller, and H. R. Buser, "Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 36, no. 11, pp. 2322–2329, 2002.
- [149] M. Adolfsson-Erici, M. Pettersson, J. Parkkonen, and J. Sturve, "Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden," *Chemosphere*, vol. 46, no. 9–10, pp. 1485–1489, 2002.
- [150] P. Wong-Wah-Chung, S. Rafqah, G. Voyard, and M. Sarakha, "Photochemical behaviour of triclosan in aqueous solutions: Kinetic and analytical studies," J. Photochem. Photobiol. A Chem., vol. 191, no. 2–3, pp. 201–208, 2007.
- [151] D. E. Latch, J. L. Packer, W. a. Arnold, and K. McNeill, "Photochemical conversion of triclosan to 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin in aqueous solution," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 158, no. 1, pp. 63–66, 2003.
- [152] K. Aranami and J. W. Readman, "Photolytic degradation of triclosan in freshwater and seawater," *Chemosphere*, vol. 66, no. 6, pp. 1052–1056, 2007.
- [153] L. Sanchez-Prado, M. Llompart, M. Lores, C. García-Jares, J. M. Bayona, and R. Cela, "Monitoring the photochemical degradation of triclosan in wastewater by UV light and sunlight using solid-phase microextraction," *Chemosphere*, vol. 65, no. 8, pp. 1338– 1347, 2006.
- [154] M. Mezcua, M. J. Gómez, I. Ferrer, A. Aguera, M. D. Hernando, and A. R. Fernández-Alba, "Evidence of 2,7/2,8-dibenzodichloro-p-dioxin as a photodegradation product of triclosan in water and wastewater samples," *Anal. Chim. Acta*, vol. 524, no. 1–2 SPEC. ISS., pp. 241–247, 2004.

- [155] M. Sturini, A. Speltini, F. Maraschi, A. Profumo, L. Pretali, E. Fasani, and A. Albini, "Photochemical degradation of marbofloxacin and enrofloxacin in natural waters.," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 12, pp. 4564–9, Jun. 2010.
- [156] M. Sturini, A. Speltini, F. Maraschi, E. Rivagli, L. Pretali, L. Malavasi, A. Profumo, E. Fasani, and A. Albini, "Sunlight photodegradation of marbofloxacin and enrofloxacin adsorbed on clay minerals," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 299, pp. 103–109, 2015.
- [157] M. Menager, M. Siampiringue, and M. Sarakha, "Photochemical behaviour of phenylbenzoquinone at the surface of the clays: Kaolinite, bentonite and montmorillonite," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 208, no. 2–3, pp. 159–163, Dec. 2009.
- [158] B. Fubini and A. C. Otero, "Chemical aspects of the toxicity of inhaled mineral dusts," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 28, pp. 373–381, 1999.
- [159] J. Audureau, C. Filiol, P. Boule, and J. Lemaire, "Photolyse et photo-oxydation du
- phenol en solution aqueuse," J. Chim. Phys. Phys.-Chim. Biol., vol. 73, no. 6, pp. 613-20, 1976.
- [160] L.-M. Coulangeon, G. Perbet, P. Boule, and J. Lemaire, "Processus primaire de la photolyse et de la photo-oxydation de l'o-phenyl-phenol," *Can. J. Chem.*, vol. 58, pp. 2230–5, 1980.
- [161] K. Oudjehani and P. Boule, "Photoreactivity of 4-chlorophenol in aqueous solutions," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 68, pp. 363–373, 1992.
- [162] L. Verlet, "Computer 'Experiments' on Classical fluids. I. Thermodynamical properties

of lennard-Jones Molecules," Phys. Rev., vol. 159, no. 1, pp. 98-103, 1967.

[163] R. W. Hockney, "The potential calculation and some applications," *Methods Comput. Chem.*, vol. 9, pp. 136–211, 1970.

- [164] W. G. Hoover, "Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions," *Phys. Rev. A*, vol. 31, no. 3, pp. 1695–7, 1985.
- [165] S. Melchionna, G. Ciccotti, and B. L. Holian, "Hoover NPT dynamics for systems varying in shape and size," *Mol. Phys.*, vol. 78, no. 3, pp. 533–544, 1993.
- [166] M. P. Allen and D. J. Tildesley, Computer simulation of liquids. 1981.
- [167] D. M. Heyes, "Pressure tensor of partial-charge and point-dipole lattices with bulk and surface geometries," *Phys. Rev. B*, vol. 49, no. 1, pp. 755–64, 1994.
- [168] U. Essmann, L. Perera, M. L. Berkowitz, T. Darden, H. Lee, and L. G. Pedersen, "A smooth particle mesh Ewald method," *J Chem Phys*, vol. 103, no. November, pp. 8577–8593, 1995.
- [169] W. D. Cornell, "A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules," vol. 117, no. 19, pp. 5179–5197, 1995.
- [170] P. Hohenberg and W. Kohn, "Inhomogeneous Electron Gas," *Phys. Rev.*, vol. 136, no. B3, pp. 864–871, 1964.
- [171] W. Kohn and L. J. Sham, "Self-consistent equations including exchange and correlation effects," *Phys. Rev.*, vol. 140, no. 4A, pp. 1133–38, 1965.
- [172] A. D. Becke, "Density-functional thermochemistry.III. The role of exact exchange," J. Chem. Phys., vol. 98, no. 7, p. 5648, 1993.
- [173] C. Lee, W. Yang, and R. Parr, "Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density," *Phys. Rev. B*, vol. 37, no. 2, pp. 785–9, 1988.
- [174] C. M. Breneman and K. B. Wiberg, "Determining atom-centered monopoles from molecular electrostatic potentials. The need for high sampling density in formamide conformational analysis," *J. Comput. Chem.*, vol. 11, no. 3, pp. 361–373, 1990.

- [175] R. T. Cygan, J.-J. Liang, and A. G. Kalinichev, "Molecular Models of Hydroxide, Oxyhydroxide, and Clay Phases and the Development of a General Force Field," J. Phys. Chem. B, vol. 108, no. 4, pp. 1255–1266, 2004.
- [176] J. L. F. Abascal and C. Vega, "A general purpose model for the condensed phases of water: TIP4P/2005," J. Chem. Phys., vol. 123, no. 23, p. 234505, 2005.
- [177] D. L. Bish, "Rietveld refinement of the kaolinite structure at 1.5 K," *Clays Clay Miner.*, vol. 41, no. 6, pp. 738–744, 1993.
- [178] F. Goujon, C. Bonal, B. Limoges, and P. Malfreyt, "Molecular dynamics description of grafted monolayers: Effect of the surface coverage," *J. Phys. Chem. B*, vol. 112, no. 45, pp. 14221–14229, 2008.