



Université Badji Mokhtar-Annaba
Faculté des Sciences de l'Ingéniorat
Département de Génie des Procédés



Université de Monastir-Tunisie
Ecole Doctorale Sciences
Biologiques, Biotechnologie et Santé

Thèse en Cotutelle Internationale

Présentée par :

Année 2021

Ikram ROUBAH

En vue de l'obtention du diplôme de DOCTORAT

Spécialité : Génie des Procédés
Université Badji Mokhtar-Annaba

&

Spécialité : Sciences Biologiques et Biotechnologie
Université de Monastir-Tunisie

Performance et Activité Photocatalytique de Catalyseurs Déposés sur Différents Supports- Application à la Dégradation du Paracétamol Présent dans les Effluents Aqueux

DIRECTRICE DE THESE : **Nabila KHELLAF, Professeur, Université de Annaba, Algérie**

DIRECTEUR DE THESE : **Hédi BEN MANSOUR, Professeur, Université de Monastir, Tunisie**

DEVANT LE JURY

PRESIDENT : M^{ed} Fouzi GHORAB, Professeur Université de Annaba, Algérie

RAPPORTEUR 1: Najla HFAIEDH, Professeur Université de Gafsa , Tunisie

RAPPORTEUR 2: Sihem ARRIS, Professeur Université de Constantine 3, Algérie

EXAMINATEUR : Boulbaba SELMI, Professeur Université Monastir , Tunisie

Dédicaces

A deux personnes qui me sont très chères :

Ma mère qui n'a jamais cessé de me soutenir et de m'encourager;

Mon père qui m'a toujours encouragée et poussée vers le meilleur,

A ma sœur et mon frère

A tous ceux qui me sont chers

Remerciements

Les travaux présentés dans cette thèse en cotutelle ont été réalisés au sein du laboratoire de Chimie Organique-Optimisation et Modélisation des Procédés Chimiques (LOMOP) de l'Université Badji Mokhtar-Annaba et au sein de l'unité de recherche « Analyses et Procédés Appliqués à l'Environnement », Mahdia, Tunisie.

En premier lieu, je remercie Dieu le Tout Puissant de m'avoir donnée la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je remercie très sincèrement **Mme Nabila KHELLAF**, ma Directrice de thèse, pour avoir accepté de m'encadrer et de me diriger ainsi que pour toutes les discussions enrichissantes que j'ai eues avec elle durant ce projet. Je la remercie pour son aide précieuse dans la rédaction et l'interprétation des articles. Je la remercie sincèrement pour ses conseils, ses orientations et ses encouragements ainsi que pour son aide dans la rédaction de cette thèse. Merci pour tout.

J'exprime toute ma gratitude à **Mr. Hedi BEN MANSOUR**, mon deuxième Directeur de thèse, qui m'a guidé et m'a largement conseillé tout au long de ce projet. Je le remercie pour ses encouragements, ses conseils et pour le temps que vous m'avez accordés pour me guider dans mes travaux de toxicologie, la rédaction de mes articles et de mon manuscrit de thèse ainsi que les longues discussions qui ne m'ont fait qu'améliorer mes compétences et esprit critiques et d'interprétation.

Mes remerciements vont également aux membres du jury, **Pr. M^{ed} Fouzi GHORAB ; Pr. Najla HFAIEDH ; Pr. Sihem ARRIS et Pr. Boulbaba SELMI**, qui me font l'honneur d'évaluer ce travail. Je les remercie pour le temps consacré à la lecture de cette thèse. Je ne saurais oublier de remercier tous les enseignants du Département de Génie des Procédés de l'Université Badji Mokhtar-Annaba et les membres de l'unité de recherche « Analyses et Procédés Appliqués à l'Environnement », Mahdia-Tunisie.

Je tiens à remercier **M^{elle} Wafa HASSEN** pour ses précieux conseils. Merci Wafa de m'avoir accompagnée si souvent sur le terrain par tous les temps... Merci aussi pour les corrections diverses et multiples de l'article.

Je remercie aussi **M^{elle} Ahlem JAZIRI** pour son assistance et sa gentillesse : merci Ahlem pour tout.

Enfin, j'adresse mes remerciements à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire ; en particulier, j'adresse un grand merci à mes amis, Ibtissem FENNOUCHE, Imen HARBI, Mohamed Monder BOURAOUI et Mohamed Elhadi BENSSASSI.

Ikram ROUIBAH

Résumé

La consommation massive de médicaments par les populations du monde entraîne une contamination inquiétante de l'environnement puisque, en l'absence d'un traitement adéquat, une grande quantité de résidus médicamenteux se retrouvent dans les écosystèmes naturels. Dans ce contexte, la présente étude porte sur la dégradation photocatalytique du paracétamol en solution aqueuse, sélectionné comme molécule modèle. Les expériences sont élaborées dans un réacteur batch animé de radiations UV et en présence de deux systèmes catalytiques : TiO_2 /cellulose et ZnO /polystyrène. Cette configuration a l'avantage majeur d'une séparation facile du photocatalyseur de la solution traitée par rapport à un système hétérogène avec catalyseur en suspension. Différents paramètres sont étudiés : la photolyse, la nature de la source lumineuse (UV, visible et solaire), le pH de la solution, l'effet des oxydants (H_2O_2 et $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) et les cinétiques de dégradation. Les résultats ont montré que pour une teneur initiale en médicament de 10 mg/L, plus de 85% de paracétamol a été dégradé sous irradiation UV dans les conditions d'un pH neutre et d'une température de 20 °C. L'utilisation des oxydants a affecté la photodégradation du paracétamol. En particulier, en présence de UV/TiO_2 /cellulose/ $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, la vitesse de la réaction de dégradation a considérablement augmenté avec un rendement de 93,1%. Parallèlement à ces manipulations, des essais de biodégradation du paracétamol ont été effectués à l'aide de bactéries isolées à partir d'un effluent hospitalier (CHU de Monastir, Tunisie) dans le but de le comparer à la photocatalyse. Le rendement de dégradation par la bactérie *Pseudomonas putida* E1.21 était de 92% après 32 h d'incubation. Par ailleurs, des tests de toxicité sur des souris de laboratoire (étude *in-vivo*) et sur des graines de cresson (phytotoxicité) ont été mis en œuvre pour voir l'effet du traitement photocatalytique et biologique. Le test de phytotoxicité a montré que les traitements photocatalytiques sous irradiations UV en présence de H_2O_2 et $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ont conduit à des sous-produits de dégradation non toxiques. La toxicité des solutions de paracétamol menées *in-vivo* sur les souris a montré que les activités des enzymes créatinine, ALP, ALT, AST et LDH étaient significativement plus faibles ($p < 0,05$) chez les souris traitées aux UV/TiO_2 et à la souche *P. putida* E1.21 par rapport au groupe témoin. D'après ces tests, on peut conclure que le traitement photocatalytique et le traitement biologique jouent chacun un rôle clé dans l'amélioration du statut antioxydant et peuvent donc être considérés comme très efficaces pour dégrader des molécules organiques d'origine pharmaceutique sans présenter de symptômes de toxicité sévère.

Mots clés : Biodégradation ; Catalyseur supporté ; Paracétamol ; Photocatalyse ; Phytotoxicité ; Toxicité ; Test *in-vivo*.

Abstract

The massive consumption of drugs by the populations of the world leads to a worrying contamination of the environments since, in the absence of adequate treatment, a large amount of drug residues will be found in natural ecosystems. In this context, the present study focusses on the photocatalytic degradation of paracetamol in aqueous solution, selected as model molecule. The experiments are carried out in a UV-batch reactor in the presence of two catalytic systems : TiO₂/cellulose and ZnO/polystyrene. This configuration has the major advantage of easy separation of the photocatalyst from the treated solution compared to a heterogeneous system with suspended catalyst. Various parameters are studied : photolysis, the nature of light source (UV, visible and solar), solution pH, the effect of oxidants (H₂O₂ and K₂S₂O₈) and degradation kinetics. The results showed that for an initial drug concentration of 10 mg/L, more than 85% of paracetamol was degraded under UV irradiations under the conditions of neutral pH and temperature of 20 °C. The use of oxidants affected the photodegradation of paracetamol. In particular, in the presence of UV/TiO₂/cellulose/K₂S₂O₈, the rate of the degradation reaction increased considerably with a yield of 93.1%. In parallel, paracetamol biodegradation tests were carried out using bacteria isolated from a hospital effluent (Hospital of Monastir, Tunisia) in order to compare it with photocatalysis. The degradation yield by the bacterium *Pseudomonas putida* E1.21 was 92% after 32 h of incubation. In addition, toxicity tests on laboratory mice (in-vivo study) and on water cress seeds (phytotoxicity) were carried out to evaluate the effect of the photocatalytic and biological treatments. The phytotoxicity test showed that the photocatalytic treatments under UV irradiations in the presence of H₂O₂ and K₂S₂O₈ led to non-toxic degradation by-products. The toxicity of paracetamol solutions carried out *in-vivo* on mice showed that the activities of creatinine, ALP, ALT, AST and LDH enzymes were significantly lower (p<0.05) in mice treated with UV/TiO₂ and the *P. putida* E1.21 strain compared to the control group. From these tests, it can be concluded that the photocatalytic treatment and the biological treatment play a key role in improving the antioxidant status and can therefore be considered to be very effective in degrading pharmaceutical organic molecules without showing symptoms of severe toxicity.

Keywords : Biodegradation ; Paracetamol ; Photocatalysis ; Phytotoxicity ; Supported catalysis ; Toxicity ; *In-vivo* test.

ملخص

يؤدي الإستهلاك الهائل للأدوية من قبل سكان العالم إلى تلوث مقلق للبيئة حيث أنه في حالة عدم وجود علاج مناسب، تسبب وجود كمية كبيرة من مخلفات الأدوية في النظم البيئية الطبيعية. في هذا السياق ، تركز الدراسة الحالية على التحلل الضوئي لمحلول الباراسيتامول المائي، المختار كنموذج يتم إجراء التجارب في مفاعل متحرك بواسطة الأشعة فوق البنفسجية وفي وجود نظامين تحفيزيين : ثاني أكسيد التيتانيوم/السليولوز و أكسيد الزنك/البوليسترين. يتمتع هذا التكوين بميزة رئيسية تتمثل في سهولة فصل المحفز الضوئي عن المحلول المعالج مقارنة بنظام غير متجانس مع محفز معلق. تمت دراسة معايير مختلفة : التحلل الضوئي ، وطبيعة مصدر الضوء (الأشعة فوق البنفسجية ، المرئية والشمسية) ، ودرجة الحموضة في المحلول ، وتأثير المؤكسدات (بيروكسيد الهيدروجين و بيرسلفاتالبوتاسيوم) وحركية التحلل. أظهرت النتائج أنه بالنسبة لتركيز الدواء البالغ 10 مغ / لتر ، فإن أكثر من 85% من الباراسيتامول قد تحلل تحت إشعاع الأشعة فوق البنفسجية في ظروف درجة حموضة متعادلة ودرجة حرارة 20 درجة مئوية. أثر استخدام المؤكسدات على التحلل الضوئي للباراسيتامول على وجه الخصوص ، في وجود الأشعة فوق البنفسجية /ثاني أكسيد التيتانيوم / السليولوز / بيرسلفاتالبوتاسيوم ، زاد معدل تفاعل التحلل بشكل كبير مع عائد 93.1%. في نفس الوقت الذي أجريت فيه هذه التجارب ، أجريت اختبارات التحلل البيولوجي للباراسيتامول باستخدام بكتيريا معزولة من مياه الصرف الصحي (المستشفى الجامعي بالمنستير ، تونس) لمقارنتها بالتحليل الضوئي. كان مردود التحلل بواسطة بكتيريا بصودمناس بتيدا ب92% بعد 32 ساعة. بالإضافة إلى ذلك ، تم إجراء اختبارات السمية على الفئران (دراسة في الجسم الحي) وعلى بذور الجرجير (السمية النباتية) لمعرفة تأثير المعالجة التحفيزية والبيولوجية. أظهر اختبار السمية النباتية أن المعالجات التحفيزية الضوئية تحت الأشعة فوق البنفسجية في وجود بيروكسيد الهيدروجين و بيرسلفاتالبوتاسيوم أدت الى منتجات ثانوية غير سامة. أظهرت سمية محاليل الباراسيتامول التي تم إجراؤها في الجسم الحي على الفئران أن أنشطة إنزيمات الكرياتينين، الفوسفاتيز القلوية، ترانسأميناز ألانين، أسبارتاتأمينوترانسفيراز و نازعة هيدروجيناللاكتات كانت أقل بشكل ملحوظ (>0.05) في الفئران المعالجة بالأشعة فوق البنفسجية / ثانيأكسيدالتيتانيوم و سلالة (معزولة من نفايات سائلة بالمستشفى) مقارنة بمجموعة الشاهد. ، يمكن أن نستنتج أن العلاج التحفيزي الضوئي والعلاج البيولوجي يلعبان دورًا رئيسيًا في تحسين حالة مضادات الأكسدة، وبالتالي يمكن اعتبارهما فعالين للغاية في تحطيم الجزيئات العضوية ذات الأصل الصيدلاني دون ظهور أعراض سمية شديدة

الكلمات المفتاحية : التحلل البيولوجي ؛ دعم محفز؛ الباراسيتامول ؛ التحفيز الضوئي ؛ السمية النباتية ؛ تسمم ؛ اختبار في الجسم الحي.

Liste des Figures

- Figure I.1 :** Schéma représentatif des différentes sources et des principales voies d'entrée des composés pharmaceutiques dans l'environnement
- Figure II.1 :** Schéma représentatif des caractéristiques du radical $\bullet\text{OH}$
- Figure II.2 :** Diagrammes énergétiques pour les conducteurs, semi-conducteurs et isolants
- Figure II.3 :** Schéma représentatif des propriétés d'un bon catalyseur
- Figure 0I.4 :** Principe de la photocatalyse hétérogène
- Figure 0I.5 :** Schéma explicatif du phénomène de photocatalyse
- Figure II.6 :** Influence de la concentration en catalyseur sur la vitesse de dégradation d'un polluant
- Figure II.7 :** Influence de la température sur la vitesse de dégradation d'un polluant
- Figure II.8 :** Influence de flux photonique sur la vitesse de dégradation d'un polluant
- Figure II.9 :** Exemple d'influence de la longueur d'onde sur la vitesse de dégradation d'un polluant
- Figure II.10 :** Influence de la masse de catalyseur sur la vitesse de dégradation d'un polluant
- Figure II.11:** Pourcentages d'utilisation des trois principaux types de catalyseurs
- Figure III.1 :** Différentes voies de la biotransformation des xénobiotiques
- Figure IV.1 :** Systèmes catalytiques utilisés dans la présente étude : (a) TiO_2 imprégné sur fibre cellulosique, (b) ZnO supporté sur du polystyrène
- Figure IV.2 :** Dispositif expérimental pour la dégradation photocatalytique du paracétamol
- Figure IV.3 :** Principes de la spectrophotométrie
- Figure IV.4 :** Principe de fonctionnement de la CLHP
- Figure V.1 :** Diffractogrammes DRX de (a) TiO_2 imprégné sur fibre cellulosique et (b) ZnO imprégné sur polystyrène
- Figure V.2 :** Image MEB de (a-c) TiO_2 /cellulose et (b-d) ZnO /polystyrène
- Figure V.3 :** Cinétique de dégradation du paracétamol en présence et en absence de TiO_2 /cellulose et ZnO /polystyrène
- Figure V.4 :** Cinétique de dégradation du paracétamol sous irradiations UV, visible ou Solaire : (a) TiO_2 /cellulose, (b) ZnO /polystyrène
- Figure V.5 :** Rendement de photodégradation de l'acétaminophène en fonction de la dose du catalyseur TiO_2 /Cellulose
- Figure V.6 :** Cinétique de dégradation du paracétamol en présence de TiO_2 /cellulose pour différentes concentrations initiales
- Figure V.7 :** Effet du pH sur (a) la cinétique et (b) rendement de photodégradation du paracétamol en présence de TiO_2 / cellulose

- Figure V.8 :** Dégradation de l'acétaminophène en présence de H₂O₂ (10 mmol/L) et K₂S₂O₈ (1 mmol/L) pour (a) TiO₂/cellulose et (b) ZnO/Polystyrène)
- Figure V.9 :** Chromatogrammes CLHP de la dégradation du paracétamol et ses produits d'oxydation en présence de différents systèmes catalytiques. (a) H₂O₂/UV/TiO₂, (b) H₂O₂/UV/ZnO, (c) K₂S₂O₈/UV/TiO₂, (d) K₂S₂O₈/UV/ZnO
- Figure V.10 :** Chromatogramme CLHP de dégradation du paracétamol par photocatalyse TiO₂ avant et après 5 h de de traitement
- Figure V.11 :** Tracé de la forme linéaire des modèles cinétiques de (a) pseudo-premier ordre et (b) pseudo-second ordre en présence de TiO₂/cellulose
- Figure VI.1 :** Germination des raines de cresson arrosées avec les solutions photocatalysées avec UV/ H₂O₂/TiO₂ ; UV/K₂S₂O₈/TiO₂, UV/ H₂O₂/ZnO et UV/K₂S₂O₈/ ZnO (A) avant, (B) après 24 h et (C) après 48 h de germination
- Figure VI.2 :** Indice de Germination des solutions paracétamol pour différents types de catalyseurs
- Figure VI.3 :** Effets de différents traitements sur les taux plasmatiques chez la souris. (A) Urée, (B) Créatinine, (C) Bilirubine T, (D) Phosphatase alcaline, (E) Alanine transaminase, (F) Aspartate aminotransférase, (G) Lactate déshydrogénase, (H) Triglycérides et (I) Cholestérol. G1: Groupe 1 (souris exposées au paracétamol pur), G2: Groupe 2 (souris exposées au paracétamol dégradé par photocatalyse au TiO₂) et G3: Groupe 3 (souris exposées au paracétamol dégradé par la souche E1.21). Les valeurs sont la moyenne ± ET (n = 5). a, b, c...: Les lettres minuscules représentent les différences selon Student-Newman-Keulstest à p <0,05
- Figure VI.4 :** Activités enzymatiques antioxydantes, taux de CAT, de MDA et d'AChE dans le foie et les reins des groupes témoins et expérimentaux de souris. G1: Groupe 1 (souris exposées au paracétamol pur), G2: Groupe 2 (souris exposées au paracétamol dégradé par photocatalyse au TiO₂) et G3: Groupe 3 (souris exposées au paracétamol dégradé par la souche E1.21). Les valeurs sont la moyenne ± ET (n = 5). a, b, c etc.: les lettres minuscules représentent les différences selon le test de Student-Newman-Keulsa a, b à p <0,05
- Figure IV.5 :** Histogramme montrant le poids corporels (exprimés en g) de souris exposées au paracétamol pur (Groupe 1), au paracétamol dégradé par photocatalyse TiO₂ (Groupe 2) et au paracétamol dégradé par la souche *P. putida* E1.21 (Groupe 3) au début et à la fin de l'expérience
- Figure VI.6 :** Histogramme montrant le poids relatif de foie et de rein (exprimés en mg/g), chez des souris mâles exposées au paracétamol pur (Groupe1), au paracétamol dégradé par photocatalyse TiO₂ (Groupe2) et au paracétamol dégradé par la souche *P. putida* E1.21 (Groupe3)

Figure VI.7 : Coupes histologiques du foie et des reins de groupes témoins et expérimentaux de souris (H&E, 100x). G1: Groupe 1 (souris exposées au paracétamol pur), G2: Groupe 2 (souris exposées au paracétamol dégradé par photocatalyse au TiO₂) et G3: Groupe 3 (souris exposées au paracétamol dégradé par la souche *P. putida* E1.21)

Liste des Tableaux

- Tableau II.1 :** Potentiel d'oxydation pour différents oxydants dans l'eau
- Tableau II.2 :** Classification des procédés d'oxydation avancée
- Tableau II.3 :** Energie de la bande gap de plusieurs photocatalyseurs
- Tableau II.4 :** Produits pharmaceutiques traités par photocatalyse hétérogène
- Tableau II.5 :** Supports de catalyseur et méthode de dépôt
- Tableau II.6 :** Dégradation photocatalytique de quelques composés pharmaceutique par photocatalyse.
- Tableau 0I.7 :** Avantages et Inconvénients de la photocatalyse
- Tableau IV.1 :** Propriétés physicochimiques du paracétamol
- Tableau IV.2 :** Principales données toxicologiques obtenues selon plusieurs approches
- Tableau IV.3 :** Produits utilisés dans le présent travail
- Tableau IV.4 :** Quelques caractéristiques des systèmes catalytiques utilisés dans la présente étude
- Tableau V.1 :** Constantes cinétiques de l'élimination du paracétamol par dégradation photocatalytique
- Tableau V.2 :** Comparaison entre les grandeurs expérimentales et calculées
- Tableau VI.1 :** Echantillons du paracétamol utilisés pour le test de phytotoxicité

Liste des sigles et abréviations

Abs :	Absorbance (-)
AChE :	Acétylcholinestérase
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AFSSAPS :	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
Ag :	Argent
Al₂O₃ :	Alumine
ALAT :	Alanine transaminase
ALP :	Phosphatase alcaline
ASAT :	Aspartate aminotransférase
BC :	Bande de conduction
BV :	Bande de valence
C :	Carbone
C :	Concentration de la solution
C₀ :	Concentration initiale
Cat :	Catalase
CBZ :	Carbamazépine
CdS :	Sulfure de cadmium
CeO₂ :	Oxyde de cérium (IV)
CLHP :	Chromatographie Liquide à Haute Performance
CIP :	Ciprofloxacine
CO₂ :	Dioxyde de carbone
CS :	Cellulose
CYP2E1 :	Cytochrome P450
DCF :	Diclofenac
DGS :	Direction générale de la santé
DO :	Densité optique
DPH :	Diphenhydramine
DRX :	Diffraction des Rayons X
e⁻ :	électron
E :	Energie
E_g :	Bande d'énergie interdite « gap »
E/H :	Eau-dans-Huile
EPA :	Agence de protection de l'environnement
Et :	Energie nécessaire à son activation
FDA :	Food and Drug Administration
GSH :	Glutathion
h⁺ :	trou positif
H⁺ :	Hydron

hν :	Photon
H&E :	Habitat et Environnement
HO₂⁻ :	Anion hydroperoxyde
HSO₄⁻ :	Ion hydrogénosulfate
H₂O[•] :	Radical hydroperoxyde
H₂O :	Eau
H₂O₂ :	Peroxyde d'hydrogène
I :	Intensité de la lumière
IG :	Indice de germination
IMP :	Imprégnation
ISO 14000 :	Organisation internationale de normalisation
IUPAC :	International Union of Pure and Applied Chemistry
K₁ :	Constante de vitesse du modèle du pseudo-premier ordre
K₂ :	Constante de vitesse du modèle du pseudo-second ordre
K₂S₂O₈ :	Persulfat de potassium
L :	Epaisseur de la cuve
La₂O₃ :	Oxyde de lanthane
LD₅₀ :	Concentration létale pour 50 %
LDH :	Lactate déshydrogénase
M :	Molaire
MDA :	Malondialdéhyde
MEB :	Microscopie Electronique à Balayage
MNU :	Médicaments non utilisés
MO :	Microscopie optique
N :	Azote
NaOH :	Hydroxyde de sodium
NAPQI :	N-acétyl-p-benzoquinone imine
NH₄OH :	Ammoniaque
Ni :	Nickel
O₂^{•-} :	Radicaux peroxydes
OFL :	Ofloxacin
OH⁻ :	Hydroxyle
•OH :	Radicaux hydroxyle
P :	Molécules organiques
PARA :	Paracétamol
PEC :	Predicted Environmental Concentration
PNEC :	Predicted No Effect Concentration
PNSE :	Plans nationaux santé environnement
PNSE1 :	Premier plan national santé environnement
PNSE2 :	Deuxième plan national santé environnement
POAs :	Procédés d'Oxydation Avancée

| Liste des sigles et abréviations

PS :	Polystyrène
pH_{pzc} :	Point de Zéro Charge
pH :	Potentiel hydrogène
PRP :	Précipitation
PhCs :	Composés pharmaceutiques
R² :	Coefficient de corrélation
R (%) :	Rendement de dégradation
Rpm :	Tour par minute
SC :	Semi-Conducteur
SGP :	Procédé Sol-Gel
SiO₂ :	Silice
Sol-Gel :	Solution-Gélification
STEP :	Stations d'épuration des eaux usées
SO₄^{-•} :	Sulfate radicals
SO₄²⁻ :	Ion sulfate
S₂O₈²⁻ :	Peroxodisulfate
t :	Temps
T :	Température
TBA :	Thiobarbiturique
TCA :	Trichloroacétique
THM :	Trihalométhanes
TiO₂ :	Dioxyde de titane
UBA :	Agence Fédérale allemande de l'environnement
UV :	Ultra Violet
V :	Vitesse
Vis :	Visible
ZnO :	Oxyde de zinc
ZnS :	Sulfure de zinc
Zn-SiO :	Zinc-Oxyde de silicium
WO₃ :	Trioxyde de tungstène
λ :	Longueur d'onde
Φ :	Flux lumineux
Φ_p :	Flux photonique
μS/cm :	MicroSiemens/centimètre.
ε :	Coefficient d'absorption molaire
θ :	Angle
°C :	Degré celcuce
V/ENH :	Volt / électrode normale à hydrogène

Sommaire

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Résumé	iii
Abstract	iv
ملخص	v
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	ix
Liste des sigles et abréviations	x
Introduction générale	
Contexte de l'étude	01
Objectifs de la thèse.....	03
Références Bibliographiques.....	05
Chapitre I. Source de contamination de l'environnement par les produits pharmaceutiques	
I.1. Introduction.....	06
I.2. Les résidus médicamenteux dans les effluents urbains.....	07
I.3. Les résidus médicamenteux dans les effluents industriels.....	08
I.4. Le paracétamol : entre besoin et danger.....	08
I.4.1. Le paracétamol, peut-il être dangereux?.....	09
I.4.2. Toxicité et écotoxicité du paracétamol.....	09
I.4.3. Effet du paracétamol sur l'environnement.....	10
I.4.4. Législation.....	10
I.5. Procédés de traitement des effluents chargés en résidus médicamenteux.....	11
I.6. Références bibliographiques.....	13
Chapitre II. La photocatalyse hétérogène: Principe et mécanisme	
II.1. Introduction.....	17
II.2. Procédés d'oxydation avancée.....	17
II.2.1. Introduction.....	17
II.2.2. Espèces radicalaires.....	18
a) Formation des espèces radicalaires.....	18

b) Mécanisme d'oxydation par le radical hydroxyle.....	19
c) Réactivité des radicaux hydroxyles $\bullet\text{OH}$	19
II.2.3. Principe de fonctionnement des principales techniques d'oxydation avancée.....	19
II.3. Photocatalyse hétérogène.....	20
II.3.1. Semi-conducteurs actifs en photocatalyse.....	20
II.3.2. Principe et définitions.....	23
II.3.3. Mécanismes de dégradation de composés organiques par photocatalyse.....	25
II.4. Différents types de catalyseurs utilisés en photocatalyse.....	26
II.5. Facteurs influençant le procédé de photocatalyse.....	27
II.5.1. Influence de la concentration en catalyseur.....	27
II.5.2. Influence de la température.....	28
II.5.3. Influence du flux lumineux.....	29
II.5.4. Influence de la longueur d'onde.....	29
II.5.5. Influence du pH.....	30
II.5.6. Influence de la présence d'accepteurs d'électrons (O_2 , H_2O_2 , $\text{k}_2\text{S}_2\text{O}_8$, ...).....	30
II.5.7. Influence de la masse de catalyseur.....	31
II.6. Catalyseurs supportés.....	32
II.6.1. Elaboration des catalyseurs supportés.....	33
a) Préparation des catalyseurs par imprégnation (IMP).....	34
b) Procédé Sol-Gel (SGP).....	34
c) Microémulsion.....	35
d) Préparation des catalyseurs par précipitation (PRP).....	35
II.6.2. Rétrospectives sur les polluants d'origine pharmaceutique traités par Photocatalyse.....	35
II.7. Références Bibliographiques.....	38

Chapitre III. Tests de toxicité

III.1. Devenir des résidus pharmaceutiques dans l'environnement.....	44
III.2. Impact des résidus pharmaceutiques.....	45
III.2.1. Les risques pour la santé humaine.....	45
a) Nocivité directe.....	45
b) Nocivité indirecte.....	46
III.2.2. Risques écotoxicologiques.....	46
III.2.3. Biosurveillance : Outils de contrôle de contaminants pharmaceutiques.....	47
a) Biomarqueur de génotoxicité.....	47

b) Biomarqueurs histologiques.....	48
III.3. Références Bibliographiques.....	49

Chapitre IV. Matériels et Méthodes expérimentales

IV. 1. Introduction.....	53
IV.2. Polluant et produits chimiques.....	53
IV.2.1. Le paracétamol (Propriétés physicochimiques, données toxicologiques).....	53
IV.2.2. Produits chimiques.....	55
IV.3. Catalyseurs-Mise en œuvre.....	55
IV.4. Description et fonctionnement du dispositif expérimental.....	56
IV.5. Techniques d'analyse.....	57
IV.5.1. Spectrophotométrie UV-vis- Analyse du paracétamol.....	57
IV.5.2. CLHP- Analyse des sous-produits de dégradation.....	58
IV.5.3. DRX et MEB- Caractérisation des catalyseurs.....	59
IV.5.4. Tests de phytotoxicité- Analyse des solutions photocatalysées.....	61
IV.5.5. Tests de toxicité <i>in-vivo</i> - Analyse des solutions photocatalysées.....	61
IV.6. Références Bibliographiques.....	67

Chapitre V. Etude expérimentale de l'activité photocatalytique des catalyseurs supportés-Dégradation du paracétamol

V.1. Introduction.....	69
V.2. Morphologie et structure cristalline des systèmes catalytiques.....	69
V.2.1. Analyse par DRX.....	69
V.2.2. Analyse par MEB.....	70
V.3. Activité photocatalytique de TiO ₂ /Cellulose et ZnO/Polystyrène.....	71
V.3.1. Effet de la présence de catalyseur sur la dégradation du paracétamol.....	72
V.3.2. Effet de la nature de la lumière (UV, Visible ou Solaire).....	73
V.4. Etude paramétrique du procédé.....	74
V.4.1. Effet de la dose de catalyseur.....	75
V.4.2. Effet de la concentration initiale du polluant.....	76
V.4.3. Effet du pH sur la photodisparition du paracétamol.....	77
V.5. Effet des oxydants sur la photodégradation du paracétamol.....	79
V.6. Analyse des sous-produits de dégradation.....	80
V.7. Modélisation cinétique du procédé photocatalytique.....	82
V.8. Références Bibliographiques.....	85

Chapitre VI. Investigation des tests de toxicité

VI.1. Introduction.....	88
VI.2. Phytotoxicité.....	88
VI.3. Paramètres biochimiques.....	91
VI.3.1. Analyse fonctionnelle de sérum.....	91
VI.3.2. Activité des enzymes antioxydantes.....	93
VI.4. Etude morphologique.....	95
VI.4.1. Effets du paracétamol pur et traiter sur le poids corporel.....	95
VI.4.2. Effets du paracétamol pur et traiter sur le poids relatif du foie et rein.....	95
VI.5. Etude histologique.....	96
VI.6. Références Bibliographiques.....	98
Conclusion générale et perspectives.....	100
Annexes.....	102

Introduction Générale

Introduction générale

Contexte de l'étude

Depuis les années 1980, différentes études menées dans le monde entier ont montré la présence de médicaments à usage humain et animalier et de leurs métabolites dans l'eau [1]. La contamination de l'eau par les résidus pharmaceutiques est devenue aujourd'hui un sujet de préoccupation. Cette pollution émergente a fait preuve d'inquiétude à l'échelle mondiale. Partout dans le monde, des milliers de tonnes de substances pharmacologiques sont chaque année consommés en médecine humaine pour le diagnostic, le traitement, ou la prévention de maladies, aussi le secteur vétérinaire utilise excessivement ces substances pharmaceutiques comme promoteurs de croissance, préventifs des maladies, ou comme parasitocides. Néanmoins, après leur utilisation, les médicaments sont partiellement métabolisés et parfois rejetés sous forme du composé parent inchangé. Après administration, 5-90% des médicaments peuvent être excrétés inchangés ou partiellement métabolisés par l'organisme. Selon nombreuses études on peut constater qu'il y a différentes sources d'émission et qui sont classées en deux catégories, la première catégorie est celle des sources d'émissions diffuses consécutives aux rejets de substances médicamenteuses et de leurs dérivés dans les rejets d'eau domestique (urines et fèces de la population humaine et des animaux de compagnie, ordures ménagères) et la seconde catégorie est celle des sources d'émissions ponctuelles liées aux rejets industriels pharmaceutiques et les établissements de soins (hôpitaux et cliniques), des élevages industriels des animaux [2-4]. L'environnement représente le milieu récepteur final de nombreuses substances médicamenteuses. Pendant les dernières années, les études scientifiques se sont multipliées et ont montré la présence de ces résidus dans l'environnement et en particulier dans l'eau [4]. Parmi les principales sources de contamination des eaux superficielles on peut citer principalement les effluents domestiques, mais également les effluents hospitaliers, ou encore les usines de fabrication et de conditionnement des médicaments. Généralement tous les médicaments finissent dans les STEP s sauf ceux utilisés dans l'élevage et l'aquaculture ou ceux rejetés directement dans l'environnement, c'est pour cela les STEP s jouent un grand rôle dans la dissémination des résidus pharmaceutiques [5-8].

Une fois les résidus de produits pharmaceutiques présents dans les STEP s, la plupart d'entre eux subissent des modifications chimiques, issues de processus de transformations métaboliques. Les métabolites ainsi générés peuvent être plus ou moins actifs ou plus ou moins toxiques que le médicament initial. Le rendement d'élimination des molécules pharmaceutiques et de leurs métabolites dans les stations d'épuration est fonction des caractéristiques de traitement (procédés, temps de rétention dans la station, nature des influents) et des propriétés physicochimiques des molécules [9]. De plus, la détection de ces molécules dans l'environnement indique que les stations d'épuration des eaux usées ne

permettent pas de les éliminer par les méthodes classiques (traitement biologique, procédés membranaires, adsorption sur charbon actif, coagulation-floculation, etc.), ce qui peut expliquer la relation entre la consommation de produits pharmaceutiques et l'efficacité des STEP. Certains polluants si difficiles à éliminer passent par les stations d'épuration sans nécessairement perdre leur nature génotoxique et sont donc directement rejetés dans les écosystèmes naturels [10-13]. Sur la base d'une analyse de plusieurs études, des résidus de produits pharmaceutiques ont été détectés dans différents compartiments de l'environnement à des concentrations allant de 1 à 10 µg/L dans les eaux usées, 10–100 ng/L dans les eaux de surface, 1 ng/L dans les eaux de boisson, 110 à 980 ng/L dans les eaux souterraines et < 1 µg/L dans les eaux estuariennes et côtières [14].

Depuis quelques décennies, les techniques d'oxydation avancée constituent l'une des voies efficaces permettant la destruction totale de la majorité des polluants organiques : solvants, pesticides, colorant et composés pharmaceutiques. Divers procédés d'oxydation ont été testés dans l'assainissement des effluents contenant des résidus de médicaments. Les procédés d'oxydation avancée tels que l'électrochimie (électrooxydation avec ou sans génération de chlore actif) et Fenton (photo-Fenton et électro-Fenton) et les procédés de photocatalyse hétérogène (UV/H₂O₂, UV/K₂S₂O₈, UV/TiO₂ ou UV/ZnO, ...) se sont révélés intéressants et efficaces. Particulièrement, la photocatalyse est un processus catalytique induit par la lumière qui oxyde ou réduit les molécules organiques par des réactions se déroulant à la surface des semi-conducteurs sous irradiation lumineuse. Au cours du phénomène, des radicaux libres ($\bullet\text{OH}$, $\text{H}_2\text{O}\bullet$ et $\text{O}_2\bullet$) sont générés qui réagiront avec les polluants ce qui conduit à sa dégradation et/ou à sa minéralisation.

Actuellement, la recherche de nouveaux matériaux catalytiques est particulièrement orientée vers la préparation de catalyseurs performants qui doivent répondre à certains critères : stabilité à long terme, activité catalytique élevée, sélectivité, reproductibilité, facilité de mise en œuvre et faible coût. Dans ce cas, le choix du support est un élément clé. Le dioxyde de titane (TiO₂) est le photocatalyseur le plus utilisé en traitement d'eau résiduaire industrielle, en raison de la faible énergie nécessaire à son activation ($E_g = 3,2$ eV). De plus ce semi-conducteur est biologiquement et chimiquement inerte, stable (en milieu acide et basique), insoluble, non toxique et moins coûteux que d'autres catalyseurs. Sa forme anatase apparaît comme la plus photoactive. Un autre oxyde de métal utilisé en photocatalyse est l'oxyde de zinc (ZnO) qui a fait l'objet d'intérêt dès les années 1970. Ce matériau a des propriétés fondamentales attractives, une large bande de gap soit 3,2 eV et une grande énergie de liaison d'excitation. Un oxyde de métal soumis à une excitation d'énergie supérieure à sa largeur de bande interdite, provoque l'éjection d'un électron de la bande de valence (BV) vers la bande de conduction (BC).

Les résidus pharmaceutiques peuvent passer dans l'environnement et présenter un risque potentiel pour la santé humaine. Des outils de contrôle de ces contaminants sont alors utilisés pour la surveillance des écosystèmes naturels afin d'estimer cette pollution. Ainsi, la biosurveillance (ou biomonitoring) est apparue comme une technique alternative aux analyses chimiques souvent onéreuses et globalement complexes lorsqu'il s'agit de

mélange de contaminants. Ce type de bioessais s'appuie généralement sur des critères de mesure d'effets sur des espèces animales et végétales. Suite à l'exposition à des contaminants, ces espèces appelées alors biomarqueurs présentent des changements au niveau morphologique, physiologique, moléculaire et biochimique. Ce type de bioessais peut également être utilisé pour évaluer l'effet d'un procédé de traitement sur des effluents gazeux, liquides ou solides. Ainsi, des tests de toxicité *in-vitro* (plantes terrestres et aquatiques, graines, ...) et *in-vivo* (souris, poissons, ...) sont toujours intéressants à appliquer sur des effluents ayant préalablement subi un traitement d'épuration.

Objectifs de la thèse

La prise de conscience des dangers que représentent les polluants d'origine pharmaceutique a conduit les communautés scientifiques à réfléchir aux meilleures méthodes pour le contrôle de cette pollution contribuant de plus en plus au déséquilibre des écosystèmes naturels. Cette thèse s'inscrit dans le cadre de la contribution à l'épuration des eaux chargées en résidus médicamenteux rejetées par les industries pharmaceutiques et les établissements hospitaliers. L'objectif principal de ce projet est l'étude de l'activité photocatalytique de catalyseurs déposés sur différents supports. Ceci est appliqué à la dégradation photocatalytique de l'acétaminophène (ou paracétamol) en solution aqueuse. Ce médicament est choisi comme molécule modèle représentative des polluants présents dans les résidus médicamenteux. Spécifiquement, les objectifs visés sont :

- L'analyse de l'efficacité des deux systèmes catalytiques sélectionnés, à savoir TiO₂/cellulose et ZnO/polystyrène activés par différentes sources lumineuses ;
- Appliquer les deux catalyseurs à la dégradation photocatalytique du paracétamol en tentant d'optimiser le procédé de photocatalyse en vue de déduire celui qui est le plus performant ;
- Elaborer en parallèle un procédé de biodégradation du polluant choisi dans le but de le comparer au premier. Ce point ne faisant pas partie des premiers objectifs de la thèse apporterait certainement un plus au projet étant donné que la biodégradation est considérée comme une option peu coûteuse respectueuse de l'environnement ayant le potentiel d'éliminer les produits pharmaceutiques en les dégradant en produits finis inoffensifs tels que du CO₂ et du H₂O [15].
- Evaluer le degré de toxicité des échantillons traités par photocatalyse et biodégradation en utilisant des tests sur la flore (phytotoxicité) et la faune (étude *in-vivo*) ; les premiers tests sont réalisés sur des graines de cresson et les seconds sont menés au laboratoire sur des souris blanches.

Les travaux de cette thèse sont présentés dans deux parties différentes et répartis en six principaux chapitres. La première partie est réservée à l'étude bibliographique et la seconde est consacrée aux méthodes et résultats expérimentaux. De façon succincte :

- Le **premier chapitre** concerne une revue bibliographique sur les substances médicamenteuses et leur impact sur l'environnement ;
- Le **deuxième chapitre** englobe des généralités sur le traitement des eaux contaminées par les composés pharmaceutiques et les procédés d'oxydation avancée (POA); il traite en particulier la photocatalyse hétérogène ;
- Le **troisième chapitre** est consacré aux tests de toxicité et est centré sur les outils biologiques de contrôle des polluants pharmaceutiques présents dans l'environnement ;
- Dans le **quatrième chapitre**, est présenté l'ensemble des techniques d'analyse et des protocoles expérimentaux nécessaires à la réalisation du présent travail.
- Le **cinquième chapitre** est consacré à l'étude et l'optimisation du procédé de dégradation photocatalytique de l'acétaminophène en présence de TiO₂/cellulose et ZnO/polystyrène. Les différentes expériences sont soutenues par des techniques analytiques (CLHP, MEB, DRX, spectrophotométrie UV-vis) nécessaires à l'analyse du phénomène étudié ;
- Enfin, le **sixième** chapitre rassemble les principaux résultats de l'effet de l'efficacité de la photocatalyse et la biodégradation sur la nature des solutions traitées. Des études toxicologiques sont donc réalisées sur des souris blanches (*in-vivo*) et sur des graines de cresson (étude phytotoxique) ;

Le manuscrit est terminé par une conclusion générale résumant succinctement les résultats essentiels de la thèse et d'annexes rassemblant quelques éléments complémentaires au projet.

Références bibliographiques

- [1] Richardson ML., Bowron JM. 1985. The fate of pharmaceutical chemicals in the aquatic environment. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 1-12.
- [2] Zhang L., Hu J., Zhu R., Zhou Q., Chen J. 2013. Degradation of paracetamol by pure bacterial cultures and their microbial consortium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 3687-3698.
- [3] Nikolaou A., Meric S., Fatta D. 2007. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal Bioanal Chem.* 387, 1225-1234.
- [4] Kümmerer K., Al-Ahmad A. 2010. Estimation of the cancer, risk to humans from cyclophosphamide and ifosfamide excreta emitted into surface water via hospital effluents. *Environ. Sci. Pollut. R.* 17, 486-96.
- [5] Heberer T. 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. *Toxicol. Lett.* 131, 5-17.
- [6] Daughton CG., Ternes TA. 1999. Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ. Health Perspect.* 107, 907-38.
- [7] Kümmerer K. 2001. Drugs, diagnostic agents and disinfectants in waste water and water-a review. *Chemosphere.* 45, 957-69.
- [8] Benotti MJ., Trenholm RA., Vanderford BJ., Holady JC., Stanford BD., Snyder SA. 2009. Pharmaceuticals and endocrine disrupting compound in U.S. drinking water. *Environ. Sci. Technol.* 43, 597-603.
- [9] Joss A., Keller E., Alder AC., Gobela A., McArdella CS, Ternes T., Siegrista H. 2005. Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research.* 39, 3139-3152.
- [10] Carballa M., Omil F., Lema JM., Llompart M., Garcia C., Rodriguez I., Gomez M., Ternes T. 2005. Behaviour of pharmaceuticals and personal care products in a sewage treatment plant of northwest Spain. *Water Sci. Technol.* 52, 29-35.
- [11] Al-Kaf AG., Naji KM., Mohamed Abdullah QY., Ali Edrees WH. 2017. Occurrence of paracetamol in aquatic environments and transformation by microorganisms : a review. *Chronic Pharma Sci.* 1, 341-355.
- [12] Mater N., G eret F., Castillo L., Marquis-Faucet V., Albasi C., PfohlLeszkowiz A. 2014. In vitro tests aiding ecological risk assessment of ciprofloxacin, tamoxifen and cyclophosphamide in range of concentrations released in hospital wastewater and surface water. *Environ Int.* 63, 191-200.
- [13] Gros M., Petrovic M., Barcelo D. 2009. Tracing pharmaceutical residues of different therapeutic classes in environmental waters by using liquid chromatography / quadrupole-linear on trap mass spectrometry and automated library searching. *Anal. Chem.* 81, 898-912 ;
- [14] Yang L., Yu LE., Ray MB. 2008. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ photocatalysis. *Water Res.* 42(13), 3480-3488.
- [15] Hasan SA., Ferreira MIM., Koetsier MJ., Arif MI., Janssen DB. 2011. Complete biodegradation of 4-fluorocinnamic acid by a consortium comprising *Arithrobacter* sp. strain G1 and *Ralstonia* sp. strain H1. *Appl Environ Microbiol.* 77(2), 572-579.



Chapitre I

Source de contamination de l'environnement par les produits pharmaceutiques

Le présent chapitre permettra de s'informer sur les substances médicamenteuses rejetées dans les effluents urbains et industriels. Une attention particulière sera portée au produit paracétamol.

Chapitre I. Source de contamination de l'environnement par les produits pharmaceutiques

I.1. Introduction

Ces dernières années, les populations du monde sont devenues de plus en plus conscientes des conséquences de rejet des composés pharmaceutiques dans l'environnement. La consommation de produits pharmaceutiques par des actions humaines de manière délibérée et involontaires et par des actions animales représente la principale source de rejet des composés pharmaceutiques dans l'environnement [1,2]. Aujourd'hui les résidus pharmaceutiques pénètrent dans les écosystèmes aquatiques par des voies multiples bien identifiées. Il existe deux sources principales de contamination de l'environnement : les sources diffuses qui concernent les médicaments à usage humaine et vétérinaire et les sources ponctuelles par les rejets des industries chimiques ou pharmaceutiques. Ces résidus qui sont rejetés dans l'environnement ne sont malheureusement pas complètement dégradés dans les stations d'épuration au cours du traitement ; le taux d'élimination varie largement selon leurs propriétés physico-chimiques (l'efficacité de celui-ci très aléatoire, est globalement de 60% mais avec des variations de 2 à 99% selon les molécules). La possibilité de contamination des cultures agricoles est envisageable à cause de la réutilisation des boues des stations d'épuration parfois riches en substances lipophiles [3-8]. D'après l'étude de **Loos et al**, sur les 156 produits pharmaceutiques présents dans les effluents de 90 stations d'épuration européennes (STEPs), on montre que 125 substances (80% des composés ciblés) dans les effluents d'eaux usées européennes sont présentes à des concentrations allant de faibles nanogrammes à quelques milligrammes par litre.

La contamination atteint également les eaux souterraines avec des concentrations faibles de l'ordre de quelques ng/L, les eaux de surface avec quelques dizaines de ng/L et parfois les eaux destinées à l'alimentation humaine [10]. L'étude menée par l'Agence Fédérale allemande de l'environnement (UBA) a collecté des données sur la concentration environnementale en Allemagne. L'étude a montré que 156 produits pharmaceutiques ont été détectés en Allemagne dans des milieux environnementaux tels que les eaux de surface, les eaux souterraines et l'eau potable [11]. Sur la **Figure I.1**, sont représentées les différentes sources de contamination et les principales voies d'entrée des résidus médicamenteux dans notre environnement.

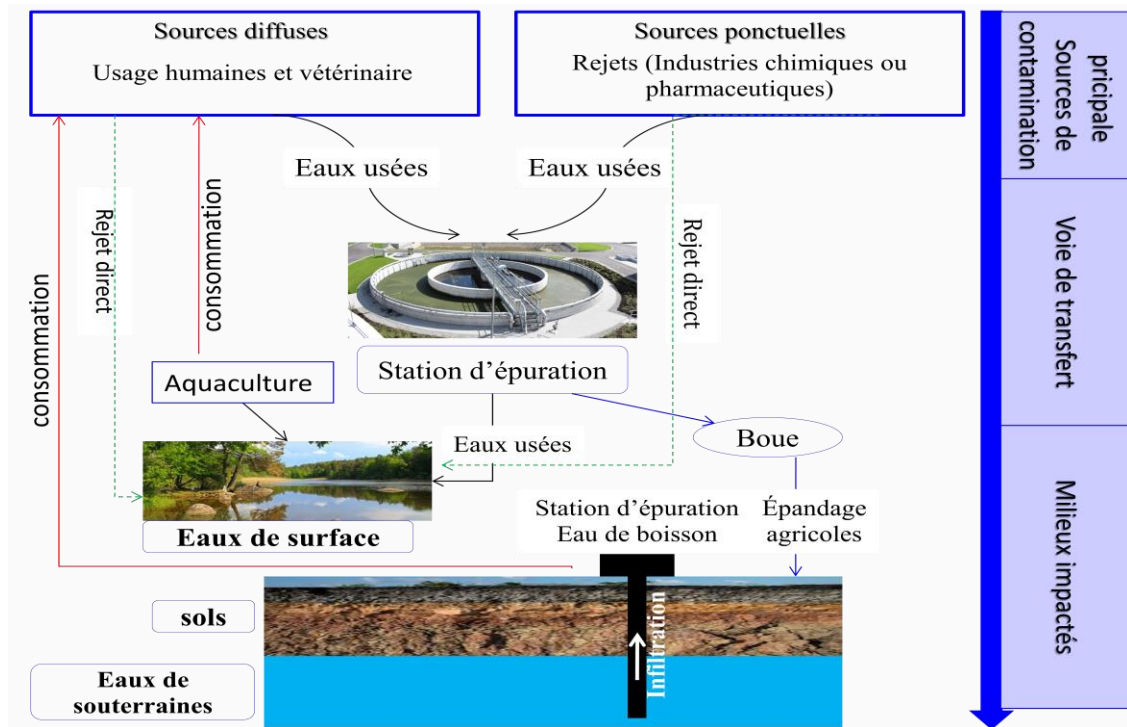


Figure I.1. Schéma représentatif des différentes sources et des principales voies d'entrée des composés pharmaceutiques dans l'environnement [12]

La France fait partie des États Européens les plus engagés en matière de santé environnementale. Cela se traduit notamment par la mise en œuvre des trois Plans nationaux santé environnement (PNSE) qui se sont succédé depuis la conférence de Budapest en 2004. Le quatrième plan national santé environnement (PNSE4), s'engage dans une approche intégrée et unifiée de la santé publique, animale et environnementale autour du concept « un monde, une santé » ou « One Health » [13].

I.2. Les résidus médicamenteux dans les effluents urbains

Les résidus de médicaments représentent aujourd'hui une vaste catégorie issue de substances d'origine médicamenteuse. En 2011, la France utilise plus de 3000 substances actives à usage humain dans la composition de médicaments soumis à prescription [14]. Une fois le médicament administré par ingestion, voie cutanée ou voie injectable, ce médicament est métabolisé puis excrété dans les urines ou les fèces. Ces métabolites se retrouvent ensuite dans le réseau des eaux usées. On retrouve alors une partie des médicaments dans les STEP ; une fraction des résidus peut aussi contaminer les sols et peut ainsi exercer des effets divers sur les organismes.

Les médicaments non utilisés ou périmés (MNU) jouent un rôle important dans la contamination de l'environnement par la dispersion directe dans les eaux usées ou à travers des déchets ménagers. Une partie de ces rejets est due à une mauvaise gestion. Il

s'agit d'une voie mineure mais elle est tout de même à prendre en compte. Il est donc important de lutter contre les rejets des MNU dans les déchets ménagers, directement dans les égouts ou encore dans les toilettes [12]. Depuis quelques années, on a pris l'habitude dans certains pays développés de déposer les MNU dans les pharmacies ; approximativement, 70% de médicaments non utilisés d'origine personnelle peuvent être déposés [15].

Une autre source de contamination de l'environnement concerne les médicaments destinés à l'usage vétérinaire mais qui représentent une source mineure de pollution. Ces médicaments se retrouvent dans les eaux usées, notamment dans les eaux pluviales lorsqu'il existe un réseau séparatif. Les médicaments à usage vétérinaire représentent un faible pourcentage par rapport aux médicaments à usage humain [16,17].

I.3. Les résidus médicamenteux dans les effluents industriels

Les effluents industriels constituent la deuxième source d'introduction de résidus médicamenteux dans l'environnement. Les industries répondent aux normes ISO14000 qui est une norme internationalement reconnue qui établit les exigences relatives à un système de management environnemental [18].

L'industrie chimique est liée aux procédés de fabrication des molécules qui passent par certaines étapes telles que: la formulation, la synthèse et le conditionnement du produit qui pourraient entraîner des pertes de résidus médicamenteux dans les eaux de transformation ou de lavage. Certaines industries envoient leurs eaux usées directement dans le réseau d'eaux résiduaires urbaines malgré la présence de stations d'épurations propres à ces industries [17].

L'industrie pharmaceutique se caractérise aussi par des molécules en formes pharmaceutiques. Une étude allemande a rapporté des concentrations élevées de phénazone et de diméthylaminophénazone (jusqu'à 95 µg/L) dans la vallée du Main, alors qu'elles ne dépassent pas 0,024 µg/L dans les vallées voisines à fortes concentrations d'entreprises. De même, des rejets de 45 kg/j de diclofénac ont été évalués dans le Rhin, à Mayenne, en relation avec la présence de plusieurs sites de production [3].

I.4. Le paracétamol : entre besoin et danger

Selon le langage de la santé publique, un médicament est défini comme une substance possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales. Un médicament est en fait composé d'un principe actif, qui est la substance lui conférant ses propriétés thérapeutiques, associé à des excipients qui sont des substances inactives.

Les médicaments sont classés par des méthodes multiples et peuvent prendre en compte leur mode d'action, leur indication thérapeutique ou leur structure chimique. Les

analgésiques représentent la classe médicamenteuse la plus consommée à travers le monde. Particulièrement, le paracétamol est le principe actif le plus consommé en raison de ses propriétés antalgiques (qui luttent contre la douleur) et antipyrétiques (qui luttent contre la fièvre) [19]. Depuis les années 1960, grâce à son innocuité à dose thérapeutique et malgré son absence d'action anti-inflammatoire, sa consommation ne fait que croître. La consommation en tonne par ans de paracétamol dans quelques pays européens affleure les 1000 Tonnes/an [20,21]. Le paracétamol reste un médicament sous forme non ionisée au niveau de l'estomac ce qui facilite son absorption [22].

I.4.1. Le paracétamol, peut-il être dangereux ?

A dose thérapeutique, le paracétamol est sans risque car il est presque totalement dégradé en métabolites (95-98%), non toxiques au niveau hépatique grâce aux systèmes enzymatiques microsomaux donnant des formes inactives hydrosolubles et excrétées par le rein. Mais une surdose de paracétamol ou des prises élevées et fréquentes de cet antidouleur peut induire une nécrose hépatique. L'hépatotoxicité, risque majeur des intoxications par le paracétamol, est fortement réduite aux doses thérapeutiques mais s'accroît lors de surdosage [22,23].

I.4.2. Toxicité et écotoxicité du paracétamol

Les effets toxiques des analgésiques tels que le paracétamol sont beaucoup plus remarquables sur les organismes aquatiques (poissons, algues et moules) et terrestres. Les valeurs des unités toxiques indiquent que les antalgiques constituent le groupe thérapeutique responsable de l'effet toxique le plus élevé comme des perturbateurs endocriniens. Des effets toxiques peuvent survenir sans bioaccumulation et l'enjeu associé aux médicaments concerne leur toxicité chronique, consécutive à des expositions à de faibles concentrations à long terme. Les seuils de toxicité aiguë, caractérisés par la concentration létale pour 50% des individus (LD50) sont supérieurs au mg/L. En effet, l'acétaminophène peut causer une nécrose hépatique, néphrotoxicité, lésions extra-hépatiques et même la mort chez l'homme et les animaux en cas de surdose [24-26].

Les tests de toxicité sur les contaminants de l'eau sont généralement effectués pour tester les effets d'un seul polluant sur divers organismes (bactéries, algues, daphnies et poissons) [27]. Il existe différents tests standards pour mesurer l'écotoxicité, l'un de ces tests est le facteur PEC/PNEC, c'est-à-dire le rapport entre la concentration de la substance dans l'environnement (PEC = Predicted Environmental Concentration) et la concentration prédite sans effet (PNEC = Predicted No Effect Concentration). Le médicament analgésique, est considéré comme dangereux sur l'environnement quand le rapport PEC/PNEC dépasse 1 [28].

I.4.3. Effet du paracétamol sur l'environnement

Le paracétamol est un des médicaments sans ordonnance les plus vendus [29]. En raison de cette consommation, ce composé a été couramment trouvé avec des concentrations croissantes dans l'environnement [30] ; ce médicament est récemment considéré comme un nouveau groupe de polluants, connus sous le nom de « nouveaux polluants émergents » [25]. L'exposition chronique aux traces pharmaceutiques peut être une menace possible pour le milieu aquatique, l'air, le sol et la faune, sans négliger les risques marqués sur la santé humaine [25,31]. Si le paracétamol y est dégradé à plus de 90%, il reste des traces dans les eaux usées remises en circulation, puis dans les eaux de surface [32]. D'ailleurs, il est l'un des produits pharmaceutiques les plus fréquemment détectés dans les eaux naturelles. Les concentrations du paracétamol de 48,74 mg/L dans les eaux usées et de 25 ng/L dans les eaux de surface ont été trouvées dans diverses études [24]. Des valeurs similaires ont été signalées dans les eaux usées affluentes, avec des concentrations moyennes allant de 6,92 à 492,34 mg/L [33]. Bien que le paracétamol soit considéré comme persistant dans l'eau, il n'est pas bioaccumulable pour les organismes aquatiques [34]. Il peut être hépatotoxique en cas de surdosage, une condition entièrement documentée chez les animaux de laboratoire et les humains [35].

I.4.4. Législation

La présence de résidus de médicaments dans les eaux est régulièrement évoquée dans les médias. Ce ne sont pas des polluants des milieux aquatiques comme les autres. La France est le 1^{er} consommateur européen de médicaments vétérinaires (300 molécules), et le 4^{ème} consommateur mondial de médicaments humains (3 000 molécules).

Cette étude a été inscrite en France dans le premier Plan National Santé Environnement (PNSE 1) qui planifiait que des campagnes d'analyses soient conduites par les Agences de l'eau dans les eaux et en particulier dans celles destinées à la consommation humaine [36].

Poursuivi dans le PNSE 2, le plan intervient par [37] :

- L'élaboration d'une stratégie de hiérarchisation sur la base de critères pertinents pour retenir une liste de molécules prioritaires à rechercher dans les eaux ;
- La conception d'un plan d'échantillonnage national représentatif permettant d'estimer l'exposition des populations aux résidus de médicaments dans différents types d'eaux (eaux superficielles et eaux souterraines) utilisés pour la production d'eaux destinées à la consommation humaine.
- L'élaboration de bonnes pratiques pour la gestion des déchets de médicaments dans les établissements de santé afin d'éviter leur rejet dans les eaux usées et leur dissémination dans l'environnement.

La loi canadienne sur la protection de l'environnement exige une évaluation environnementale pour les nouveaux produits pharmaceutiques, les additifs alimentaires, produits de santé naturels, médicaments vétérinaires, cosmétiques, les thérapies

biologiques et génétiques via le règlement sur les renseignements sur les substances nouvelles [38].

Aux États-Unis, la FDA (Food and Drug Administration) a émis une directive quant à une évaluation environnementale d'un produit pharmaceutique commercialisé si celui-ci est susceptible de se retrouver dans l'environnement à une concentration supérieure à 1 µg/L (FDA - CDER, 1998) [39].

De nombreuses études internationales ont mis en évidence la présence dans l'eau des rivières de médicaments à l'état de traces, et leurs effets biologiques sur les écosystèmes.

I.5. Procédés de traitement des effluents chargés en résidus médicamenteux

Diverses stratégies de traitement des effluents chargés en résidus médicamenteux sont mises en œuvre. Certaines sont encore à une étape conceptuelle en vue d'une optimisation et extrapolation à grande échelle. Parmi les nombreux procédés de traitement, on ne cite que :

- **L'Ozonation** : ce traitement dégrade les molécules de médicaments pour former des molécules davantage biodégradables. Cependant, étant donné le peu de connaissance des sous-produits, certains étant potentiellement toxiques, les chercheurs recommandent d'ajouter une filtration sur sable pour les éliminer. Les résultats présentés dans l'étude de Mettler et al. [40] semblent encourageants : sur les 47 substances étudiées, seules huit ne sont pas éliminées à plus de 80%. Ces résultats confirment l'efficacité de l'ozone dans la destruction des micropolluants présents dans des résidus de médicaments et de soins corporels. Ainsi, 34 des 35 médicaments ont été totalement détruits après un traitement d'une vingtaine de minutes. En Europe, le traitement par ozonation tend à se généraliser dans les grandes et moyennes stations d'épuration. Ces traitements ont évidemment un coût qui se répercutera sur le prix de l'eau.

-**Le piégeage sur du charbon actif** : ce traitement constitue une deuxième technique de potabilisation qui pourrait être appliquée pour éliminer les micropolluants en sortie de STEP. Si la technique semble efficace, la régénération du charbon actif est néanmoins difficile à estimer. Cette technologie accroît les volumes de boues à éliminer (résidus du traitement des eaux usées) [41].

-**La photocatalyse** : Les applications potentielles de la photocatalyse hétérogène sont nombreuses et les développements industriels sont en cours. Mais la faisabilité de l'installation industrielle d'un procédé photocatalytique dépend du type d'effluent à traiter. En effet, la photocatalyse permet une dégradation et une minéralisation complète de polluants organiques, mais les cinétiques de dégradation sont relativement faibles. Dès lors, l'application ne sera possible que pour des effluents d'un volume limité.

Concernant l'épuration des eaux usées, il paraît difficile d'être compétitif vis-à-vis des autres techniques existantes (notamment la dégradation biologique). Par contre, de par sa

capacité à traiter des effluents peu concentrés, la photocatalyse peut devenir une technique qui, combinée à l'adsorption sur charbon actif, est bien adaptée pour des traitements pointus de finition. Par rapport au charbon actif, avec lequel il y a un simple transfert de pollution, le procédé UV/TiO₂ présente le grand avantage de permettre la minéralisation totale du ou des polluants.

I.6. Références Bibliographiques

- [1] McEneff G., Schmidt W., Quinn B. 2015. Pharmaceuticals in the Aquatic Environment: A Short Summary of Current Knowledge and the Potential Impacts on Aquatic Biota and Humans. *Environmental Protection Agency*. 142, 52.
- [2] Besse JP. 2010. Impact environnemental des médicaments à usage humain sur le milieu récepteur : évaluation de l'exposition et des effets biologiques pour les écosystèmes d'eau douce. Thèse de Doctorat, Université de METZ-UFR SCI.F.A. 310p.
- [3] Haguenoer JM. 2010. Les résidus de médicaments présentent-ils un risque pour la santé publique?. *Santé publique*. 22, 325-342.
- [4] Togola A., Amalric L., Bristeau S. 2008. Les substances pharmaceutiques dans les eaux superficielles et souterraines du bassin Loire-Bretagne. Rapport final. BRGM/RP.
- [5] Cunningham VL., Buzby M., Hutchinson T., Mastrocco F., Prank M., roden N. 2006. Effects of Human Pharmaceuticals on Aquatic Life: Next Steps. *Environmental Science Technology*. 40, 11, 3456-3462.
- [6] Metcalfe CD. 2013. Pharmaceutical contaminants of emerging concern in the environment. *Environmental toxicology and chemistry*. 32(8), 1683-1684.
- [7] Brausch JM., Connors KA., Brooks BW., Rand GM. 2012. Produits pharmaceutiques à usage humain dans le milieu aquatique: examen des études toxicologiques récentes et considérations relatives aux essais de toxicité. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 218, 1-99.
- [8] Mater N. 2014. Evaluation de l'impact (eco)toxicologique de résidus médicamenteux présents dans les effluents hospitaliers, urbains et dans l'environnement à l'aide d'une batterie de bioessais et de biomarqueurs. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse. 286p.
- [9] Loos R., Carvalho R., António DC., Comero S., Locoro G., Tavazzi S., Paracchini B., Ghiani M., Lettieri T., Blaha L., Jarosova B., Voorspoels S., Servaes K., Haglund P., Fick J., Lindberg RH., Schwesig D., Gawlik BM. 2013. EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Research*. 47, 6475-6487.
- [10] Kuster A., Adler N. 2014. Pharmaceuticals in the environment: scientific evidence of risks and its regulation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 369(1656).
- [11] Bergmann A., Fohrmann R., Weber FA. 2011. Compilation of monitoring data on environmental concentration and pharmaceuticals; Zusammenstellung von Monitoringdaten zu Umweltkonzentrationen und Arzneimitteln. *Texte Umweltbundesamt*. 66.
- [12] David F. 2019. Résidus médicamenteux dans l'eau environnementale : le rôle du pharmacien d'officine. Thèse de doctorat, Université de Poitiers, France.

- [13] Le plan national santé environnement (PNSE). Disponible sur : <https://www.ecologie.gouv.fr/plan-national-sante-environnement-pnse>. Consulté le 13 Décembre 2020.
- [14] Analyse des ventes de médicaments en France en 2011. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. Disponible sur : [file:///C:/Users/pc/Downloads/Analyse_vente_MED_121023%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/pc/Downloads/Analyse_vente_MED_121023%20(1).pdf). Consulté le 13 Décembre 2020.
- [15] Marchiset–Ferlay N., Sauvant M-P., Jaffeux P., Manhès G., Leblanc N., Andriollo O., Gerbaud L., Françoise C. 2004. Profils et motivations des personnes déposant des Médicaments Non Utilisés (MNU) dans les officines du Puy-de-Dôme (France), Summary. *Santé Publique*. 16(3), 435-46.
- [16] Crosia JL. 2011. Marché mondial du médicament vétérinaire : analyse des tendances des dix dernières années et perspectives d'évolution. *Bull Acad Vét Fr*. 164(1).
- [17] Katell P., Raphaëlle T. 2013. Synthèse des connaissances sur la présence de substances médicamenteuses dans les milieux aquatiques. Rapport.
- [18] Une introduction à la norme ISO 14001 : 2015. Disponible sur : https://www.iso.org/files/live/sites/isoorg/files/archive/pdf/fr/introduction_to_iso_14001_fr_ld.pdf. Consulté le 18 Juin 2020.
- [19] Paracétamol. Disponible sur : https://www.topsante.com/medicaments/principes-actifs/paracetamol_5687. Consulté le 07 Juillet 2020.
- [20] Beausse J., 2004. Selected drugs in solid matrices: a review of environmental determination, occurrence and properties of principal substances. *Trends in Analytical Chemistry*. 23, 753-761.
- [21] Fent K., Weston AA., Caminada D. 2006. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic toxicology*. 76: 122-159.
- [22] Le Garrec S., Burnat P., Gentes P., 1994. Paracetamol. 45(4), 227-242.
- [23] Karaman R., Khamis M, Abbadi J., Amro A., Qurie M., Ayyad I., Ayyash F., Hamarsheh O., Yaqmour R., Nir S., Bufo SA., Scrano L., Lerman S., Reznik SG., Dosoretz CG. 2016. Paracetamol biodegradation by activated sludge and photo-catalysis and its removal by a micelleclay complex, activated charcoal and reverse osmosis membranes. *Environmental Technology*. 37, 2414-2427.
- [24] González-Alonso S., Merino LM., Esteban S., Alda L., Damià B., José DJ., López-Martínez J., et al. 2017. Occurrence of pharmaceutical, recreational and psychotropic drug residues in surface water on the northern Antarctic Peninsula region. *Environmental Pollution*. 229, 241-254.
- [25] Lee CM., Palaniandy P., Dahlan I. 2017. Pharmaceutical residues in aquatic environment and water remediation by TiO₂ heterogeneous photocatalysis. *Environmental Earth Sciences*. 76(17), 61.
- [26] Desale A., Kamble SP., Deosarkar MP. 2013. Photocatalytic degradation of paracetamol using degussa TiO₂ photocatalyst. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*. 2, 140-148.

- [27] Tongur S., Yıldız S., Ünal A., Atalay K., Yeniköşker M. 2017. Toxicity assessment of analgesics by *Lepidium sativum* toxicity test method. Selcuk University, Turkey ;
- [28] Alighardashi A., Pons MN., Potier O. 2008. Occurrence and fate of pharmaceutical substances in urban wastewater, a literature mini-review. *Journal of Water Science*. 21(4), 413-426.
- [29] Davern TJ., James LP., Hinson JA., Polson J., Larson AM., Fontana RJ., Lalani E., Munoz S., Shakil AO., Lee WM. 2006. Measurement of serum acetaminophen-protein adducts in patients with acute liver failure. *Gastroenterology*. 130, 687-694.
- [30] Petrie B., Barden R., Kasprzyk-Hordern B. 2015. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment : current knowledge, understudied areas. *Waster Research*. 72, 3-27.
- [31] Sebestyén I., Monostory K., Hirka G. 2018. Environmental risk assessment of human and veterinary medicinal products-Challenges and ways of improvement. *Microchemical Journal*. 136, 67-70.
- [32] Kolpin DW., Furlong ET., Meyer M., Thurman EM., Zaugg SD., Barber LB., Buxton HAT. 2002. Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environmental Science & Technology*. 36, 1202-1211.
- [33] Petrie B., Barden R., Kasprzyk-Hordern B. 2015. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment-current knowledge, understudied areas. *Waster Research*. 72, 3-27.
- [34] Löffler D., Rombke J., Meller M., Ternes TA. 2005. Environmental Fate of Pharmaceuticals in Water/Sediment Systems. *Environmental Science and Technology*. 39(14), 5209-5218.
- [35] Nunes B., Antunes SC., Santos J., Martins L., Castro BB. 2014. Toxic potential of paracetamol to freshwater organisms: a headache to environmental regulators?. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 107, 178-185.
- [36] Santé Environnement 1^{er} Plan national 2004 > 2008. Franchir une nouvelle étape dans la prévention des risques sanitaires liés à l'environnement.
- [37] Santé Environnement 2^{ème} Plan national 2009 > 2013. Des actions concrètes pour la prévention des risques sanitaires liés à l'environnement.
- [38] Breton R., Boxall A. 2003. Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Regulatory Drivers and Research Needs. *QSAR & Combinatorial Science*. 22(3), 399-409.
- [39] Richardson SD., Ternes TA. 2011. Water Analysis: Emerging Contaminants and Current Issues. *Analytical Chemistry*. 83(12), 4614-4648.
- [40] Mettler S., Götz C., Vermeirssen E., Klein A. 2013. Modeling Of Micropollutant Flows Discharged From Sewage Treatment Plants In The Cipel Territory (Ponds Of Lake Geneva And Upstream Rhone Basins). Rapp Comm int. prot eaux Léman contre pollut. 175-197.

- [41] Margot J., Kienle C., Magnet A., Weil M., Rossi L., De Alencastro LF., Abegglen C., Thonney D., Chèvre N., Schärer M., Barry DA. 2013. Treatment of micropollutants in municipal wastewater: Ozone or powdered activated carbon?. *Science of the Total Environment*. 461-462, 480-49.



Chapitre II

La photocatalyse hétérogène : Principe et mécanismes

Ce chapitre présente une synthèse bibliographique portant sur le procédé de dégradation photocatalytique en solution en mettant au point dans un premier lieu le principe des méthodes d'oxydation avancée et en détaillant ensuite les différentes méthodes de préparation des systèmes catalytiques.

Chapitre II : La photocatalyse hétérogène : Principe et mécanismes

II.1. Introduction

La croissance démographique et le développement sociétal, provoquent une pression grandissante sur les réserves en eau. Les effluents liquides industriels et urbains rejetés dans l'environnement peuvent contenir des quantités appréciables de résidus médicamenteux pouvant porter préjudice à la santé humaine et animale [1]. Ces dernières années, le monde entier est devenu de plus en plus strict sur l'effet de ces résidus médicamenteux sur la santé humaine et leur impact écologique.

Il existe divers procédés classiques pour la dépollution des eaux chargées en polluants d'origine pharmaceutique parmi les quelles on distingue les procédés physiques (filtration, décantation, ...) [2], les procédés chimiques (coagulation-floculation) [3] et les procédés biologiques qui reposent sur l'utilisation de microorganismes qui dégradent les polluants organiques [4]. Globalement, ces procédés ne sont pas efficaces vis-à-vis de ce type de contaminants en raison d'une forte toxicité. Le développement technologique a permis de mettre en œuvre d'autres techniques de traitement plus prometteuses telles que les Procédés d'Oxydation Avancée (POAs) qui ont vu le jour vers les années 1970. Parmi les méthodes de traitement de l'eau usée, la photocatalyse hétérogène se présente comme une technologie de choix pour la dépollution et l'intégration de ces eaux usées, car il s'agit d'un système performant, efficace, simple et économique [5].

Dans ce chapitre, il sera tout d'abord fait état de quelques généralités de base sur les Procédés d'Oxydation Avancée ; un accent particulier étant mis sur la photocatalyse hétérogène et les méthodes d'élaboration de photocatalyseurs.

II.2. Procédés d'oxydation avancée

II.2.1. Introduction

Récemment, un grand nombre de procédés d'oxydation avancée (POAs) a été étudié à l'échelle de laboratoire (mécanismes de réaction, étude cinétique, etc.).

Glaze et al ont défini les POAs comme des procédés de traitement des eaux fonctionnant sous des conditions de température et de pression ambiantes et générant des radicaux fortement réactifs (spécialement des radicaux hydroxyles $\bullet\text{OH}$ avec un potentiel d'oxydation de 2,80 V qui présente plusieurs avantages par rapport à d'autres oxydants en particulier par sa non sélectivité) en quantité suffisante pour effectuer la purification de l'eau [6-9].

II.2.2. Espèces radicalaires

a) Formation des espèces radicalaires

Les principaux radicaux produits et mis en œuvre par les POA sont les $\bullet\text{OH}$, $\text{H}_2\text{O}\bullet$ et $\text{O}_2\bullet^-$. Le radical $\bullet\text{OH}$ est une espèce très réactive qui possède un pouvoir oxydant supérieur à celui des oxydants traditionnels tels que Cl_2 , ClO_2 ou O_3 (**Tableau II.1**).

Tableau II.1 : Potentiel d'oxydation pour différents oxydants dans l'eau [10]

Oxydant	Formule chimique	Potentiel d'oxydation (V/ENH)
Fluorure de xénon	XeF_2	3,40
Difluorure d'oxygène	OF_2	3,29
Fluor	F	3,06
Radical hydroxyle	$\bullet\text{OH}$	2,80
Ozone	O_3	2,07
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2	1,77
Radical hydroperoxyde	$\text{H}_2\text{O}\bullet$	1,70
Permanganate	MnO_4^-	1,67
Dioxyde de chlore	ClO_2	1,50
Dichlore	Cl_2	1,36
Dioxygène	O_2	1,23

D'autres oxydants tels que XeF et OF_2 ne sont pas exploitables pour la dépollution de l'eau en raison de leur extrême réactivité, de leur nocivité sous formes réduites et de leur tendance à former des trihalométhanes (THM) cancérigènes. Par contre, les oxydants non halogénés et non métalliques ($\bullet\text{OH}$, O_3 , H_2O_2), sont attractifs pour les traitements de l'eau [11]. Cependant le plus intéressant de ces radicaux reste le radical hydroxyle $\bullet\text{OH}$ qui est une espèce transitoire omniprésente dans la nature ; puissant oxydant, il présente de nombreux avantages par rapport aux autres oxydants car il répond à un ensemble de critères d'exigence, en particulier de par sa non-sélectivité. Sur la **Figure II.1**, sont illustrées les principales caractéristiques des radicaux hydroxyles libres $\bullet\text{OH}$.

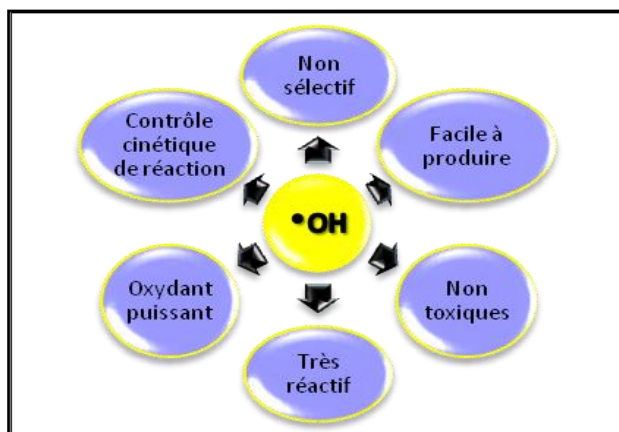


Figure II.1 : Schéma représentatif des caractéristiques du radical $\bullet\text{OH}$ [12]

b) Mécanisme d'oxydation par le radical hydroxyle

Les réactions du radical $\bullet\text{OH}$ avec les composés organiques se font selon trois mécanismes principaux suivants [13,14] :

- Abstraction d'atome d'hydrogène ;
- Addition électrophile aux doubles liaisons (type C=C et C=N) ;
- Transfert électronique (rarement observé directement), cas dans lequel $\bullet\text{OH}$ est l'accepteur d'électron. Il se manifeste par la formation des complexes intermédiaires susceptibles d'être impliqués dans le processus.

c) Réactivité des radicaux hydroxyles $\bullet\text{OH}$

Le radical $\bullet\text{OH}$ est parmi les oxydants connus le plus puissant ; il a l'avantage de ne pas induire de pollution secondaire, d'être relativement simple à manipuler et d'être le plus rentable possible. En milieu fortement basique, les radicaux $\bullet\text{OH}$ existent sous leur forme basique conjuguée : le radical anion oxygène $\text{O}^{\bullet-}$ réagissant plus lentement par attaque nucléophile. Par contre en milieu acide, c'est la forme acide qui prédomine et qui réagit sur la matière organique par attaque électrophile [15].

II.2.3. Principe de fonctionnement des principales techniques d'oxydation avancée

Le terme POA se réfère à un ensemble de procédés d'oxydation, caractérisé par une utilisation commune des radicaux $\bullet\text{OH}$ pour détruire les composés organiques complexes et non biodégradables en produits finis à l'état ultime [14,16]. Une classification des principaux procédés de production de ces radicaux est donnée sur le **Tableau II.2**.

Tableau II.2 : Classification des procédés d'oxydation avancée [16-18]

H ₂ O ₂ / Fe ²⁺	Fenton	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \bullet OH$
H ₂ O ₂ /Fe ²⁺ /UV	Photo Fenton	$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow OH^- + \bullet OH + Fe^{3+}$ $Fe^{3+} + H_2O + hv \rightarrow Fe^{2+} + H^+ + \bullet OH$
UV / Fe ³⁺ - Oxalate/H ₂ O ₂	Procédé Photo Fenton modifié	$(Fe^{III}(C_2O_4)_3)^{3-} + hv \rightarrow (Fe^{II}(C_2O_4)_2)^{2-} + C_2O_4\bullet$ $C_2O_4\bullet + (Fe^{III}(C_2O_4)_3)^{3-} \rightarrow (Fe^{II}(C_2O_4)_2)^{2-} + C_2O_4^{2-} + 2CO_2$ $C_2O_4\bullet + O_2 \rightarrow O_2\bullet + 2 CO_2$
H ₂ O ₂ / UV	Photochimie assistée	$H_2O_2 + hv \rightarrow 2 \bullet OH$
O ₃ / UV	Oxydation UV	$O_3 + hv \rightarrow O + O_2$ $O + H_2O \rightarrow H_2O_2$
O ₃ / H ₂ O ₂ / UV	Photo-peroxonation	$2O_3 + H_2O_2 + hv \rightarrow 2 \bullet OH + 3O_2$
UV	Catalyse hétérogène	$SC + hv \rightarrow SC(h^+_{BV} + e^-_{BC})$ $\begin{matrix} \rightarrow h^+_{BV} + H_2O \rightarrow H^+ + \bullet OH \\ \rightarrow e^-_{BC} + O_2 \rightarrow O_2\bullet \end{matrix}$
Autres technologies	Electrochimie directe ; Electrochimie indirecte ; sonochimie (ultrasons). radiolyse	$H_2O \rightarrow \bullet OH_{ads} + H^+ + e^-$ $O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2$ $H_2O + \text{ultrasons} \rightarrow \bullet OH + H\bullet$ $H_2O \rightarrow H_2O^* \rightarrow \bullet OH + H\bullet$

Parmi ces procédés, la photocatalyse hétérogène reste comme une technique efficace pour l'élimination des micropolluants présents dans l'eau. C'est un processus catalytique qui repose sur l'excitation d'un semi-conducteur par un rayonnement lumineux conduisant à l'accélération de la photoréaction en faisant intervenir des réactions entre les paires électron/trou et les produits organiques adsorbés à la surface du semi-conducteur [19,20].

En catalyse hétérogène, la réaction se produit uniquement à la surface du catalyseur solide dans une phase fluide contenant les réactifs et les produits [20]. L'utilisation du catalyseur lors du processus photocatalytique peut s'effectuer de deux manières différentes, soit sous une forme dispersée, ou soit sous une forme fixe (support catalytique) [21].

La photocatalyse hétérogène est apparue comme une nouvelle technologie de décontamination efficace, puissante, propre, pour le traitement des polluants organiques et la transformation de produits chimiques dangereux sous différentes formes [22].

II.3. Photocatalyse hétérogène

II.3.1. Semi-conducteurs actifs en photocatalyse

Les semi-conducteurs ont été découverts au 19^{ème} siècle mais en 1947 ont commencé leurs applications pratiques [23]. Ce sont des matériaux solides utilisés surtout pour conduire le courant. Un semi-conducteur est un matériau avec des propriétés électriques intermédiaires situant entre le métal et l'isolant sont déterminées par deux bandes d'énergie particulières : d'une part, la bande de valence (gamme d'énergie inférieure) et d'autre part, la bande de conduction (gamme d'énergie supérieure).

Ces deux bandes d'énergies sont séparées par un gap caractérisé par une bande interdite E_g qui correspond à une barrière d'énergie, dont l'ordre de grandeur est l'électron-volt. Si E_g augmente, l'énergie nécessaire pour exciter le réseau et libérer des électrons de la bande de valence augmente. La différence entre la bande de valence et la bande de conduction est appelée un écart énergétique. Il s'agit en fait de la quantité d'énergie que doit avoir un électron pour sauter de la bande de valence vers la bande de conduction. Une fois l'électron dans la bande de conduction, l'électron est libre de se déplacer à travers le matériau et n'est plus lié à aucun atome particulier. Un conducteur est un matériau qui conduit aisément le courant électrique. Ce matériau conducteur possède des bandes de valence et de conduction situés sur des niveaux énergétiques se chevauchant. Les meilleurs conducteurs sont des matériaux constitués d'un seul élément comme le cuivre, l'argent, l'or et l'aluminium. Isolants et semi-conducteurs possèdent une bande de valence totalement pleine (saturée) d'électrons et une bande de conduction totalement vide ; un semi-conducteur possède, comme les isolants, une bande d'énergie interdite « gap » entre sa bande de conduction et bande de valence. Cependant, sous l'effet d'un approvisionnement énergétique (élévation de température, champ magnétique, absorption de lumière), supérieur ou égal à la largeur de la bande interdite, certains de ses électrons de valence peuvent être promus dans la bande de conduction et devenir des électrons de conduction [16] ; un **isolant** est un matériau qui ne conduit pas le courant électrique sous des conditions normales (ni un champ électrique, ni la température). Il existe cependant une tension de claquage (de valeur très élevée), qui pourra forcer le matériau à conduire les électrons si elle est appliquée. La plupart des bons isolants sont des matériaux composés de plusieurs éléments (**Figure II.2**) [17].

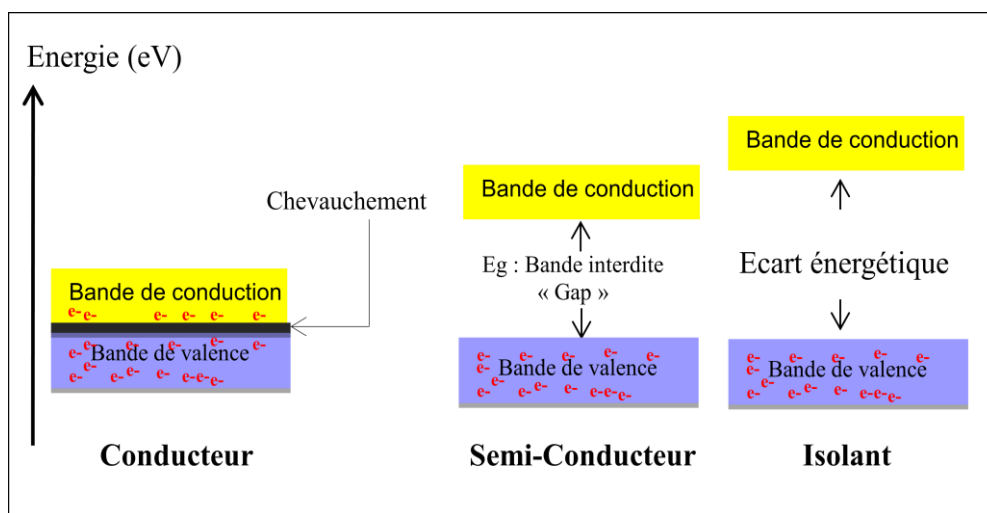


Figure II.2. Diagrammes énergétiques pour les conducteurs, semi-conducteurs et isolants [20]

Un semi-conducteur peut être soit intrinsèque, soit dopé par des impuretés extrinsèques. Les éléments uniques les plus utilisés pour les semi-conducteurs sont le silicium, le germanium et le carbone. Dans les réactions de photocatalyse, les semi-conducteurs jouent le rôle de catalyseurs, et ne sont donc pas consommés dans la réaction globale. Ils sont appelés photocatalyseurs [5]. Plusieurs semi-conducteurs ont été testés dans la photocatalyse comme TiO_2 , ZnO , ZnS , WO_3 , Fe_2O_3 et CdS . Le **Tableau II.3** donne l'énergie et la position de la bande-gap de certains photocatalyseurs.

Tableau II.3 : Energie de la bande gap de plusieurs photocatalyseurs [5]

Photocatalyseurs	Formule chimique	Energie de la bande-gap (eV)
Silicium	Si	1,1
Oxyde de fer	Fe_2O_3	2,2
Sulfure de cadmium	CdS	2,4
Dioxyde de titane	TiO_2 (rutile)	3,0
Dioxyde de titane	TiO_2 (anatase)	3,2
Oxyde de zinc	ZnO	3,2

Le semi-conducteur Si à l'état pur n'est pas un bon conducteur ni un bon isolant ; le semi-conducteur CdS a l'avantage d'absorber par rapport au TiO_2 une fraction plus importante du spectre solaire, mais malheureusement il est instable durant l'oxydation photocatalytique [19]. ZnO pourrait être un photocatalyseur de grand intérêt puisqu'il présente de fortes activités dans le visible mais il souffre de photocorrosion [11]. Cependant le plus intéressant de ces catalyseurs reste le dioxyde de titane (TiO_2) qui est un catalyseur stable et constitue un bon compromis entre efficacité et stabilité. C'est le semi-conducteur le plus utilisé en photocatalyse hétérogène en raison de son faible coût [19]. Un bon catalyseur doit être:

- Photoactif (capable d'accélérer les réactions désirées → plus l'activité augmente, plus la quantité de catalyseur diminue),
- Excité en présence de radiations UV et/ou de lumière visible,
- Sélectif (accélère uniquement la réaction désirée → plus sélectivité augmente, plus la purification diminue),
- Photostable (résiste à la désactivation), être peu coûteux et non toxique [5].

Sur la **Figure II.3**, nous illustrons les principales propriétés d'un bon catalyseur.

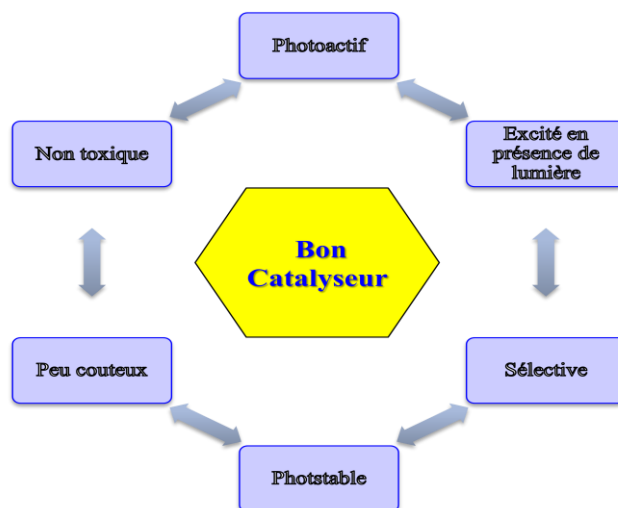


Figure II.3 : Schéma représentatif des propriétés d'un bon catalyseur

II.3.2. Principe et définitions

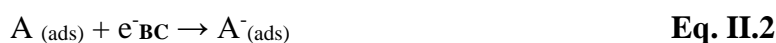
Dans la photocatalyse hétérogène, la notion de catalyse indique qu'une substance accélère la vitesse d'une photo-réaction chimique. En plus de l'effet accélérateur, le catalyseur possède également un effet orienteur qui permet d'obtenir sélectivement les produits désirés [24-26].

La notion d'hétérogénéité indique que la substance catalytique et les réactifs forment plusieurs phases. En photocatalyse, la substance catalytique est solide et les réactifs liquides ou gazeux [24]. Dans le cas de la photocatalyse hétérogène, le catalyseur est un semi-conducteur [11].

D'après l'IUPAC (Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée), la photocatalyse est le domaine de la catalyse qui fait intervenir la lumière comme moyen d'activation du catalyseur, induites par l'absorption de photons (énergie lumineuse) par un catalyseur [27]. Le principe de la photocatalyse est proche de la catalyse hétérogène où la réaction d'oxydo-réduction se passe à la surface du catalyseur (du semi-conducteur). Quand un catalyseur semi-conducteur de type oxyde métallique (TiO_2 , ZnO) ou chalcogénure (CdS , CdSe , ZnS) est illuminé par des photons d'énergie égale ou supérieure à la largeur de bande interdite (bande-gap E_g) ($h\nu \geq E_g$), il y a absorption de ces photons et création, dans la masse du solide, de paires électron (e^-)/trou positif (h^+) avec transfert d'un électron de la bande de valence à celle de conduction et crée des photo-trous dans la bande de valence [28] (Eq. II.1) :



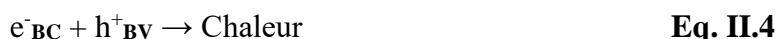
Une adsorption spontanée se produit et selon le potentiel redox de chaque adsorbat, un transfert d'électron a lieu vers les molécules de caractère électro-accepteur (A) (Eq. II.2) :



Tandis que les photo-trous positifs sont transférés vers les molécules de caractère électro- donneur (D) (**Eq. II.3**) :

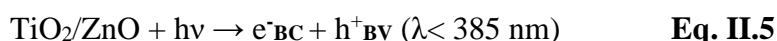


Enfin, une recombinaison électron-trou reste possible ; au cours de son déplacement, l'électron de conduction ainsi formé reprend sa place originale dans la bande de valence. Ceci peut avoir lieu dans le volume ou en surface du semi-conducteur et s'accompagne d'un dégagement de chaleur (plus la température augmente, plus il y a création de paires électron/trou) (**Eq. II.4**) :



Le dioxyde de titane et l'oxyde de zinc ont des caractéristiques similaires et induisent tous deux le même type de mécanisme de réaction.

Dans le cas de TiO₂ ou ZnO on écrit alors : Le TiO₂/ZnO subit une excitation par rayonnement qui permet à un électron de la bande de valence d'être éjecté dans la bande de conduction et crée des trous positifs dans les bandes de valence (**Eq. II.5**) :



Le radical hydroxyle est formé par transfert direct de trous dans l'eau (**Eq. II.6**) :



Ou des ions hydroxydes pour former de puissants radicaux $\bullet OH$ (**Eq. II.7**)



L'eau et P (molécules organiques) peuvent ainsi déclencher la dégradation oxydante, ce qui peut conduire à une minéralisation complète (**Eq. II.8**) [29] :



Dans les systèmes aérés, l'espèce oxydante telle que l'oxygène est adsorbée sur la surface de TiO₂ et peut balayer un électron pour former le radical anion superoxyde (O₂^{•-}) (**Eq. II.9**):



Le phénomène se produit sur la surface du semi-conducteur selon les étapes schématisées dans La **Figure II.4**.

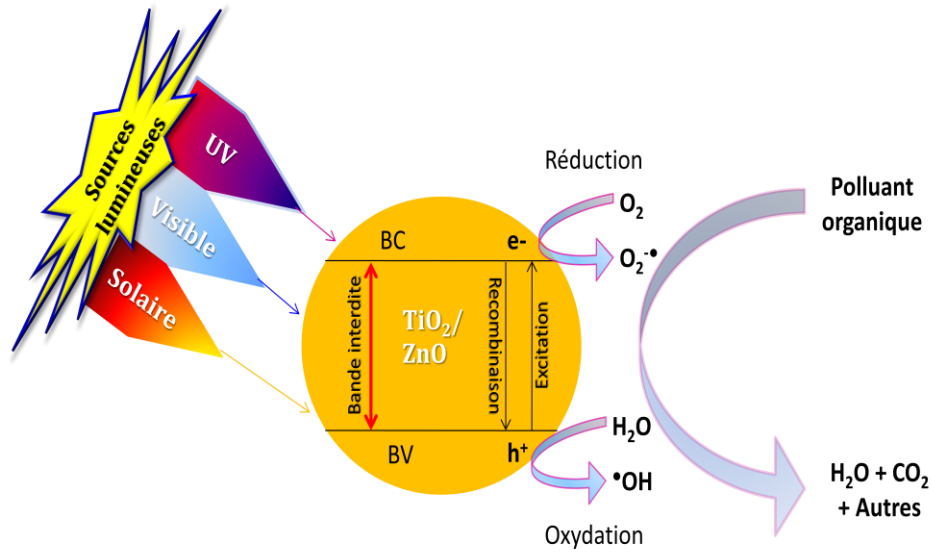


Figure 0I.4 : Principe de la photocatalyse hétérogène [30]

II.3.3. Mécanismes de dégradation de composés organiques par photocatalyse

Comme pour tout procédé incluant des réactions en phase hétérogène, le procédé photocatalytique peut être divisé en cinq étapes indépendantes [26,31,32]:

1. **Transfert de réactif de la phase fluide vers la surface du catalyseur** : La diffusion, processus physique, tend à égaliser les concentrations dans la phase fluide. Un courant de diffusion s'établit donc au voisinage de l'interface solide/fluide, lorsque la consommation des réactifs sur la surface et la formation de produits provoquent dans cette région des gradients de concentration ;
2. **Adsorption de réactif sur la surface** : L'adsorption se traduit par des ruptures de liaisons intramoléculaires et il y a formation de liaisons avec la surface. Ces espèces adsorbées constituent des intermédiaires actifs qui, réagissant entre eux, permettront à la réaction de se dérouler suivant un mécanisme différent de l'activation thermique ;
3. **Réactions en phase adsorbée** : Etape où se déroule la réaction photocatalytique proprement dite. En effet, les réactions sont généralement trop rapides malgré les progrès des méthodes analytiques ;
4. **Désorption des produits intermédiaires et/ou finaux** : Une réaction catalytique est une suite de réactions élémentaires et les sites actifs doivent être régénérés après désorption des produits ;
5. **Transfert de ces produits de la région de surface dans la phase fluide** : La catalyse est caractérisée par une grande spécificité dans l'interaction entre les molécules et le solide.

Les étapes de la dégradation photocatalytique d'un polluant organique peuvent donc être représentées de la manière schématisée représentée sur la **Figure II.5** :

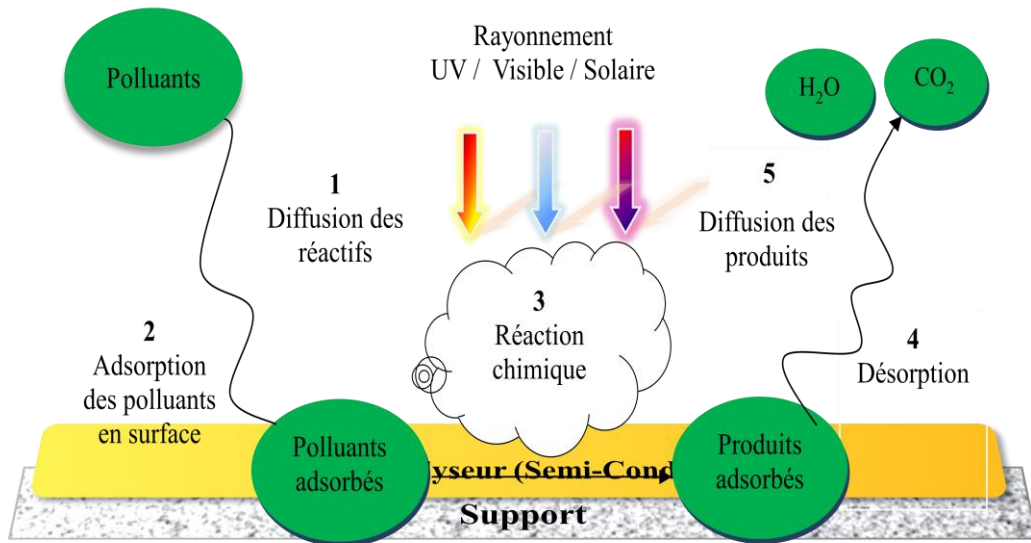


Figure 01.5 : Schéma explicatif du phénomène de photocatalyse [33]

Le mécanisme réactionnel de la photocatalyse est caractérisé par deux processus: l'un physique et l'autre chimique. Les étapes 1 et 5 correspondent à des processus physiques, de transferts de matière vers l'interface solide (catalyseur supporté) où la transformation a lieu ; ce déplacement des molécules de la phase fluide vers la surface catalytique est régi par les lois de la diffusion. Les étapes 2, 3, et 4 correspondent à des processus chimiques et consistent en une réaction chimique de dégradation proprement dite [17].

II.4. Différents types de catalyseurs utilisés en photocatalyse

Plusieurs efforts de recherche ont déjà introduit divers types de catalyseurs pour la dégradation d'une variété de polluants et éviter leur accumulation dans les eaux aquatiques. Comme le montre le **Tableau II.4**, les pourcentages de dégradation sont très variables. Ceci est dû à la nature du catalyseur, aux les méthodes d'élaboration du procédé et aux différentes conditions expérimentales (concentration initiale et temps de réaction). En particulier, pour le catalyseur TiO₂ supporté sur fibre cellulosique, testé par plusieurs chercheurs, le pourcentage de dégradation varie de 85 à 90%. Cependant, il est important de noter que 5h sont nécessaires pour dégrader 400 mg/L de paracétamol en présence de TiO₂ et atteindre 85% de dégradation. Par ailleurs, d'autres études indiquent que le système zéolite/ZnO/Fe₂O₃ est plus efficace dans la dégradation de la Diphenhydramine (DPH), par rapport à TiO₂ /Fe₂O₃/zéolite. Dans les conditions optimales, l'efficacité de la dégradation de la DPH avec TiO₂/Fe₂O₃/Zéolite (DPH: 50 mg/L, peroxyde d'hydrogène: 50 mg/L, temps d'irradiation: 120 min, photocatalyseur: 0,5 g/L, pH = 5) et

ZnO/Fe₂O₃/zéolite (DPH: 50 mg /L, peroxyde d'hydrogène: 50 mg /L, temps d'irradiation: 100 min, photocatalyseur: 0,5 g / l, pH = 10) est de 80 et 95%, respectivement [34].

Tableau II.4: Produits pharmaceutiques traités par photocatalyse hétérogène

Catalyseur	Polluant	Source lumineuse	Réacteur photocatalytique	Décoloration (%)	Temps de traitement (min)	Réfs
ZnO/Fe ₂ O ₃ /zéolite (0,5 g / L)	Diphenhydramine (50 mg / L)	UV ₂₅₈	Réacteur à deux coques de capacité 250 mL	95	100	[34]
TiO ₂ /Fe ₂ O ₃ /zéolie (0,5 g / L)	Diphenhydramine (50 mg / L)	UV ₂₅₈	Réacteur à deux coques de capacité 250 mL	80	120	[34]
ZnO / polystyrène	Paracétamol (12,5 mg / L)	UV ₂₄₅	Réacteur cylindrique Pyrex	77	240	[35]
TiO ₂ / fibre cellulosique (0,4 g/L)	Paracétamol (400 mg / L)	UV ₂₄₀	Réacteur discontinu de capacité 1 L	85	300	[36]
TiO ₂ P25 (0,1 g / L)	Paracétamol (1,0×10 ⁻⁴ M)	UV ₂₄₃		90	160	[37]
TiO ₂ / fibre cellulosique (2 mg / cm ²)	Paracétamol (10 mg/L)	UV ₂₄₃	Photoréacteur à lit fixe	90	300	[38]
TiO ₂ / fibre cellulosique (0,4 g / L)	Paracétamol (2,65×10 ⁻⁴ M)	UV ₂₄₆	photoréacteur cylindrique de 120 cm ³	90	150	[39]
TiO ₂ PC-25	Paracétamol (2,0 mM)	UV ₂₅₄	Réacteur cylindrique annulaire	95	80	[40]
TiO ₂ / plaque céramique	Phenazopyridine (10 mg/L)	UV ₄₃₆	Réacteur rectangulaire	89,10	150	[41]

II.5. Facteurs influençant le procédé de photocatalyse

Les réactions photocatalytiques font intervenir un ou plusieurs composés chimiques. Par conséquent, l'efficacité du traitement photocatalytique dépend de plusieurs facteurs qui régissent la cinétique de la photocatalyse. Ainsi, pour obtenir une bonne activité photocatalytique, il est nécessaire de travailler dans des conditions optimales. Dans cette section, nous présentons brièvement les principaux effets de chaque paramètre sur les réactions photocatalytiques.

II.5.1. Influence de la concentration en catalyseur

La concentration initiale joue à la fois sur les mécanismes d'adsorption et sur les mécanismes chimiques. À faible concentration, la vitesse initiale de dégradation d'une grande variété de matières organiques est directement proportionnelle à la concentration du catalyseur ; un optimum est atteint correspondant à l'absorption complète des photons par le catalyseur. D'une manière générale, lorsque la concentration initial tend vers 0, la relation entre la vitesse de dégradation et la concentration est linéaire : le nombre de sites existants à la surface du catalyseur est suffisant pour que l'ensemble des molécules puissent se dégrader.

Plus la concentration de polluant est élevée, plus l'adsorption du composé sur le photocatalyseur sera importante jusqu'au moment où tous les sites actifs sont occupés, et où une nouvelle augmentation de la concentration ne change plus la concentration en polluant sur la surface de catalyseur (**Figure II.6**). Alors qu'à forte concentration, la vitesse est indépendante de la concentration du catalyseur [19].

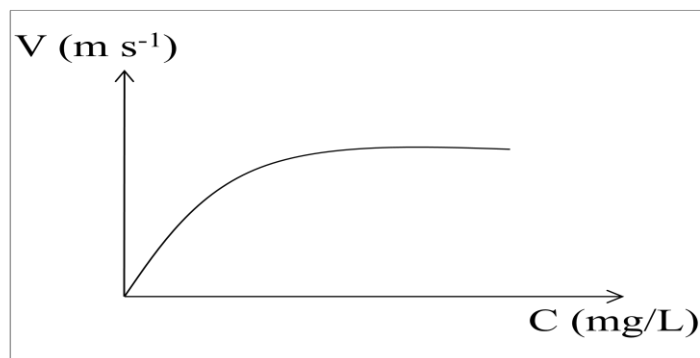


Figure II.6 : Influence de la concentration en catalyseur sur la vitesse de dégradation d'un polluant

II.5.2. Influence de la température

Le système photocatalytique ne nécessite pas l'apport de chaleur du fait qu'il s'agit d'un processus d'activation photonique. La majorité des photo-réactions sont non sensibles aux petites variations de température [19]. Par conséquent, la température optimale (**Figure II.7**) est généralement comprise entre 20 et 80 °C [25] : à basse température, la désorption des produits demeure l'étape limitante. Au contraire, quand la température augmente au-dessus de 80 °C, l'adsorption exothermique des polluants est défavorisée [42].

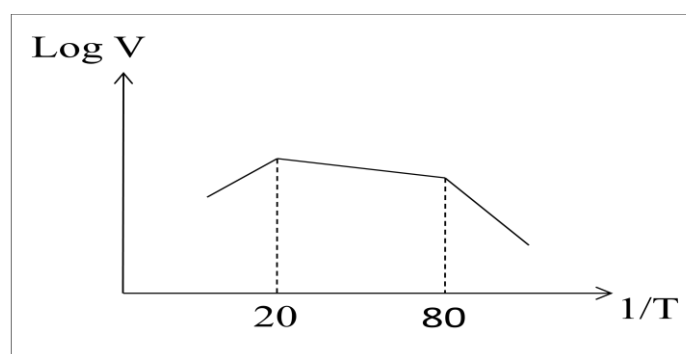


Figure II.7 : Influence de la température sur la vitesse de dégradation d'un polluant

II.5.3. Influence du flux lumineux

Il n'est pas nécessaire de travailler avec une source lumineuse très puissante car le processus est limité par le transfert de matière à la surface du catalyseur. La vitesse de réaction varie en fonction de l'intensité de la lumière (I) d'excitation (**Figure II.8**). En effet à faibles valeurs de I , la loi est linéaire, alors qu'à moyennes valeurs, v est fonction de $I^{0.5}$. Par contre à des intensités importantes, la vitesse est indépendante de I [22,43].

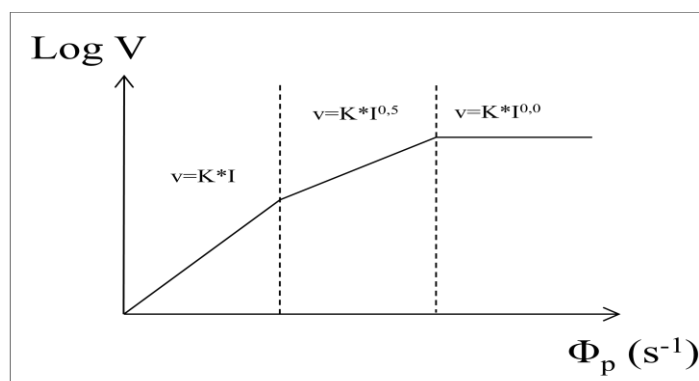


Figure II.8 : Influence de flux photonique sur la vitesse de dégradation d'un polluant

II.5.4. Influence de la longueur d'onde

Lors de l'activation photonique du catalyseur, il faut que la longueur d'onde soit suffisante pour provoquer le transfert de l'électron de la bande de valence à la bande de conduction [44]. Si on prend l'exemple du TiO_2 qui possède une longueur d'onde inférieure à 400 nm, pour $\lambda < 400$ nm, la vitesse de dégradation photocatalytique est optimale (**Figure II.9**). Pour $\lambda > 400$ nm on constate une chute brutale de la vitesse initiale de réaction au-delà de laquelle elle finit par s'annuler [27].

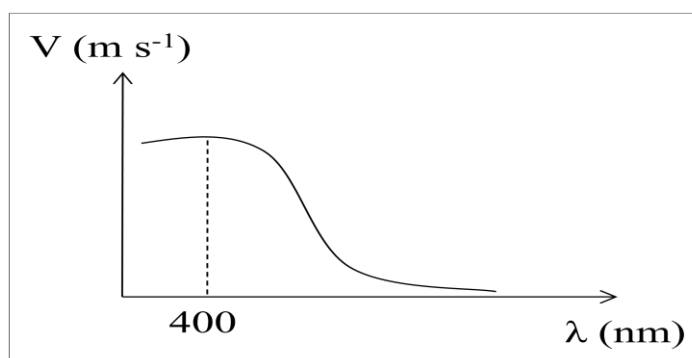
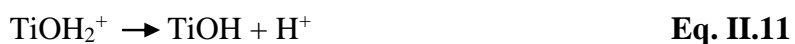


Figure II.9 : Exemple d'influence de la longueur d'onde sur la vitesse de dégradation d'un polluant

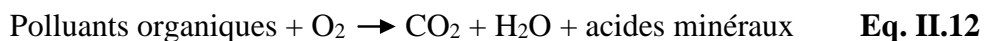
II.5.5. Influence du pH

On appelle Point de Zéro Charge (pH_{PZC}), le pH pour lequel la charge de surface du catalyseur est nulle. Il est de 6,5 environ pour TiO_2 qui est le plus utilisé en photocatalyse expérimentale. Si le pH est supérieur au pH_{PZC} du TiO_2 , alors qu'en milieu basique ($\text{pH} > \text{pH}_{\text{PZC}}$), la surface du photocatalyseur est chargée négativement (TiO^-) et attire les cations (**Eq. II.10**). A l'inverse, pour une valeur de pH inférieure à pH_{PZC} , alors qu'en milieu acide ($\text{pH} < \text{pH}_{\text{PZC}}$), la surface de TiO_2 est chargée positivement (TiOH_2^+) ce qui favorise l'adsorption des anions par attraction électrostatique (**Eq. II.11**). Cette charge permet d'augmenter mais aussi de diminuer l'adsorption des polluants sur le catalyseur [23,31].



II.5.6. Influence de la présence d'accepteurs d'électrons (O_2 , H_2O_2 , $\text{k}_2\text{S}_2\text{O}_8$, ...)

Une minéralisation totale peut arriver en présence d'oxygène:



L'oxygène intervient comme un accepteur d'électrons, il limite ainsi la recombinaison des paires électrons/trous en formant O_2^{\bullet} . Il augmente alors la cinétique de dégradation des polluants. Les chercheurs ont prouvé que l'augmentation de la quantité d'oxygène dans la solution conduit à une amélioration globale des performances de la photocatalyse. Mais il est préférable de remplacer l'oxygène pur par de l'air car il est très coûteux et il a été observé que cela n'affecte pas la vitesse de dégradation. L'eau peut également être oxygénée par simple agitation [23].

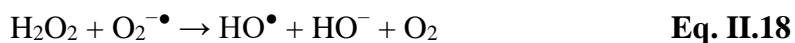
Le peroxyde d'hydrogène est meilleur accepteur d'électrons que l'oxygène. Le H_2O_2 est soluble ($0,7\text{-}3,0 \text{ g L}^{-1}$) dans l'eau à $25 \text{ }^\circ\text{C}$ [45]. L'énergie minimum requise à la réduction de l'oxygène pour réduire des radicaux hydroxyles est de $3,0 \text{ eV}$ tandis que pour le H_2O_2 elle est de $2,2 \text{ eV}$ [23]. En milieu acide, l'ajout de H_2O_2 conduit à la formation de radicaux hydroperoxyde HO_2^{\bullet} suivant les équations ci-dessous :



À de faibles concentrations de peroxyde d'hydrogène, cela augmentera la vitesse de formation de radicaux hydroxyle (**Eqs 14-16**) :



À des concentrations élevées de peroxyde d'hydrogène, les réactions suivantes peuvent se produire.

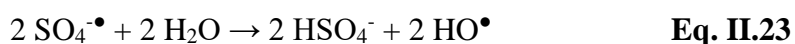


À des concentrations très élevées de peroxyde d'hydrogène, les réactions données par les équations 20 et 21 peuvent prédominer.



En effet, ces deux réactions consomment les radicaux hydroxyles et hydroperoxydes nécessaires à la photodégradation des molécules organiques [46].

Le persulfate de potassium ($\text{k}_2\text{S}_2\text{O}_8$) est l'un des agents oxydants les plus puissants appliqués dans le traitement des polluants de l'environnement. Il est moins cher que les autres oxydants utilisés *in-situ*, mais pour les applications industrielles, il reste plus cher que le peroxyde d'hydrogène [47]. Le $\text{k}_2\text{S}_2\text{O}_8$ a une très faible solubilité (0,7-3,0 g L⁻¹) dans l'eau à 25 °C [45]. Kolthoff et Miller [48] proposent le mécanisme complet de la décomposition du persulfate en solution aqueuse ; les solutions impliquent les réactions suivantes :



Dans les solutions acides alcalines, neutres et diluées, le persulfate se décompose selon l'équation II.22 tandis que dans les solutions fortement acides, les équations II.23 et II.24 se produisent.

II.5.7. Influence de la masse de catalyseur

La quantité de catalyseur mise en œuvre affecte le rendement de dégradation des polluants lors des procédés de traitement photocatalytique.

La vitesse initiale de dégradation photocatalytique est en général directement proportionnelle à la masse de catalyseur. Cependant, les quantités élevées des catalyseurs entraînent une diminution de la pénétration de la lumière dans la solution et par conséquent une diminution de la photodégradation. Pour cela, une masse optimale de catalyseur doit être choisie pour éviter un excès de catalyseur et pour assurer une

absorption totale et efficace de photons [43]. De plus, qu'à fortes charges de TiO₂, certaines réactions de terminaison peuvent contribuer à la diminution de la vitesse de photodégradation puisque le radical hydroperoxyde (HO₂•) formé étant moins réactif que le radical hydroxyle (OH•) [49].

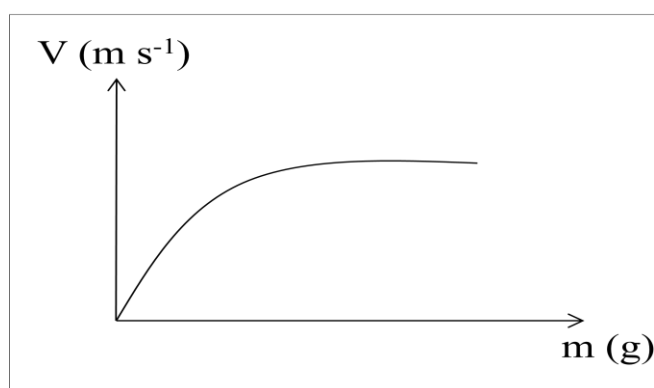


Figure II.10 : Influence de la masse de catalyseur sur la vitesse de dégradation d'un polluant

II.6. Catalyseurs supportés

La catalyse occupe une place importante dans le monde industriel pour la protection de l'environnement avec une grande croissance économique. Les catalyseurs mis en œuvre dans les procédés catalytiques industriels sont principalement des catalyseurs hétérogènes (**Figure II.11**) avec une part de quatre fois plus celle des catalyseurs en phase homogène et des bio-catalyseurs.

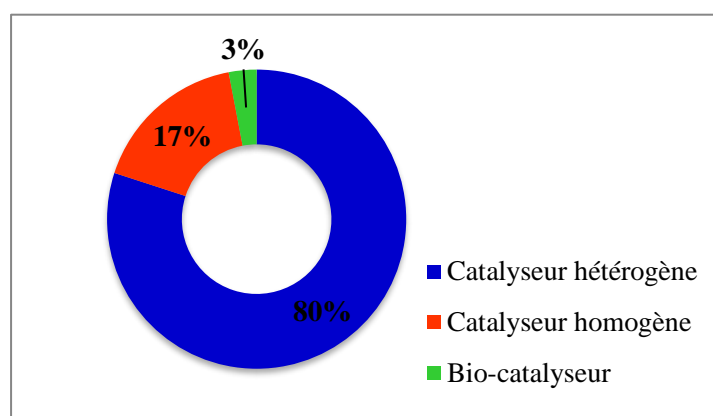


Figure II.11: Pourcentages d'utilisation des trois principaux types de catalyseurs [50]

Malgré une activité souvent inférieure à celle des catalyseurs homogènes [51], il est préférable d'utiliser un ensemble « support + catalyseur » pour éviter l'étape de filtration coûteuse et techniquement difficile à la fin du traitement photocatalytique [23].

Les catalyseurs supportés sont composés d'un support poreux (en général de l'alumine, la silice, la zéolithe et les charbons actifs) sur lequel sont déposés des précurseurs métalliques [52]. D'autres supports d'origine biologique sont de plus en plus utilisés comme la laccase, la versatile peroxydase et la glucose oxydase. L'activité des catalyseurs est très souvent liée à la morphologie (forme et dimension des grains) du support. Les interactions du métal avec le support permettent au métal d'acquérir une certaine stabilité à l'état dispersé et d'augmenter ainsi sa surface active disponible [53]. Cependant l'efficacité d'un support dépend de certaines caractéristiques géométriques et mécaniques [54,55] :

- + Géométriques d'abord, puisqu'il doit :
 - Offrir une porosité (grande surface spécifique, volume poreux, distribution en tailles des pores) pour éviter le phénomène de diffusion dans les pores et de permettre une bonne dispersion au métal ;
 - Une bonne conductivité thermique qui permettra de limiter les gradients de température à l'intérieur des grains dans un éventuel lit fixe de catalyseur.
- + Mécaniques ensuite, puisqu'il doit posséder une bonne résistance aux chocs thermiques et à l'usure par frottements.

Il existe trois types de supports parmi lesquels, on a [53] :

- ✓ les grains d'un oxyde [56,57] ou de plusieurs oxydes mélangés, de forme sphérique ou cylindrique (alumine, silice, cérine, ...).
- ✓ les monolithes céramiques, à base de cordiérites, ou métalliques, comportant une multitude de petits canaux parallèles généralement de section carrée (structure sous forme de nid d'abeilles).
- ✓ les charbons et principalement les charbons actifs appelés ainsi parce qu'ils subissent un traitement thermique qui leur confère une porosité très développée.

II.6.1. Elaboration des catalyseurs supportés

En ce moment, les procédés industriels ont un intérêt économique important dans la recherche de nouveaux matériaux dans le domaine de la catalyse. Cette recherche est particulièrement orientée vers la préparation de catalyseurs performants qui doivent répondre à certains critères : stabilité à long terme, activité catalytique élevée, sélectivité, reproductibilité, facilité de mise en œuvre et faible coût. Dans ce cas, le choix du support est un élément clé. Mais malheureusement, il est plus difficile de collecter toutes ces exigences dans un seul matériau [58-60]. Il existe plusieurs méthodes de préparation et de fixation du catalyseur. Quelques méthodes sont résumées ci-dessous.

a) Préparation des catalyseurs par imprégnation (IMP) [61-63]

La technique d'imprégnation est la méthode la moins coûteuse et très pratique à développer à l'échelle industrielle. Elle consiste à immerger le support poreux, généralement un oxyde réfractaire stable mécaniquement et thermiquement dans la solution de sels précurseurs de la phase active dans des conditions précises de concentrations, température et temps, suivie d'un séchage ; le support est généralement séché à des températures comprises entre 80 °C et 200 °C afin d'éliminer le solvant. La vitesse de séchage dépend fortement de la température et du gaz utilisé. L'immersion peut également être suivie d'une calcination qui peut modifier les propriétés physiques (surface spécifique, volume poreux), ainsi que les propriétés des catalyseurs (activité, sélectivité). Elle consiste à mettre le solide dans un four ou dans un courant d'air à haute température de 400 °C à 600 °C (les sels métalliques précurseurs sont transformés en oxydes métalliques). L'activation est la dernière étape de préparation des catalyseurs par imprégnation ; dans cette étape un courant gazeux de dihydrogène (H₂) est utilisé dans le but de la réduction de l'oxyde métallique en métal.

Il existe deux approches sont possibles :

- L'imprégnation est dite à sec lorsque le volume de la solution du sel métallique est égal au volume poreux du support
- L'imprégnation avec excès, où le volume de la solution du sel est supérieur au volume poreux du support.

L'imprégnation constitue la procédure de dépôt la plus commune et la plus facile à mettre en œuvre, mais sa simplicité est trompeuse.

b) Procédé Sol-Gel (SGP)

Le procédé Sol-Gel est préféré en raison de sa faisabilité économique et du procédé à température modérée proche de l'ambiante qui nous permet de contrôler la composition du produit obtenu [64]. La première polymérisation Sol-Gel a été réalisée par Ebelmen en 1846 [65].

L'appellation Sol-Gel est une contraction des termes «Solution-Gélification» [66]. Ce procédé Sol-Gel représente une technique par voie humide (dépôt chimique en solution), pour la fabrication des matériaux sous forme de poudres et de films.

Dans ce procédé, une solution à base de précurseurs en phase liquide, se transforme en un solide par un ensemble de réactions chimiques de type polymérisation à une température ambiante. La solution de départ est constituée en général par un précurseur, un solvant (en général un alcool), parfois un catalyseur (acide ou basique) et de l'eau. Le choix du solvant et du catalyseur est alors dicté par les propriétés chimiques du précurseur. Ce dernier étant le composé central de la solution [67]. Il existe deux voies de synthèse Sol-Gel qui sont [60] :

- Voie inorganique ou colloïdale : obtenue à partir de sels métalliques (Chlorure, nitrate, ...) en solution aqueuse. Cette voie est peu chère mais difficile à contrôler c'est pour cela qu'elle est encore très peu utilisée. Toutefois c'est la voie privilégiée pour obtenir des matériaux céramiques.
- Voie métallo-organique ou polymérique : obtenue à partir d'alcoxydes métalliques dans des solutions organiques. Cette voie est relativement coûteuse mais permet un contrôle assez facile de la granulométrie.

c) Microémulsion

En raison des propriétés uniques des microémulsions (tension interfaciale ultra-faible, grande surface interfaciale, stabilité thermodynamique et capacité de solubiliser des liquides non miscibles), elles ont acquis une importance croissante tant dans la recherche fondamentale que dans l'industrie [68]. Une microémulsion est un système composé eau-dans-huile (E/H). La structure de la microémulsion permet d'obtenir des nanoparticules bien dispersées et des systèmes bimétalliques avec une composition bien définie. Ainsi, cette nouvelle technique permet la préparation de particules métalliques ultrafines d'une grandeur nanométrique ($5 \text{ nm} < \text{diamètre de la particule} < 50 \text{ nm}$) [69].

d) Préparation des catalyseurs par précipitation (PRP)

Cette méthode est basée sur la préparation d'un catalyseur par l'utilisation de solutions basiques (NaOH, NH_4OH , urée) comme agent précipitant, suivie d'une calcination. Le désavantage de cette méthode est le contrôle fastidieux de la taille des particules puisqu'une précipitation trop rapide entraîne la formation de particules plus larges.

De nombreux chercheurs ont déjà introduit différentes méthodes de dépôt pour plusieurs catalyseurs sur divers supports (**Tableau II.5**).

Tableau II.5 : Supports de catalyseur et méthode de dépôt

Méthode de dépôt	Catalyseurs	Supports	Références
Imprégnation	Ni	La_2O_3	[60]
Sol-Gel	TiO_2 (anatase)	Tige de quartz	[70]
	TiO_2	Glass fibres	[71]
Microémulsion	CdS	Zn-SiO	[69]
Précipitation	Ag	CeO_2	[72]

II.6.2. Rétrospectives sur les polluants d'origine pharmaceutique traités par photocatalyse

De nos jours, l'utilisation immodérée et massive des produits d'origine pharmaceutique a conduit à l'accroissement du phénomène de l'antibiorésistance pouvant induire la réapparition des épidémies incurables. Un procédé de traitement est choisi en fonction de

la nature et de l'origine de la pollution visée, des propriétés physico-chimiques des produits pharmaceutiques contenus dans l'effluent. Parmi ces procédés, la technique de photocatalyse est efficace contre ces pollutions. Par exemple, l'étude sur la spiramycine, antibiotique fréquemment utilisé dans la médecine vétérinaire, a montré que l'activité antibactérienne au cours de sa photocatalyse a révélé une perte de toute activité antibactérienne au bout de 45 minutes [73].

En 2017, Surenjan et ses co-auteurs ont rapporté l'efficacité du TiO_2 sphérique dopé C sous forme anatase pour la photodégradation du Diclofenac (DCF) et du Carbamazépine (CBZ) après 4 h sous lumière visible car après cette période, aucun des composés pharmaceutiques (PhCs) ou des intermédiaires de dégradation respectifs et des produits n'a été identifié. (degrés de minéralisation supérieurs à 98%) [74]. La caractérisation du photocatalyseur dopé révèle que les atomes de carbone peuvent substituer des sites Ti ou occuper des positions interstitielles. Les auteurs ont constaté qu'en présence de glucose, le taux de dégradation du CBZ diminue (de $0,0348 \text{ min}^{-1}$ en soluté unique à $0,0249 \text{ min}^{-1}$) indiquant que le glucose agit comme un agent sacrificiel. Dans des conditions à double soluté (c'est-à-dire DCF et CBZ), le taux de dégradation du CBZ a toujours une diminution plus prononcée que celui du DCF, mais même si une élimination complète des deux PhC a été obtenue en 210 min [74]. De plus, El Bekkali et al [75] a montré que, le TiO_2 est plus rapide que le ZnO à dégrader les antibiotiques ciprofloxacine (CIP) ofloxacine (OFL) dans l'eau en raison de sa forte capacité de sorption dans l'obscurité. Cependant, les données de photodégradation confirment que l'oxyde de zinc affiche également une efficacité fermée au TiO_2 pour la ciprofloxacine, mais a besoin de plus de temps pour une dégradation complète. En outre, la photodégradation efficace de l'ofloxacine nécessite un temps plus long pour une dégradation complète, en particulier avec des catalyseurs séchés. Notant que l'activité photodégradative du ZnO séché montre des résultats optimaux malgré sa plus petite surface spécifique ($19 \text{ m}^2/\text{g}$) par rapport à celle du dioxyde de titane séché ($280 \text{ m}^2/\text{g}$). Par ailleurs, d'autres études indiquent que, pour l'Oxytétracycline, elle passe de 98% pour une concentration initiale de 5 mg/L, alors que pour l'ibuprofène elle passe de 99% pour la même concentration (5 mg/L) [76]. L'étude menée par N'Guettia et al. (2019) sur l'efficacité du photocatalyseur pour une concentration de 0,5 g/L de TiO_2 P25 est était d'environ de 80% après 8h de traitement dans les solutions d'eau ultra pure mais cette vitesse diminue avec une suspension de 1,0 g/L de TiO_2 . Dans l'eau du robinet et dans l'eau usée, cette vitesse de dégradation évolue dans l'ordre croissant des concentrations de TiO_2 [80].

Tableau II.6 : Dégradation photocatalytique de quelques composés pharmaceutique par photocatalyse.

Polluant	Catalyseur	Réacteur photocatalytique	Décoloration (%)	Temps de traitement (min)	Réfs
Diclofenac et Carbamazepine (50 – 250 µg/dm ³)	TiO ₂ /C (50 – 350 mg/dm ³)	-	98	240	[74]
Ciprofloxacine (20 mg/L)	ZnO100 TiO ₂ -100 (2 g/L)	Réacteur discontinu de capacité 800 mL	100	80	[75]
Ofloxacine (20 mg/L)	ZnO100 TiO ₂ 100 (2 g/L)	Réacteur discontinu de capacité 800 mL	100	250	[75]
Oxytétracycline (5,0 mg/L)	TiO ₂ P25 (1 g/L)	Réacteur en batch de capacité 1 L	98	120	[76]
Ibuprofène (5,0 mg/L)	TiO ₂ P25 (1 g/L)	Réacteur en batch de capacité 1 L	99	120	[76]
Phenazopyridine (10 mg/L)	TiO ₂ PC-500	Photoréacteur à tamis	89.10	150	[77]
Amoxicillin (100mg/L) 3h	TiO ₂ - Billes revêtues	Multi-colonnes cylindriques	57.7	180	[78]
Lindane (50µg/L)	TiO ₂	photoréacteur à bulles de labyrinthe	99.09	24	[79]
Ofloxacine (20 mg/L)	TiO ₂ P 25 (0,5 g/L)	Réacteur cylindrique de 2 L	80	470	[80]

Mais la photocatalyse reste un traitement comme tout procédé de dépollution admettant des avantages et des inconvénients. Ces derniers sont résumés dans le **Tableau II.7**.

Tableau 0I.7 : Avantages et Inconvénients de la photocatalyse [21]

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> - Installation simple; - Dégradation efficace des composés organiques ; - Ils permettent de transformer des polluants réfractaires en produits biodégradables qui peuvent être traités par la suite par des méthodes biologiques moins coûteuses. 	<ul style="list-style-type: none"> - Limitation par le transfert de matière; - Nécessité de récupération du catalyseur après réaction; - Efficacité et durée de vie limitée des lampes UV.

II.7. Références Bibliographiques

- [1] Bercu JP., Parke NJ., Fiori JM., Meyerhoff RD. 2008. Évaluations des risques pour la santé humaine de trois composés neuropharmaceutiques dans les eaux de surface. *Toxicologie et pharmacologie réglementaires*. 50 (3), 420-427.
- [2] Lawless TA., Fairhurst D., Jayson GG. 1982. The adsorption of organic and inorganic phosphates onto a new activated carbon adsorbent. *Journal of Colloid and Interface Science*. 86(2), 397-410.
- [3] Achak M., Ouazzani N., Yaacoubi A., Mandi L. 2008. Modern olive mill effluent characterization and their treatment by coagulation-flocculation using lime and aluminium sulphate. *Journal of Water Science*. 21 (1), 53-67.
- [4] Dhaouadi H. 2008. Un livre : Traitement des Eaux Usées Urbaines : Les procédés biologiques d'épuration. Université Virtuelle de Tunis.
- [5] Djennas CH. 2016. Synthèse et Modification post-synthétique de TiO₂ mésoporeux : Application à la dégradation de polluants organiques. Thèse de doctorat, université de Tlemcen. 149p.
- [6] Glaze W H., Kang JW., Chapin DH. 1987. The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation. *Ozone: science & engineering*. 9(4), 335-352.
- [7] Legrini O., Oliveros E., Braun AM. 1993. Photochemical Processes for Water Treatment. *Chemical Reviews*. 93(2), 671-698.
- [8] Hoffmann MR., Martin ST., Choi W., Bahnemann DW. 1995. Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis. *Chemical Reviews*. 95, 69-96.
- [9] Silva AC., Pic JS., Sant'Anna Jr. G.L., Dezotti M. 2009. Ozonation of azo dyes (Orange II and Acid Red 27) in saline media, *Journal of Hazardous Materials*. 169, 965-971.
- [10] Weast RC, Aste MJ., Beyer WH. 1985. Un livre : CRC Handbook of Chemistry and Physics (CRC Handbook). Boca Raton Florida.
- [11] Haddou M. 2010. Dégradation de dérivés de l'acide benzoïque par les procédés d'oxydation avancée en phase homogène et hétérogène : procédés Fenton, photo-Fenton et photocatalyse. Thèse de Doctorat, Université ToulouseIII-Paul Sabatier, France. 196p.
- [12] Oppenlander T. 2003. Un livre : Photochemical Purification of Water and Air. Advanced Oxidation Processes (AOPs): Principles, Reaction Mechanisms, Reactor Concepts.
- [13] Edelahi MC. 2004. Contribution à l'étude de dégradation in situ des pesticides par procédés d'oxydation avancés faisant intervenir le fer. Application aux herbicides phénylurées. Thèse de Doctorat, Université de Marne-La-Vallée. 175p.

- [14] Dalhatou S. 2014. Application des techniques d'oxydation avancée pour la dépollution des effluents organiques dans les eaux de rejets industriels : cas des savonneries. Thèse de Doctorat, Université de Grenoble, France. 202p.
- [15] Elaziouti A. 2014. Elaboration et Caractérisation d'oxydes mixtes semi-conducteurs à Jonctions Hétérogènes de type p-n : application à la photocatalyse pour la dépollution. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Boudiaf, Oran. 268p.
- [16] Huchon R. 2006. Evaluation de l'activité photocatalytique de catalyseurs déposés sur différents supports ("médias") - Application à la conception d'un photoréacteur pilote. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon I, France. 242p.
- [17] Chergui SB., Alloune R. 2007. Procédé d'oxydation avancée pour le traitement des eaux usées: Principe et applications. *Revue des Energies Renouvelables ICRES-07 Tlemcen*. 163-170.
- [18] Lunaa MDG., Vecianab ML., Suc CC., Luc MC. 2012. Acetaminophen degradation by electro-Fenton and photoelectro-Fenton using adouble cathode electrochemical. *Journal of Hazardous Materials*. 217-218, 200-207.
- [19] Helali S. 2012. Application de la photocatalyse pour la dégradation des polluants chimiques et bactériologiques dans l'eau en utilisant des catalyseurs irradiés par des photons de lumière naturelle ou artificielle (UV-A /UV-B). Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard-Lyon I, France. 221p.
- [20] Derradji C. 2012. Traitement des eaux usées industrielles: Dégradation des colorants azoïques par un procédé intégré couplant un procédé d'oxydation avancée et un traitement biologique. Thèse de Doctorat, Université Ferhat Abbas. 210p.
- [21] Zaviska F. 2011. Modélisation du traitement de micropolluants organiques par oxydation électrochimique. Thèse de Doctorat, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique Centre Eau Terre Environnement. 400p.
- [22] Ahmed S., Rasul M., Martens WN., Richard B., Hashib MA. 2010. Advances in Heterogeneous Photocatalytic Degradation of Phenols and Dyes in Wastewater : A Review. *Water Air and Soil Pollution*. 215, 3-29.
- [23] Atyaoui A. 2013. Elaboration de TiO₂ sous forme de couche mince dopée et nanotubulaire : caractérisation électrochimique et performance photocatalytique. Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, France. 147p.
- [24] Debono O. 2011. Oxydation photocatalytique de composés organiques volatils et suivi de leurs intermédiaires réactionnels : étude en réacteurs statique et dynamique à des concentrations typiques de l'air intérieur. Thèse de Doctorat, Ecole des Mines de Nantes, France. 305p.
- [25] Zeghioud H., Khellaf N., Djelal H., Amrane A., Bouhelassa M. 2016. Photocatalytic Reactors Dedicated to the Degradation of Hazardous Organic Pollutants : Kinetics ,Mechanistic Aspects, and Design- A Review. *Chemical Engineering Communications*. 203, 1415-1431.
- [26] Jaeger P. 1993. Preparation of supported catalysts. *Sciences Géologiques*. 46, 281-289.

- [27] Cazoïr DA. 2011. Traitement d'eaux huileuses par photocatalyse hétérogène : application à la dépollution des eaux de cales. Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard - Lyon I, France. 255p.
- [28] Sarantopoulos C. 2007. Photocatalyseurs a base de TiO₂ prepares par infiltration chimique en phase vapeur (CVI) sur supports microfibreux. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France. 204p.
- [29] Herrmann JM. 2010. Environmental photocatalysis: Perspectives for China. *SCIENCE CHINA Chemistry*. 53(9), 1831-1843.
- [30] Alahiane S., Qourzal S., El Ouardi M., Belmouden M., Assabbane A., Ait-Ichou Y. 2013. Adsorption et photodégradation du colorant indigo carmine en milieu aqueux en présence de TiO₂/UV/O₂ (Adsorption and photocatalytic degradation of indigo carmine dye in aqueous solutions using TiO₂/UV/O₂). *Journal of Materials and Environmental Science*. 4 (2), 239-250.
- [31] Simon JC., Dauby B., Nonet S. 2008. Evaluation de l'efficacité de l'oxydation avancée par photocatalyse hétérogène UV/TiO₂ sur un effluent industriel contaminé par des composés organiques non biodégradables (colorants). *Revue Scientifique des ISILF*. 22.
- [32] Tassalit D. 2012. Dégradation photocatalytique de polluants organiques dans une suspension aqueuse. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumediene. 133p.
- [33] <http://www.ouziouinioum.e-monsite.com/pages/memoire-de-fin-d-etude-1.html>. Consulté le 11 Mars 2017.
- [34] Davari N., Farhadian M., Nazar ARS., Homayoonfal M. 2017. Dégradation of diphenhydramine by the photocatalysts of ZnO/ Fe₂O₃ and TiO₂/Fe₂O₃ based on clinoptilolite : structural and operational comparison. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 5(6), 5707-5720.
- [35] Vaiano V., Matarangolo M., Sacco O. 2018. UV-LEDs floating-bed photoreactor for the removal of caffeine and paracetamol using ZnO supported on polystyrene pellets. *Chem Eng J*. 350, 703-713.
- [36] Rouibah I., Hassen W., Sallem OF., Khellaf N., Hassen A., BenMansour H. 2020. Photocatalytic and biodegradation treatments of paracetamol: investigation of the in vivo toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*. 28, 14530-14545.
- [37] Dalmázio I., Alvesb TMA., Augusti R. 2008. An Appraisal on the Degradation of Paracetamol by TiO₂/UV System in Aqueous Medium. Product Identification by Gas Chromatography- Mass Spectrometry (GC-MS). *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19, 81-88.
- [38] Chekir N., Tassalit D., Benhabiles O., Belmihoub M., Habbi H., Mellal M., Sahraoui N. 2017. Traitement photocatalytique d'un polluant pharmaceutique avec le dioxyde de titane immobilisé. *Journal of Environmental Science and Technology*. 3.
- [39] Jallouli N., Elghniji K., Trabelsi H., Ksibi M. 2017. Photocatalytic degradation of paracetamol on TiO₂ nanoparticles and TiO₂/cellulosic fiber under UV and sunlight irradiation. *Journal arabe de chimie*. 10, 3640-3645.

- [40] Yang L., Yu LE., Ray MB. 2008. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ photocatalysis. *Water Research*. 42(13), 3480-3488.
- [41] Fathinia M., Khataee AR. 2013. Residence time distribution analysis and optimization of photocatalysis of phenazopyridine using immobilized TiO₂ nanoparticles in a rectangular photoreactor, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 19, 1525-1534.
- [42] Kozlov DV., Vorontsov AV., Smirniotis PG., Savinov EN. 2003. Gas-phase photocatalytic oxidation of diethyl sulfide over TiO₂ : kinetic investigations and catalyst deactivation. *Applied Catalysis B: Environmental*. 42, 77-87.
- [43] Herrmann JM. 1999. Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants. *Catalystoday*. 53, 115-129.
- [44] Vincent G. 2008. Procédé d'élimination de la pollution de l'air par traitement photocatalytique : application aux COVs. Institut National Polytechnique De Lorraine.
- [45] Gall JF., Church GL., Ralph LB. 1943. Solubility of Ammonium Persulfate in Water and in Solutions of Sulfuric Acid and Ammonium Sulfate.. *The Journal of Physical Chemistry*. 47(9), 645-649.
- [46] Dionysios D., Suidan MT., Bekou E., Baudin I., Laîné JM. 2000. Effect of ionic strength and hydrogen peroxide on the photocatalytic degradation of 4-chlorobenzoic acid in water. *Applied Catalysis B: Environmental*. 26(3), 153-171.
- [47] Waclawek S., Lutze HV., Grübel K., Padil VVT., Černík M., Dionysiou DD. 2017. Chemistry of persulfates in water and wastewater treatment: A review. *Chemical Engineering Journal*. 330, 44-62.
- [48] Kolthoff IM., Miller IK. 1951. The Chemistry of Persulfate. I. The Kinetics and Mechanism of the Decomposition of the Persulfate Ion in Aqueous Medium. *Journal of the American Chemical Society*. 73(7), 3055-3059.
- [49] Carp O., Huisman CL., Reller A. 2004. Photoinduced reactivity of titanium dioxide. *Progress in Solid State Chemistry*. 32(2), 33-177.
- [50] Ayrat A., Dhaler D., Euzen P., Joulin JP., Julbe A., Lopez J. 2013. Un livre : Les céramiques industrielles, propriétés, mise en forme et applications.
- [51] Imamura S., Fukuda I., Ishida S. 1988. Wet oxidation catalyzed by ruthenium supported on cerium(IV) oxides. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 27(4), 718-721.
- [52] Torre JP., Alavi S., Le Bolay N., Hemati M. 2007. Elaboration d'un catalyseur supporte micronique par un procede en voie seche combinant impregnation – calcination en lit fluidise et broyage.
- [53] Kouachi K. 2008. Catalyseurs metalliques a base de ni et co reactivite catalytique en reformage sec du methane et en hydrogenation du citral. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumedienne (U.S.T.H.B.), Alger. 146 p.
- [54] Sivara JC. 1991. Effect of Calcination Temperature of Alumina on the Adsorption/Impregnation of Pd(II) Compounds. *Journal of Catalysis*. 132(2), 422-431.

- [55] Barthe L. 2007. Synthèse et Dépôt de Nanoparticules Métalliques dans un Support Poreux Par Impregnation En Voie Seche dans Un Lit Fluidisé : Elaboration de Catalyseurs Supportés. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France. 262p.
- [56] Mercadante L., Neri G., Milone C., Donato A., Galvagno S. 1996. Hydrogenation of α,β -unsaturated aldehydes over Ru/Al₂O₃ catalysts. *Journal Molecul Catalys.* 15 93-101.
- [57] Bachir R., Lafitte E., Marécot P., Didillon B., Barbier J. 1997. Preparation of bimetallic Pd-Fe / Al₂O₃ catalysts by underpotential deposition of iron. *Journal of Chimical Physical.* 94, 1906-1913.
- [58] Satterfield CN. 1980. Heterogeneous Catalysis in Practice. *Materials science.*
- [59] Tapin B. 2012. Préparation et caractérisation de catalyseurs bimétalliques Re-Pd/TiO₂ pour l'hydrogénation de l'acide succinique issu de la biomasse. Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, France. 176p.
- [60] Yahi NA. 2019. Préparation et caractérisation des catalyseurs à base de nickel – Réactivité catalytique en reformage sec du méthane. Thèse de Doctorat, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou. 130p.
- [61] Jiang SP. 2006. A review of wet impregnation-An alternative method for the fabrication of high performance and nano-structured electrodes of solid oxide fuel cells. *Materials Science and Engineering: A.* 418(1-2), 199-210.
- [62] Mauldin CH., Riley KL., Patent US. 1990. Process For The Preparation of Surface Impregnated Dispersed Cobalt Metal Catalysts.
- [63] Desportes S. 2005. Impregnation en Voie Seche en Lit Fluidisé Application à La Synthèse de Catalyseurs Supportés. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France. 234p.
- [64] Kumar A., Yadav N., Bhatt M., Mishra NK., Chaudhary P., Singh R. 2015. Sol-Gel Derived Nanomaterials and Its Applications: A Review. *Research Journal of Chemical Sciences.* 5(12), 98-105.
- [65] Ebelmen J. 1846. Untersuchungen über die Verbindung von Borsäure und Kieselsäure mit Aether. *Annales de Chimie et de Physique.* 3, 319-355.
- [66] <https://rescoll.fr/wp-content/uploads/2009/04/dossier-technique-sol-gel-blog-rescoll1.pdf>. Consulté le 14 Septembre 2020.
- [67] Rabaste S. 2003. Micro activité optique élaborées par voie sol-gel : application aux ions terre rares d'Eu³⁺ et aux nanocristaux semi-conducteurs de Cd Se. Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard - Lyon I, France. 164p.
- [68] Paul BK., Moulik SP. 2001. Uses and applications of microemulsions. *Current Science.* 80, 990-1001.
- [69] Capek I. 2004. Preparation of metal nanoparticles in water-in-oil (w/o) microemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science.* 110(1-2), 49-74.
- [70] Tada H., Honda H. 1995. Photocatalytic activity of TiO₂ film coated on internal lightguide. *Journal of the Electrochemical Society.* 142, 3438-3443.

- [71] Mikula M., Brezovfi V., Ceppan L., Pach L., Karpinsky L., Mater J. 1995. Phenol decomposition using M^{2+}/TiO_2 photocatalysts supported by the sol-gel technique on glass fibres. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 1. 109, 177-183.
- [72] Skaf M. 2013. Comparaison physico-chimique et des [sic] activités catalytiques dans les réactions d'oxydation entre deux séries de catalyseurs Ag/CeOff préparés par imprégnation et dépôtprécipitation. Thèse de Doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale, France. 205p.
- [73] Hindili R., Said OB., Alatrache A., Tajouri T., Aissa P., 2013. Effet de la photocatalyse heterogene sur l'activite antibacterienne de la spiramycine et sur la biomasse bacterienne de staphylococcus xylosus. *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech.* 40.
- [74] Surenjan A., Sambandam B., Pradeep T., Philip L. 2017. Synthesis, characterization and performance of visible light active C-TiO₂ for pharmaceutical photodegradation. *Journal Environmental of Chemical Engir.* 5, 757-767.
- [75] El Bekkali C., Bouyarmane H., Laasri S., El Karbane M., Saoiabi A., Laghzizil A. 2017. Sorption and photocatalytic degradation of ciprofloxacin and ofloxacin in aqueous suspensions of TiO₂ and ZnO catalysts. *Journal of Materials and Environmental Science.* 8, 4902-4906.
- [76] Bennemla M. 2017. Etude de la photodégradation catalytique et oxydative des produits pharmaceutiques en solution aqueuse. Thèse de Doctorat, Université Houari Boumediene, Algérie. 190p.
- [77] Fathinia M., Khataee AR. 2013. Residence time distribution analysis and optimization of photocatalysis of phenazopyridine using immobilized TiO₂ nanoparticles in a rectangular photoreactor. *J. Indus. Eng. Chem.* 19, 1525-1534.
- [78] Li D., Zhu Q., Han C., Yang Y., Jiang W., Zhang Z. 2015. Photocatalytic degradation of recalcitrant organic pollutants in water using a novel cylindrical multi-column photoreactor packed with TiO₂-coated silica gel beads. *J. Hazard. Mater.* 285, 398-408.
- [79] Xiao-gang H., Hong-hui L., Zhong-lin Z., Cai-mai F., Shi-bin L., Yan-ping S. 2009. Modeling and experimentation of a novel labyrinth bubble photoreactor for degradation of organic pollutant. *Chem. Eng. Res. Des.* 87, 1604-1611.
- [80] N'Guettia KR., Aboua KN., Diarra M., Gombert B., Dembele A., Traore KS. 2019. Dégradation photochimique de l'ofloxacin : effet des concentrations de catalyseur et des matrices de dilution. *Afrique SCIENCE.* 15(1), 274-288.



Chapitre III

Tests de toxicité

Ce chapitre est consacré à l'étude bibliographique se rapportant sur le devenir des substances médicamenteuses dans l'environnement et leurs impact sanitaire et écologique

Chapitre III. Tests de toxicité

III.1. Devenir des résidus pharmaceutiques dans l'environnement

La principale voie d'introduction des médicaments dans l'environnement se fait à travers leur consommation. Les réglementations imposées, le développement socio-économique et l'accès aux soins font la différence entre les pays développés et les sous-développés dans les rejets environnementaux. Les substances biologiquement actives des médicaments peuvent subir des changements structuraux et elles deviennent d'autres substances appelées «métabolites» dans le corps. Après leur excrétion, les médicaments sont déchargés dans l'environnement, majoritairement dans les matrices aquatiques à travers les eaux usées. Aussi dans l'environnement, ils pourraient encore être changés par des dégradations et/ou des réactions qui donnent lieu à des substances différentes de la molécule mère appelées «produits de transformation». Les résidus peuvent entrer encore une autre fois après leur excrétion comme des xénobiotiques (**Figure III.1**). Dès qu'ils rentrent dans l'organisme différentes réactions de métabolisation selon la nature des xénobiotiques (oxydation, conjugaison, réduction, etc.) peuvent se déclencher par le foie, le rein et d'autres organes pour les éliminer. Différentes fins seraient possibles comme l'excrétion, la combinaison avec les macromolécules cellulaires comme des protéines et l'ADN conduisant à des cancers et au dysfonctionnement cellulaire.

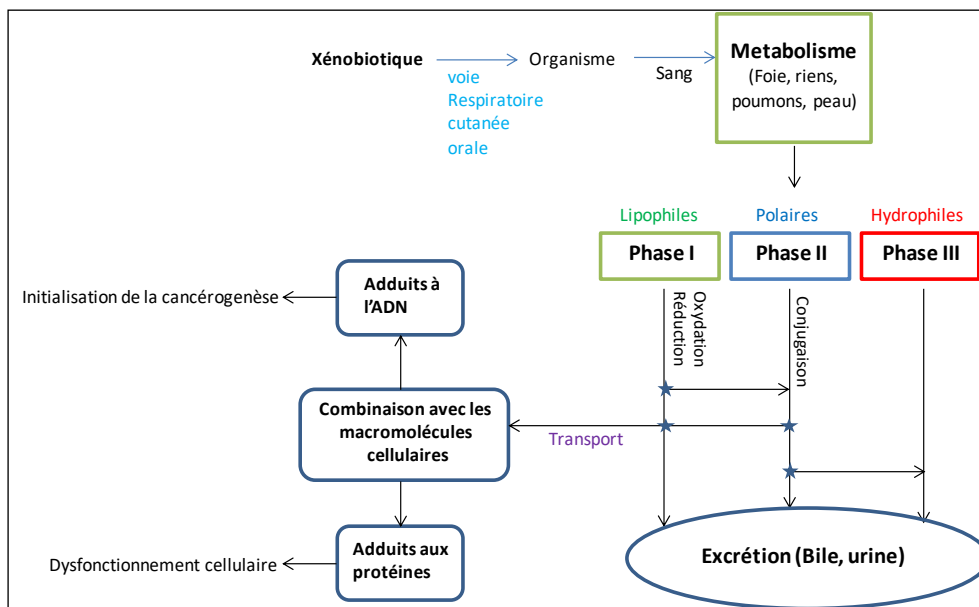


Figure III.1 : Différentes voies de la biotransformation des xénobiotiques [1]

III.2. Impact des résidus pharmaceutiques

Dès que les résidus atteignent l'environnement, plusieurs risques pourraient influencer la faune et la flore. Leur impact dans certains cas est néfaste et irréversible.

III.2.1. Les risques pour la santé humaine

Les résidus médicamenteux présentent un risque majeur pour la santé humaine d'une façon directe ou indirecte.

a) Nocivité directe

Bien que les résidus pharmaceutiques soient synthétisés à des fins thérapeutiques, ils peuvent passer dans l'environnement et présenter un risque potentiel pour la santé humaine. En effet, plusieurs travaux de recherche ont montré que les effets d'une exposition par voie orale lors de l'ingestion d'eau contaminée sont pour cette heure considérés comme non significatifs [2,3]. Néanmoins, il y a la possibilité de passage des médicaments à travers les barrières de traitement comme montré dans l'étude de **Zuccato et al** [4] ou l'ingestion d'antibiotiques par l'eau du robinet est également possible (à des taux de 0,6 à 1,7 ng L⁻¹), mais l'absence de valeurs guides fixées précisant, pour des sujets exposées via l'environnement, la «dose maximale tolérable» de molécules médicamenteuses, explique que les doses-repères permettant d'aboutir à cette conclusion sont habituellement fixées par chaque auteur [5]. Ce qui indique l'incertitude de l'évaluation des risques pour l'homme avec ces approches probabilistes dont les données spécifiques sont généralement insuffisantes. **Petrovic et al** [6] montre aussi que plusieurs facteurs peuvent participer à l'incertitude des connaissances tels que la prise en compte des mélanges (les cocktails), la toxicité des métabolites et produits de dégradation, la prise en compte des polymorphismes humains, l'extrapolation des effets toxiques aux faibles doses ou encore l'absence de seuil d'effet pour les produits génotoxiques directs. Le risque toxique direct pour l'homme est minime, mais cette hypothèse est provisoire et peut se heurter à l'absence des données précises. Les résidus de nitrofuranes et de certains sulfamides sont soupçonnés de fœtotoxicité. Ces molécules passent dans le lait maternel, et sont toxiques pour les nourrissons de moins d'un mois. Les résidus de pénicilline peuvent former des complexes avec certaines protéines (albumines) et se transforment en corps immunogènes. Les résidus des anti-inflammatoires dans l'environnement provoquent des effets néfastes qui comprennent les saignements gastro-intestinaux, des ulcères intestinaux et l'anémie aplasique, de plus, l'exposition à long terme à certains anti-inflammatoires induit des tumeurs rénales chez les rats et les tumeurs du foie chez la souris [7].

b) Nocivité indirecte

Un des grands risques est celui de la sécurité alimentaire car il peut se produire un passage de résistance et colonisation du tube digestif humain par des bactéries résistantes et en plus de ça, des problèmes de toxicité et d'allergie à travers la chaîne alimentaire peuvent aussi se produire [8]. L'ingestion des résidus de médicaments dans les poissons, les coquillages et les viandes altère la flore intestinale normale, ce qui augmenterait la sensibilité aux infections bactériennes et le risque de sélection de bactéries résistantes [9]. Par ailleurs, l'utilisation de ces médicaments chez les animaux producteurs de denrées alimentaires (lait, viande, poissons, etc.) pourrait créer des problèmes de santé. L'utilisation généralisée présente un risque potentiel pour le consommateur si leurs résidus entrent dans la chaîne alimentaire. Le danger principal de l'utilisation des antibiotiques dans l'alimentation des animaux provient de la sélection de bactéries résistantes susceptibles de se transmettre à l'homme par l'alimentation [10].

En Tunisie, à cause de passage des bactéries résistantes à l'homme à travers les aliments, ont restreint l'usage des antibiotiques en aquaculture [11,12]. Ces restrictions ont imposé une augmentation des surveillances de prescriptions d'antibiotiques et du l'usage à titre prophylactique. Les fréquences de ces antibiorésistances ont été constatées plus élevée parmi les éleveurs que parmi les populations vivant en zone urbaine. De nombreuses barrières telle que les STEPs et les usines de potabilisation jouent normalement un rôle important pour bloquer le passage des bactéries résistantes à l'homme mais il s'est avéré que ces barrières sont dans la majorité des cas inoffensives [13,14].

III.2.2. Risques écotoxicologiques

Contrairement aux risques incertains chez l'homme, et en état actuel des études de recherche scientifiques, les effets écotoxicologiques ne sont pas exclus car les taux trouvés en résidus médicamenteux dans l'environnement dépassent souvent le seuil considéré comme délétère chez une espèce animale, végétale ou un microorganisme [15,16]. Bien qu'ils étaient spécifiquement conçus, les médicaments sont dotés d'une activité pharmacologique bien déterminée pour agir sur les organismes vivants, ils se retrouvent dans l'environnement à des concentrations faibles inférieures aux doses thérapeutiques et qui s'avèrent souvent persistantes [4]. Le caractère lipophile de certaines molécules leur permet de se bioaccumuler et de pouvoir engendrer des effets adverses globaux ou spécifiques sur les écosystèmes aquatiques [17]. Selon les revues des données d'écotoxicité précédentes, les organismes aquatiques sont les plus susceptibles d'être touchés par les résidus pharmaceutiques souvent par une faible toxicité aiguë [18]. **Kummerer et al** [18] ont identifié plus de 100 substances médicamenteuses dans l'environnement deux parmi elles sont révélées actives pour les organismes aquatiques à l'état de trace (concentration $0,1 \text{ mg L}^{-1}$). Ces observations sont plus remarquables dans le cas des antibiotiques qui ont la capacité d'engendrer des effets sur les microorganismes.

Les antibiotiques n'agissent pas toujours comme conçus par les firmes mais ils peuvent affecter d'autres fonctions chez les espèces aquatiques [15].

Des études précédentes ont mis en évidence les effets écotoxiques chroniques suite à des expositions prolongées des organismes aquatiques à des doses sublétales de composés pharmaceutiques. Des changements de comportement, de la fonction de reproduction et du développement des espèces ont été observés au cours de ces études [19]. Les concentrations toxiques associées aux effets chroniques sublétaux s'approchent des concentrations environnementales. Plusieurs auteurs appellent dans des travaux précédents à réaliser des études écotoxicologiques au sein de la communauté (microcosmes naturels ou reconstitués) à fin de garder les mêmes conditions réelles de vie et d'interaction entre les espèces [20]. De nombreuses espèces aquatiques sont continuellement exposées plus de longues périodes de temps ou même sur toute leur vie cycle. L'évaluation du potentiel chronique de micropolluants est donc importante. Cependant, il existe un manque de données disponibles à propos la toxicité chronique. Des investigations plus spécifiques sur différentes phases de la vie des organismes sont rarement été effectuées [21]. Le risque potentiel associé à la présence de plusieurs substances médicamenteuses dans des mélanges dans les eaux de surface reste le plus souvent inconnu [15,16].

III.2.3. Biosurveillance : Outils de contrôle de contaminants pharmaceutiques

La biosurveillance (le biomonitoring) est basée sur les manifestations biologiques des organismes vis-à-vis des polluants. Les réponses de ces organismes sont mesurables et quantifiables et elles sont assimilées à des bio-indicateurs. Les bioessais s'appuient généralement sur de nombreuses espèces, tant animales que végétales, ainsi que sur de nombreux critères de mesure d'effets et ils sont désormais normalisés. Suite à l'exposition à des contaminants, les biomarqueurs présentent des changements au niveau moléculaire et biochimique [22].

a) Biomarqueur de génotoxicité

Certaines substances pharmaceutiques présentent un potentiel génotoxique [23]. Les études de **Pomati et al** [24,25] ont montré que des substances pharmaceutiques non génotoxiques peuvent acquérir ce potentiel en se retrouvant dans un mélange avec d'autres molécules (effets additifs et/ou synergiques). Les molécules pharmaceutiques se retrouvant dans un certain mélange, en faibles concentrations environnementales, peuvent provoquer des altérations génétiques ou mutagènes [11-13]. Du fait qu'un cancer est supposé être provoqué à n'importe quel niveau d'exposition à un composé génotoxique, la dose seuil en-dessous de laquelle aucun effet cancérigène ne puisse pas se produire s'avère importante [26]. Le métabolisme de l'ADN semble être une cible très sensible pour certains médicaments comme les antibiotiques; le sulfaméthoxazole, le triméthoprim et l'érythromycine affectent l'ADN des bivalves (*Mytilus edulis*) avec une intensité variable [16].

b) Biomarqueurs histologiques

L'acétaminophène (N-acétyl-p-aminophène, PARA) est un médicament analgésique / antipyrétique sûr et efficace lorsqu'il est utilisé à des niveaux thérapeutiques [27]. Cependant, un surdosage du paracétamol entraîne une nécrose hépatique centrilobulaire, qui peut être fatale [28]. La toxicité du paracétamol est déclenchée par la formation du métabolite réactif N-acétyl-p-benzoquinone imine (NAPQI). Le NAPQI est catalysé par le cytochrome P450 CYP2E1, responsable de lésions hépatiques par épuisement du glutathion [29]. Une fois le GSH épuisé, tout NAPQI restant formé réagira avec des cibles alternatives, en particulier des protéines cellulaires telles que les protéines mitochondriales, et induira un stress oxydatif mitochondrial et un dysfonctionnement [30]. Le dysfonctionnement mitochondrial étendu entraînant des dommages à l'ADN nucléaire conduit à la mort des cellules nécrotiques [31-33]. Bien que le mécanisme exact de la lésion cellulaire induite par le paracétamol ne soit pas encore complètement compris, il a toujours été supposé que le mode de mort cellulaire était l'oncose ou la nécrose oncotique [34,35]. Cependant, ces dernières années, un nombre croissant d'auteurs ont postulé que l'apoptose joue un rôle majeur dans l'insuffisance hépatique induite par le paracétamol [36-38]. De plus, le paracétamol induit l'apoptose dans d'autres types de cellules [39,40]. Pour le foie, on a émis l'hypothèse que 40% ou plus des hépatocytes meurent en fait par apoptose [41]. Les preuves expérimentales apparentes de la mort cellulaire apoptotique après un surdosage du paracétamol *in vivo* comprenaient la fragmentation de l'ADN [42], le clivage de la poly (ADP-ribose) polymérase [38], les ruptures de brins d'ADN détecté par le test TUNEL (Nick End Marquage de la dUTP médiée par la désoxynucléotidyltransférase terminale) [43], et preuves morphologiques de l'apoptose d'hépatocytes individuels (microscopie électronique et optique) [41].

III.3. Références Bibliographiques

- [1] Stieger B., Meier PJ. 1998. Bile acid and xenobiotic transporters in liver. *Current opinion in cell biology*. 10, 462-467.
- [2] Bercu JP., Parke NJ., Fiori JM., Meyerhoff RD. 2008. Human health risk assessments for three neuropharmaceutical compounds in surface waters. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 50, 420-427.
- [3] Dorne JLC., Skinner L., Frampton GK., Spurgeon DJ., Ragas AMJ. 2007. Human and environmental risk assessment of pharmaceuticals: differences, similarities, lessons from toxicology. *Anal Bioanal Chem.* 387, 1259-1268.
- [4] Zuccato E., Calamari D., Natangelo M., Fanelli R. 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment. *Lancet*. 355, 1789-1790.
- [5] Webb S., Ternes T., Gibert M., Olejniczak K. 2003. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. *Toxicol Lett.* 142, 157-167.
- [6] Petrovic M., Diaz BDA., Ventura F. 2003. Low nanogram per liter determination of halogenated nonylphenols, nonylphenol carboxylates, and their non-halogenated precursors in water and sludge by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*. 14, 516-527.
- [7] Dowling JJ., Vreede AP., Low SE., Gibbs EM., Kuwada JY., Bonnemann CG., Feldman EL. 2009. Loss of myotubularin function results in T-tubule disorganization in zebrafish and human myotubular myopathy. *PLoS Genet.* 5(2).
- [8] Cabello FC. 2004. Antibiotics and aquaculture in Chile: Implications for human and animal health. *Revista Medica de Chile*. 132(8), 1001-1006.
- [9] Salyers AA., Gupta A., Wang Y. 2004. Human intestinal bacteria as reservoirs for antibiotic resistance genes. *Trends Microbiol.* 12, 412-416.
- [10] Molbak k. 2004. Spread of Resistant Bacteria and Resistance Genes from Animals to Humans – The Public Health Consequences. *Journal of Veterinary Medicine*. 51(8-9):364-9.
- [11] Tahrani L., Van Loco J., Anthonissen R., Verschaeve L., Ben Mansour H., Reyns T. 2017. Identification and riskassessment of human and veterinary antibiotics in the wastewater treatment plants and the adjacent sea in Tunisia. *Water Sci Technol.* 76 (11), 3000-3021.
- [12] Tahrani L., Mehri I., Reyns T., Anthonissen R., Verschaeve L., Khalifa ABH., Loco JV., Abdenaceur H., Mansour HB. 2018. UPLC-MS/MS analysis of antibiotics in pharmaceutical effluent in Tunisia : ecotoxicological impact and multi-resistant bacteria dissemination. *Arch Microbiol.* 200(4), 553-565.
- [13] Nasri E., Machreki M., Beltifa A., Aroui S., Ghorbel A., Saad A., Feriani A., Borgi MA., Ghazouani L., Sire O., Balcázar JL., Mansour HB. 2017. Cytotoxic effects of seven Tunisian hospital wastewaters on the proliferation of human breast cancer cell line MDA-231: correlation with their chemical characterization. *Environ Sci Pollut Res Int.* 24(25), 20422-20428.

- [14] Afssa S., Hamden K., Lara Martin PA., Mansour HB. 2020. Occurrence of 40 pharmaceutically active compounds in hospital and urban wastewaters and their contribution to Mahdia coastalsea water contamination. *Environ Sci Pollut Res Int.* 7(2), 1941-1955.
- [15] Zouiten A., Beltifa A., Van Loco J., Mansour HB., Reyns T. 2016. Ecotoxicological potential of antibiotic pollution-industrial wastewater: bioavailability, biomarkers, and occurrence in *Mytilus galloprovincialis*. *Environ Sci Pollut Res Int.* 23(15), 15343-50.
- [16] Zouiten A., Mehri I., Beltifa A., Ghorbel A., Sire O., Van Loco J., Abdenaceur H., Reyns T., Ben Mansour H. 2017. Designation of pathogenic resistant bacteria in the Sparusaurata sea collected in Tunisia coastlines: Correlation with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of antibiotics. *Microb Pathog.* 106, 3-8.
- [17] Zegura B., Heath E., Cernosa A., Filipic M. 2009. Combination of in vitro bioassays for the determination of cytotoxic and genotoxic potential of wastewater, surface water and drinking water samples. *Chemosphere.* 75, 1453-1460.
- [18] Kummerer K. 2001. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater by hospitals in relation to other sources - a review. *Chemosphere.* 45, 957-969.
- [19] Isidori M., Lavorgna M., Nardelli. 2005. Toxic and genotoxic evaluation of six antibiotics on non-target organisms. *Science of the Total Environment.* 346, 87-98.
- [20] Sanderson H., Johnson DJ., Reitsma T., Brain RA., Wilson CJ., Solomon KR. 2004. Ranking and prioritization of environmental risks of pharmaceuticals in surface waters. *Regul Toxicol Pharmacol.* 39, 158-183.
- [21] Parrott JL., Blunt BR. 2005. Life-cycle exposure of fathead minnows (*Pimephales promelas*) to an ethinylestradiol concentration below 1 ngL⁻¹ reduces egg fertilization success and demasculinizes males. *Environ. Toxicol.* 20, 131-141.
- [22] Lagadic L., Caquet T., Amiard JC., Ramade F. 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects fondamentaux. Masson. 1-9.
- [23] Beltifa A., Alibi S., Mansour HB. 2020. Monitoring hospital wastewaters for their probable genotoxicity. *J Water Health.* 18 (1), 1-7.
- [24] Pomati F., Castiglioni S., Zuccato E., Fanelli R., Vigetti D., Rossetti C., Calamari D. 2006. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells. *Environmental Science and Technology.* 40, 2442-2447.
- [25] Pomati F., Orlandi C., Clerici M., Luciani F., Zuccato E. 2007. Effects and Interactions in an Environmentally Relevant Mixture of Pharmaceuticals. *Toxicological Sciences.* 102, 129-137.
- [26] Webb S., Ternes T., Gibert M., Olejniczak K. 2003. Indirect human exposure to pharmaceuticals via drinking water. *Toxicol Lett.* 142, 157-167.
- [27] Rumack BH. 2004. Acetaminophen Misconceptions. *HEPATOLOGY.* 40.
- [28] Prescott LF. 1980. Hepatotoxicity Of Mild Analgesics. *British Journal Of Clinical Pharmacology.* 10, 373-379.

- [29] Kuriakose GC., Kurup MG. 2010. Antioxidant and hepatoprotective activity of *Aphanizomenon flos-aquae* Linn against paracetamol intoxication in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. 48, 1123-1130.
- [30] Jaeschke H., McGill MR., Ramachandran A. 2012. Oxidant stress, mitochondria, and cell death mechanisms in drug-induced liver injury: Lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity. *Drug Metabolism Review*. 44(1), 88-106.
- [31] Jaeschke H. 1990. Glutathione disulfide formation and oxidant stress during acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice in vivo: The protective effect of allopurinol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 255, 935-941.
- [32] Meyers LL., Beierschmitt WP., Khairallah E A., Cohen SD. 1988. Acetaminophen-induced inhibition of mitochondrial respiration in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 93, 378-387.
- [33] Tirmenstein MA., Nelson SD. 1990. Acetaminophen-induced oxidation of protein thiols : Contribution of impaired thiol-metabolizing enzymes and the breakdown of adenine nucleotides. *J. Biol. Chem.* 265, 3059-3065.
- [34] Cohen SD., Khairallah EA. 1997. Selective protein arylation and acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab. Rev.* 29, 59-77.
- [35] Pumford NR., Halmes NC., Hinson JA. 1997. Covalent binding of xenobiotics to specific proteins in the liver. *Drug Metab. Rev.* 29, 39-57.
- [36] Ferret PJ., Hammoud R., Tulliez M., Tran A., Trebeden H., Jaffray P., Malassagne B., Calmus Y., Weill B., Batteux F. 2001. Detoxification of reactive oxygen species by a nonpeptidyl mimic of superoxide dismutase cures acetaminophen-induced acute liver failure in the mouse. *Hepatology*. 33, 1173-1180.
- [37] Kanno S., Ishikawsa M., Takayanagi M., Takayanagi Y., Sasaki K. 2000. Potentiation of acetaminophen hepatotoxicity by doxapram in mouse primary cultured hepatocytes. *Biol. Pharm. Bull.* 23, 446-550.
- [38] Zhang H., Cook J., Nickel J., Yu R., Stecker K., Myers K., Dean NM. 2000. Reduction of liver Fas expression by an antisense oligonucleotide protects mice from fulminant hepatitis. *Nat. Biotechnol.* 18, 862 867.
- [39] Ruppova K., Wsolova L., Sedlak J., Horvathova M., Urbancikova M. 1999. Detection of apoptotic changes in HeLa cells after treatment with paracetamol and sodium fluoride. *Gen. Physiol. Biophys.* 18, 140-146.
- [40] Wiger R., Finstad HS., Hongslo JK., Haug K., Holme JA. 1997. Paracetamol inhibits cell cycling and induces apoptosis in HL-60 cells. *Pharmacol. Toxicol.* 81, 285-293.
- [41] Ray SD., Jena N. 2000. A hepatotoxic dose of acetaminophen modulates expression of BCL-2, BCL-X(L), and BCL-X(S) during apoptotic and necrotic death of mouse liver cells in vivo. *Arch. Toxicol.* 73, 594-606.
- [42] Ray SD., Kamendulis LM., Gurule MW., Yorkin RD., Corcoran GB. 1993. Ca²⁺ antagonists inhibit DNA fragmentation and toxic cell death induced by acetaminophen. *FASEB J.* 7, 453-463.

- [43] Lawson JA., Fisher MA., Simmons CA., Farhood A., Jaeschke H. 1999. Inhibition of Fas receptor (CD95)-induced hepatic caspase activation and apoptosis by acetaminophen in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 156, 179-186.



Chapitre IV

Matériels et Méthodes expérimentales

Ce chapitre est consacré à la description en détail du matériel et des méthodes utilisés dans la présente étude. Les matériels comprendront principalement les produits chimiques, les catalyseurs et le réacteur photocatalytique. Les méthodes expérimentales, englobent les protocoles utilisés dans les essais ainsi que les techniques d'analyse.

Chapitre IV. Matériels et Méthodes expérimentales

IV.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous présentons le matériel et les méthodes expérimentales ayant permis la réalisation pratique de ce travail. En premier lieu, les polluants et les produits chimiques sont décrits ainsi que les catalyseurs utilisés dans cette étude. Nous avons en effet choisi de travailler avec deux types de photocatalyseurs, le TiO_2 imprégné sur du papier cellulosique et le ZnO dispersé sur du polystyrène. Une description détaillée du dispositif expérimental et son fonctionnement est présentée dans la troisième partie. En vue de suivre et d'interpréter le phénomène en présence, diverses techniques analytiques sont nécessaires comme la spectrophotométrie UV-vis, la chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP), la diffractométrie des rayons X (DRX), la microscopie optique (MO) et la microscopie électronique à balayage (MEB) ; ces techniques sont soigneusement décrites et sont accompagnées de leurs appareillages. Enfin, dans une perspective d'évaluer l'effet du traitement sur le polluant, des tests de phytotoxicité avec des graines de Cresson et des tests de toxicité *in-vivo* sur des souris de laboratoire sont élaborés et discutés.

IV.2. Polluant et produits chimiques

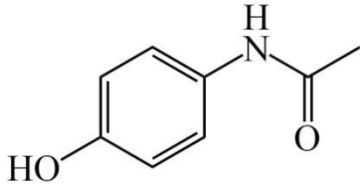

Dans le cadre de ce travail, nous avons en besoin d'un certain nombre de produits chimiques nécessaires à l'élaboration des manipulations. Le polluant sélectionné comme molécule modèle est le paracétamol (PARA) ; des produits chimiques divers sont également utilisés. Enfin, de l'eau distillée pour la préparation des solutions et le rinçage de la verrerie (pH=6,0 et conductivité électrique=6,0 $\mu\text{S}/\text{cm}$) est utilisée tout au long de ce travail expérimental.

IV.2.1. Le paracétamol

a) Propriétés physicochimiques

Le paracétamol est aussi appelé acétaminophène. C'est un médicament antalgique et antipyrétique utilisé pour le soulagement des maux de tête et des douleurs d'intensité faible à modérée. Cette molécule modèle représentative des polluants d'origine pharmaceutique a fait l'objet de plusieurs études effectuées dans notre laboratoire dans le cadre de travaux de Doctorat et de Master. Quelques caractéristiques physicochimiques et informations relatives à ce médicament sont présentées dans le **Tableau IV.1**.

Tableau IV.1 : Propriétés physicochimiques du paracétamol [1,2]

Nom commun	Paracétamol	<u>Formule développée</u>
Formule brute	C ₈ H ₉ NO ₂	
Masse molaire	151,1626 ± 0,0078 g/mol	
Densité	1,263	
Solubilité	Eau : assez soluble Alcool : facilement soluble Ether et chloroforme : très peu soluble	
Famille	Analgésique	
Abréviation	PARA	<u>Texture</u>
Nom IUPAC	N- (4-hydroxyphényl) acétamide	
pKa à 25 °C	9,5	
λ _{max} (nm)	243	

La structure moléculaire du paracétamol est constituée d'un cycle benzénique, substitué par un groupe amide et un groupe hydroxyle. Chimiquement le paracétamol est désigné sous le terme de 1- hydroxy 4-acétamido benzène qui est un dérivé du phénol.

Le paracétamol ou l'acétaminophène, se présente sous forme de poudre cristalline blanche, inodore de saveur amère. Le produit ayant fait l'objet du présent travail est fourni par la société SAIDAL (Annaba, Algérie) avec une pureté ≥ 99%.

b) Données toxicologiques

L'acétaminophène principalement utilisé comme médicament analgésique et antipyrétique est absorbé par les voies digestives. Les données toxicologiques relatives à l'acétaminophène sont très limitées bien que des études avec des doses uniques indiquent qu'elle affecte le foie. Une nette augmentation des données toxicologiques disponibles a été constatée depuis le précédent examen de la littérature (**Tableau IV.2**).

Tableau IV.2 : Principales données toxicologiques obtenues selon plusieurs approches [6]

Présence [3,5]	- Dans des eaux brutes de surface : 0,1-16 µg / L ; - Dans des eaux souterraines : 110-111 ng / L, - Dans l'eau potable : 1-20 ng/L (voir même 100 ng/L).
Posologie par voie orale [4]	Adulte : 4 g/jour en 4 prises Enfant et nourrisson : 60 mg/kg/jour en 4 à 6 prises
Approche dérivée de la dose thérapeutique [5]	2 400 µg/L
Approche de préoccupation toxicologique [5]	2,7 µg/L

IV.2.2. Produits chimiques

Différents produits chimiques sont utilisés dans ce travail ; ils sont donnés dans le **Tableau IV.3** dans lequel on précise la pureté, le fournisseur et l'utilisation.

Tableau IV.3 : Produits utilisés dans le présent travail

Produit	Formule	Pureté	Fournisseur	Utilisation
Médicament				
Paracétamol	C ₈ H ₉ NO ₂	≥ 99 %	SAIDAL-Annaba	Polluant
Réactifs chimiques				
Dioxyde de titane	TiO ₂	99 %	Alhstrom	
Oxyde de zinc	ZnO	99 %	Alhstrom	Réactifs de
Eau oxygénée	H ₂ O ₂	50 %	Merck	photocatalyse
Persulfate de potassium	K ₂ S ₂ O ₈	98 %	Merck	
Acide / Base				
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄	95-97 %	Sigma	Réglage du
Hydroxyde de sodium	NaOH	96 %	Merck	pH
Solvants et éluant Eau				
Eau	H ₂ O	100 %	Bioblock Fisher	Préparation
Acétonitile	CH ₃ CN	99 %	Fluka	de solution et
Acide acétique	CH ₃ COOH	99,8 %	Fluka	élution pour HPLC

IV.3. Catalyseurs-Mise en œuvre

Dans cette étude, nous avons utilisé deux principaux systèmes catalytiques qui sont TiO₂/cellulose et ZnO/polystyrène

Dans le premier système, le catalyseur utilisé est du dioxyde de titane PC-25, dont la taille est de 1,4µm, de structure cristalline anatase (>99%) avec une surface spécifique d'environ 317 m²/g. Le support poreux non-tissé est composé de fibres cellulosiques synthétiques et naturelles ; cette texture limite la perte de TiO₂ assurant ainsi une très bonne activité photocatalytique et une bonne résistance au rayonnement UV.

Les feuilles de catalyseur (**Figure IV.1**) sont fournies par des chercheurs de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes (Université de Rennes 1, France). Leurs caractéristiques sont données dans le **Tableau IV.4**.

Tableau IV.4 : Quelques caractéristiques des systèmes catalytiques utilisés dans la présente étude

Caractéristiques	TiO ₂ /cellulose	ZnO/polystyrène
Énergie de bande interdite	3,2 eV	3,3 eV
Zone optimale de pH	Intermédiaire	variable
Densité catalytique	16,5 g / m ²	/
Surface spécifique catalytique	317 m ² / g	/
Épaisseur de la couche catalytique	250 µm	/
Diamètre moyen des particules	1,4 µm	/

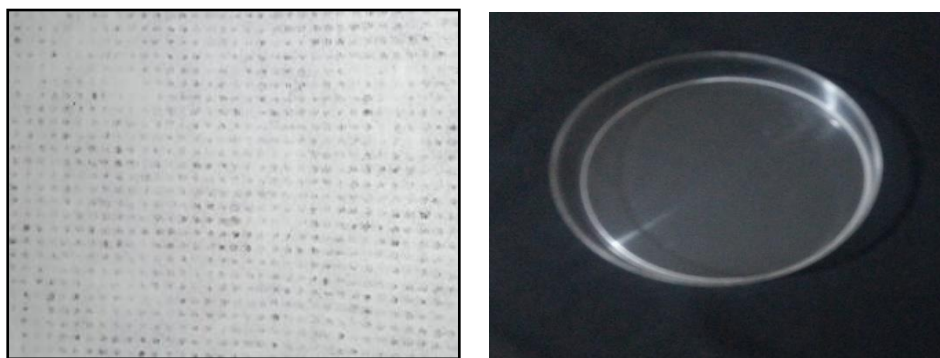


Figure IV.1 : Systèmes catalytiques utilisés dans la présente étude : (a) TiO₂ imprégné sur fibre cellulosique, (b) ZnO supporté sur du polystyrène

IV.4. Description et fonctionnement du dispositif expérimental

Le dispositif expérimental représenté sur la **Figure IV.2** est constitué d'un photoréacteur batch de capacité 1 L opérant à température constante (20±1 °C). La solution à traiter est irradiée à l'aide d'une lampe UV de marque Philips et de puissance 9 W immergée dans solution. Cette lampe émet une lumière UV ($\lambda = 365$ nm) avec une intensité de 20 W/m² (mesurée à l'aide d'un radiomètre). Au moins la moitié de la lampe doit être immergée dans la solution. Le réacteur est entièrement couvert avec du papier d'aluminium afin d'éviter la pénétration de la lumière visible dans le réacteur et la dispersion de la lumière Ultra-Violette. Le protocole expérimental passe par différentes étapes, à savoir :

- La préparation de la solution (500 ml) de paracétamol à traiter ;
- La disposition de la feuille de catalyseur (de dimensions définies) dans le réacteur après l'avoir immergée dans l'eau distillée pour la débarrasser de l'excès de ligand ;
- La fixation de la lampe UV à l'intérieur du réacteur ;
- L'immersion du photoréacteur dans un bain en maintenant la température d'opération à la valeur de 20±1 °C et la vitesse d'agitation à une valeur modérée ;

Le traitement commence par une agitation du mélange dans l'obscurité pendant 30 min afin d'assurer l'établissement d'un équilibre adsorption-désorption à la surface du catalyseur avant l'irradiation ; il se poursuit alors pendant un temps de traitement de 4h le long duquel des prélèvements d'échantillons de solution de 1 mL sont effectués toutes les 30 min. Après 4 h de traitement, la feuille de catalyseur est retirée du réacteur, lavée à l'eau distillée pendant 2-3 h sous agitation magnétique puis séchée pour une éventuelle utilisation ; Les échantillons maintenus dans l'obscurité, sont ensuite centrifugés à 3000 rpm pendant 15 min ; le surnageant est alors analysé par spectrophotométrie UV-vis à une longueur d'onde $\lambda_{\max} = 240$ nm.

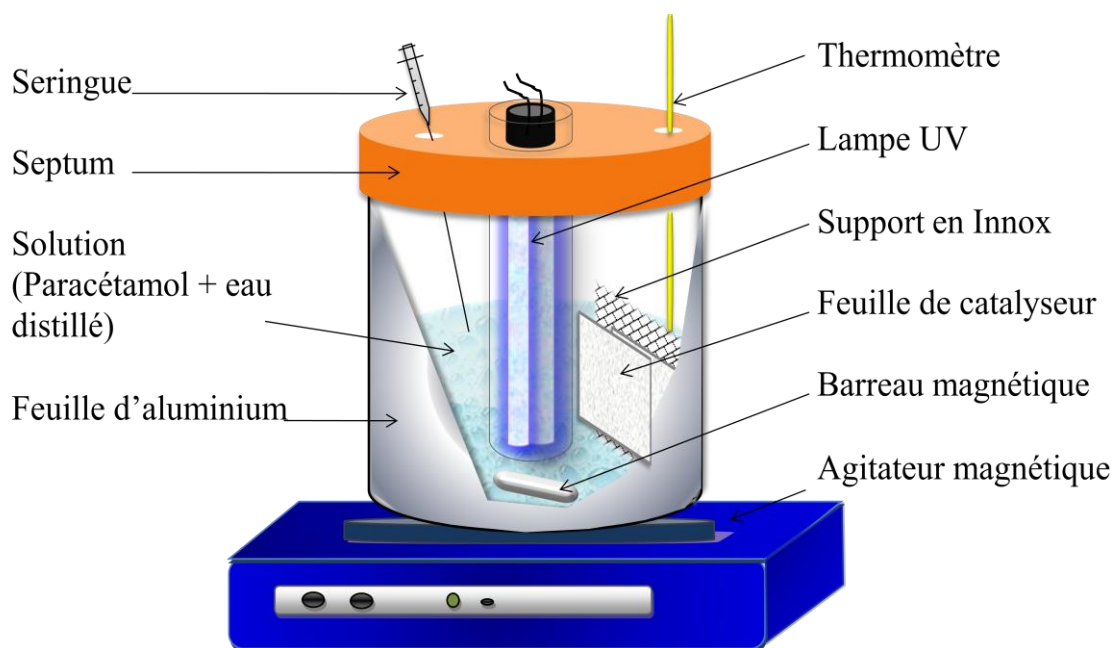


Figure IV.2 : Dispositif expérimental pour la dégradation photocatalytique du paracétamol

IV.5. Techniques d'analyse

IV.5.1. Spectrophotométrie UV-vis- Analyse du paracétamol

La spectrophotométrie d'absorption UV-vis est une méthode d'analyse quantitative et qualitative mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde se trouvent dans l'UV ou le visible.

Le spectrophotomètre est essentiellement employé pour mesurer le spectre d'absorption de la lumière par l'échantillon dans le domaine de l'ultraviolet et du visible. Lorsqu'une molécule absorbe une partie d'énergie de la radiation électromagnétique, cette absorption d'énergie est automatiquement accompagnée d'une transition électronique d'un niveau fondamental à un niveau d'énergie supérieur (**Figure IV.3**). Ces changements dans la

structure électronique se produisent à l'échelle moléculaire et sont décrits par la relation suivante :

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h\nu \quad \text{Eq. IV.1}$$

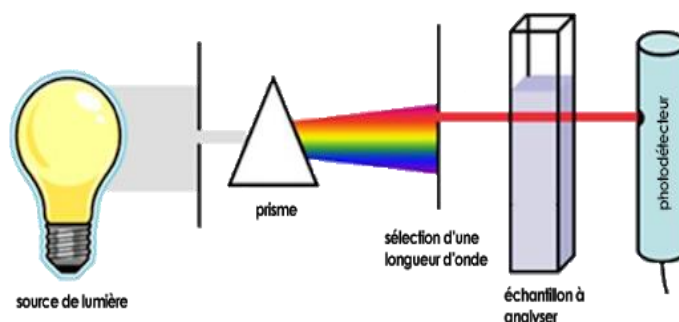


Figure IV.3 : Principes de la spectrophotométrie [7]

Lorsqu'un rayonnement monochromatique traverse un milieu (une solution), une partie de son énergie peut être absorbée par ce milieu, l'autre partie est transmise. La loi qui permet de relier l'intensité d'absorption A (ou densité optique) à la concentration C de la solution est celle est la loi de Beer Lambert. Elle permet de déterminer A (sans unité) grâce à la relation empirique suivante [8] :

$$A = \epsilon L C \quad \text{Eq. IV.2}$$

ϵ est le coefficient d'absorption molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$) dont la valeur dépend de la longueur d'onde et L est l'épaisseur de la cuve (cm). C est la concentration de la solution (mol/L).

L'absorbance varie avec la longueur d'onde de la lumière ; elle passe par un maximum qui correspond à une longueur d'onde pour laquelle la sensibilité est maximale et les fluctuations minimales. La linéarité de la loi de Beer-Lambert n'existe que dans un certain domaine de concentration appelé « domaine de validité de la méthode », déterminé par étalonnage de solutions de concentrations connues.

Le dosage du paracétamol en phase liquide est effectué par UV-vis. Afin de pouvoir procéder à ce dosage, il faut au préalable déterminer la longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{max}) par un balayage spectral puis établir une courbe d'étalonnage.

Le spectrophotomètre utilisé à cet effet est de type PhotoLab 6600 UV-VIS.

IV.5.2. CLHP- Analyse des sous-produits de dégradation

La Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP) permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et quantification [9].

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [10].

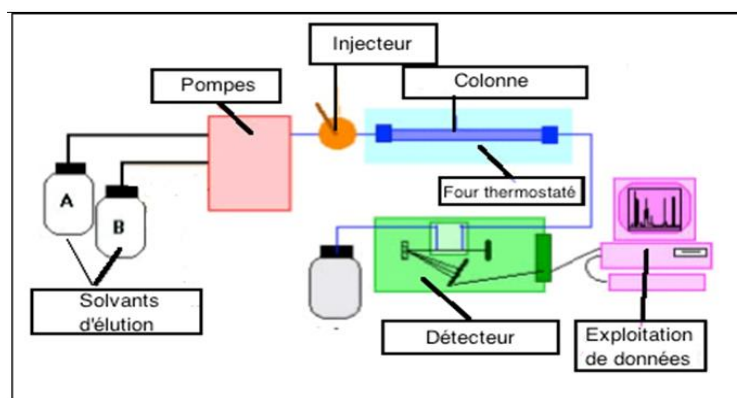


Figure IV.4 : Principe de fonctionnement de la CLHP [11]

Dans le présent travail, le paracétamol et ses sous-produits de dégradation sont analysés par un chromatographe liquide, modèle CECIL, 4100 équipée d'une colonne Knauer Eclipse Plus C18, 250 mm, 4,6 m, 5 μm . Le mélange utilisé dans ce cas est constitué d'eau/acétonitrile/acide acétique, respectivement dans les proportions suivantes 90/10/3%. Les concentrations des produits séparés par la colonne C18 sont déterminées par un détecteur UV-Visible. La longueur d'onde d'analyse est variable et paramétrable par l'utilisateur de l'appareil. La longueur d'onde choisie pour détecter le paracétamol et ses sous-produits est de 240 nm. Ces étapes sont détaillées dans la partie « Résultats et discussions » (§ V.5).

IV.5.3. DRX et MEB- Caractérisation des catalyseurs

La DRX (diffraction des rayons X) est la technique la plus utilisée pour étudier les matériaux cristallins. Cette technique non destructive est basée sur les interactions des atomes composants l'échantillon avec des radiations de courte longueur d'onde (rayons X). Le rayonnement X est produit lorsque des électrons de haute énergie frappent un atome, et provoquent des transitions électroniques. Les électrons des couches internes sont déplacés de leurs orbites, et remplacés par des électrons de couches plus externes. L'excès d'énergie est transféré sous forme de photons. La longueur d'onde du rayonnement X est idéalement adaptée à l'étude des structures cristallines périodiques dont les distances inter-

réticulaires sont du même ordre de grandeur. Le phénomène de diffraction intervient lorsque chaque objet d'un réseau périodique diffuse la radiation de façon cohérente, produisant des interférences constructives à des angles spécifiques: Les électrons d'un atome diffusent la lumière de façon cohérente par interaction avec le champ électrique de l'onde. Les atomes d'un cristal forment ainsi un réseau cohérent de diffuseurs. Lors de l'analyse, un faisceau de rayons X monochromatique incident est diffracté sur l'échantillon à certains angles spécifiques, selon la loi de Bragg (**Eq. IV.3**). La diffraction se produit à un angle déterminé par l'équidistance d_{hkl} des plans réticulaires. L'intensité des pics est déterminée par la nature des atomes [12,13].

$$PD = 2d \sin \theta = n \lambda \quad \text{Eq. IV.3}$$

n est l'ordre de diffraction (un entier naturel : 0, 1, 2, 3, ..., n), λ est la longueur d'onde du rayonnement X incident et θ est l'angle formé la radiation incidente et la famille des plans. L'appareil de diffraction des rayons X utilisé dans le présent travail est de type Ultima IV Rigaku.

Le microscope optique ou microscope photonique (MO) est un instrument d'optique muni d'un objectif et d'un oculaire qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions (ce qui caractérise sa puissance optique) et de séparer les détails de cette image (et son pouvoir de résolution) afin qu'il soit observable par l'œil humain. C'est un système optique à lentilles dont le but est d'obtenir une image agrandie de l'objet observé.

Cette technique est donc utilisée pour caractériser le catalyseur et identifier la disposition des cristaux de TiO_2 sur les fibres cellulosiques et de ZnO sur le polystyrène. Le microscope optique utilisé dans ce travail est de type Eclipse LV100ND avec des grossissements de $5 \times 0,15$, a été nécessaire pour distinguer quelques détails sur la surface des deux systèmes catalytiques. Le microscope optique était accompagné du logiciel NIS Elements D (4.10.00).

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique de caractérisation très efficace. Elle permet d'obtenir des images en 3D de surfaces de pratiquement tous les matériaux solides avec des grossissements de l'ordre de 0,4 nm à 10 nm, beaucoup plus nets qu'avec le microscope optique. L'image MEB est une image reconstituée : une sonde, le faisceau d'électrons, balaye la surface de l'échantillon, un détecteur récupère de manière synchrone un signal induit par cette sonde pour en former une image, cartographie de l'intensité de ce signal [14].

Cette technique est donc utilisée pour caractériser les dépôts de TiO_2 sur les fibres cellulosiques et de ZnO sur le polystyrène. Le microscope électronique à balayage utilisé dans ce travail est de type QUANTA 250 avec des grossissements de 300, 1200 et 2000 x accompagné d'un logiciel EDAX (TE X1 Analyzer).

IV.5.4. Tests de phytotoxicité- Analyse des solutions photocatalysées

La phytotoxicité des solutions de paracétamol avant et après le traitement photocatalytique est évaluée par des essais de germination des graines de Cresson Alénois Commun de marque Vilmorin (*Lepidium sativum*). Cette toxicité est déterminée en utilisant le test de Zucconi modifié [15] en mesurant la germination et la croissance des graines. Dix graines de Cresson sont placées dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre et arrosées avec 5 mL de solution de paracétamol (traitée ou non traitée). Les boîtes, préparées en trois répliques, sont placées dans l'obscurité à 25 ± 1 °C pendant 48 heures. L'eau de robinet est utilisée comme témoin. L'indice de germination (IG) et la croissance racinaire (%) sont calculés respectivement en comptant le nombre de graines germées et la longueur moyenne des racines observées dans chaque échantillon par rapport au traitement du témoin. Les formules de calcul sont les suivantes:

$$\text{IG} = \% \text{Germination} \times \% \text{Croissance racinaire} \quad \text{Eq. IV.4}$$

$$\% \text{ Germination } n = \frac{\text{Nombre de graines germées pour le test}}{\text{Nombre de germes germées pour le témoin}} \quad \text{Eq. IV.5}$$

$$\% \text{ Croissance racinaire } = \frac{\text{Taille des racines germées pour le test}}{\text{Taille des racines germées pour le témoin}} \quad \text{Eq. IV.6}$$

Une graine est considérée comme germée lorsque la longueur des racines dépassait 3 mm. Pour les racines inférieures à 3 mm, la graine n'est pas considérée comme germée. La somme moyenne des longueurs des racines comprenait la somme des longueurs de toutes les graines germées dans une boîte de Pétri.

IV.5.5. Tests de toxicité *in-vivo*- Analyse des solutions photocatalysées

a) Choix du modèle animal

Nous choisissons comme modèle animal des souris mâles âgées de 7 à 8 semaines et ayant un poids de 24-25 g. Les expériences sont menées au sein de l'unité de recherche «Analyse et Processus Appliqués à l'Environnement» (Mahdia, Tunisie). Les animaux sont hébergés 15 jours à 20 jours d'acclimatation dans des conditions de température contrôlée (27 ± 2 °C) sous un cycle lumière/obscurité de 12h/12h. Pendant les expériences, les animaux ont libre accès à de la nourriture gratuite avec un régime standard et de l'eau potable (**Voir Annexe III**).

b) Choix de la dose

La plupart des études entreprises en toxicologie s'effectuent à la suite de l'administration de la dose par voie orale. Le choix de la dose létale (DL50) de paracétamol est basé sur nos expériences préliminaires et est en accord avec l'étude de **Lee et al [16]**. Pour notre étude, nous choisissons donc une DL50 égale à 500 mg/kg pour la toxicité aiguë.

c) Animaux et traitements

Vingt souris sont séparées et pesées avant et après traitement, puis divisées au hasard en quatre groupes de cinq souris par cage. Les groupes de souris sont répartis comme suit :

Contrôle : ce groupe sert de contrôle négatif ; il reçoit quotidiennement de l'eau potable ;

Groupe 1 : ce groupe est utilisé pour le test du paracétamol pur pour une dose unique de 500 mg/kg de poids corporel (Le paracétamol a d'abord été dissous dans l'eau à 20 °C avant administration) ;

Groupe 2 : ce groupe est utilisé pour le test du paracétamol traité par photocatalyse avec du TiO₂/cellulose pour 500 mg/kg de poids corporel (le test toxicologique dans le cas de ZnO/polystyrène n'a pas été considéré pour des raisons de disponibilité des échantillons).

Groupe 3 : ce groupe est utilisé pour le test du paracétamol traité par biodégradation avec des bactéries isolées sur des effluents hospitaliers pour 500 mg/kg de poids corporel.

Remarque : Le groupe 3 de souris réservé au test du paracétamol traité par biodégradation (**Annexe I**) n'entre pas dans le contexte de la présente étude. Il a été intégré dans ce travail dans un but comparatif avec le procédé de dégradation photocatalytique du polluant considéré.

d) Sacrifice des souris

Pour analyser l'effet du polluant et son traitement photocatalytique, les souris sont pesées puis sacrifiées après 98 heures d'exposition. Le sacrifice se fait par dislocation cervicale après les avoir anesthésié par voie intra-péritonéale à l'éther méthylique. Le sang du tronc doit être prélevé et le sérum séparé et conservé à -20 °C. Des échantillons de tissus du foie et des reins sont prélevés pour une analyse biochimique.

e) Prélèvement des échantillons

- **Collecte de sang total** : immédiatement après le sacrifice de l'animal, le sang est prélevé par ponction cardiaque et est placé dans des tubes anticoagulants. Les échantillons sanguins sont centrifugés (6000 rpm, 5 min) pour l'obtention du plasma qui doit être

conservé à -20 °C. Ce sang est utilisé pour des dosages biochimiques (urease, creatinine, total bilirubin, LDH, ALP, ALAT et ASAT).

- **Prélèvement d'organes** : pour l'étude histologique, le foie et le rein sont prélevés séparément l'un de l'autre chez les souris et pesés, puis sont immédiatement fixés par le formol. Pour les dosages biochimiques, des morceaux de foie et de rein sont broyés à froid dans un tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4) à l'aide d'un mortier, puis centrifugés à 13000 rpm pendant 15 min ; le surnageant est alors prélevé et congelé rapidement à -80 °C.

f) Etude morphologique

Après quatre jours de traitement, le poids corporel de chaque souris ainsi que le poids du foie et du rein sont mesurés ; leurs poids relatifs sont alors évalués à l'aide de la relation suivante :

$$\text{Poids relatif} = \frac{\text{Poids de l'organe}}{\text{Poids corporel}} \times 100 \quad \text{Eq.IV.7}$$

g) Etude Histologique

Les coupes histologique sont réalisées au laboratoire d'Histologie-Pathologie, CHU Fattouma Bourguiba, Université de Monastir, Monastir Tunisi et laboratoire de biochimie et toxicologie, Hôpital universitaire de Monastir, Tunisie. La technique utilisée est celle décrite par **Gabe [17]**, qui comporte plusieurs étapes (**Voir Annexe III**).

- **Fixation**

La fixation a pour but de préserver la morphologie cellulaire et tissulaire, dans un état aussi proche que possible de leur état vivant. Dans la présente étude, les organes étudiés, fois et rein sont immédiatement fixés dans du formol neutre à 10%. Après 48 heures de fixation les pièce d'organes sont retirées puis rincées 2 fois à l'eau distillée. Les organes sont placés dans des cassettes spéciales à parois trouées.

- **Déshydratation**

Les tissus hépatiques et rénaux de chaque animal sont progressivement déshydratés dans de l'alcool pour éliminer l'eau des tissus ; aussi, toute trace d'alcool est éliminée dans l'organe dans un bain de xylène.

- **Inclusion (imprégnation)**

Les cassettes sont plongées dans des bains de paraffine liquide pendant 2 h à une température de 60 °C. Les échantillons sont ensuite placés dans des moules appelés barres de Leuckart. Cette opération est effectuée à l'aide d'un appareil dit à inclusion.

- **Confection des coupes**

Selon le milieu d'inclusion utilisé, les techniques de confection des coupes sur lames varient. Les coupes sont coupées par un microtome de 4 à 5 mm d'épaisseur. Les lames sont rangées sur un porte-lame puis placées dans l'étuve à 70 °C pendant 40 minutes.

- **Coloration**

Tous les procédés de la coloration des coupes à la paraffine se déroulent selon un plan général commun, quel que soit la technique employée. Les lames sont colorées avec de l'hématoxyline et de l'éosine (H&E) :

Déparaffinage : 20 min dans des bains de toluène ou xylène (10 min dans chaque bain) ;

Hydratation : rinçage dans trois bain d'alcool ;

Eau de robinet : rinçage ;

Hématoxyline : 5 min ;

Eau de robinet : rinçage ;

Eosine : 2-3 min ;

Eau de robinet : rinçage ;

Déshydratation : rinçage dans trois bains de toluène,

Hydratation : rinçage dans quatre bains d'alcool.

h) Dosages biochimiques

- **Préparation de l'homogénat**

400 mg de foie ou de rein des différents groupes sont broyés à froid à l'aide d'un mortier en présence de 4 ml d'une solution de tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4) pour obtenir un homogénat.

- **Dosage des protéines totales**

Le dosage des protéines est réalisé selon la méthode de Bradford [18] en utilisant comme réactif le bleu brillant de Coomassie (Bio-Rad) qui se fixe sur les protéines. La quantité des protéines correspondant à la densité optique mesurée à 595 nm est calculée à partir d'une courbe étalon réalisée avec des concentrations croissantes (100, 200, 300, 500, 700, 900 µg/ml) de sérum albumine bovine BSA à une concentration de 1 mg/mL. Le mode opératoire du protocole est donné dans le tableau ci-dessous :

	Blanc	Témoin T₀	Ech T₁
Réactif de Bradford	4 mL	4 mL	4 mL
NaCl (0,9%)	900 µl	900 µl	900 µl
Echantillon	-	100 µl	100 µl
Eau distillé	100 µl	-	-

Finalement le mélange est mis sous vortex, incubé pendant 5 min à l'obscurité et la densité optique est mesurée à 595 nm.

- **Dosage de la catalase (CAT)**

Le principe de la catalase est d'accélérer la réaction spontanée de dismutation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) toxique pour la cellule en eau et en oxygène. La méthode du dosage est réalisée par **Aebi [19]**, par la mesure de la diminution de l'absorbance d'une solution d'H₂O₂ à 240 nm ; la lecture se fait après 15 secondes durant 1 min et 3 min. La disparition de l'eau oxygénée par la catalase se fait selon la réaction suivante:



L'activité CAT peut être calculée à partir de l'équation suivante [19] :

$$\text{Activité } (\mu \text{ mol/mn mg prt}) = \frac{(\Delta \text{DO} \times 10)}{(\varepsilon \times L \times X \times 0,05)} \quad \text{Eq. IV.9}$$

ΔDO est la moyenne des DO des échantillons par minute (avec $t_1 = 1$ min et $t_2 = 3$ min).

ε est le coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée ($\varepsilon = 40 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

L est le trajet optique de la micro-cuve, $L = 1 \text{ cm}$

X est la concentration en protéine de l'échantillon en mg/ml

Le mode opératoire du protocole est donné dans le tableau ci-dessous :

	Blanc (µl)	Témoin T ₀ (µl)	Ech T ₁ (µl)
Tampon phosphate (100mM; pH 7.5)	2480	2380	2380
H ₂ O ₂ 500mM	520	520	520
Ech (1 à 1.5 mg prt./ml)	0	100	100

- **Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)**

Le principe de l'AChE est d'hydrolyser rapidement l'acétylcholine afin de stopper rapidement la stimulation du récepteur. Le dosage de l'activité enzymatique spécifique acétylcholinestérase est réalisé selon la méthode colorimétrique décrite par **Ellman [20]**.

La réaction se déroule à 25 °C et la densité optique est suivie à 412 nm pendant 25 min.

Les résultats sont exprimés en $\mu \text{mol mn}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ prot}$ à partir de la relation suivante :

$$\text{Activité } (\mu \text{ mol/mn mg prt}) = \frac{(\Delta \text{DO/mn} \times 1000)}{(\varepsilon \times V \times p)} \quad \text{Eq. IV.10}$$

$\Delta \text{DO/mn}$ est la variation de la densité optique (min^{-1}), V est le volume de l'échantillon (ml), P est la quantité de protéines (mg /ml de l'Ech) et ε est le coefficient d'extinction molaire de l'acétylcholinestérase ($13,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

Le mode opératoire du protocole est donné dans le tableau ci-dessous :

	Blanc (µl)	Temoin T₀ (µl)	Ech T₁ (µl)
Tampon TRIS 100 mM, pH 7.5	2352	2228	2228
DTNB	124	124	124
Acétylthiocholine	124	124	124
Ech (1 à 1.5 mg prt./ml)	0	124	124

- ***Dosage de malondialdéhyde (MDA)***

La peroxydation lipidique dans le foie est évaluée par le dosage de la MDA selon la méthode d'**Uchiyama et Mihara [21]**.

La concentration plasmatique de MDA a été calculée selon la formule suivante :

$$\text{Activité } (\mu\text{mon/L}) = \text{DO}_{532} \times 1,75 / 0,156$$

DO₅₃₂ : densité optique à 532 nm

Extinction molaire = $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Mode d'opératoire :

- ✓ Prélever 0,5 ml de l'homogénat
- ✓ Ajouter 1 ml de réactif trichloroacétique (TCA 20 %)
- ✓ Centrifuger pendant 10 min à 2500 rpm
- ✓ Récupérer 1 ml de surnageant et ajouter 2 ml de réactif thiobarbiturique (TBA)
- ✓ Mélanger et incuber au bain marie à une température de 90 °C durant 15 min
- ✓ Refroidir le mélange et lire la densité optique à 532 nm.

i) Analyses statistiques

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel IBM SPSS Inc (version 25). Une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) et des comparaisons multiples ont été utilisées pour évaluer les différences entre les groupes témoins et traités. Les données ont été présentées sous forme de moyenne \pm écart-type, et la valeur P a été considérée comme indiquant une différence statistiquement significative ($p < 0,05$).

IV.6. Références Bibliographiques

- [1] Driad Y. 2009. Stabilité du paracétamol : Application à un sachet produit en industrie pharmaceutique. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré-Nancy 1, France. 112p.
- [2] Behera S., Ghanty S., Ahmad F., Santra S., Banerjee S. 2012. UV-Visible Spectrophotometric Method Development and Validation of Assay of Paracetamol Tablet Formulation. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*. 3, 151.
- [3] Branchet P., Ariza Castro N., Fenet H., Gomez E., Courant F., Sebag D., Gardon J., Jourdan C., Ngounou Ngatcha B., Kengne I., Cadot E., Gonzalez C. 2019. Anthropogenic impacts on Sub-Saharan urban water resources through their pharmaceutical contamination (Yaoundé, Center Region, Cameroon). *Science of The Total Environment*. 660, 886-898.
- [4] <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/paracetamol>. Consulté le 08/11/2019.
- [5] Casellas C., Lévi Y. 2018. An assessment of the environment and health risks of drug residues in water: a guide for management decisions. *Environmental Risque Sante*. 17, 8.
- [6] Sorell TL. 2016. Approaches to the development of human health toxicity values for active pharmaceutical ingredients in the environment. *AAPS J*. 18, 92-101.
- [7] <http://edu.mrpigg.ca/spectro.html>. Consulté le 15/01/2020.
- [8] Mathevet R., Jammes E., Fabre CH., Lamrani N., Martin S., Marchou P. 2019. Une approche quantitative de la loi de Beer-Lambert avec un smartphone. Union des professeurs de physique et de chimie.
- [9] <file:///C:/Users/pc/Downloads/HPLC.pdf>. Consulté le 15/01/2020.
- [10] https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/becol/2019/HP_LC%20%20cours%20M1BGV.pdf. Consulté le 18/02/2020.
- [11] <http://btsmetiersdelachimie.eklablog.com/hplc-a128825526>. Consulté le 18/02/2020.
- [12] Abidat I. 2017. Matériaux catalytiques innovants pour la réalisation d'électrodes à air réversibles : applications aux accumulateurs métal-air à haute densité d'énergie Catalyse. Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, France. 225p.
- [13] <http://spiralconnect.univ-lyon1.fr/spiral-files/download?mode=inline&data=2671947>. Consulté le 23/02/2021.
- [14] http://www.ipcms.unistra.fr/wp-content/uploads/2014/06/memento_meb_eds.pdf. Consulté le 01/01/2021.
- [15] Zucconi F., Pera A., Forte M., De Bertoldi M. 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle*. 22(2), 54-57.
- [16] Lee SS., Buters JT., Pineau T., Fernandez-Salguero P., Gonzalez FJ. 1996. Role of CYP2E1 in the hepatotoxicity of acetaminophen. *J Biol Chem*. 271, 12063-12067.
- [17] Gabe M. 1968. Histological techniques. Masson et Cie, Paris-VI (in French).
- [18] Bradford M. 1976. *Anal. Biochem*. 72, 248-256.

- [19] Aebi H., 1983. Catalase. In : Bergmeyer H.U., Methods of enzymatic analysis. *Academic Press, New-York*. 3, 237-286.
- [20] Ellman GL., Courtney KD., Andres V., Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*. 7, 88-95.
- [21] Amrani A., Benaissa O., Boubekri N., Zama D., Biod K., Beroal N., Bettuzzi S. 2014. Effet hépatoprotecteur et antiradicalaire d'un extrait butanolique de *Rhantherium suaveolens*. *Phytothérapie*. 126, 386-392.



Chapitre V

Etude expérimentale de l'activité photocatalytique des catalyseurs supportés-Dégradation du paracétamol

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats relatifs à la dégradation du paracétamol en présence des deux systèmes photocatalytiques $\text{TiO}_2/\text{Cellulose}$ et $\text{ZnO}/\text{Polystyrène}$. L'objectif est de caractériser dans un premier temps les deux catalyseurs et d'optimiser ensuite le procédé en examinant l'influence de paramètres tels que la dose de catalyseur, la concentration initiale du polluant et l'effet de différents oxydants.

Chapitre V. Etude expérimentale de l'activité photocatalytique des catalyseurs supportés- Dégradation du paracétamol

V.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous exposons les résultats de la photodégradation du paracétamol (polluant) en présence de deux photocatalyseurs supportés $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$ et $\text{ZnO}/\text{polystyrène}$. Nous étudions dans un premier temps les propriétés structurales et morphologiques des catalyseurs afin de les caractériser et avoir un maximum d'informations sur les phases en présence. Pour l'optimisation du procédé de traitement du polluant, plusieurs paramètres sont testés et analysés tels que la concentration initiale du paracétamol, la dose du catalyseur, le pH du milieu et la présence d'oxydants. La connaissance de ces facteurs et leur effet sur le phénomène en question permet généralement d'expliquer et parfois de prédire les propriétés du catalyseur et de la lumière sur la dégradation du polluant. La spectrophotométrie UV-vis est utilisée pour le suivi de la dégradation de la molécule au cours du temps. Les sous-produits de dégradation sont analysés par chromatographie liquide. Les modèles de pseudo-premier ordre (modèle de Lagergren) et pseudo-second ordre sont appliqués aux résultats obtenus afin de déterminer la vitesse cinétique de dégradation. Ces résultats sont évidemment accompagnés d'interprétations et de discussions.

V.2. Morphologie et structure cristalline des systèmes catalytiques

Il existe de nombreuses méthodes permettant de faire une caractérisation morphologique et structurale des systèmes catalytiques. Parmi ces méthodes, nous avons sélectionné la diffraction des rayons X (DRX) et la Micrographie électronique à balayage (MEB).

V.2.1. Analyse par DRX

La structure cristallographique d'un catalyseur joue un rôle important dans le contrôle du film catalytique et la détermination de sa performance dans les procédés de dégradation. Le comportement cristallographique des couches de TiO_2 et la caractérisation structurale des nanopoudres de ZnO sont effectués par la technique de diffraction des rayons X comme le montre la **Figure V.1**. Dans le cas de $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$, de nombreux petits bruits peuvent être observés dans la plage de 10° à 24° qui interfèrent avec le support (**Figure V.1a**). Le pic de diffraction à $31,20^\circ$ n'apparaissant pas dans les diagrammes DRX de la poudre TiO_2 , ces pics peuvent appartenir au support. Les pics correspondant aux angles

$2\theta=25,30^\circ$ et $2\theta=48,04^\circ$ sont caractéristiques de la phase anatase du semi-conducteur. Le pic à $2\theta=38,57^\circ$ correspond à la phase rutile. Aussi, les pics sortant à $2\theta=55,06^\circ$ et $2\theta=62,50^\circ$ sont une autre caractéristique de TiO_2 [1-3]. Le spectre DRX du photocatalyseur montre donc la présence des deux phases anatase et rutile dans la poudre mère de TiO_2 -Degussa/P25. Selon le producteur, la poudre mère est constituée de 80% d'anatase et de 20% de rutile [4]. Dans les spectres DRX de ZnO /polystyrène (**Figure V.1b**), Il y a beaucoup de bruit dans la plage de 10° à 23° . En plus des pics correspondant à la présence de silice (SiO_2) et d'alumine (Al_2O_3), les différents pics trouvés pour ZnO à la position $2\theta = 25 ; 28, 30,05 ; 34,4$ et $56,50$ et 64° sont attribués à des oxydes de ZnO bien cristallisés rapportés par d'autres chercheurs et observés dans ce composite. **Behraves** et al [5], **Hadjltaief et al** [6] et **Alswat et al** [7] ont rapporté les résultats similaires. Le pic le plus important pour le ZnO ($2\theta=34,4^\circ$) vertical par rapport au plan de la boîte de Pétri reflète l'orientation de croissance préférée pour les plans atomiques de ZnO [8]. De plus, l'intensité du pic a augmenté après le chargement de ZnO sur le support, indiquant la présence de ZnO sur le polystyrène (PS). Les motifs indiquent une bonne structure cristalline de ZnO même après immobilisation sur le support.

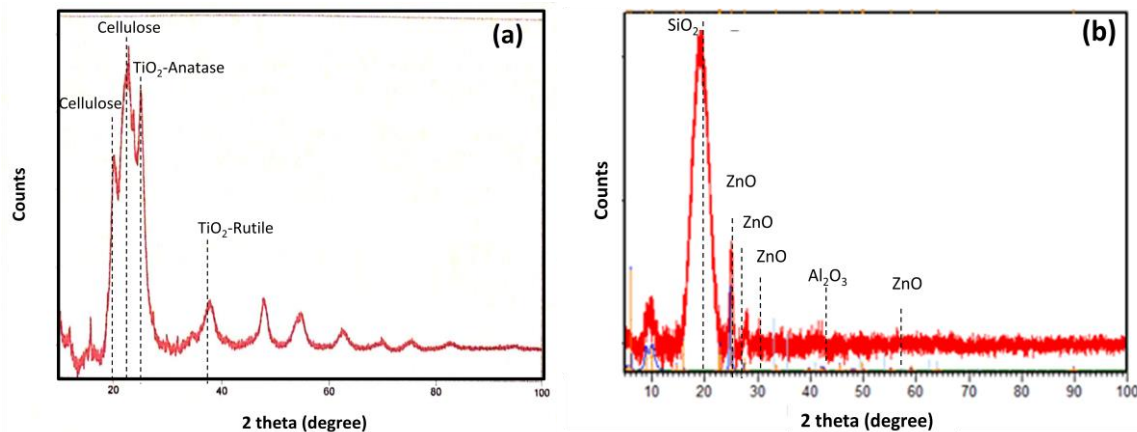


Figure V.1 : Diffractogrammes DRX de (a) TiO_2 imprégné sur fibre cellulosique et (b) ZnO imprégné sur polystyrène

V.2.2. Analyse par MEB

Les propriétés structurales des deux systèmes catalytiques sont analysées par MEB et la morphologie de la surface est présentée sur la **Figure V.2**. Le microscope optique montre que les fibres tissées de cellulose (**Figure V.2a**) sont couvertes de particules/agrégats de TiO_2 de couleur blanchâtre, avec la même structure et la même porosité dans les deux faces du papier, ce qui reflète une bonne symétrie entre les deux faces. Il affiche également des amas discontinus de ZnO déposés au hasard sur la surface de la boîte de Pétri (Figure V.2b). Les photos MEB (Figure V2c-d) montrent la morphologie du catalyseur avec une plus grande résolution de la dispersion des particules de TiO_2 sur les

fibres cellulosiques séparées par des vides. Après leur fixation sur le support de fibres, les particules du PC25 forment des agrégats, liées entre eux avec le SiO₂. Leur densité surfacique est assez importante pour des applications photocatalytiques. Par observation microscopique, On peut observer une bonne dispersion de la charge sur l'ensemble des fibres avec néanmoins la formation d'agrégats de diamètre moyen des particules égal à 1,4 µm. Ces fibres cellulosiques se traduisent par une forte liaison inter-fibre qui conduisant à une bonne rétention de la charge TiO₂ dans le papier photocatalytique. Pour le système catalytique ZnO/Polystyrène, la surface de la boite de pétri de PS apparaît lisse et sans rugosité. Après le dépôt de la poudre de ZnO sur le support de PS, il était possible d'observer par MEB avec un agrandissement de 1 200 x la présence d'agrégats de ZnO avec une dispersion différente. Dans les échantillons de ZnO/polystyrène, certaines fractions du support ne sont pas couvertes par des particules de ZnO. Pour couvrir cette surface par les particules de ZnO, il est recommandé d'augmenter la teneur en ZnO jusqu'à 1,1% en poids [9].

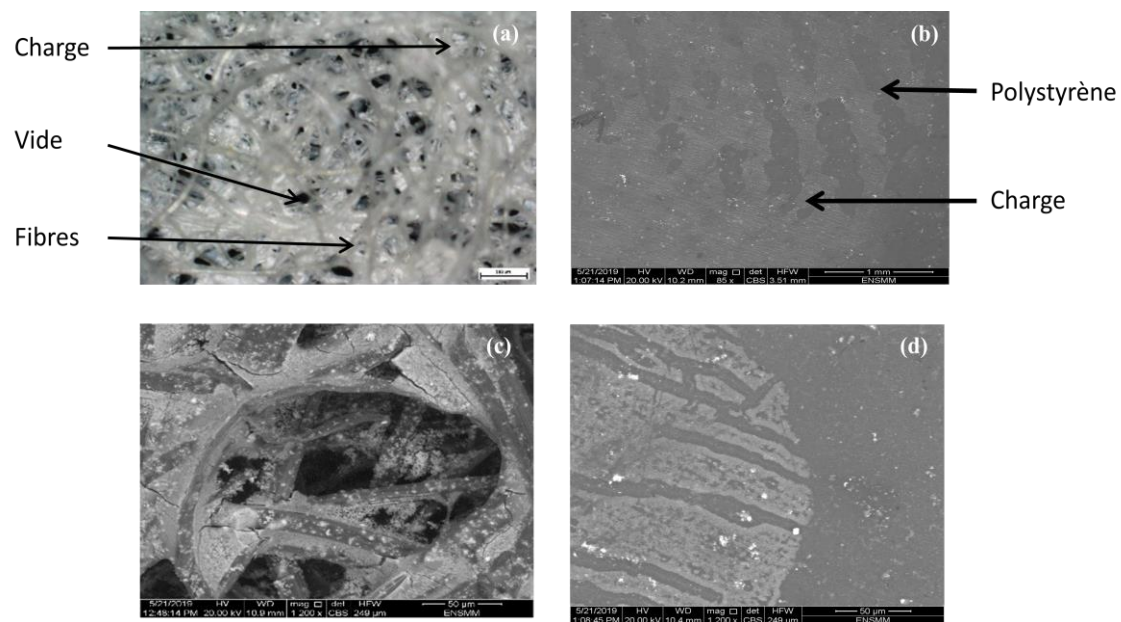


Figure V.2 : Image MEB de (a-c) TiO₂/cellulose et (b-d) ZnO/polystyrène

V.3. Activité photocatalytique de TiO₂/cellulose et ZnO/polystyrène

L'activité photocatalytique des deux systèmes catalytiques sélectionnés pour la dégradation du paracétamol est menée en présence de différentes sources de radiations. Trois manipulations sont donc élaborées avec de la lumière UV, visible et solaire. Par ailleurs, en vue de mettre en évidence le rôle du catalyseur dans le présent phénomène, la photolyse (en l'absence de catalyseur) est considérée. Nous avons ainsi effectué une série d'essais avec la lampe UV en maintenant les conditions opératoires suivantes pour les deux types de catalyseurs utilisés :

- Concentration initiale du paracétamol : 10 mg/L ;
- Volume réactionnel : 1 L ;
- pH de la solution : $7 \pm 0,1$;
- $T = 20 \pm 1$ °C ;
- Agitation magnétique : modérée,
- Temps de traitement : 4 h.

Les doses de catalyseurs sont de 2 et 0,25 mg/L pour TiO₂/cellulose et ZnO/plystyrène, respectivement.

V.3.1. Effet de la présence de catalyseur sur la dégradation du paracétamol

Pour confirmer le rôle du catalyseur choisi sur l'opération de dégradation du polluant, il est nécessaire de réaliser des expériences de photolyse directe, c'est-à-dire en absence du semi-conducteur. La **Figure V.3** représente la concentration du paracétamol en fonction du temps d'irradiation en présence et en absence du catalyseur. Dans le cas de la photolyse, la courbe montre que celle-ci ne contribue que faiblement à l'élimination du composé organique de la solution. Une certaine dégradation de la solution d'acétaminophène est observée et est de l'ordre de 16,7%. Cette disparition résulte d'une faible absorption des radiations émises par la lampe. Nous avons pensé prolonger le traitement d'environ 6-7 h, nous avons alors obtenu des concentrations encore plus élevées (données non reportées). Dans les conditions précédentes, l'ajout d'une certaine quantité de TiO₂ (2 mg/L) dans le milieu irradié par UV (**Figure V.3a**) améliore nettement la vitesse de dégradation de la molécule. Le taux de disparition du polluant est de 80,7% ce qui montre que le procédé photocatalytique est prépondérant. Ce résultat est certainement dû à la génération de radicaux $\bullet\text{OH}$ et $\text{O}_2^{\bullet-}$ dans la solution. Le photocatalyseur TiO₂ PC25 montre une activité photocatalytique supérieure à beaucoup d'autres photocatalyseurs utilisés ce qui confirme dans l'étude de **Chekir et al [10]** où les auteurs concluent que la photocatalyse hétérogène (TiO₂) apparaît comme une méthode de choix pour la dépollution des polluants organiques tel que le paracétamol.

Les courbes relatives à UV/ZnO représentés sur la **Figure V.3b** montrent une absence de l'activité de ce semi-conducteur dans les conditions de l'expérience. En effet, on note une diminution pratiquement négligeable de la concentration résiduelle du paracétamol. Selon plusieurs études effectuées, des interprétations et explications de ce comportement peuvent être envisagées. Premièrement, il est possible que la photogénération de trous h^+ et de radicaux $\bullet\text{OH}$ à la surface du catalyseur ZnO soit réduite à cause du recouvrement des sites actifs par le paracétamol. Deuxièmement, l'absorption d'une quantité significative de radiations UV par les molécules de paracétamol plutôt que par la surface de ZnO, diminue l'intensité du rayonnement absorbé au niveau du catalyseur, réduisant de ce fait l'efficacité de la réaction photocatalytique. Pour augmenter la photosensibilité de ce semi-conducteur, plusieurs études ont suggéré l'ajout d'oxydants capables d'augmenter l'effet des catalyseurs

dans la dégradation des molécules organiques. C'est l'objectif du paragraphe V.4 : Effet des oxydants sur la photodégradation de l'acétaminophène.

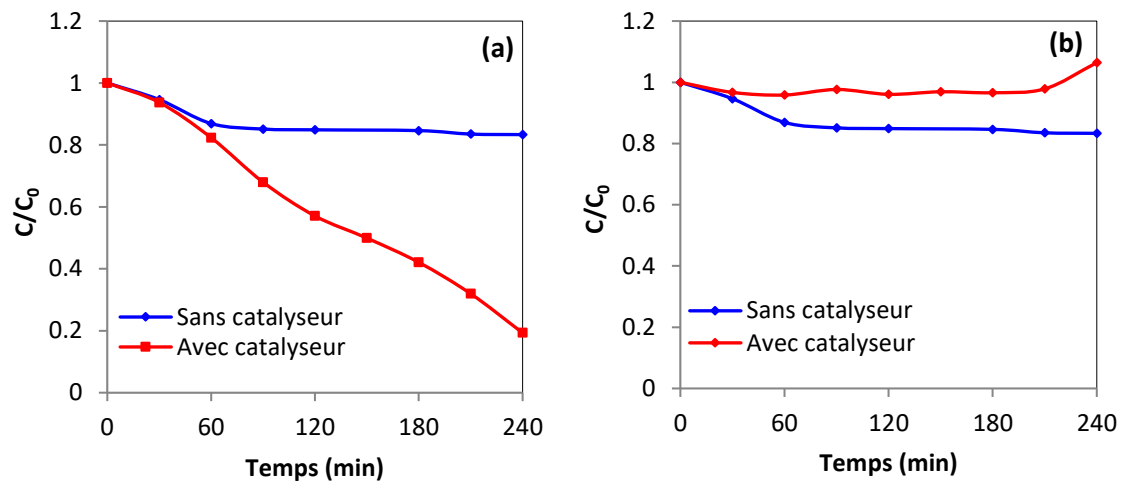


Figure V.3 : Cinétique de dégradation du paracétamol en présence et en absence de $TiO_2/cellulose$ et $ZnO/polystyrène$

V.3.2. Effet de la nature de la lumière (UV, Visible ou Solaire)

Afin d'évaluer l'activité photocatalytique des catalyseurs synthétisés sur l'élimination du paracétamol, des essais sont élaborés en vue de tester la photoactivité de TiO_2 supporté sur papier cellulosique et ZnO supporté sur polystyrène en présence de lumière UV, visible ou solaire. Les différentes expériences sont réalisées dans les mêmes conditions opératoires évoquées précédemment.

La cinétique de photodégradation du polluant donnée sur la **Figure V.4** montre qu'en présence de $TiO_2/cellulose$ (**Figure V.4a**) la réaction sous irradiations UV est beaucoup plus rapide que celle avec la lumière visible ou solaire. En effet, un taux d'élimination de 80,7% est obtenu après 240 min sous irradiations UV alors qu'avec la lampe visible et la lumière du soleil ce taux n'est que de 28,7 et 8,6%, respectivement. Ceci est probablement dû à la photoactivité de TiO_2 qui est plus intense dans le domaine de l'UV que dans celui du visible et solaire. En présence de $ZnO/polystyrène$ (**Figure V.4b**) il n'y a pas un abattement significatif de la concentration du polluant durant tout le temps de traitement. Dans les trois cas, le rendement de dégradation photocatalytique n'est que de 2,4 ; 1,9 et 0,6% sous lumière UV, visible et solaire, respectivement. Ceci démontre bien que dans les conditions sélectionnées dans ce travail, le semi-conducteur déposé sur du polystyrène n'est pas photoactif puisque la lumière n'a pas pu être absorbée pour générer des paires électrons/trous. On confirme encore une fois que l'ajout d'oxydants qui sont des accepteurs d'électrons pourrait augmenter la photoactivité de $ZnO/polystyrène$ (voir paragraphe V.4). Plusieurs travaux de recherche ont été publiés pour démontrer la photoactivité et la performance de certains semi-conducteurs en précisant les conditions de préparation et de mise en œuvre. Ces matériaux ont été appliqués à la dégradation de molécules

médicamenteuses. **Simsek [11]** s'est intéressé à la photodégradation de l'anti-inflammatoires ibuprofène (IBU) dans le domaine des UV-A et la lumière visible ; le composé sélectionné a été éclairé avec 1 g/L de TiO₂ dopé avec du bore (TiO₂-0,8% B). Le rendement de dégradation de l'IBU était de 96% après 4h de traitement. Sous éclairage visible, un rendement de 81% de dégradation pendant 5h a été obtenu. **Behraves et al [5]** ont indiqué que les performances de ZnO/zéolite pour l'élimination de l'acétaminophène sous rayonnement UV et solaire (58,7% et 45,7%) étaient meilleures que celles de TiO₂/zéolite (44,3% et 39,2%). De plus, les auteurs ont pu conclure que les rendements d'élimination sous rayonnement UV et solaire étaient de même ordre de grandeur, ce qui suggère que la lumière du soleil pourrait être une source prometteuse d'énergie pour le traitement photocatalytique de l'eau contaminée par l'acétaminophène [5]. **Thi et Lee [12]** ont préparés un photocatalyseur à base de nanoparticules de ZnO dopées au lanthane (La) à 1,0% en poids. Le dopage avec ce métal n'a pas modifié la cristallinité de ZnO de manière significative, mais a amélioré l'absorption optique de la lumière visible. Le photocatalyseur ZnO/La a été appliqué pour traiter 100 mg/L de paracétamol en solution aqueuse : les auteurs ont rapporté avec une efficacité de dégradation de 99%.

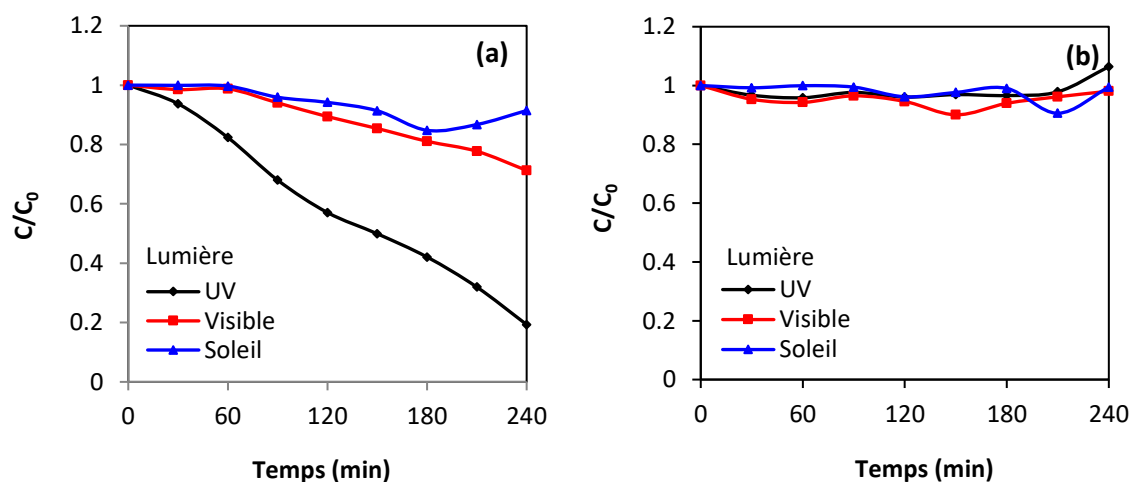


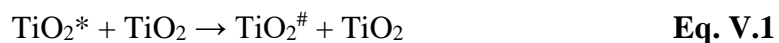
Figure V.4 : Cinétique de dégradation du paracétamol sous irradiations UV, visible ou Solaire : (a) TiO₂/cellulose, (b) ZnO/polystyrène

V.4. Etude paramétrique du procédé

L'étude paramétrique ne concerne que l'effet de la dose du catalyseur, de la concentration initiale de l'acétaminophène et du pH. La température n'est pas considérée dans le présent travail et la valeur de 20±1 °C, pouvant être prise comme une température moyenne ambiante est maintenue dans toutes les manipulations. De plus, pour des raisons de disponibilité du catalyseur ZnO/polystyrène, la cinétique de dégradation photocatalytique du paracétamol est seulement étudiée en présence de TiO₂/cellulose sous irradiations UV.

V.4.1. Effet de la dose de catalyseur

L'influence de la dose de catalyseur sur la dégradation photocatalytique du paracétamol est étudiée afin d'optimiser la masse de $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$ nécessaire à l'absorption des photons émis par la lampe UV. Les essais sont élaborés pour une gamme de concentrations de catalyseur allant de 1 à 4 mg/L. La concentration initiale de la molécule médicamenteuse est de 2 mg/L, le temps de traitement de 180 min et le pH fixé à $7 \pm 0,1$. L'histogramme illustré sur la **Figure V.5**, représente le rendement d'élimination du paracétamol pour différentes doses de TiO_2 supporté. Pour les valeurs de 1, 3 et 4 mg/L de $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$, la diminution de la concentration du polluant dans la phase aqueuse est de l'ordre de 72,4 ; 80,7 et 78,8%, respectivement et ce après 180 min d'exposition aux irradiations Ultra-Violettes. Cependant, pour la valeur de 2 mg/L, l'efficacité de dégradation du polluant atteint un rendement de 100% en seulement 150 min sous lumière UV. Cette dose optimale (2 mg/L) de catalyseur doit être choisie dans la suite du travail afin d'assurer efficacement une absorption totale de photons. Si une petite quantité de TiO_2 est utilisée pour les expériences photocatalytiques, il n'y aura pas assez de génération de radicaux $\bullet\text{OH}$ sur les sites actifs pour dégrader et minéraliser éventuellement le polluant organique. En revanche, si la quantité de TiO_2 est plus importante, l'excès de particules solides du semi-conducteur ne permet sûrement pas à la lumière de pénétrer dans la solution et d'activer la surface du catalyseur, réduisant ainsi la génération de sites actifs et la vitesse de réaction à cause de la saturation de l'absorption des photons ou par la perte de lumière par diffusion [13,14]. De plus à une grande charge de catalyseur, beaucoup de catalyseurs initialement activés peuvent être désactivés par collision avec les particules des catalyseurs à l'état fondamental selon l'équation suivante [15] :



Où TiO_2^* c'est un catalyseur ayant des espaces actifs adsorbés sur sa surface et $\text{TiO}_2^\#$ est la forme désactivé du TiO_2 .

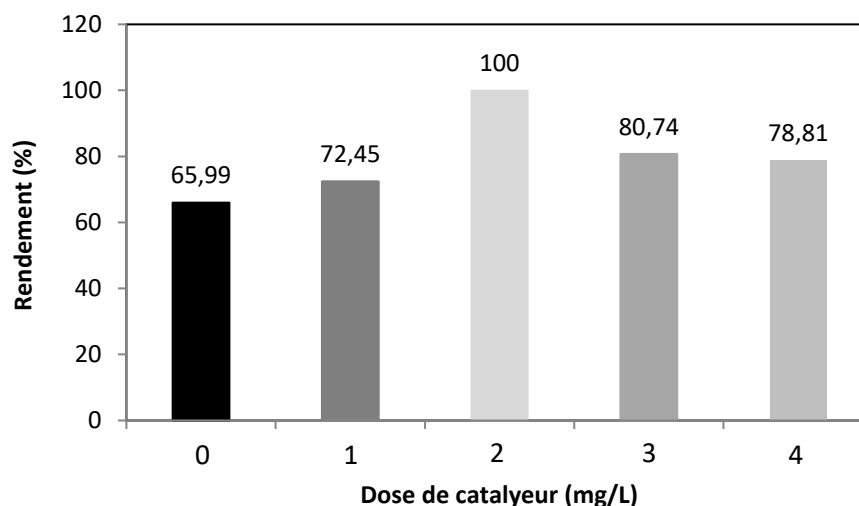


Figure V.5 : Rendement de photodégradation de l'acétaminophène en fonction de la dose du catalyseur TiO₂/Cellulose

V.4.2. Effet de la concentration initiale du polluant

Comme une certaine quantité de radiations UV peut être absorbée par les molécules du polluant plutôt que par la surface du catalyseur, il est clair que l'efficacité de la photocatalyse dépend de la concentration en paracétamol. Le but de ces essais est d'analyser l'influence de la concentration initiale en paracétamol sur l'efficacité du procédé photocatalytique. Les expériences en batch sont réalisées en présence de TiO₂ supporté sur papier cellulosique (2 mg/L). La lampe UV est utilisée comme source de lumière et les conditions d'opération sont les suivantes : pH de la solution : $7 \pm 0,1$; T = 20 ± 1 °C ; Agitation magnétique : modérée ; Temps de traitement : 4 h. Une série d'expériences est élaborée dans une plage de concentrations allant de 2 à 10 mg/L. La **Figure V.6** représentant les différentes courbes relatives à UV/TiO₂/cellulose montre que plus la concentration initiale de la molécule est importante, plus le temps nécessaire à sa disparition est long. A la concentration initiale de 2 mg/L, on note une disparition totale du polluant alors qu'un rendement significatif (84,7%) est obtenu en 210 min dans le cas d'une concentration initiale de 4 mg/L. Les rendements d'élimination du paracétamol diminuent de plus en plus avec l'augmentation de la concentration initiale de polluant. En effet, pour des concentrations en médicament de 6, 8 et 10 mg/L, il n'y a pas une élimination totale de polluant pour le temps de traitement fixé. Dans ces trois cas, le rendement de la dégradation photocatalytique est de 76,8 ; 73,1 et 79,8%, respectivement. Dans leur étude sur la photodégradation du paracétamol par le Degussa P25-TiO₂, **Desale et al [16]** ont montré que pour une concentration de 100 mg/L, la photodisparition est beaucoup plus rapide et une minéralisation efficace est observée ; plus de 98% de paracétamol ont été dégradés en 240 min. Il a été rapporté dans la littérature, que la réaction photocatalytique se produit entre le substrat adsorbé et •OH généré sur la surface

de TiO_2 . La concentration de la molécule adsorbée augmente avec l'augmentation de sa concentration. Cependant, pour une intensité lumineuse constante, une charge en TiO_2 et une concentration en oxygène dissous, la concentration en $\bullet\text{OH}$ reste pratiquement la même. Ainsi, bien que la concentration de paracétamol adsorbé augmente, le taux de dégradation photocatalytique diminue en raison d'un rapport $\bullet\text{OH}/\text{polluant}$ plus faible [16]. L'étude menée par **Vaiano et al [9]** sur l'efficacité du photocatalyseur ZnO supporté sur des pastilles de polystyrène à 1,1% a montré que la photodégradation du paracétamol pour une concentration initiale de 12,5 mg/L était d'environ 77% après 4 h de traitement. Des résultats similaires ont été rapportés dans des données de la littérature dans lesquelles une légère diminution de l'activité photocatalytique de ZnO immobilisé sur un support inerte a été observée en présence de piègeurs d'ions en solution. Une autre étude a été réalisée par **Altun et Sokmen [17]** sur l'efficacité photocatalytique de 0,1 g de $\text{ZnO}/\text{polystyrène}$ sur la dégradation de 45 mg/L de bleu de méthylène en solution aqueuse sous irradiations UV ; l'étude a révélé qu'environ 42% de polluant a disparu pendant 150 min de traitement [17].

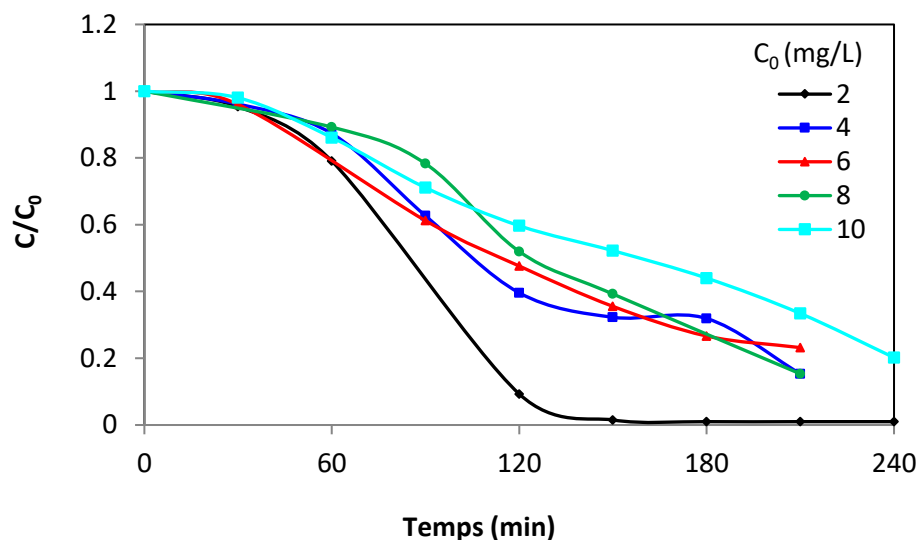


Figure V.6 : Cinétique de dégradation du paracétamol en présence de $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$ pour différentes concentrations initiales

V.4.3. Effet du pH sur la photodisparition du paracétamol

Le pH est un facteur chimique qui influe de façon générale sur divers procédés d'épuration et joue un rôle important dans la dégradation des polluants présents dans les effluents. La réaction photocatalytique dépend du pH, parce qu'elle a lieu à la surface du catalyseur. En effet, le pH affecte de manière significative les propriétés d'adsorption-désorption des composés liés à la surface des catalyseurs [18]. On rapporte qu'à des valeurs de pH acides, la surface des particules de catalyseur est chargée positivement alors qu'à des valeurs de pH basiques, elle est plutôt chargée négativement [19]. Les pH de la solution de paracétamol égaux à 5,0 ; 6,0 ; 7,0 ; 8,0 et 9,0 sont choisis dans les tests de photodégradation avec $\text{UV}/\text{TiO}_2/\text{cellulose}$. Les mêmes conditions opératoires définies

précédemment sont alors appliquées. La **Figure V.7a** présentant la variation temporelle de la concentration résiduelle du médicament montre que l'efficacité de la dégradation du polluant dépend du pH initial de la solution à irradier. Les meilleures efficacités de dégradation sont obtenues aux valeurs de pH égal 7,0 et 8,0. Ces observations sont mieux élucidées sur la **Figure V.7b** qui rapporte le rendement de photodégradation en fonction du pH. En effet, pour les valeurs de pH égales à 7,0 et 8,0 les rendements de disparition sont respectivement de 81,6 et 58,1%. Pour les valeurs de 5,0 ; 6,0 et 9,0 les rendements ne sont que de 31,0 ; 25,7 et 10,3%, respectivement. D'après **Gupta et al [18]**, la vitesse de réaction dans des conditions alcalines pourrait être attribuée à l'augmentation des ions hydroxyle induisant une grande formation de radicaux hydroxyle $\bullet\text{OH}$. Le radical hydroxyle ainsi formé initie le processus de dégradation. En revanche, des solutions très acides ou très basiques retardent le processus photocatalytique du polluant. Ceci pourrait être dû au fait que le paracétamol est un composé non ionique et que la meilleure efficacité serait obtenue au pH_{PZC} des catalyseurs qui de surcroît est assez proche du pH naturel (6,8) de la solution du paracétamol irradiée.

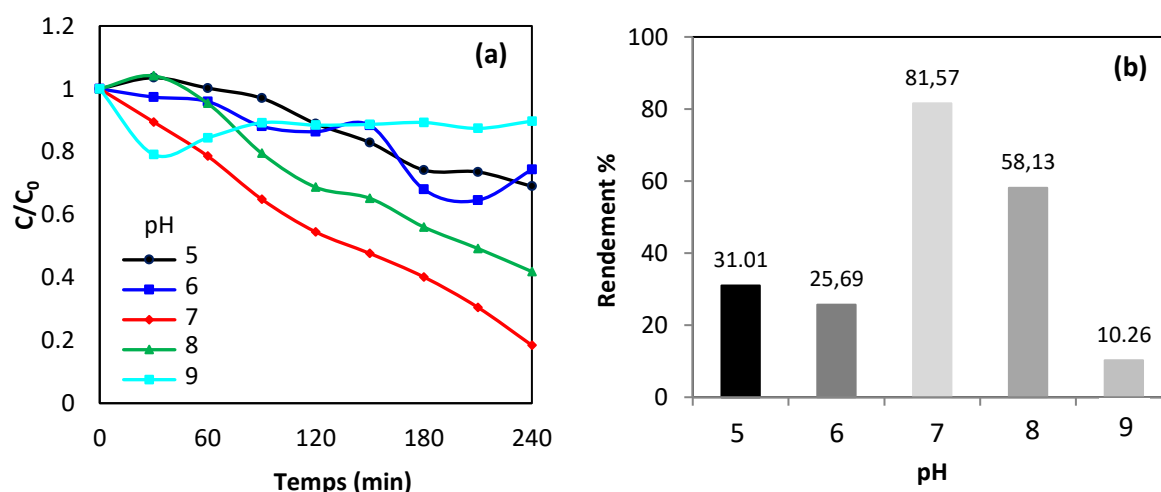


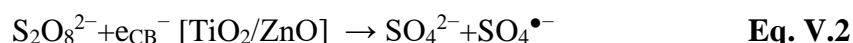
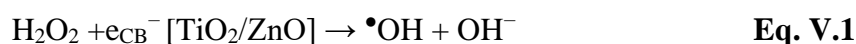
Figure V.7 : Effet du pH sur (a) la cinétique et (b) rendement de photodégradation du paracétamol en présence de TiO_2 /cellulose

Ceci révèle que, dans les conditions opératoires choisies dans la présente étude, le procédé de photodisparition du paracétamol est plus efficace à pH neutre qu'à pH légèrement basique ou acide. **Chakir et al [10]** ont testé dans leur travail expérimental quatre niveaux de pH : 3,0 ; libre ; 9,5 et 11,0 et cela sous deux différentes sources d'irradiation pour l'élimination du paracétamol. Les meilleurs résultats sont obtenus avec une solution basique à $\text{pH} = 9,5$ où un taux de dégradation de 100% est atteint au bout de 90 minutes d'irradiation solaire seulement. Par ailleurs, les résultats de **Jallouli et al [20]** ont montré que la quantité d'adsorption de paracétamol sur le TiO_2 -P25-Degussa a augmenté avec l'augmentation du pH jusqu'à une valeur de 9,0. Dans leurs courbes une dégradation complète a été atteinte au bout de 120 min sous irradiation solaire, contrairement au

traitement sous rayonnement artificiel où le taux obtenu n'était que de 95% au bout de 300 min.

V.5. Effet des oxydants sur la photodégradation de l'acétaminophène

Plusieurs études ont affirmé que les oxydants sont capables d'augmenter l'effet des UV/catalyseurs dans la dégradation d'une molécule organique en capturant les électrons éjectés du catalyseur. Il a été rapporté que H₂O₂ peut être un piège pour les trous et les •OH à des concentrations élevées alors que les ions S₂O₈²⁻ captent les électrons. L'addition de H₂O₂ et de K₂S₂O₈ était bénéfique pour la photoxydation des médicaments de différents groupes chimiques. Les intermédiaires radicaux réactifs (SO₄^{•-} et •OH) formés à partir de ces oxydants par des réactions avec les électrons photogénérés peuvent exercer une double fonction : en tant qu'oxydant fort eux-mêmes et en tant que piègeurs d'électrons, inhibant ainsi la recombinaison électron-trou à la surface du semi-conducteur [21,22] selon les équations suivantes:

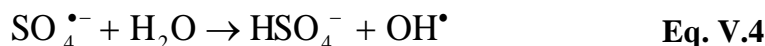


Pour mettre en évidence le rôle des oxydants dans la dégradation du paracétamol, du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et du persulfate de potassium (K₂S₂O₈) sont ajoutés au système réactionnel. Ceci est étudié avec une concentration optimale de peroxyde d'hydrogène de 10 mM et de persulfate de potassium de 1 mM. Les différentes manipulations sont élaborées dans les mêmes conditions opératoires évoquées précédemment en prenant comme doses de catalyseurs 2 et 0,5 mg/L de TiO₂/cellulose et ZnO/polystyrène, respectivement.

La **Figure V.8** illustre l'évolution de la cinétique de dégradation de la molécule médicamenteuse en présence des deux oxydants. Des essais en absence de H₂O₂ et de K₂S₂O₈ sont menés en parallèle. En présence de TiO₂/cellulose (**Figure V.8a**), la cinétique de dégradation du polluant admet une allure similaire pour les trois manipulations.

Bien que de nombreuses études aient démontré l'effet bénéfique de H₂O₂ à 10 mmol/L [23], cet oxydant montre un faible effet sur la dégradation de l'acétaminophène en présence de ZnO/polystyrène. Les courbe présentées sur la **Figure V.8b** révèlent qu'il n'y a pas une élimination significative de polluant en absence des oxydants et en présence de H₂O₂ pour le temps de traitement fixé. Compte tenu de l'effet du K₂S₂O₈ sur le procédé de dégradation, la **Figure V.8a** montre que la réduction de l'acétaminophène de la solution contaminée augmente considérablement en présence de 1 mmol/L de S₂O₈²⁻. Sur les systèmes catalytiques TiO₂/cellulose et ZnO/polystyrène, respectivement 85,4 et 93,1% d'acétaminophène sont éliminés des solutions contaminées contenant 10 mg/L de paracétamol. La présence de radicaux •OH confirmée dans plusieurs études est l'élément

nécessaire à la dégradation des molécules organiques. La dégradation photocatalytique de l'acétaminophène est facilitée par l'ajout de $S_2O_8^{2-}$ qui réagit avec l' e^-_{CB} conduisant à la formation d'anions radicaux sulfate ($SO_4^{\bullet-}$) et à la génération de $\bullet OH$ supplémentaire selon les équations suivantes :



Les radicaux $\bullet OH$ se forment à la surface du catalyseur lorsqu'il est éclairé par une lumière UV de longueur d'onde $\lambda \leq 367,9$ nm (plus grande que l'énergie de la bande interdite ZnO) résultant de la création de paires électron-trou [35,36]. L'ajout de l'ion peroxydisulfate, libérant le radical $SO_4^{\bullet-}$ (30-40 μs) extrêmement actif et de courte durée de vie, est donc responsable de la suppression de la recombinaison des porteurs de charge favorisant la photodégradation de la molécule. Plusieurs chercheurs ont étudié le processus de dégradation de l'acétaminophène sous UV/catalyseur et ont découvert que l'oxydant $S_2O_8^{2-}$ améliorerait la photodisparition du polluant de l'eau par rapport à d'autres oxydants [24,25].

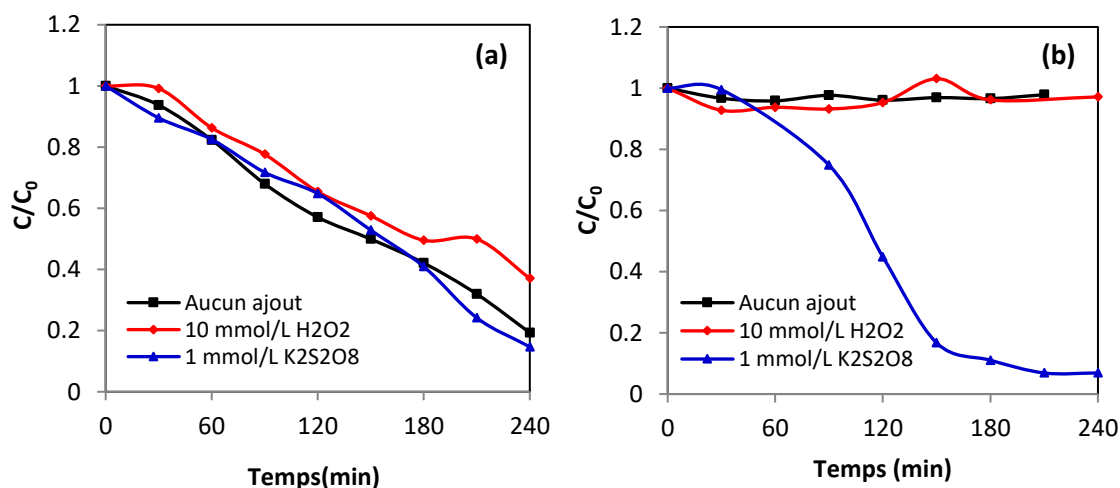


Figure V.8 : Dégradation de l'acétaminophène en présence de H_2O_2 (10 mmol/L) et $K_2S_2O_8$ (1 mmol/L) pour (a) $TiO_2/cellulose$ et (b) $ZnO/Polystyrène$

V.6. Analyse des sous-produits de dégradation

Comme $\bullet OH$ réagit de manière non sélective, la formation de sous-produits peut être inévitable dans la dégradation photocatalytique. Les sous-produits détectés lors de la dégradation de l'acétaminophène en présence des deux catalyseurs supportés ont été identifiés par CLHP. La **Figure V.9** montre les chromatogrammes CLHP-UV obtenus à partir des échantillons prélevés au cours de la dégradation de solutions de paracétamol

avec l'ajout des deux oxydants. Sur les **Figures V.9a** et **Figure V.9b**, on voit que pour la dégradation du paracétamol par $H_2O_2/UV/TiO_2$, la surface du pic de paracétamol (temps de rétention = 7,318 min) diminue progressivement après 240 min avec un rendement de 98,53%. Par ailleurs, en présence de $H_2O_2/UV/ZnO$, on note une dégradation d'environ de 89,67% ce qui n'est pas en accord avec l'analyse UV-vis. Dans tous les cas, on peut dire que le catalyseur à base de TiO_2 supporté sur papier cellulosique reste plus efficace sous éclairage UV que ZnO supporté sur polystyrène. Sur les **Figures V.9c** et **Figure V.9d**, on constate qu'en présence de $K_2S_2O_8/UV/TiO_2$, la surface du pic de paracétamol diminue significativement après 240 minutes ; il en est de même pour le système catalytique $K_2S_2O_8/UV/ZnO$ qui révèle une élimination importante du polluant de la solution contaminée. Lors de la dégradation photocatalytique, les composés intermédiaires sont détectés et analysés par CLHP. Toutes les espèces présentes dans les différentes solutions sont identifiées par comparaison des temps de rétention des pics observés avec les temps de rétention des pics CLHP standard.

Comme on peut le voir sur la **Figure V.9**, environ trois sous-produits connus se sont formés lorsque l'acétaminophène a été traité par des systèmes TiO_2 /cellulose et ZnO /polystyrène; les intermédiaires suivants ont été identifiés: acide oxalique (2,25 min), acide formique (2,2 min), acide butyrique (3,7 min), ammonium (1,8 min) et certains sous-produits inconnus (1,9 et 4,1 min) [26,27]. L'ammonium a été produit suite à la minéralisation de l'azote présent dans la molécule de paracétamol. Ces intermédiaires indiquent que la dégradation de l'acétaminophène implique un clivage du cycle benzénique suivi de réactions ultérieures pour former de l'eau et du dioxyde de carbone [28]. Il convient également de noter qu'après la dégradation du paracétamol, les pics des composés intermédiaires dans le système $H_2O_2/UV/ZnO$ sont beaucoup moins intenses que ceux obtenus avec le système catalytique $H_2O_2/UV/TiO_2$.

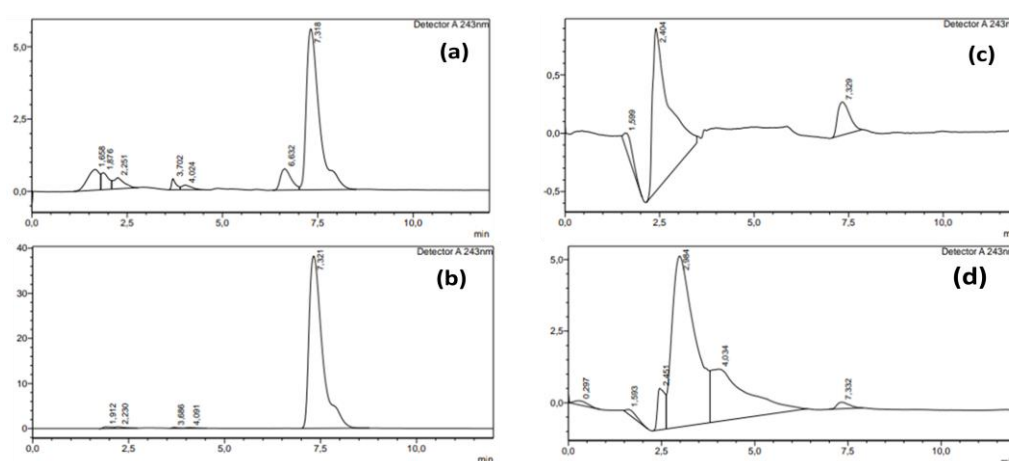


Figure V.9 : Chromatogrammes CLHP de la dégradation du paracétamol et ses produits d'oxydation en présence de différents systèmes catalytiques. (a) $H_2O_2/UV/TiO_2$, (b) $H_2O_2/UV/ZnO$, (c) $K_2S_2O_8/UV/TiO_2$, (d) $K_2S_2O_8/UV/ZnO$

Pour confirmer ces observations, nous portons sur la **Figure V.10** les chromatogrammes CLHP-UV obtenus à partir des échantillons prélevés lors de la dégradation de la solution de paracétamol en présence du système catalytique TiO₂/cellulose. On constate que la surface du pic de paracétamol diminue progressivement avec un rendement de 85% après 300 min de traitement dans les conditions d'un pH neutre et d'une température de 20±1 °C. L'analyse CLHP montre la présence de nouveaux pics de séparation au cours de l'expérience de dégradation, avec des temps de rétention différents de ceux du paracétamol (temps de rétention de 5,2; 6,4 et 8,1 min). En conclusion, on peut dire que le catalyseur à base de TiO₂ supporté sur papier cellulosique est efficace sous un éclairage aux UV. Ceci est certainement dû à la production de radicaux [•]OH et O₂^{•-} dans la solution aqueuse [20].

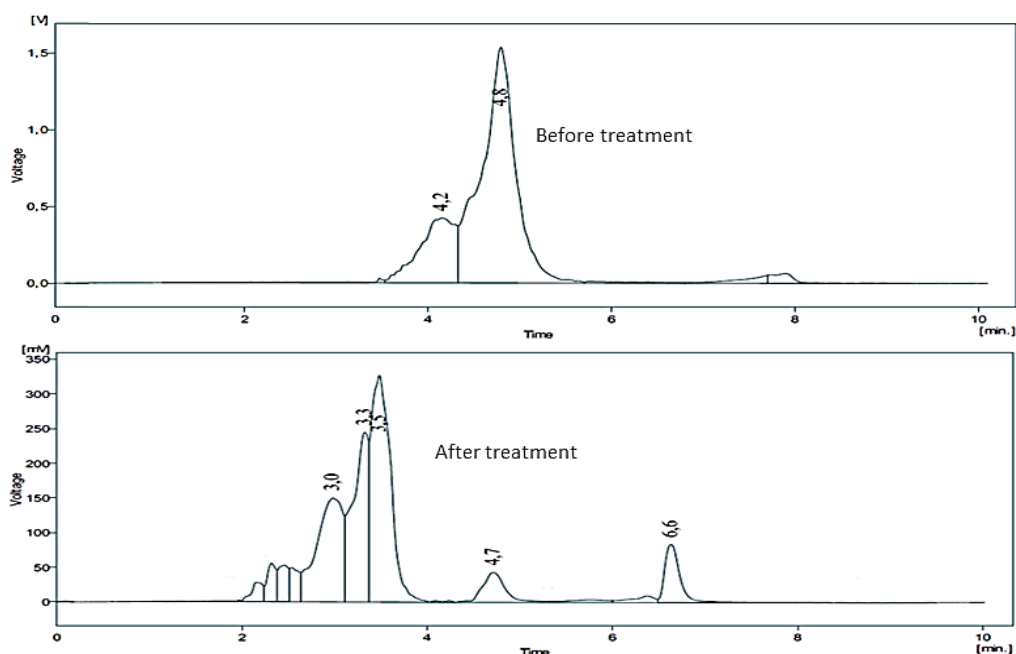


Figure V.10 : Chromatogramme CLHP de dégradation du paracétamol par photocatalyse TiO₂ avant et après 5 h de de traitement

V.7. Modélisation cinétique du procédé photocatalytique

La cinétique de la dégradation photocatalytique en présence de TiO₂/cellulose est déterminée pour des concentrations initiales en paracétamol variant entre 2 et 10 mg/L. Les données expérimentales peuvent être analysées avec les modèles de pseudo-premier ordre et pseudo-second ordre [29], exprimés par les équations suivantes :

$$\text{Pseudo-premier ordre} \quad \frac{dC}{dt} = -K_1 C \Rightarrow \ln C = -K_1 t + \ln C_0 \quad \text{Eq. V.5}$$

$$\text{Pseudo-second ordre} \quad \frac{dC}{dt} = -K_2 C^2 \Rightarrow \frac{1}{C} = -K_2 t + \frac{1}{C_0} \quad \text{Eq. V.6}$$

C et C_0 sont les concentrations du paracétamol au temps t et au temps initial (mg/L) ; K_1 (min^{-1}) et K_2 ($\text{L mg}^{-1} \text{min}^{-1}$) sont les constantes de vitesse du modèle du pseudo-premier ordre et pseudo-second ordre.

La conformité entre les données expérimentales et le modèle prédit se traduit par les valeurs des coefficients de détermination (R^2) ; ainsi, la valeur de R^2 la plus proche de l'unité indiquera le modèle adéquat pour décrire correctement le modèle cinétique. Cette conformité peut également se traduire par la comparaison des valeurs expérimentales et des valeurs théoriques déduites des équations.

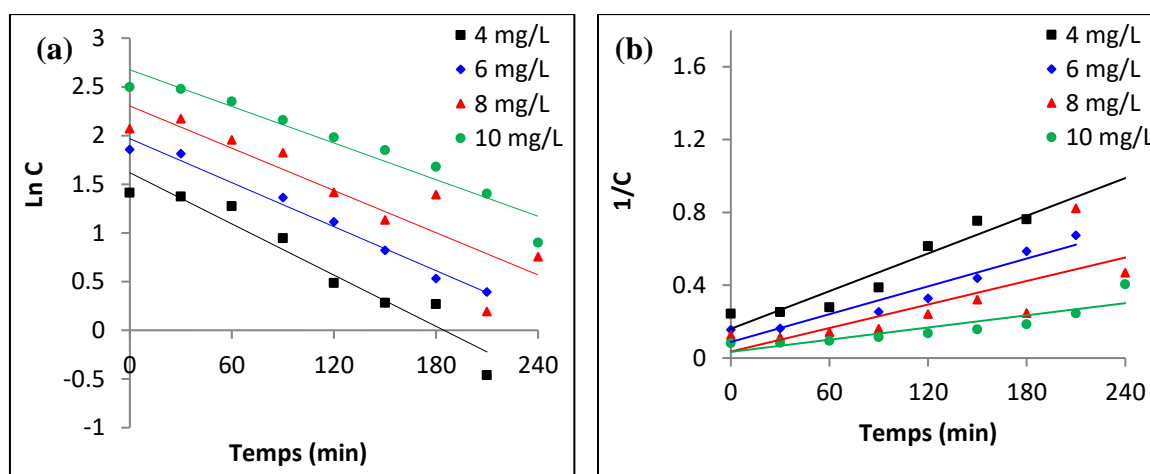


Figure V.11 : Tracé de la forme linéaire des modèles cinétiques de (a) pseudo-premier ordre et (b) pseudo-second ordre en présence de $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$.

Les graphes de la cinétique de dégradation photocatalytique de l'acétaminophène par le système catalytique UV/ $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$ sont représentés sur la **Figure V.11**. Les modèles cinétiques fournissent les informations utiles pour la description des données expérimentales photocatalytiques, qui sont essentielles pour les systèmes de traitement des eaux usées dans la pratique [30]. Dans le **Tableau V.1** sont présentés les paramètres cinétiques déterminés à partir de la pente et de l'intersection des tracés avec l'axe des ordonnées. Les modèles cinétiques de pseudo-premier ordre et de pseudo-second ordre ont été testés pour déterminer le meilleur modèle qui correspond aux données expérimentales. Les résultats montrent que le modèle de pseudo-premier ordre correspond le mieux aux données cinétiques de photodégradation du paracétamol par rapport au deuxième modèle. En effet, les valeurs des coefficients de détermination (R^2) sont meilleures et sont comprises entre 0,814 et 0,984 pour les concentrations initiales testées dans le présent travail. De plus, les valeurs des constantes de vitesse K_1 sont légèrement plus élevées que celles de K_2 ce qui signifie qu'une plus grande vitesse de dégradation est théoriquement espérée.

Tableau V.1. Constantes cinétiques de l'élimination du paracétamol par dégradation photocatalytique

Catalyseurs	C ₀ (mg/L)	Modèle du premier ordre			Modèle du deuxième ordre		
		K ₁ (min ⁻¹)	Ln C ₀	R ²	K ₂ (L mg ⁻¹ min ⁻¹)	1/C ₀ (L/mg)	R ²
TiO ₂ /cellulose	04,00	0,008	01,618	0,933	0,005	0,043	0,776
	06,00	0,007	01,967	0,984	0,002	0,088	0,927
	08,00	0,007	02,303	0,814	0,002	0,035	0,599
	10,00	0,006	02,674	0,935	0,001	0,034	0,773

Pour appuyer ceci, on compare les concentrations initiales expérimentales et calculées à partir de ce modèle. Ainsi, on voit sur le **Tableau V.2**, que les quantités expérimentales et théoriques sont très loin les unes des autres pour le modèle de pseudo-second ordre. Par contre, dans le modèle de pseudo-premier ordre les quantités expérimentales et théoriques sont très proches les unes des autres. Ainsi, on peut conclure que les données expérimentales de l'élimination de la molécule médicamenteuse par photocatalyse dans les conditions de la présente étude sont bien décrites par le modèle cinétique de pseudo-premier ordre. Ces résultats concordent bien avec ceux rapportés dans diverses études, où le modèle de pseudo-premier ordre donne en général une meilleure description de la cinétique de la réaction [5].

Tableau V.2. Comparaison entre les grandeurs expérimentales et calculées

Catalyseurs	C ₀ (mg/L)	Modèle de pseudo-premier ordre		Modèle de pseudo-second ordre	
		C _{0exp} (mg/L)	C _{0cal} (mg/L)	C _{0exp} (mg/L)	C _{0cal} (mg/L)
TiO ₂ /cellulose	04,00	04,106	05,043	04,106	23,256
	06,00	06,397	07,149	06,397	11,364
	08,00	07,929	10,004	07,929	28,571
	10,00	12,180	14,498	12,180	29,412

V.8. Références Bibliographiques

- [1] Juárez MC., Miranda VM., Sánchez PTA., Hernández IL., Tepole FS., Mejía GV. 2019. Synthesis of TiO₂ catalysts doped with Cu, Fe, and Fe/Cu supported on clinoptilolite zeolite by an electrochemical-thermal method for the degradation of diclofenac by heterogeneous photocatalysis. *J Photochem Photobiol A Chem.* 380, 111-834.
- [2] Lucero JS., Arriaga S. 2013. Photocatalytic degradation of hexane vapors in batch and continuous systems using impregnated ZnO nanoparticles. *Chem Eng J.* 218, 358-367.
- [3] Znad H., Abbas K., Hena S., Awual MR. 2018. Synthesis a novel multi lamellarmeso porous TiO₂/ZSM-5 for photo-catalytic degradation of methyl orange dye in aqueous media. *J Environ Chem Eng.* 6, 218-227.
- [4] Chardin T., Coissard V., Berrada P-Ed., Weyer F. 2007. Etudes de surfaces autonettoyantes par photocatalyse. *Projet Scientifique collectif.* 1-41.
- [5] Behravesht S., Mirghaffari N., Alemrajabi AA., Davar F., Soleimani M. 2020. Photocatalytic degradation of acetaminophen and codeine medicines using a novel zeolite-supported TiO₂ and ZnO under UV and sunlight irradiation. *Environmental Science and Pollution Research.* 27, 26929-26942.
- [6] Hadjltaief HB., Ameer SB., Da Costa P., Zina MB., Galvez ME. 2018. Photocatalytic decolorization of cationic and anionic dyes over ZnO nanoparticle immobilized on natural Tunisian clay. *Appl Clay Sci.* 152, 148-157.
- [7] Alswat AA., Ahmad MB., Saleh TA., Hussein MZB., Ibrahim NA. 2016. Effect of zinc oxide amounts on the properties and antibacterial activities of zeolite/zinc oxide nanocomposite. *Mater Sci Eng C.* 68, 505-511.
- [8] Mamba G., Kiwi J., Pulgarin C., Sanjines R., Giannakis S., Rtimi S. 2018. Evidence for the degradation of an emerging pollutant by a mechanism involving iso-energetic charge transfer under visible light. *Applied Catalysis B: Environmental.* 233, 175-183.
- [9] Vaiano V., Matarangolo M., Sacco O. 2018. UV-LEDs floating-bed photoreactor for the removal of caffeine and paracetamol using ZnO supported on polystyrene pellets. *Chemical Engineering Journal.* 350, 703-713.
- [10] Chekir N., Tassalit D., Benhabiles O., Merzouk NK., Bendjebbas NE., Ghebghoub H. 2019. Influence du Dopage du Dioxyde de Titane Sur la Dégradation Des Substances Pharmaceutiques. *International journal of scientific research and engineering technology.* 8, 7-13.
- [11] Simsek., Bilgin E. 2016. Solvothermal synthesized boron doped TiO₂ catalysts: Photocatalytic degradation of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals under visible light irradiation. *Appl Catal. B: Environ.* 200, 309-322.
- [12] Thi VH., Lee BK. 2017. Effective photocatalytic degradation of paracetamol using La-doped ZnO photocatalyst under visible light irradiation. *Materials Research Bulletin.* 96, 171-182.

- [13] Aguilar CA., Montalvo C., Ceron JG., Moctezuma E. 2011. Photocatalytic Degradation of Acetaminophen. *International Journal Environmental Research*. 5(4), 1071-1078.
- [14] Alahiane S., Qourzal S., El Ouardi M., Belmouden M., Assabbane A., Ait-Ichou Y. 2013. Adsorption et photodégradation du colorant indigo carmine en milieu aqueux en présence de TiO₂/UV/O₂ (Adsorption and photocatalytic degradation of indigo carmine dye in aqueous solutions using TiO₂/UV/O₂). *Journal Materiel Environmental Science*. 4 (2), 239-250.
- [15] Neppolian B., Choi HC., Sakthivel S., Arabindoo B., Murugesan V. 2002. Solar/UV-induced photocatalytic degradation of three commercial textile dyes. *Journal of Hazardous Materials*. 89, 303-317.
- [16] Desale A., Kamble SP., Deosarkar MP. 2013. Photocatalytic Degradation of Paracetamol Using Degussa TiO₂ Photocatalyst. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*. 2, 2319-6602.
- [17] Altın I., Sokmen M. 2015. Buoyant Photocatalyst Based on ZnO Immobilized on Polystyrene Beads for Pollutants Treatment. *Clean Soil Air Water*. 43(7), 1025-1030.
- [18] Gupta VK., Jain R., Nayak A., Agarwal S., Shrivastava M. 2011. Removal of the hazardous dye-Tartrazine by photodegradation on titanium dioxide surface. *Mater. Sci. and Eng. C*. 31, 1062-1067.
- [19] Kozlov DV., Vorontsov AV., Smirniotis PG., Savinov EN. 2003. Gas-phase photocatalytic oxidation of diethyl sulfide over TiO₂: kinetic investigations and catalyst deactivation. *Appl. Catal. B*. 42, 77.
- [20] Jallouli N., Elghniji K., Trabelsi H., Ksibi M. 2014. Photodegradation of paracetamol on TiO₂ nanoparticles and TiO₂/cellulosic fiber under UV and sunlight irradiation. *Arabian journal of Chemistry*. 10(2), 3640-3645.
- [21] Sharma J., Mishra IM., Kumar V. 2015. Dégradation et minéralisation du bisphénol A (BPA) en solution aqueuse à l'aide de procédés d'oxydation avancés : systèmes d'oxydation UV / H₂O₂ et UV / S₂O₈²⁻. *J. Environ. Manage*. 156, 266-275.
- [22] Grätzel CK., Jirousek M., Grätzel M. 1990. Decomposition of organophosphorus compounds on photoactivated TiO₂ surfaces. *Journal of Molecular Catalysis*. 60(3), 375-387.
- [23] Andronic L., Enesca A., Vladuta C., Duca A. 2009. Photocatalytic activity of cadmium doped TiO₂ films for photocatalytic degradation of dyes. *Chem. Eng. J*. 152(1), 64-71.
- [24] Lin JC., de Luna MDG., Aranzamendez GL., Lu M. 2016. Degradations of acetaminophen via a K₂S₂O₈-doped TiO₂ photocatalyst under visible light irradiation. *Chemosphere*. 155, 388-394.
- [25] Chen X., Wang W., Xiao H., Hong C., Zhu F., Yao Y., Xue Z. 2012. Accelerated TiO₂ photocatalytic degradation of Acid Orange 7 under visible light mediated by peroxymonosulfate. *Chem. Eng. J*. 193-194, 290-295.

- [26] Vogna RMD., Napolitano A., Ischia M. 2002. Advanced Oxidation Chemistry of Paracetamol. UV/H₂O₂-Induced Hydroxylation/Degradation Pathways and 15N-Aided Inventory of Nitrogenous Breakdown Products. *Journal of Organic Chemistry*. 67, 6143-6151.
- [27] Xiaojing Li JWC., Tetzlaff TA., Jenks WS. 1999. Photocatalytic Degradation of 4 Chlorophenol. 1. The Hydroquinone Pathway. *Journal of Organic Chemistry*. 64, 8509-8524.
- [28] Yang L., Yu LE., Ray MB. 2008. Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ photocatalysis. *Water Res.* 42(13), 3480-3488.
- [29] Aloui A., Zertal A. 2016. Étude de l'élimination du paracetamol par le charbon actif en milieu aqueux. *Appl. Energ. Pollut.* 30-31.
- [30] Fang L., Wu B., Lo IM. 2017. Fabrication of silica-free superparamagnetic ZrO₂ Fe₃O₄ with enhanced phosphate recovery from sewage : performance and adsorption mechanism. *Chem Eng J.* 319, 258-267.



Chapitre VI.

Investigation des tests de toxicité

Ce chapitre est consacré à l'étude d'impact toxicologique d'une solution aqueuse du paracétamol en rapport les procédés de traitement appliqués (phytotoxicité, toxicité in vivo (étude biochimique et histologique))

Chapitre VI. Investigation des tests de toxicité

VI.1. Introduction

La pollution par le paracétamol pose aujourd'hui un problème crucial compte tenu de ses nocivités sur l'environnement et la santé publique ce qui a poussé les chercheurs à développer des procédés efficaces de traitement et d'en investiguer l'impact. L'objectif de ce travail est d'évaluer la toxicité du paracétamol sur la faune (étude *in vivo*) et la flore (phytotoxicité). La phytotoxicité a été évaluée avant et après l'irradiation par UV contre la germination des graines de cresson (*Lepidium sativum*) afin d'évaluer l'impact du rejet de solution irradiée dans l'environnement ainsi que pour évaluer l'utilisation possible de la solution aqueuse prétraitée dans le champ d'irrigation. De plus, l'étude biochimique comme paramètre des activités plasmatiques d'urée, de créatinine, de bilirubine totale, de LDH, d'ALP, d'ALT, d'AST, de triglycérides et de cholestérol ont été déterminées en utilisant un spectrophotomètre automatisé, ainsi que la perturbation des taux sériques de la catalase (CAT), l'acétylcholinestérase (AChE) et le malondialdéhyde (MDA) pour l'exploration du mécanisme du système antioxydant. Enfin, nous avons testé l'effet de paracétamol pur et d'échantillons traités par photocatalyse et par voie biologique par une étude toxicologique *in-vivo* sur des souris mâles. L'étude a consisté à faire des études histologiques sur le foie et les reins dans le but de mettre en évidence les éventuelles altérations tissulaires provoquées par ces traitements.

VI.2. Phytotoxicité

La phytotoxicité des milieux de culture végétale basée sur l'indice de germination (IG) des graines a été évaluée comme décrit par Zucconi et al. (1985) [1].

$$\% \text{ Germination } n = \frac{\text{Nombre de graines germées pour le test}}{\text{Nombre de germes germées pour le témoin}} \quad \text{Eq. VI.1}$$

Plusieurs espèces ont été traditionnellement utilisées pour évaluer la phytotoxicité. Cependant, aucune espèce de semence normalisée n'est utilisée dans le monde [2], [3]. Les graines du cresson ont été utilisées pour ce test, car il s'agit d'une culture qui réagit sensiblement aux perturbations du substrat. Les tests de cresson sont faciles à réaliser et à interpréter et nécessitent du matériel disponible. Le test de phytotoxicité a été effectué pour évaluer l'effet de la dégradation du paracétamol par deux types de catalyseurs (TiO₂/Cellulose et ZnO/Polystyrène) sous irradiation UV et en présence d'oxydants sur la faculté germinative des graines de cresson. La phytotoxicité de la solution du paracétamol avant et après traitement photocatalytique vis-à-vis des semences de la plante étudiées a été évaluée par des essais à court terme permettant la détermination de l'IG. C'est un test

indispensable et parmi les plus communément utilisés pour étudier la toxicité des solutions traitées et évaluer leur degré d'efficacité. Les échantillons de la solution du paracétamol concernés par ce test sont représentés dans le **Tableau VI.1**. Le contrôle consiste en l'échantillon arrosé avec de l'eau de robinet.

Tableau VI.1. Echantillons du paracétamol utilisés pour le test de phytotoxicité

Echantillon	Caractéristique
1	Contrôle (eau de robinet)
2	Solution du paracétamol à 10 mg/L
3	Paracétamol / H ₂ O ₂ / UV / TiO ₂
4	Paracétamol / K ₂ S ₂ O ₈ / UV / TiO ₂
5	Paracétamol / H ₂ O ₂ / UV / ZnO
6	Paracétamol / K ₂ S ₂ O ₈ / UV / ZnO

La croissance en hauteur de la partie aérienne du cresson a été mesurée en fonction du temps. Les photos de la Figure VI.1 illustrent la croissance des plantes durant 48 heures dans des boîtes de pétri additionnées de doses de solution traitée par les oxydants peroxyde d'hydrogène et le persulfate de potassium.

La première phase (avant 24 h) est la phase d'imbibition au cours de laquelle les graines ne germent pas (Figures VI.1-A). C'est un phénomène d'entrée rapide d'eau par les graines et la synthèse des enzymes indispensables au métabolisme de base de la germination. Ces enzymes sont nécessaires à l'hydrolyse des réserves contenues dans la semence. Ce délai correspond donc au temps pris par la radicule pour percer les téguments de la graine [4].

La deuxième phase correspond à la phase de germination (Figures VI.1-B). C'est une phase très importante car elle conditionne la croissance ultérieure. Elle débute au 1^{er} jour et s'arrête à la fin de l'expérimentation.

La troisième phase débute au 2^{ème} jour et s'arrête à la fin de l'expérimentation (Figures VI.1-C). Cette phase correspond à la phase de croissance, durant laquelle les germinations suivent une cinétique caractérisée par une augmentation de la respiration et l'entrée d'eau. C'est lors de cette phase que l'embryon exploite les réserves contenues dans le milieu de culture [5]. Après 48 h il y a la phase plateau qui marque la fin de la germination d'une graine. Cette phase correspond à une période où les pourcentages de germination n'évoluent plus.

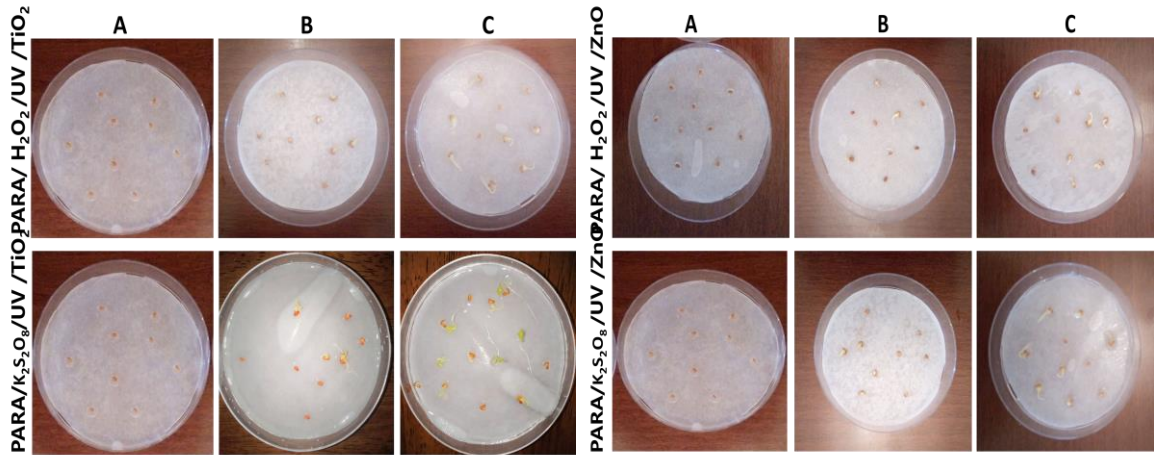


Figure VI.1 : Germination des graines de cresson arrosées avec les solutions photocatalysées avec UV/ H₂O₂/TiO₂ ; UV/K₂S₂O₈/TiO₂, UV/ H₂O₂/ ZnO et UV/K₂S₂O₈/ ZnO (A) avant, (B) après 24 h et (C) après 48 h de germination

La figure VI.2, représentent la variation des taux cumulés des essais de germination durant 48 heures en fonction des échantillons testés. Phytotoxicité élevée

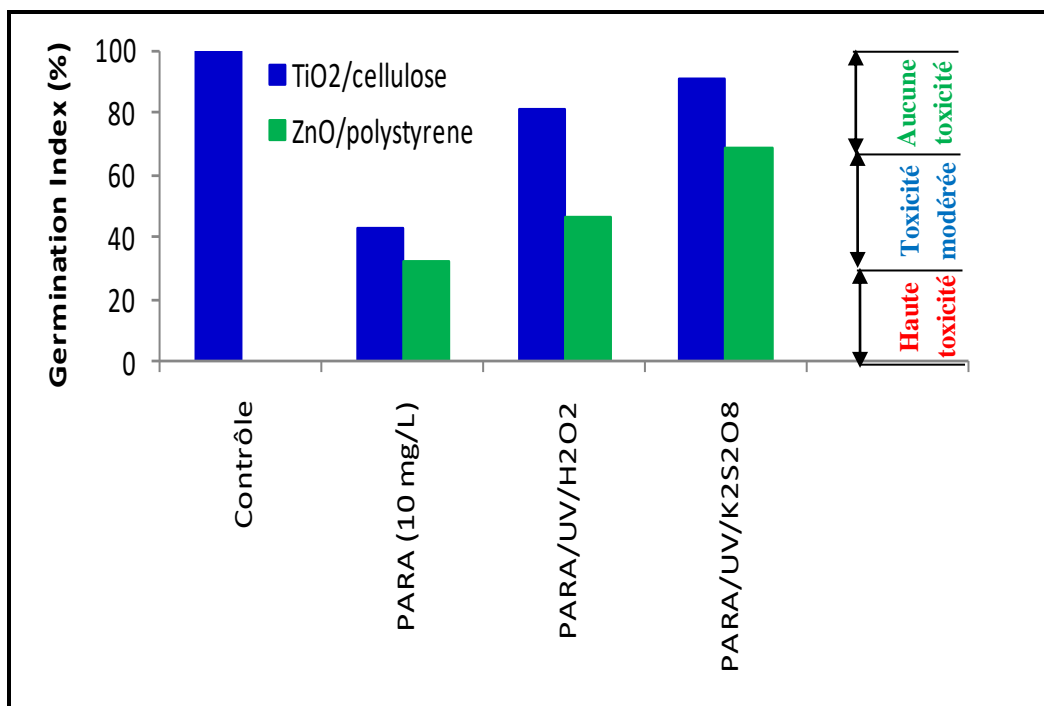


Figure VI.2 : Indice de Germination des solutions paracétamol pour différents types de catalyseurs

La toxicité des échantillons non traités et traités par photocatalytique à l'aide de graines de cresson a été évaluée. L'IG le plus élevé a été observé en cas de contrôle (eau du robinet). Comparativement au témoin, les tests ont démontré un pourcentage de germination plus

faible dans les graines (IG = 43%) pour l'échantillon non traité par rapport aux graines pulvérisées avec de l'eau contenant des sous-produits. Dans ce cas il y a une toxicité à l'égard des graines puisque son IG < 50 %. Par contre, les histogrammes relatifs au ZnO/PS montrent que les racines de cresson ont dévoilé un petit accroissement en hauteur en présence de H₂O₂ et K₂S₂O₈ conduisent à des sous-produits de dégradation de phytotoxicité modérée (50 % ≤ IG < 70 %) puisque l'on note des IG de 46,62 et 68,07 %, respectivement. En effet, la croissance de cette espèce est nettement affectée par la présence de TiO₂/CS. Les indices de germination les plus élevés sont obtenus de 80 et 91,1 % chez les deux oxydants H₂O₂ et K₂S₂O₈, respectivement. Dans la littérature, un IG supérieur ou égal à 70 % de référence pour le Cresson (*Lepidium sativum*) est celui des sous-produits de dégradation sans effets phytotoxiques [6].

VI.3. Paramètres biochimiques

VI.3.1. Analyse fonctionnelle de sérum

Pour mettre en évidence la toxicité engendrée par le paracétamol, une administration par voie orale de 500 mg/kg est réalisée. Après 04 jours de traitement, des effets de différents traitements sur les taux plasmatiques chez les souris sont constatées. Les résultats obtenus de l'urée, de créatinine, de bilirubine, de phosphatase alcaline (ALP), d'aspartate aminotransférase (AST), d'alanine transaminase (ALT), de lactate déshydrogénase (LDH), de triglycérides et du cholestérol sérique sont illustrés dans la Figure VI.3. Pour un surdosage de paracétamol, les résultats indiquent une augmentation significative des taux plasmatiques de bilirubine totale, d'ALT et d'AST par rapport au groupe témoin. L'augmentation de la concentration de l'urée et de bilirubine est hautement significative chez les deux lots traités par la photocatalyse et par la biodégradation. Par contre, les activités du sérum des enzymes créatinine, ALP, ALT, AST et LDH étaient significativement ($p < 0,05$) plus faible chez les souris traités par UV/TiO₂ (G 2) et par la souche E1.21 (G 3) par rapport au groupe témoin. Cependant, il n'existe aucun changement dans la concentration sérique des triglycérides.

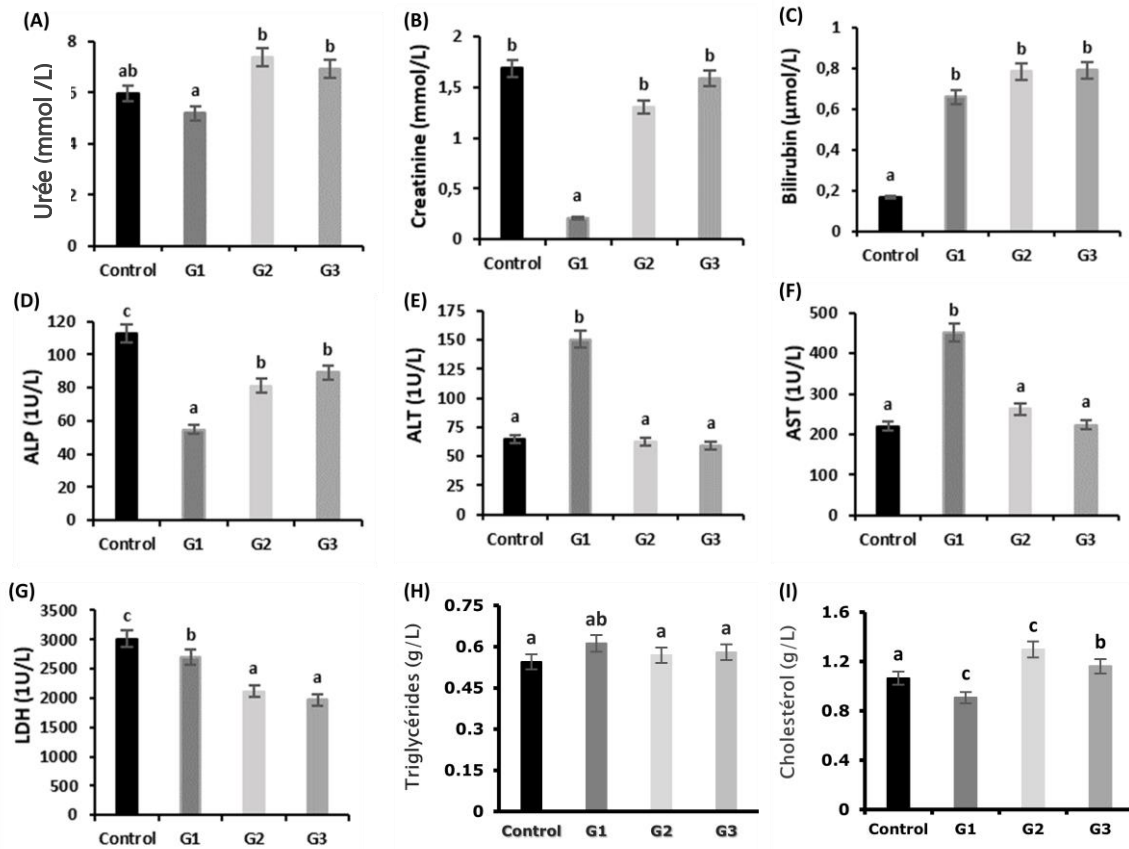


Figure VI.3 : Effets de différents traitements sur les taux plasmatiques chez la souris. (A) Urée, (B) Créatinine, (C) Bilirubine T, (D) Phosphatase alcaline, (E) Alanine transaminase, (F) Aspartate aminotransférase, (G) Lactate déshydrogénase, (H) Triglycérides et (I) Cholestérol. G1: Groupe 1 (souris exposées au paracétamol pur), G2: Groupe 2 (souris exposées au paracétamol dégradé par photocatalyse au TiO₂) et G3: Groupe 3 (souris exposées au paracétamol dégradé par la souche E1.21). Les valeurs sont la moyenne ± ET (n = 5). a, b, c...: Les lettres minuscules représentent les différences selon Student-Newman-Keulstest à p < 0,05

La dégradation des composés protéiques hépatiques, peut expliquer l'augmentation de l'urée et de la créatinine sérique chez les souris traitées par la voie photocatalytique et par voie biologique, où les protéines peuvent être dégradées en acides aminés puis en urée et créatinine. Ainsi ces acides aminés formés peuvent se transformer sous l'action des aminotransférases sériques en composés carboxyliques tel que l'acide pyruvique [7]. Comme la créatinine est éliminée exclusivement par les reins, son augmentation significative est probablement due à l'altération de la fonction rénale. Une surdose de paracétamol provoque une insuffisance rénale aiguë [8]. Par ailleurs, l'élévation du taux de la bilirubine totale par les doses toxiques du paracétamol peut être attribuée au stress oxydatif induit par le NAPQI. Ce phénomène provoque l'oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine qui peut être dégradé en bilirubine, son métabolite final. Ce résultat est en accord avec les travaux de **Udosen et al** [9]. Aussi on peut suggérer que les taux sériques d'ALT et d'AST élevés par rapport au groupe témoin chez les souris traitées par une

solution de paracétamol pur à 400 mg/L est liée à l'effet hépatotoxique de ce médicament analgésique sachant que le foie est l'organe principal de la détoxification parce qu'il sécrète la plupart des enzymes du métabolisme, en effet l'augmentation des taux plasmatiques provoque une hépatotoxicité qui mène à la formation de N-acétyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI) par le cytochrome P450 qui est généralement inactivé par le GSH hépatique [10-13]. **Bajt et al [14]** ont montré que le traitement des souris sauvages avec PARA (200 mg / kg) pendant 6 h a induit une élévation des valeurs plasmatiques de l'ALT de 8600 ± 1870 U / l. De plus, la LDH est une enzyme cytoplasmique présente dans tous les tissus et elle est facilement libérée dans le plasma lors d'une lésion tissulaire. L'accumulation du pyruvate peut expliquer l'augmentation de la LDH qui catalysant la transformation réversible lactate-pyruvate. La diminution significative du cholestérol peut être due à l'hépatotoxicité causée par le paracétamol. **Ghanem et al [15]** ont affirmé que les doses toxiques du PARA induisent une élévation de l'excrétion biliaire. Le cholestérol est le constituant essentiel de la bile, donc ceci peut expliquer la chute du taux du cholestérol. Pour les souris traitées par UV/TiO₂ (G 2) et par la souche E1.21 (G 3), ces résultats révèlent aussi une augmentation bien claire de la concentration du cholestérol mais également de sa dégradation hépatique, cet effet peut être expliqué par les effets des hormones thyroïdiennes, la T4 qui est convertie en T3 par désiodation dans de nombreux organes périphériques, notamment le foie [16].

VI.3.2. Activité des enzymes antioxydantes

L'évaluation de la toxicité du paracétamol ou l'acétaminophène est exprimée par le dosage du CAT, MDA ainsi que le dosage de l'AChE sur les fonctions hépatiques et les fonctions rénales (Figure VI.4). La concentration du CAT a diminué significativement au niveau de deux organes étudiés : le foie et les reins. Cette diminution est chez les trois Groupes (G1, G2 et G3) par rapport au souris témoin. En revanche, l'auto-oxydation des lipides exprimée par la concentration de la MDA a augmenté significativement par comparaison au groupe témoin, surtout chez les souris exposées au paracétamol (G1) avec une administration par voie orale pendant 96 h, ceci peut conduire à un état de stress oxydatif notamment au niveau des globules rouges [17]. Chez les souris traitées par UV/TiO₂ (G2), aucune modification de l'activité MDA n'a été mise en évidence dans les tissus hépatiques et les tissus rénaux. L'augmentation de l'activité enzymatique de la MDA est remarquée chez les souris traitées par la souche *Pseudomonas putida* E1.21 (G3) dans les tissus rénaux, tandis qu'aucune augmentation de l'activité MDA n'a été détectée dans les tissus hépatiques des souris de Groupe 3. L'AChE permet d'hydrolyser rapidement l'acétylcholine afin de stopper rapidement la stimulation du récepteur. Au niveau du foie, une augmentation significative de l'activités AChE chez les souris du Groupe 1 et du Groupe 2 a été notée, par contre pour les souris traitées par la souche E1.21 (G3) ont présenté une diminution significative par comparaison au groupe témoin. Au niveau du rein, seules les souris de Groupe 2 ont présenté une augmentation significative d'activité AChE par rapport au groupe témoin.

L'effet oxydant de paracétamol sur les fonctions hépatiques et les fonctions rénales a été confirmé par tous les travaux entrepris tels ceux de **Abdelkhalek et al [18]** qui ont montré que le paracétamol a provoqué des lésions hépatiques marquées, comme indiqué par une augmentation significative de la teneur en peroxydation malondialdéhyde (MDA), de la catalase (CAT) et de l'acétylcholinestérase (AChE) [18]. L'acétaminophène (PARA), également connu sous le nom de paracétamol, est le médicament analgésique et antipyrétique le plus fréquemment utilisé. Cependant, il peut induire une hépatotoxicité oxydée par le stress à des doses élevées [19]. Enfin, les activités enzymatiques (Catalase, malondialdéhyde et acétylcholinestérase) sont d'excellents indicateurs d'un stress oxydant [20,21].

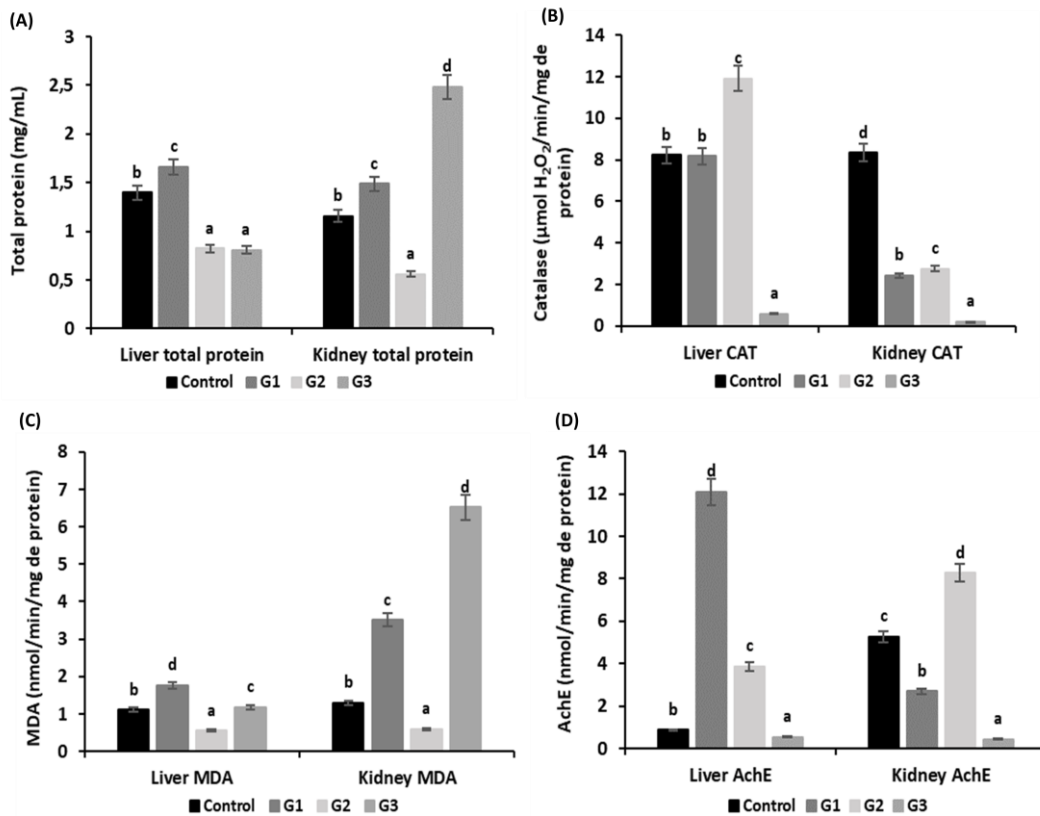


Figure VI.4 : Activités enzymatiques antioxydantes, taux de CAT, de MDA et d'AChE dans le foie et les reins des groupes témoins et expérimentaux de souris. G1: Groupe 1 (souris exposées au paracétamol pur), G2: Groupe 2 (souris exposées au paracétamol dégradé par photocatalyse au TiO₂) et G3: Groupe 3 (souris exposées au paracétamol dégradé par la souche E1.21). Les valeurs sont la moyenne ± ET (n = 5). a, b, c etc.: les lettres minuscules représentent les différences selon le test de Student-Newman-Keulsa a, b à p <0,05

VI.4. Etude morphologique

VI.4.1. Effets du paracétamol pur et traité sur le poids corporel

Le suivi de la variation de la masse corporelle des souris au cours de l'expérience de toxicité aiguë a démontré qu'il y a une diminution significative du poids final comparativement au poids avant traitement.

Aucun animal n'est mort pendant la période d'exposition. La Figure VI.5 montre le poids corporel initial et final de tous les groupes étudiés. Dans le premier constat il y a une variation dans le poids corporel. Cette variation est plus visible chez les lots traités avec le paracétamol et la photocatalyse où la masse corporelle a été moins élevée par rapport à celui du poids initial. Cependant, la seule augmentation significative du poids corporel après traitement par rapport au témoin a été observée dans le lot traité avec la souche de *P. putida* E1.21 (G3). On peut conclure que, en fin de traitement, la variation des poids corporels a révélé une faible diminution dans les trois groupes traités G1, G2 et G3 par rapport aux animaux témoins.

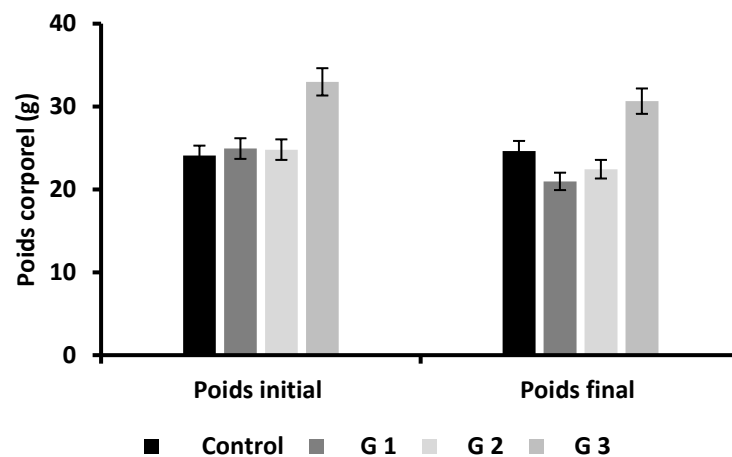


Figure IV.5 : Histogramme montrant le poids corporels (exprimés en g) de souris exposées au paracétamol pur (Groupe1), au paracétamol dégradé par photocatalyse TiO_2 (Groupe2) et au paracétamol dégradé par la souche *P. putida* E1.21 (Groupe3) au début et à la fin de l'expérience

VI.4.2. Effets du paracétamol pur et traiter sur le poids relatif du foie et rein

Les histogrammes de la variation des poids des organes par rapport à 24 g du poids corporel ont montré qu'il n'y a pas de différence significative des poids relatif du foie et du rein des souris en les comparant aux témoins (Fig. VI.6).

Les perturbations biochimiques sont liées à l'augmentation des poids hépatiques et des poids rénaux après le traitement par le paracétamol. Ces derniers ont remarqué que les souris gavées du paracétamol subissent une perte de poids corporel, en revanche les poids relatifs du foie et des reins ont largement augmentés. Ces organes sont des tissus cibles à l'intoxication au paracétamol, ce qui augmente leur taille. Au terme de 04 jours de

traitement, la variation du poids des organes révèle une augmentation significative de la masse hépatique chez le Groupe1 et le Groupe3 par comparaison au témoin. Seules les souris qui ont été traitées par photocatalyse TiO_2/UV (Groupe2) a marqué une diminution significative au poids du foie. Nous avons constaté une augmentation du poids des reins chez le Groupe1 qui peut être expliquée par les lésions tissulaires démontrées par les coupes histologiques du rein. Pour le Groupe2 et Groupe3 il n'y a pas de différence significative des poids rénaux.

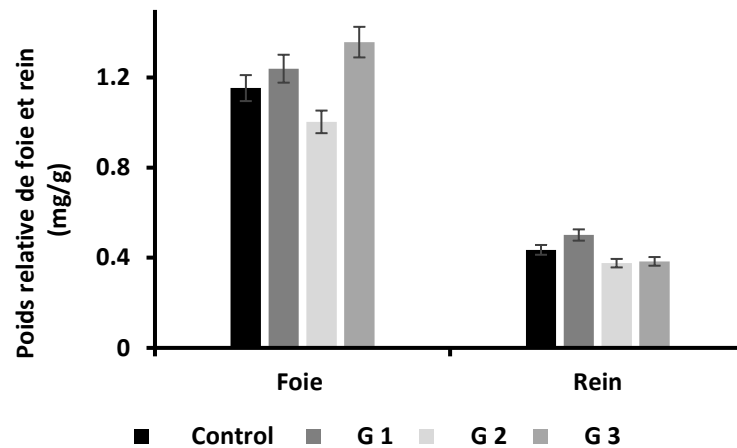


Figure VI.6 : Histogramme montrant le poids relatif de foie et de rein (exprimés en mg/g), chez des souris mâles exposées au paracétamol pur (Groupe1), au paracétamol dégradé par photocatalyse TiO_2 (Groupe2) et au paracétamol dégradé par la souche *P. putida* E1.21 (Groupe3)

VI.5. Etude histologique

Les coupes histologiques des foies et des reins colorés à hématoxyline–éosine (H&E) des animaux du groupe témoin et chez des souris mâles exposées au paracétamol pur et ceux du groupe traité au paracétamol dégradé par photocatalyse TiO_2 et au paracétamol dégradé par la souche de *P. putida* E1.21 ont été observées dans le but de mettre en évidence les éventuelles altérations tissulaires provoquées par ces traitements (Figure VI.7).

Pour l'analyse histologique, nous avons remarqué un foie et un rein normaux dans le groupe témoin. Au niveau du foie, pour les souris G1 (paracétamol pur), nous avons remarqué une modification sévère de l'architecture du foie comprenant des sinusoides dilatés, des veines centro-lobulaires dilatées et des hépatocytes ballonnés irréguliers. Nous avons également observé une infiltration des cellules inflammatoires et des congestions vasculaires avec une veine centro-lobulaire dilatée. En revanche, chez les souris G2 (UV / TiO_2), la structure des hépatocytes était assez bien préservée par rapport aux souris G1 avec la présence de congestions vasculaires et une réduction significative des infiltrations inflammatoires. Pour les souris traitées avec la souche de *P. putida* E1.21,

on a noté également qu'elle présente une réduction significative des infiltrations inflammatoires. Concernant l'histopathologie du rein, les souris exposées au paracétamol ont produit une infiltration des cellules inflammatoires et des dilatations des tubules rénaux. Le traitement de photocatalyse (UV / TiO₂) et le traitement biologique (souche *P. putida* E1.21) montrent une correction des lésions avec une réduction significative d'un infiltrat inflammatoire chez les souris G3.

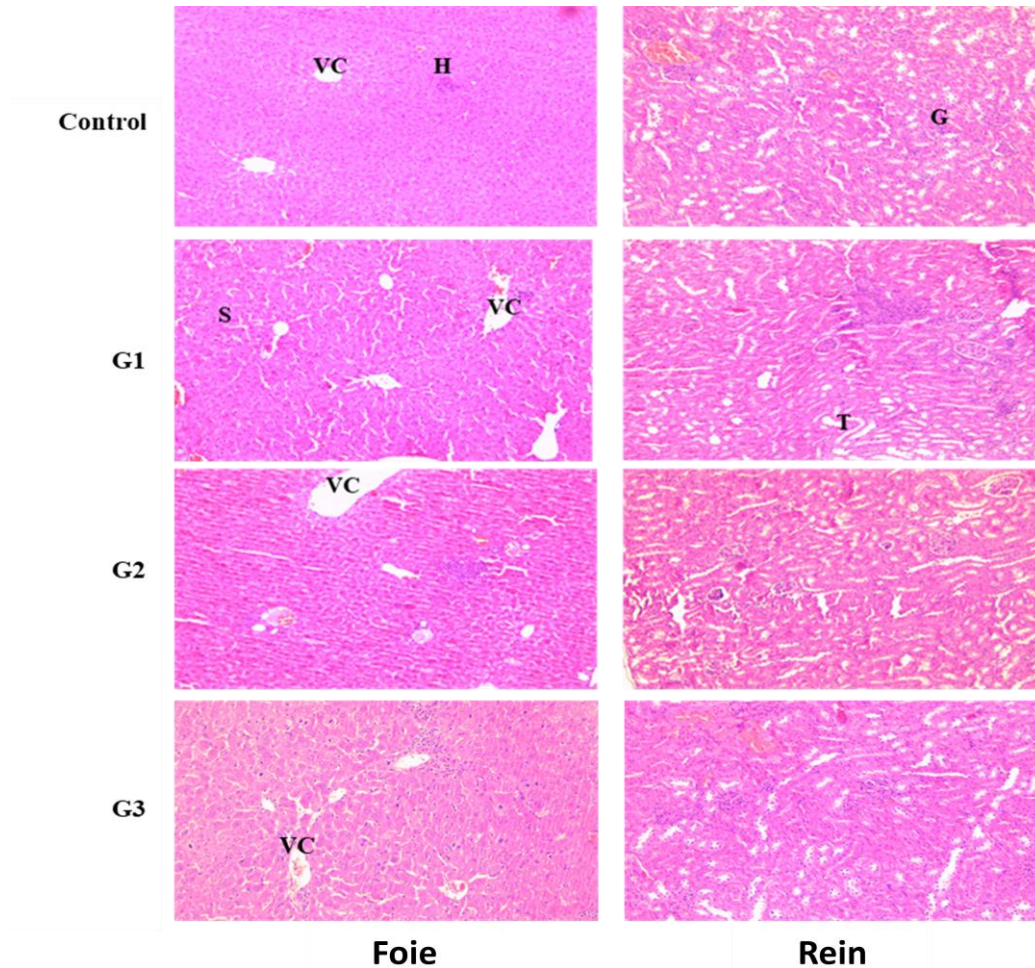


Figure VI.7 : Coupes histologiques du foie et des reins de groupes témoins et expérimentaux de souris (H&E, 100x). G1: Groupe1 (souris exposées au paracétamol pur), G2: Groupe2 (souris exposées au paracétamol dégradé par photocatalyse au TiO₂) et G3: Groupe3 (souris exposées au paracétamol dégradé par la souche *P. putida* E1.21)

IV.6. Références Bibliographiques

- [1] Zucconi F., Pera A., Forte M., De Bertoldi M. 1981. Evaluating toxicity of immature compost. *Biocycle*. 22(2), 54-57.
- [2] Osma J., Herrera JT., Couto SR. 2010. Transformation pathway of remazol brilliant blue r by immobilised laccase. *Bioresour Technol*. 101 8509-8514.
- [3] warman P. 1999. Evaluation of seed germination and growth tests for assessing compost maturity. *Compost Sci. Util*. 7 33-37.
- [4] Côme D. 1971. Un Livre. Les obstacles à la germination (monographie et physiologie végétale). *Publications de la Société Linnéenne de Lyon, Paris*. 40-7.
- [5] Côme D. 1982. Influence de la réfrigération et de la congélation sur la qualité et l'aptitude a la germination des graines. *Revue Internationale du Froid*. 5(6), 33-336.
- [6] Dabin B. 1967. Application des dosages automatiques à l'analyse des sols. *Cahiers ORSTOM*. 3, 257-263.
- [7] Bergmeyer H. 1980. Dietary nitrate in man: friend or foe?. *Clin Chim Acta*. 105, 147-152.
- [8] Lorz C., Justo P., Sanz A., Subirá D., Egido J., Ortiz A. 2004. Paracetamol induced renal tubular injury : a role for ER Stress. *J Am Soc Nephrol*. 15, 380-9.
- [9] Udosen EO, Udosen EO, Ebong PE, Ekanemessang UM. 1989. Hepatotoxicity evaluation in rats given a single overdose of acetaminophen (paracetamol). *Cent Afric J Med*. 35, 495-6.
- [10] Algefeley SG., Al-Rejaie SS., Nagi MN. 2019. Can acetaminophen/dimethyl sulfoxide formulation prevent accidental and intentional acetaminophen hepatotoxicity?. *Drug Development Research*. 37-1239.
- [11] Papackova Z., Heczkova M., Dankova H., Sticova E., Lodererova A., Bartonova L., Poruba M., Cahova M., Nakano H. 2018. Silymarin prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *PLOS ONE*. 13(1).
- [12] Rasool MK., Sabina EP., Ramya SR., Preeti P., Patel S., Mandal N., Mishra PP., Samuel J. 2010. Hepatoprotective and antioxidant effects of gallic acid in paracetamol-induced liver damage in mice. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 62(5), 638-643.
- [13] Hau DKP., Gambari R., Wong RSM., Yuen MCW., Cheng GYM., Tong CSW., ... Fong DWF. 2009. Phyllanthus urinaria extract attenuates acetaminophen induced hepatotoxicity: Involvement of cytochrome P450 CYP2E1. *Phytomedicine*. 16(8), 751-760.
- [14] Bajt ML., Ramachandran A., Yan HM., Lebofsky M., Farhood A., Lemasters JJ., Jaeschke H. 2011. Apoptosis-Inducing Factor Modulates Mitochondrial Oxidant Stress in Acetaminophen Hepatotoxicity. *Toxicological Sciences*. 122(2), 599-606.
- [15] Ghanem CI., Ruiz ML., Villanueva SM., Luquita M., Llesuy S., Catania VA., Bengochea LA., Mottino AD. 2009. Effect of repeated administration with subtoxic

- doses of acetaminophen to rats on enterohepatic recirculation of a subsequent toxic dose. *Biochem Pharmacol.* 77(10), 1621-1628.
- [16] Arnaudies OMD. 2009. Hormones thyroïdiennes chez les bovins : variations physiologiques et relation avec l'iode et le sélénium. Thèse de Doctorat, Université Paul-Sabatier de Toulouse.
- [17] Berrahal AA., Nehdi A., Hajjaji N., Gharbi N., El-Fazâa S. 2007. Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. *C R Biol.* 330, 581-588.
- [18] Abdelkhalek NK., Ghazy EW., Abdel-Daim MM. 2015. Pharmacodynamic interaction of Spirulina platensis and deltamethrin in freshwater fish Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: impact on lipid peroxidation and oxidative stress. *Environmental Science and Pollution Research.* 22, 3023-3031.
- [19] Dianelena E-P., Adolfo MO-SH., José P-C. 2016. Role of food-derived antioxidant agents against acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Pharmaceutical Biology.* 54(10), 1-13.
- [20] Abdelrahman RS., Abdel-Rahman N. 2019. Dimethyl fumarate ameliorates acetaminophen-induced hepatic injury in mice dependent of Nrf-2/HO-1 pathway. *Life Sci.* 217, 251-260.
- [21] Nciri R., Allagui MS., Croute F., Vincent C., Elfeki A. 2008. Effects of low doses of Li carbonate injected into mice. Functional changes in kidney seem to be related to the oxidative status. *Comptes Rendus Biologies.* 331, 23-3.

Conclusion Générale & Perspectives

Conclusion générale et perspectives

Les objectifs projetés au début de la thèse ont été concrétisés. En effet, un procédé photocatalytique opérant dans un réacteur batch a été mis en œuvre. Le pouvoir de comprendre les phénomènes fondamentaux et connaître leurs effets a constitué une grande partie de notre travail et les résultats obtenus sont prometteurs.

Dans le chapitre relatif à la photocatalyse hétérogène, l'étude a montré que la cinétique de dégradation du paracétamol a été réalisée par deux systèmes catalytiques à base de semi-conducteurs : $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$ et $\text{ZnO}/\text{polystyrène}$. A l'issue des premiers résultats, on peut dire que la photocatalyse est une technique efficace pour le traitement des effluents pollués par le paracétamol. Les deux catalyseurs supportés sur des couches de cellulose et polystyrène ont montré une certaine activité photocatalytique *vis-à-vis* du polluant sélectionné. En particulier, les systèmes $\text{UV}/\text{TiO}_2/\text{cellulose}/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ et $\text{UV}/\text{ZnO}/\text{polystyrène}/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ se sont révélés très performants puisqu'ils ont conduit à un rendement de dégradation de la molécule de 85,4 et 93,1%, respectivement. L'étude cinétique de photocatalyse ayant été suivie, nous avons pu vérifier quelques hypothèses et obtenir quelques résultats intéressants:

- Il est préférable d'utiliser un catalyseur fixé sur un support pour éviter l'étape de filtration à la fin du traitement photocatalytique ;
- La photocatalyse UV s'est révélée meilleure que celle activée par les radiations visible et solaire;
- L'efficacité photocatalytique du $\text{TiO}_2/\text{cellulose}$ et $\text{ZnO}/\text{polystyrène}$ dépend de la concentration initiale du polluant, du temps d'exposition à la lumière, de la dose de catalyseur et du pH ;
- Il est possible de travailler à une température de 20 ± 1 °C puisque la température n'affecte que très peu la cinétique de photodégradation ;
- L'ajout d'oxydants (H_2O_2 et $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) influe globalement sur la capacité de dégradation du polluant organique; en particulier, l'ion peroxydisulfate augmente fortement la capacité de dégradation du paracétamol en présence des deux catalyseurs supportés qui garantissent un transport d'électrons rapide et une exposition homogène à la lumière ;
- Cinétiquement, la dégradation du paracétamol en présence de $\text{UV}/\text{TiO}_2/\text{cellulose}$ suit bien le modèle de pseudo-premier ordre et correspond mieux aux données expérimentales ;
- Les tests de toxicité sur la faune (étude *in-vivo*) et la flore (phytotoxicité) ont été mis en œuvre pour voir l'effet du traitement photocatalytique. Les essais de phytotoxicité ont révélé que les échantillons photocatalysés n'étaient pas toxiques pour les graines de cresson ;
- Les résultats relatifs aux tests de toxicité *in-vivo* (avec des souris) ont montré qu'une surdose de paracétamol peut endommager le foie de manière irréversible et entraîne une diminution de la capacité rénale (hépatotoxicité). Cependant, pour les souris ayant consommé les échantillons traités avec le catalyseur $\text{UV}/\text{TiO}_2/\text{cellulose}$, les activités des

enzymes créatinine, ALP, ALT, AST et LDH étaient significativement plus faibles ($p < 0,05$) que chez les souris prises comme groupe témoin. A partir de ces résultats, on peut conclure que le traitement photocatalytique joue un rôle clé dans l'amélioration du statut antioxydant et peut donc être considéré comme très efficace pour la dégradation de molécules organiques pharmaceutiques présentes dans l'eau sans présenter de symptômes de toxicité.

Cette étude a mis en évidence l'efficacité du procédé photocatalytique pour le traitement des eaux contaminées par le paracétamol. Ces résultats prometteurs suggèrent la réutilisation potentielle de l'eau traitée dans l'irrigation des cultures. Cependant, ce travail expérimental peut encore être amélioré en vue d'une optimisation complète à l'échelle de laboratoire et une extrapolation éventuelle à grande échelle. Les points à considérer sont essentiellement axés sur :

- L'utilisation d'autres matériaux comme supports de catalyseur ;
- L'orientation vers une utilisation répétée du catalyseur afin d'assurer un rendement économique optimal du procédé en question ;
- Nous proposons d'effectuer des essais photocatalytiques dans des réacteurs de différentes configurations et de source lumineuses diverses (lampes LED, par exemple) afin de réduire les coûts liés à la consommation énergétique tout en recherchant d'atteindre la plus grande performance photocatalytique ;
- Tester des concentrations de l'ordre du nanogramme/litre dans le but de vérifier la faisabilité du procédé dans cette gamme de concentrations.
- Coupler le procédé photocatalytique à un procédé biologique qui serait sans donc une option intéressante tant au niveau économique qu'environnemental.

Annexes

Annexe I

Elimination du paracétamol par biodégradation

Le présent travail a été réalisé au sein des laboratoires de microbiologie et de chimie analytique de l'unité de recherche « Analyses et Procédés Appliqués à l'Environnement UR17ES32 ». Dans cette partie, nous exposons la méthodologie expérimentale utilisée avec les résultats et la discussion. L'objectif principal de ce travail de recherche était d'isoler et d'identifier les souches bactériennes dégradant le paracétamol, à partir des eaux usées des hôpitaux de la ville de Monastir, Tunisie. De plus, la capacité de dégradation de ces souches bactériennes a été élaborée. Afin de fournir des connaissances plus complètes sur l'utilisation des bactéries dans la remédiation pharmaceutique.

I.1. Site d'échantillonnage

Un échantillon d'effluent hospitalier a été collecté à l'hôpital Fattouma Bourguiba situé dans la ville de Monastir ($35^{\circ} 767 74''$ N; $10^{\circ} 836 37''$ E), Tunisie (en Janvier 2019). Les eaux usées ont été échantillonnées avant le point de rejet en utilisant une méthode d'échantillonnage instantané. L'échantillon a été collecté dans un flacon en verre autoclavé et immédiatement transporté au laboratoire et conservé à 4°C jusqu'à l'analyse microbiologique et toxicologique.



Figure I.1 : Emplacement du site d'échantillonnage (Hôpital Fattouma Bourguiba)

I.2. Procédure d'enrichissement et isolement des bactéries dégradant le paracétamol

Pour isoler les bactéries capables de dégrader le paracétamol, deux méthodes d'enrichissement d'échantillons d'eaux usées ont été utilisées. Dans la première méthode d'enrichissement, 1 ml d'échantillon a été transféré dans une fiole Erlenmeyer contenant 90 ml de bouillon de soja tryptique stérile (TSB) et incubé à 30 ° C pendant 3 jours. Après centrifugation (4500 tr / min / 15 min), 90 ml de milieu salin minéral stérile (MSM), qui contenait $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 500 mg / L; KH_2PO_4 , 500 mg / L; NaCl, 10 mg / L; $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 200 mg / L; CaCl_2 , 20 mg / L; MnSO_4 , 0,339 mg / L; ZnSO_4 , 0,428 mg / L; $(\text{NH}_4)_6\text{MgO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,347 mg / L; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,4 mg / L; EDTA, 10 mg / L; Un pH, $7 \pm 0,2$, a été ajouté au culot cellulaire résultant et supplémenté avec 100 mg / L de paracétamol comme source de carbone unique [1]. La molécule pharmaceutique a été introduite sous forme de solution aqueuse, qui a été stérilisée par filtration (0,2 μm). Après mélange, la culture a été incubée à 30 ° C pendant 3 jours sur un agitateur rotatif à 150 tr / min. Dans la deuxième méthode d'enrichissement, 1 mL d'échantillon a été dissous dans 90 mL de MSM (pH $7 \pm 0,2$) contenant 100 mg / L de paracétamol et 10 mg / L de glucose et incubé à 30 ° C pendant 3 jours. Après centrifugation, le culot cellulaire a ensuite été remis en suspension dans un MSM frais avec la même concentration de paracétamol (100 mg / L) et incubé dans les mêmes conditions pendant 3 jours. Pour isoler les souches bactériennes pures, une dilution décimale à partir des cultures d'enrichissement finales a été réalisée sur des plaques d'agar MSM complétées avec 100 mg / L de paracétamol comme seule source de carbone.

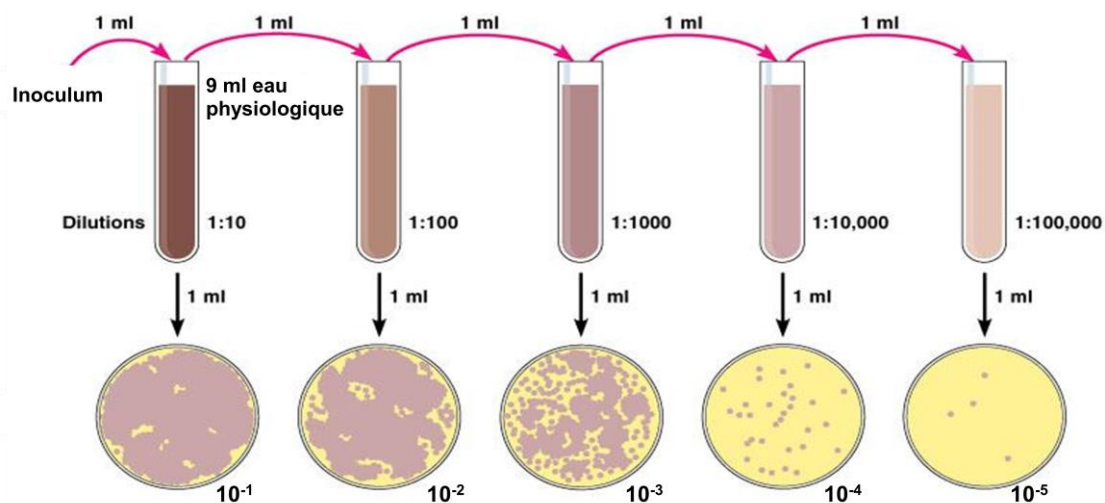


Figure I.2 : Différents isolats d'échantillonnage E1 et E2 à 30 °C

En fonction des caractéristiques morphologiques de la colonie, différentes souches bactériennes ont été sélectionnées et purifiées par stries répétées sur le milieu TSA. Nous avons retenu au final 42 isolats pigmentés, qui ont fait l'objet de cette étude. Les souches bactériennes est conservée à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans un milieu contenant 75% de TSB et 25% glycérol.

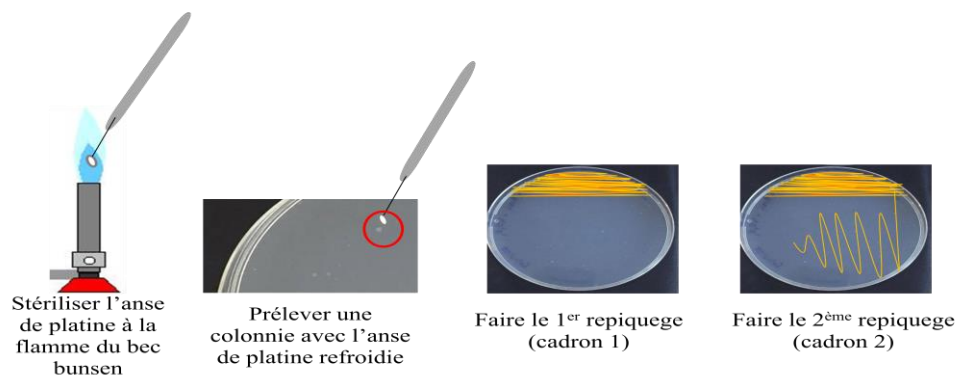


Figure I.3 : Purification des colonies dans le milieu TSA+ 100 mg/L PARA

I.3. Sélection de bactéries dégradant le paracétamol

Pour cribler les bactéries dégradant le paracétamol les plus efficaces, la tolérance pharmaceutique des isolats a d'abord été testée sur milieu liquide MSM supplémenté avec une concentration croissante de paracétamol (de 100 à 400 mg / L) et avec une ancienne culture en suspension pendant une nuit (environ 10^6 CFU / mL). d'isolats, a ensuite été incubé dans les mêmes conditions ci-dessus (à $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 3 jours sur un agitateur rotatif à 150 tr / min). L'évaluation de la tolérance a été réalisée en triple dans une plaque de microlitre à 96 puits. Après cela, la densité optique à 600 nm a été mesurée (OD600). Parmi les 42 souches, quatre souches E1.21, E1.27, E2.35 et E2.41 (**Figure I.4**) ont été sélectionnées capables de croître sur 400 mg / de paracétamol, tandis que d'autres peuvent tolérer une concentration de paracétamol allant de 100 à 250 mg / L (**Figure I.5**).

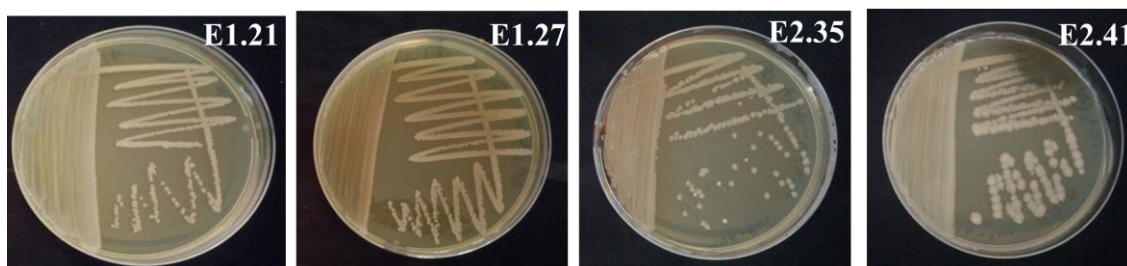


Figure I.4 : Les quatre isolats obtenus sur le milieu TBS + 400 mg/L PARA

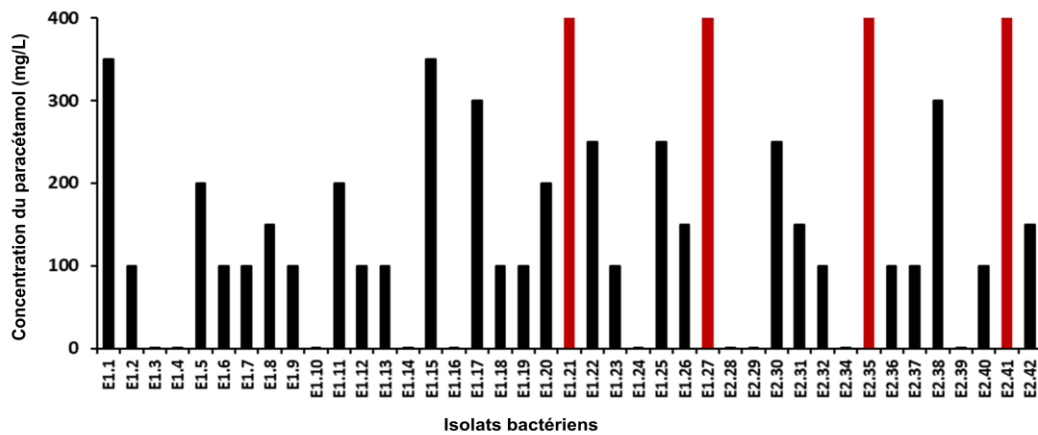


Figure I.5 : Concentration maximale de paracétamol tolérée par les isolats dans les MSM

P. putida E1.21 était le seul isolat à haute tolérance capable de croître après 24 h d'incubation (Fig. I.6), qui a été sélectionné pour une recherche plus approfondie sur la capacité de biodégradation.

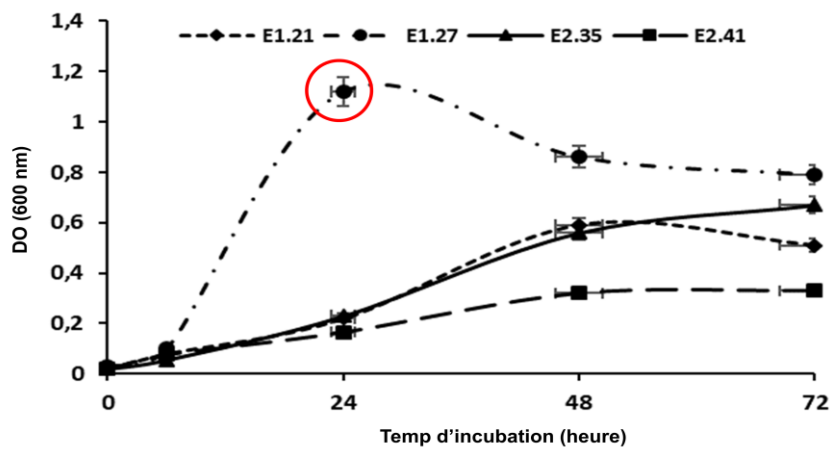


Figure I.6 : Courbe de croissance de chaque souche pure dans du MSM liquide ajouté avec 400 mg/L

I.4. Identification de l'isolat utilisé pour la biodégradation du paracétamol

Les bactéries isolées à partir de cet échantillon ont fait l'objet d'une caractérisation basée essentiellement sur les critères morphologiques, biochimique et sur l'identification moléculaire.

I.4.1. Identification morphologique

Après l'obtention de l'isolat pure à étudier, nous avons procédé à son identification selon son aspect macroscopique et microscopique.

➤ Observation macroscopique des colonies

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après 24 heures d'incubation. Elle permet d'observer la taille, la forme, la couleur, l'aspect de la surface, l'opacité, la consistance et l'odeur des colonies.

➤ Observation microscopique

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce microbienne. Elle comprend deux examens : l'examen à l'état frais et l'examen après coloration.

Examen à l'état frais : l'état frais est une technique qui permet l'observation sur les cellules vivantes entre la lame et lamelle à l'objectif x 40. Le but de cette étape est de déterminer la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur forme de regroupement.

Examen après coloration : les colorations, réalisées sur des frottis séchés et fixés, sont classées en : coloration simple au bleu de méthylène ; coloration différentielle type Gram et coloration spéciales des structures bactériennes.

Dans le présent travail nous avons utilisé la coloration Gram [2], cette technique de coloration est la plus utilisée dans l'étude et la classification des bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif (G+) et à Gram négatif (G-).

Le tableau I.1 résume toutes les résultats de l'identification morphologique de notre bactéries.

Tableau I.1. Identification macroscopique et microscopique des quatre souches

Souches	Macroscopique			Microscopique		
	Taille	Couleur	Bord	Forme	Mode de regroupement	Gram
E1.21	Moyenne	Beige	Ordinaire	Coccsi	Diplocoques	+
E1.27	Moyenne	Beige clair crémeux, blanc	Ordinaire	Coccsi	Isolée	+
E2.35	Courte	Jaune verdâtre	Ordinaire	Coccobacille	Isolée	-
E2.41	Courte	Beige, blancre	Ordinaire	Coccsi	Diplocoques	-

I.4.2. Identification biochimique

Ces tests permettent l'identification de caractères morphologiques et métaboliques, parmi lesquels : la morphologie (forme, mode de groupement, mobilité), culturaux (exigences en substances nutritives, température d'incubation, condition d'incubation), biochimiques (voies d'utilisation des sucres, recherche des métabolites), le type

respiratoire (aérobie stricte, anaérobie facultative...), les sources carbonées et azotées utilisées et les systèmes enzymatiques caractéristiques (oxydase, catalase, nitrate réductase...). En travail de routine, trois tests ont été utilisé pour identifier la bactérie étudiée, le test de catalase, oxydase et la galerie API.

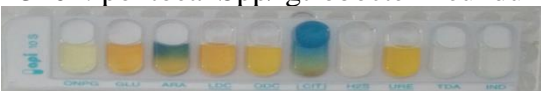



Test de catalase : la catalase est une enzyme qui catalase la dégradation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries en H_2O et $\frac{1}{2} O_2$. La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif [3].

Test de l'oxydase : la recherche de l'oxydase est l'un des critères les plus discriminants et les plus utilisés pour l'identification des bactéries. Pour effectuer ce test, on humecte une petite surface de papier filtre de quelques gouttes du réactif de l'oxydase et on y étale une petite quantité de matériel bactérien, au moyen d'un instrument en verre. Les espèces oxydase positives donnent une coloration rouge violacée au bout de 10 secondes ; la réaction est tardive entre 10 et 60 secondes, et elle est négative après 60 secondes [4].

Test de la galerie API : Le principe de l'identification de la galerie API en système miniaturisé (micro-galerie) est le même que celui enzyme/substrat. Chaque cupule contient un substrat différent avec lequel chaque enzyme bactérienne réagit. Après une incubation à 30 °C pendant 24 h, Les résultats obtenus suite à l'identification à l'aide du catalogue analytique.

Le tableau I.2 résume toutes les résultats de l'identification biochimique de notre bactéries.

Tableau I.2. différents tests biochimiques utilisés pour les quatre souches

Souches	Catalase	Oxydase	API
E1.21	+	+	3404: pontoea Spp/ gtrobacter freundu 
E1.27	+	+	0004:stentrophomonasmaltophilia/shigellas pp/pseudomonas spp 
E2.35	+	+	0404: stentrophomonas maltophilia 
E2.41	+	+	0004:stentrophomonasmaltophilia/shigellas pp/pseudomonas spp 

I.4.3. Identification moléculaire

Après caractérisation morphologique et biochimique des souches bactériennes pures, l'ADN génomique a été extrait selon les procédures standards phénol / chloroforme [5]. L'amplification par PCR de la région ITS 16S – 23S et du gène de l'ARNr 16S a été réalisée avec les amorces universelles suivantes: S-D-Bact-1494-a-S-20, S-D-Bact-0035-a-A-15, SD-Bact-0008-a-S-20 et S-D-Bact-1495-a-S-20, respectivement, comme décrit par [6]. Tous les produits de PCR (amplicons ITS et ARNr 16S) ont été migrés, respectivement, sur des gels d'agarose standard à 2 et 1,5% dans un tampon 0,5 × Tris – borate – EDTA et colorés pendant 30 min dans une solution de bromure d'éthidium à 0,5 mg / L. Les fragments d'ARNr 16S amplifiés ont été séquencés et comparés à ceux disponibles déposés dans la GenBank dans la base de données du centre national pour la biotechnologie Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) en utilisant le programme BLAST [7]. Un dendrogramme phylogénétique a été créé en utilisant la méthode de jonction voisine, et une topologie arborescente a été évaluée par bootstrap avec 1000 réplifications via le logiciel MEGA 6 [5].

Par rapport aux techniques chimiques, les microorganismes jouent un rôle important dans la décomposition biologique des composés pharmaceutiques présents dans l'environnement [8]. Deux méthodes d'enrichissement ont été adoptées dans cette étude afin d'isoler les bactéries tolérantes au paracétamol à partir d'échantillons d'effluents hospitaliers. Une collection de quarante-deux souches aérobies a été obtenue qui comptent 27 souches récupérées de la première culture d'enrichissement et 15 souches d'un échantillon d'effluent adapté en MSM avec 100 mg/L de paracétamol comme seule source de carbone (deuxième enrichissement). L'impression digitale ITS-PCR a été appliquée pour évaluer la diversité bactérienne de la collection. Les régions ITS (entre les gènes ARNr 16S et 23S) représentent des séquences hautement conservées dans les zones englobant les gènes ARNr et des régions relativement stables situées aux extrémités de l'espaceur. Les résultats obtenus dans la présente étude ont montré une diversité bactérienne significative avec la détection de 31 haplotypes distincts (**Fig. I.7**). Cette diversité s'est exprimée de manière différentielle et liée aux approches d'enrichissement utilisées pour l'isolement bactérien. Par conséquent, la première méthode a montré 18 haplotypes contre 13 autres pour correspondre à différents haplotypes avec la seconde (**Fig. I.7**). Les profils ITS-PCR étaient composés de 1 à 7 bandes reproductibles avec des tailles allant de 100 à environ 2000 pb. H1, H2 et H4 étaient les haplotypes les plus représentés dans la collection, chacun ayant été révélé dans trois isolats. Les principaux haplotypes ont été trouvés dans une ou deux souches. Dans l'ensemble, l'application des deux méthodes pourrait être utile pour une vue en profondeur de la diversité bactérienne.

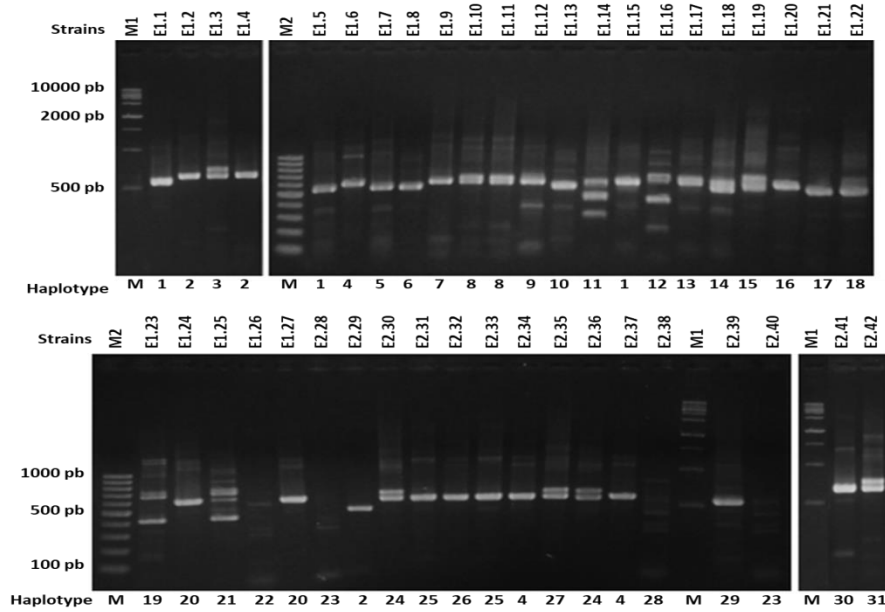


Figure I.7 : Déréplication de la collection basée sur les espaceurs internes transcrits amplifiés ARNr 16S – 23S: analyse ITS-PCR: haplotypes: 1– 31, M1: marqueur de taille moléculaire 1 kb, M2: marqueur de taille moléculaire 100 pb, isolats: E1. 21 – E1.27 (obtenu avec la première procédure d'enrichissement) et E2.35 – E2.41 (obtenu avec la deuxième procédure d'enrichissement)

Après séquençage, l'analyse phylogénétique a révélé que les isolats appartenaient à 3 genres différents: *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, qui appartiennent au groupe Protéobactéries (**Fig. I.8**).

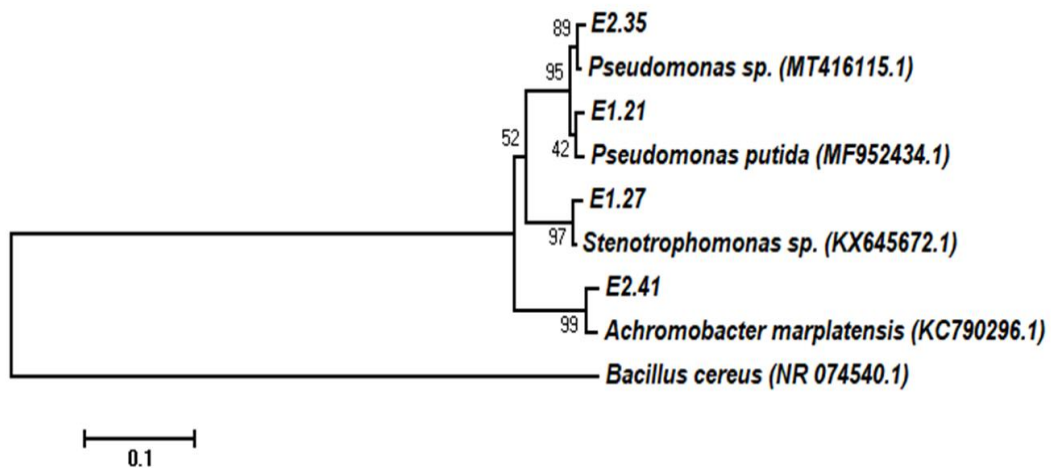


Figure I.8 : Analyses phylogénétiques des isolats bactériens les plus efficaces tolérant le paracétamol sur la base de séquences partielles d'ARNr 16S

I.5. Biodégradation du paracétamol par *P. putida* E1.21

Des expériences de biodégradation du médicament par les isolats sélectionnés ont été réalisées en utilisant un flacon en verre contenant 50 ml de milieu MSM stérile ($\text{pH } 7,0 \pm 0,2$), inoculé avec un culot cellulaire d'une culture d'une nuit et ajouté avec 400 mg / L du composé à tester comme seule source de carbone. Les flacons ont été incubés jusqu'à 24 h à 30°C avec agitation à 150 tr / min. Un contrôle abiotique a été réalisé avec du milieu non ensemencé dans les conditions (**Figure I.8**). Les échantillons de culture ont été pris à des intervalles de temps réguliers (toutes les 2 h) pour la croissance bactérienne en mesurant la densité optique (DO600). Pour surveiller la concentration de paracétamol, 2 ml de suspensions cellulaires ont été prélevés dans chaque bouteille, centrifugés à 12 000 tr / min pendant 30 min. Ensuite, le surnageant a été extrait avec un solvant méthanol (v / v). Après centrifugation, la phase organique a été filtrée à travers un filtre seringue de $0,22 \mu\text{m}$ directement dans des flacons propres jusqu'à l'analyse. La séparation a été réalisée à 30°C sur une colonne C18 (250 x 4,6 mm; Inertsil ODS-4, GL Sciences, Japon) qui a été éluée avec un mélange acétonitrile – 0,1% d'acide acétique (rapport 30:70) comme phase mobile à un débit de 0,8 mL / min. Le volume de l'échantillon injecté était de $10 \mu\text{L}$. Le temps de rétention était d'environ 4,8 min (§ V.6). La concentration de paracétamol a été calculée en comparant la zone de pic obtenue à partir des extraits de culture et la surface des quantités connues de l'étalon interne. Pour réaliser l'étude toxicologique, la culture a été centrifugée à 13 000 rpm pendant 10 min; puis, le surnageant a été récupéré et filtré à travers un filtre seringue de $0,22 \mu\text{m}$ dans des tubes stériles jusqu'à l'analyse. Les résultats de l'analyse HPLC présentés dans le chapitre V ont montré une élimination rapide et maximale du paracétamol en présence de *P. putida* E1.21 (~ 92%) après 32 h d'incubation sur un milieu MSM supplémenté avec 400 mg/L de médicament.

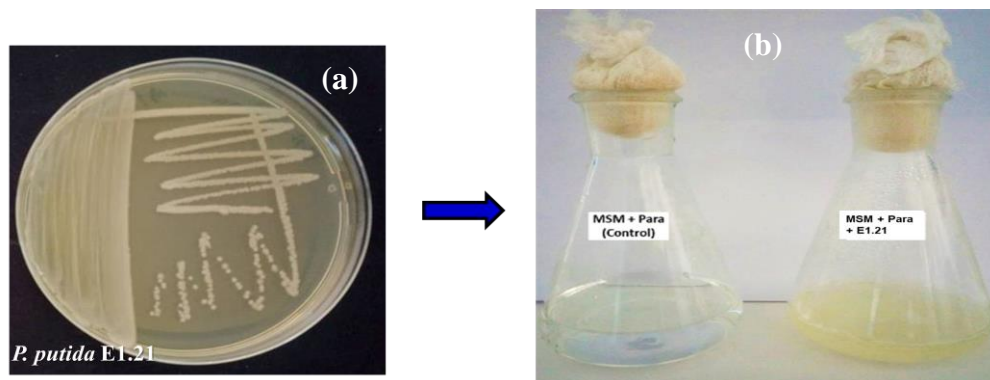


Figure I.8 : Une plaque de Petri montrant *P. putida* E1.21 cultivée en milieu solide. b Croissance de la souche E1.21 dans du MSM liquide complété avec 400 mg / L de paracétamol comme seule source de carbone (30°C , $\text{pH } 7,0 \pm 0,2$ et 150 tr / min)

I.6. Conclusion

-La biodégradation s'est révélée efficace avec une capacité de dégradation du polluant (paracétamol) de 92%.

-La dégradation du paracétamol par *P. putida* E1.21 s'est manifestée par la diminution significative de la concentration résiduelle de paracétamol qui s'est révélée proportionnelle à l'augmentation de la croissance bactérienne.

-Le traitement biologique joue un rôle clé dans l'amélioration du statut antioxydant.

Références bibliographiques

- [1] Edrees W., Abdullah QY., AL-Kaf A., Naji K. 2018. Isolation and identification of a new bacterial strains degrading paracetamol isolated from Yemeni environment. *Clin Biotechnol Microbiol.* 1, 257-270.
- [2] Denis F., Bingen E., Martin C., Ploy MC., Quentin R. 2007. Bactériologie médicale. *techniques usuelles .Masson, Cedex.* 333-335.
- [3] Richard Cl., Marchal N., Bourdon JL. 1991. Les Milieux de culture : Pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin. 65-49.
- [4] Kovacs N. 1956. Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature.* 178-703.
- [5] Hassen W., Neifar M., Cherif H., Mahjoubi M., Souissi Y., Raddadi N., Fava F., Cherif A. 2018. Assessment of genetic diversity and bioremediation potential of pseudomonads isolated from pesticidecontaminated artichoke farm soils. *3 Biotech.* 8,263.
- [6] Hassen W. 2020. Biodegradation of pesticides used in agricultural soils. Book published by European University Edition. ISBN: 978-613-953921-5 (in French).
- [7] Altschul SF., Gish W., Miller W., Myers EW., Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tools. *J Mol Biol* 215, 403-410.
- [8] Caracciolo AB., ToppE., GrenniP. 2015. Pharmaceuticals in the environment : biodegradation and effects on natural microbial communities. *A review J Pharm Biomed.* 106, 25-36.

Annexe II

Analyse du paracétamol

II.1. Spectre d'absorption du paracétamol

La détermination des spectres d'absorption d'un médicament étudié (le paracétamol) a été réalisée par la fonction "balayage" d'un spectrophotomètre UV-visible, dont les résultats sont illustrés dans la figure II.1. La longueur d'onde maximale (λ_{\max}) du paracétamol égale 240 nm.

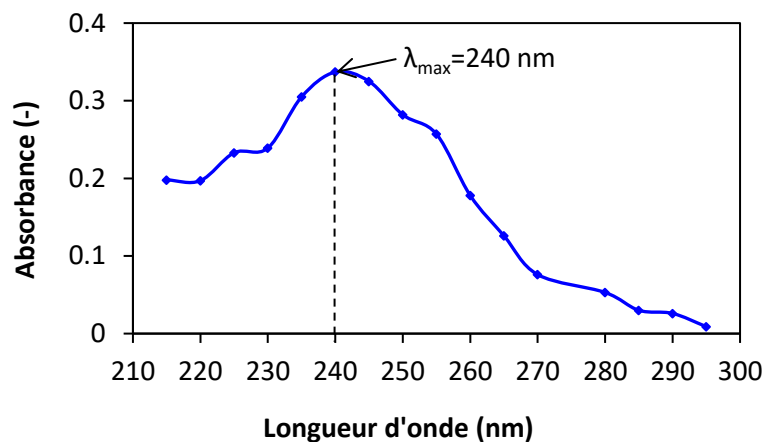


Figure II. 1: Spectre d'absorption du paracétamol

L'étalonnage de la solution du paracétamol est réalisé avec des concentrations en soluté variant de 0 à 15 mg/L à $\lambda_{\max}= 240 \text{ nm}$. Après avoir mesuré l'absorbance de chaque étalon, on trace la courbe $\text{Abs} = f(C)$, représentée sur la Figure II.2. Les données expérimentales indiquent une relation linéaire entre l'absorbance et la concentration avec un coefficient de détermination égal à 0,996. Cette droite sera un moyen pour déterminer les différentes concentrations du polluant chaque fois que ceci s'avère nécessaire.

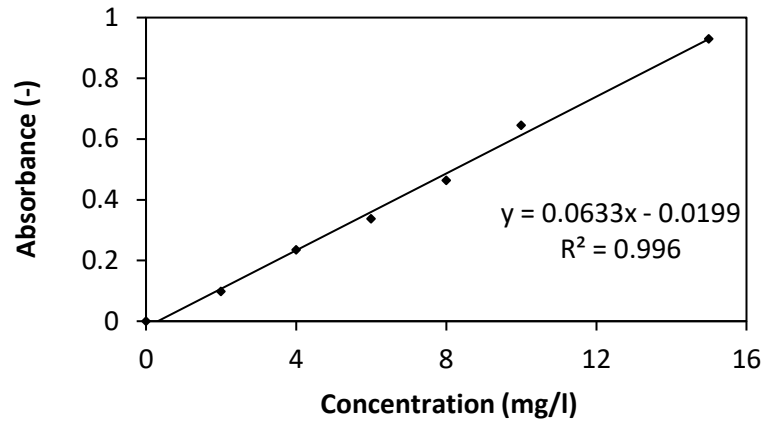


Figure 0.1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage du paracétamol par spectrophotométrie UV-vis

Annexe III

Tests de toxicité *in-vivo*

✚ Etude histologique



Cage hébergeant les souris



Sacrifice des souris



Fixation dan le formol



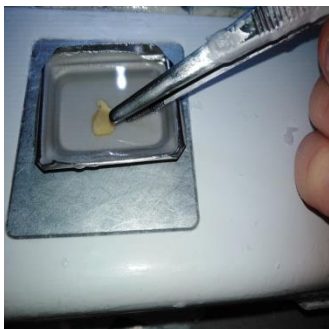
Cassettes



Circulateur



Appareil à inclusion



Barres de leuckart



Plaque réfrigérée



Microtome

✚ Matériel utilisé pour le sacrifice des animaux et l'observation macroscopique

- Boite contenant l'agent anesthésiant (chloroforme)
- Pince fine
- Sonde cannelée
- Ciseaux fins - Boite à épingles
- Microscope de dissection (Leica DM650).
- Microbalance
- Boîtes de prélèvements

✚ Préparation des solutions

▪ **Préparation de tampon phosphate** (0,1 M ; pH=7,2)

- Na₂HPO₄ 9,47 g
- KH₂PO₄ 9,08 g
- Eau distillée 1000 ml

0,4 g de chaque organe dans 4 ml de tampon phosphate glacé

▪ **Dosage des protéines par le méthode de Bradford**

Dissoudre 100 mg de bleu de coomassie (G25) dans 50 ml d'éthanol (95%). Agiter par l'agitateur pendant 2 heures, puis ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique (85%) et 850 ml d'eau distillée (pour obtenir & 1 de solution).

Ce réactif doit être filtré puis conserver pendant 1 mois au maximum a une temperature de 4 °C et a l'obscurité.