

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

DÉGRADATION DE MOLÉCULES ORGANIQUES PAR OZONATION
CATALYTIQUE ET TOXICITÉ DES DÉRIVÉS

THÈSE

PRÉSENTÉE

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DU DOCTORAT EN CHIMIE

PAR

AMINA BENGHAFFOUR

DÉCEMBRE 2023

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.04-2020). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier le Dieu tout puissant qui m'a donné la force de mener à bien ce présent travail.

J'exprime toute ma reconnaissance et ma gratitude à mes directeurs de thèse le professeur Abdelkrim Azzouz et le professeur David Dewez pour m'avoir encadré tout au long de ce travail, sans lesquels je n'aurais jamais pu terminer ma thèse. Je les remercie cordialement pour leurs conseils, patience, disponibilité et de me donner l'opportunité de travailler dans leurs laboratoires et de collaborer avec leurs groupes de recherches. J'ai eu la chance de travailler avec des professeurs passionnés avec une rigueur scientifique.

Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance et à remercier les membres du jury : le professeur Joshua Byers et le professeur Mathieu Frenette pour leurs encouragements et leurs commentaires avisés.

Je tiens à remercier chaleureusement Isabelle Rheault, technicienne au département de chimie de l'UQAM pour son support technique.

Je remercie également Galyna Shul pour m'avoir formée sur diverses techniques d'analyses et de caractérisation.

Je remercie également la professeure Alexandra Furtos-matei de l'université de Montréal pour l'analyse HPLC-Tof-MS de mes échantillons.

Mes remerciements vont aussi au Pr Sylvain Canesi qui m'a accueilli les premiers jours de mon arrivée à l'université et qui m'a aidée à trouver un directeur de thèse.

Enfin, je remercie vivement ma famille et tous mes collègues pour leur grand soutien spirituel et leurs encouragements.

DÉDICACE

À mes chers parents

À mon cher mari

À mes chers frères

À ma chère nièce Jinan

À tous mes amis et connaissances

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ii
DÉDICACE.....	iii
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX	xi
LISTE DES SCHÉMAS.....	xii
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES.....	xiii
LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS.....	xiv
RÉSUMÉ.....	xv
ABSTRACT	xvii
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	9
1.1 Pollution de l'eau par les composés organiques.....	9
1.2 Pollution par les pesticides.....	10
1.3 Action des polluants organiques sur la biodiversité.....	14
1.4 Processus de dégradations des polluants organiques dans la nature	15
1.5 Ozone et ozonation.....	19
1.5.1 Ozonation catalysée par les cations	21
1.5.2 Ozonation catalysée par les solides.....	23
1.5.3 Ozonation catalysée par la montmorillonite et les silices mésoporeuses.....	26
1.6 Espèces pour l'évaluation de l'écotoxicité de polluants oxydés	28
1.6.1 <i>Artemia salina</i> (<i>A. salina</i>).....	28
1.6.2 <i>Lemna minor</i> (<i>L. minor</i>).....	30
CHAPITRE 2 APPROCHES MÉTHODOLOGIQUES ET PRINCIPES DES MÉTHODES D'ANALYSES	
34	
2.1 Préparation des matériaux argileux	34
2.1.1 Caractérisation des matériaux argileux	36

2.1.1.1	Par diffraction des rayons X	36
2.1.1.2	Par la mesure du potentiel Zêta.....	38
2.1.1.3	Par l'analyse de la taille des particules	39
2.2	Préparation des solutions.....	40
2.3	Tests d'ozonation	41
2.4	Analyse des produits de transformation.....	42
2.4.1.1	Par UV-VIS	42
2.4.1.2	Par HPLC-UV.....	44
2.4.1.3	Par LC-TOF-MS.....	45
2.4.1.4	Par ICP-OES.....	46
2.5	Analyses éco-toxicologiques.....	47
2.5.1	Culture d' <i>Artemia salina</i> et préparation des échantillons.....	47
2.5.2	Culture de <i>Lemna minor</i>	49
2.5.2.1	Préparation des solutions	50
2.5.2.2	Mesure de la biomasse.....	51
2.5.2.3	Mesure des pigments chlorophylliens.....	51
2.5.2.4	Mesure des espèces réactives oxygénées.....	52

CHAPITRE 3 INSIGHT IN NATURAL MEDIA REMEDIATION THROUGH ECOTOXICITY CORRELATION TO CLAY CATALYST SELECTIVITY IN ORGANIC MOLECULE OZONATION 54

3.1	Introduction.....	55
3.2	Experimental	57
3.2.1	Catalyst preparation and characterization.....	57
3.2.2	Ozonation tests and product analysis.....	58
3.2.3	Biological tests.....	59
3.3	Results and discussion.....	60
3.3.1	Non-catalytic ozonation	60
3.3.2	Effect of catalyst addition	63
3.3.3	pH evolution during ozonation	64
3.3.4	Effect of pH on catalyst dispersion.....	65
3.3.5	Intrinsic ecotoxicity of DAZ and DCF and evolution during ozonation	67
3.3.6	Selectivity effect on ecotoxicity.....	70
3.4	Conclusion	72

CHAPITRE 4 CORRELATION OF PESTICIDE ECOTOXICITY WITH CLAY DISPERSION EFFECT ON ADSORPTION AND OZONATION – AN APPROACH THROUGH IMPACT ASSESSMENT ON LEMNA MINOR

4.1	Introduction.....	74
-----	-------------------	----

4.2	Experimental	76
4.2.1	Catalyst preparation and characterization	76
4.2.2	Preparation of pesticide solutions and clay suspensions	77
4.2.3	Adsorption experiments and ozonation tests	77
4.2.4	Ozonation products analysis	78
4.2.5	Toxicity criteria measurements	79
4.3	Results and discussion	80
4.3.1	Effects of clay amount and contact time	80
4.3.2	Effect of initial adsorption on ozonation	82
4.3.3	Initial pH effect on initial clay dispersion	83
4.3.4	Effect of parameter interaction	85
4.3.5	Intrinsic toxicity of pesticides and oxidized derivatives	87
4.3.6	Potential ozonation pathways	89
4.3.7	Effect of clay suspension on pesticide toxicity	92
4.4	Conclusion	93
CHAPITRE 5		95
ECOTOXICITY OF DIAZINON AND ATRAZINE MIXTURES AFTER OZONATION CATALYZED BY Na ⁺ AND Fe ²⁺ EXCHANGED MONTMORILLONITES ON LEMNA MINOR		95
5.1	Introduction	96
5.2	Material and Methods	99
5.2.1	Clay materials preparation and characterization	99
5.2.2	Pesticide stock solutions	99
5.2.3	Adsorption and ozonation experiments	99
5.2.4	<i>Lemna minor</i> cultivation	100
5.2.5	Pesticide exposure	100
5.2.6	Growth inhibition	101
5.2.7	Pigment content and ROS production	101
5.3	Results and discussion	102
5.3.1	Intrinsic effect of pesticide on plant growth	102
5.3.2	Change in photosynthetic pigments	104
5.3.3	ROS production under pesticide stress	105
5.3.4	Effect of adsorption and catalytic ozonation	106
5.3.5	Toxicity changes upon pesticide adsorption	109
5.3.6	Toxicity induced by pesticide degradation	111
5.3.7	Effect of pesticide removal on ROS production	112
5.4	Conclusion	114
CONCLUSION GÉNÉRALE		115

ANNEXE A SUPPORTING INFORMATION DE L'ARTICLE 1	121
ANNEXE B SUPPORTING INFORMATION DE L'ARTICLE 2	127
ANNEXE C SUPPORTING INFORMATION DE L'ARTICLE 3	140
ANNEXE D ARTICLE I PUBLIÉ DANS LE JOURNAL DALTON TRANSACTION	146
ANNEXE E ARTICLE 2 PUBLIÉ DANS LE JOURNAL APPLIED CLAY SCIENCE.....	147
ANNEXE F ARTICLE 3 PUBLIÉ DANS LE JOURNAL MOLECULES.....	148
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	149

LISTE DES FIGURES

- Figure 1.1.** Photographie d'*Artemia salina* (Prise au laboratoire le 26 mars 2021).....29
- Figure 1.2.** Photographies de *Lemna minor* (Prise au laboratoire).....30
- Figure 2.1.** Spectres d'DRX de montmorillonite échangées (A) et bentonite activée à l'acide (B).38
- Figure 2.2.** Procédure expérimentale utilisée dans la première partie du projet.48
- Figure 2.3.** Photographie de l'extrait de *L. minor* pour la mesure des pigments chlorophylliens avant (control) et après contact avec le mélange ozoné.52
- Figure 2.4.** Procédure expérimentale utilisée dans la deuxième partie du projet.53
- Figure 3.1.** Evolution of UV-Vis spectra of diazinon (a) and diclofenac (b) during non-catalytic ozonation. Sample volume = 20 mL Quartz cell width: 1 cm.60
- Figure 3.2.** Evolution of the HPLC-UV peak area ratio of aqueous solutions of diazinon (A) and diclofenac (B) during non-catalytic ozonation. Ozone flow rate: 600 mg h⁻¹. Catalyst concentration 2 mg mL⁻¹. Sample volume = 20 mL. The relative peak area (PA/PA₀) was calculated as the instant/initial peak area ratio of each organic substrate. This ratio allows quick assessment of the conversion yield as being (1-PA/PA₀) x 100%.....61
- Figure 3.3.** Evolution during catalytic ozonation of the relative area of the HPLC-UV peak of DAZ (A), DCF (B). Ozone flow rate: 600 mg h⁻¹. Catalyst concentration 2 mg mL⁻¹. Sample volume = 20 mL. The relative peak area (PA/PA₀) was calculated as the instant/initial peak area ratio of each organic substrate. This allows quick assessment of the conversion yield as being (1-PA/PA₀) x 100%.....63
- Figure 3.4.** Evolution of pH during ozonation of diazinon (A) and diclofenac (B). Ozone flow rate: 600 mg h⁻¹. Amount of catalysts: 40 mg. Sample volume = 20 mL.65
- Figure 3.5.** Effect of pH on the particle size in aqueous suspensions of smectite-based catalysts (A) and absolute value of the Zeta potential for monovalent cation-exchanged catalysts (B) in water and in DCF solution before ozonation.66
- Figure 3.6.** *Artemia salina* mortality rate versus initial concentration of organic substrate.68
- Figure 3.7.** Effect of conversion yield on mortality rate (%) of *A. salina* exposed for 48 hours to ozonised mixtures of DAZ (A) and DCF (B). The mortality rate was calculated according to the formula of Arulvasu (Arulvasu *et al.*, 2014). The relative mortality defined as the actual-to-intrinsic mortality ratio is a more suitable tool for comparing the effect of the conversion yields under different conditions.....69
- Figure 3.8.** Effect of selectivity towards Intermediates Inter-1a (A) and Inter-2a (B) on *A. salina* relative mortality in ozonised DAZ solution. The selectivity expressed in terms of

Intermediate/converted molecule ratio was defined as the corresponding HPLC peak area ratio for each organic substrate.....70

Figure 3.9. Effect of selectivity towards Intermediates Inter-1b (A) and Inter-2b (B) on *A. salina* relative mortality in ozonised DAZ solution. The selectivity expressed in terms of Intermediate/converted molecule ratio was defined as the corresponding HPLC peak area ratio for each organic substrate.....72

Figure 4.1. Evolution in time of adsorption yield of DAZ (A) and ATR (B) on NaMt (Top) and on Fe(II)Mt (bottom). Sample volume = 25 mL. The relative peak area (A/A_0) calculated as the instant/initial HPLC-UV peak area ratio of DAZ or ATR. This allowed assessing the adsorption yield as being $(1-A/A_0) \times 100\%$, where A is the instant HPLC-UV peak area and A_0 is the initial HPLC-UV peak area with 3% accuracy.....80

Figure 4.2. Conversion yield evolution during ozonation for DAZ (A) and ATR (B) on NaMt (Top) and on Fe(II)Mt (bottom). Sample volume = 25 mL. The relative peak area (A/A_0) calculated as the instant/initial HPLC-UV peak area ratio of DAZ or ATR. This allowed assessing the adsorption yield as being $(1-A/A_0) \times 100\%$, where A is the instant HPLC-UV peak area and A_0 is the initial HPLC-UV peak area with 3% accuracy.....81

Figure 4.3. Conversion yield upon ozonation of DAZ (A) and ATR (B) versus corresponding adsorption yield. Catalyst concentration: 2 g L^{-1} of Fe(II)Mt or NaMt.83

Figure 4.4. Initial pH effect on clay particle size.84

Figure 4.5. Effect of the concentration of DAZ (A) and ATR (B) on fresh weight and fronds number (Top) and on chlorophyll contents (Bottom). The fresh weight and chlorophyll content of *Lemna minor* was measured after 7 days of exposure to various pesticide concentrations. The average data presented in these figures result from triplicate measurements. The control sample (Blank) was achieved by impregnating *Lemna minor* by pesticide-free SIS media for 7 days.....87

Figure 4.6. Effect of clay-catalyzed DAZ (Top) and ATR (Bottom) ozonation time on *L. minor* fresh weight in presence of various concentrations ($1, 2$ and 3 g L^{-1}) of NaMt (A) and Fe(II)Mt (B) catalysts. The fresh weight of *Lemna minor* was measured after 7 days of exposure to various pesticide concentrations. The average data presented in these figures result from triplicate measurements. The control sample (Blank) was achieved by impregnating *Lemna minor* by pesticide-free SIS media for 7 days. Pesticide concentration: 10 mg L^{-1}88

Figure 5.1. Effect of pesticide concentration on growth inhibition of *Lemna minor* based on fronds number (A) and fresh weight (B) after 7 days exposure. Triplicates measurements were achieved for all pesticides concentrations including the pesticide-free control sample (0 mg L^{-1}). Different letters used as symbols account for different data significances at $p < 0.05$. Data with similar significance are marked with similar symbols (Characters).....103

Figure 5.2. Effect of DAZ (A) and ATR (B) concentration on (Chl *a/b*) ratio of *Lemna minor* after 7 days exposure. Triplicates measurements were achieved for all pesticides concentrations

including the pesticide-free control sample (0 mg L ⁻¹). Different letters used as symbols account for different data significances at $p < 0.05$. Data with similar significance are marked with similar symbols (Characters).....	104
Figure 5.3. Effect of DAZ (A) and ATR (B) concentration on <i>Lemna minor</i> ROS production after 7 days exposure. Triplicates measurements were achieved for all pesticides concentrations including the pesticide-free control sample (0 mg L ⁻¹). Different letters used as symbols account for different data significances at $p < 0.05$. Data with similar significance are marked with similar symbols (Characters).....	106
Figure 5.4. Schematic procedure for investigating the effects of pesticide adsorption and ozonation in the presence of two montmorillonites (NaMt and Fe(II)Mt) on the toxicity towards <i>Lemna minor</i>	107
Figure 5.5. Removal yield of DAZ (A) and ATR (B) by adsorption and ozonation in the presence of 2 g L ⁻¹ NaMt (Top panel) and Fe(II)Mt (bottom panel). Sample volume = 25 mL. The relative peak area (A/A_0) was calculated as the instant/initial HPLC-UV peak area ratio of DAZ or ATR. This ratio allows expressing the adsorption yield as: $(1-A/A_0) \times 100\%$. Triplicates measurements were achieved including the non-adsorbed and non-ozonized pesticide solution taken as the starting control sample (10 mg L ⁻¹)......	108
Figure 5.6. Effect of the retention yield (%) of DAZ (A) and ATR (B) with 2 g L ⁻¹ of Fe(II)Mt and NaMt on the inhibition grade (%) of <i>Lemna minor</i> . Triplicates measurements were achieved including the non-adsorbed and non-ozonized pesticide solution taken as the starting control sample (10 mg L ⁻¹)......	110
Figure 5.7. Effect of the conversion yield by ozonation (%) of DAZ (A) and ATR (B) with 2 g L ⁻¹ of Fe(II)Mt and NaMt on the inhibition grade (%) of <i>Lemna minor</i> . Triplicates measurements were achieved including the non-adsorbed and non-ozonized pesticide solution taken as the starting control sample (10 mg L ⁻¹)......	111
Figure 5.8. Change in ROS production of <i>L. minor</i> in DAZ ozonized mixture in the presence of NaMt (A) and Fe(II)Mt (B) catalysts (1, 2 and 3 g L ⁻¹). The data represents triplicate measurements after plant exposure for 7 days including the control sample (<i>L. minor</i> in SIS without DAZ ozonized)......	113
Figure 5.9. Change in ROS production of <i>L. minor</i> exposed to ATR ozonized mixture in the presence of NaMt (A) and Fe(II)Mt (B) catalysts (1, 2 and 3 g L ⁻¹). The data represents triplicate measurements after plant exposure for 7 days including the control sample (<i>L. minor</i> in SIS without ATR ozonized).	113

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1. Caractéristiques et propriétés physico-chimiques de certains pesticides.....	11
Tableau 1.2. Quelques procédés d'élimination de pesticides courants.....	13
Tableau 1.3. Efficacité de certains micro-organismes dans la dégradation de pesticides.....	18
Tableau 1.4. Catalyseurs cationiques (ions métalliques) pour l'ozonation.....	23
Tableau 1.5. Catalyseurs solides pour l'ozonation.....	25
Tableau 1.6. Quelques substrats organiques ozonés en présence de smectites.....	27
Tableau 1.7. Toxicité de polluants organiques sur <i>L. minor</i> après 7 jours d'incubation.	32
Tableau 2.1. Caractéristiques des composés organiques étudiés.	41
Tableau 2.2. Conditions standards d'analyse par LC-TOF-MS en mode gradient.....	46
Tableau 2.3. Composition du milieu de croissance pour <i>Lemna minor</i> établi par la norme suédoise (Swedish standard (SIS) Lemna growth medium).	49
Tableau 2.4. Conditions d'incubation utilisées pour la culture de <i>Lemna minor</i>	50
Table 3.1. Initial physico-chemical feature of the reaction mixture before ozonation.....	65

LISTE DES SCHÉMAS

Schéma 0.1. Représentation de l'approche pour l'étude de l'écotoxicité de pesticides.	4
Schéma 1.1. Illustration de quelques modes d'interaction du diazinon avec une surface argileuse.	16
Schéma 1.2. Illustration de quelques modes d'interaction de l'atrazine avec une surface argileuse.	17
Schéma 1.3. Représentation synthétique de modes d'interaction potentielles du diazinon en catalyse hétérogène. Bleu : interaction cationique libérée avec l'ozone gazeux, dissous et adsorbé. Rose : Interaction du substrat organique avec les trois espèces d'ozone.....	22
Schéma 1.4. Configuration de deux lamelles de montmorillonite.	26
Schéma 2.1. Représentation schématique de la méthode de préparation des argiles échangées...35	
Schéma 2.2. Représentation schématique de la préparation des argiles activées à l'acide sulfurique.	36
Schéma 2.3. Principe de diffraction des rayons X (Epp, 2016).....	37
Schéma 2.4. Principe du potentiel zêta par la théorie de la double couche limite (inspiré de (Taroco et al., 2011)).	39
Schéma 2.5. Procédure d'ozonation catalytique avec le générateur A ₂ Z.....	42
Schéma 2.6. Principe de la spectrophotométrie UV-visible inspiré de (Verma et Mishra, 2018).43	
Schéma 2.7. Conception générale du HPLC inspiré de (Moldoveanu et David, 2022).	44
Scheme 4.1. Proposed pathways of diazinon degradation under catalytic ozonation inspired from (Kouloumbos <i>et al.</i> , 2003; Zhang, Y. <i>et al.</i> , 2010).....	90
Scheme 4.2. Pathways of atrazine degradation under ozonation inspired from (Bianchi et al., 2006; Moreira, A. J. et al., 2017).....	91

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

Mt	Montmorillonite
HMt	Montmorillonite activée à l'acide
NaMt	Montmorillonite sodique
Fe(II)Mt	Montmorillonite sodique échangés au fer
KMt	Montmorillonite sodique échangés au potassium
CaMt	Montmorillonite sodique échangés au calcium
MgMt	Montmorillonite sodique échangés au magnésium
ATR	Atrazine
DAZ	Diazinon
DCF	Diclofénac sodium
Doo1	Distance inter-réticulaire
DRX	Diffraction de rayons X
XRD	X-ray diffraction
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
HPLC-UV	High-Performance Liquid Chromatography-Ultraviolet
LC-TOF-MS	Chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse par temps de vol
UV-Vis	Ultraviolet-visible
SIS	Swedish Institute for Standards
SiO ₂	Silice
Al(OH) ₆	Alumine
O	Octaèdre
T	Tétraèdre
-Si-O-Si	Siloxy
A	Absorbance
e	Coefficient d'absorption
C	Concentration
I ₀	Intensité de la lumière incidente sur l'échantillon
I	Intensité de la lumière sortante de l'échantillon
T	Temps
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
Chl	Chlorophylle
Zp	Potentiel Zêta
S	Supporting information
CEC	Cation Exchange Capacity
KI	Iodure de potassium
KIO ₃	Iodate de potassium
ICP-OES	Spectrométrie à plasma à couplage inductif
ROS	Reactive Oxygen Species
PSI	Photosystème I
EC50	Concentration efficace médiane

LISTE DES SYMBOLES ET DES UNITÉS

°C	Degré Celsius
cm	Centimètre
°F	Fahrenheit
g	Gramme
g cm ⁻³	Gramme par centimètre cube
g h ⁻¹	Gramme par heure
g m ⁻³	Gramme par mètre cube
g mol ⁻¹	Gramme par mole
K	Kelvin
L	Litre
mg	Milligramme
mg h ⁻¹	Milligramme par heure
mL	Millilitre
mm	Millimètre
mM	Milli molaire
mol	Mole
mol g ⁻¹ .cm ⁻¹	Mole par gramme par centimètre
mol L ⁻¹ .cm ⁻¹	Mole par litre par centimètre
M	Molaire
nm	Nanomètre
s	Second
V	Volte
µm	Micromètre
H ₂ O	Eau
h	Heure
min	Minute
λ	Longueur d'onde
%	Pourcentage
rpm	Révolutions par minute
µg	Microgramme
ppm	Partie par Million
O ₃	Ozone

RÉSUMÉ

Dans ce travail de recherche, l'ozonation catalytique de polluants organiques en présence de catalyseurs à base d'argile a été utilisée pour simuler des processus d'oxydation naturelle accélérés dans des sols argileux. L'écotoxicité des mélanges réactionnels résultant de l'ozonation de trois polluants organiques, à savoir le diazinon (DAZ), le diclofénac sodique (DCF) et l'atrazine (ATR) a été évaluée comparativement sur deux espèces aquatiques représentatives de la biodiversité. La première est une espèce animale, à savoir le microcrustacé *Artemia salina*, tandis que la seconde est la plante aquatique *Lemna minor*. Les deux parties principales de cette recherche ont été publiées dans des revues internationales, la première est publiée dans Dalton Transactions (RSC) et la deuxième dans Applied Clay Science. La première publication porte sur une étude comparative de la dégradation oxydative du diazinon (DAZ) et du diclofénac sodique (DCF) par ozonation en milieu aqueux en l'absence et en présence de catalyseurs argileux. Un minéral argileux anionique, à savoir l'hydrotalcite et deux homologues cationiques, des échantillons de montmorillonite entièrement échangés avec des cations Na^+ et Fe^{2+} ont été utilisés à cette fin. La toxicité des mélanges ozonés a été évaluée sur *Artemia salina*, et les résultats obtenus ont été corrélés avec le taux de mortalité de cette espèce. Le DAZ et le DCF ont présenté une écotoxicité intrinsèque spécifique qui évolue différemment au cours de l'ozonation en fonction du catalyseur argileux. La toxicité s'est avérée fortement dépendante de la distribution des intermédiaires d'ozonation, qui, à leur tour, étaient étroitement corrélés aux propriétés acido-basiques de la surface du catalyseur. Ces précieuses découvertes permettent de comprendre le comportement des milieux argileux dans la dépollution naturelle et l'auto-régénération. La seconde partie de cette recherche a été consacrée au rôle de la variation simultanée de la concentration en matériau argileux et du temps de contact. Des tentatives ont été réalisées pour corréliser l'adsorption et l'ozonation de deux pesticides, le diazinon et l'atrazine, avec leur toxicité vis-à-vis de *Lemna minor*. Ces résultats ont été soumis pour publication et sont toujours en cours d'examen. Sur la base des modèles expérimentaux factoriels pour l'adsorption et l'ozonation, ces deux processus ont impliqué des interactions Argile:Pesticide optimales et spécifiques. Ces derniers semblent gouverner la dispersion de l'argile et ses caractéristiques adsorbants et catalytiques dans le milieu liquide et influencer fortement la toxicité des pesticides. Les résultats obtenus ici fournissent des fondements précieux permettant de prédire la dégradation oxydative naturelle et l'écotoxicité des pesticides en fonction de la suspension aqueuse d'argile réceptrice. Des connaissances plus approfondies ont été obtenues par la corrélation entre la concentration optimale de catalyseur et le temps d'ozonation de DAZ et de ATR sur leur effet sur *L. minor*, exprimé en termes de quatre critères de toxicité, à savoir le poids frais, le nombre de frondes, la teneur en chlorophylle et la quantité d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Cette troisième partie s'avère être la continuité de la précédente, et a été finalisée sous la forme d'un troisième article publié dans le journal Molecules. L'inhibition du taux de croissance des plantes de *Lemna minor* a été corrélée avec l'efficacité d'élimination des pesticides et le temps d'adsorption ou d'ozonation en présence de matériaux argileux. L'impact négatif de la persistance d'un polluant organique de nature forte dépend de la structure moléculaire du substrat organique, du temps de contact et de la nature du milieu hôte contenant de l'argile. Les résultats de cette étude sont d'une grande importance pour les recherches futures, car ils démontrent clairement que les milieux argileux (Sols et suspensions argileuses dans les rivières et les lacs) sont capables de s'auto-régénérer sans apport extérieur.

Mots clés : Matériaux argileux ; Montmorillonite ; Pesticide ; Atrazine ; Diazinon ; Diclofénac sodium ; Adsorption ; Ozonation ; Écotoxicité ; *Artemia salina* ; *Lemna minor*.

ABSTRACT

In this research work, the catalytic ozonation of organic pollutants in the presence of clay-based catalysts was used for simulating accelerated natural oxidation processes in clay soils. The ecotoxicity of the reaction mixtures resulting from the ozonation of three organic pollutants, i.e., diazinon (DAZ), diclofenac sodium (DCF), and atrazine (ATR) was comparatively evaluated on two aquatic species representing biodiversity. The first one is an animal species, namely the microcrustacean *Artemia salina*, while the second is the aquatic plant *Lemna minor*. The two main parts of this research were published in international journals, the first one is published in Dalton Transactions (RSC) and the second in Applied Clay Science. The first publication deals with a comparative study of the oxidative degradation of diazinon (DAZ) and diclofenac sodium (DCF) by ozonation in aqueous medium in the absence and presence of clay catalysts. An anionic clay mineral, namely hydrotalcite and two cationic counterparts, montmorillonite samples fully exchanged with Na^+ and Fe^{2+} cations were used for this purpose. The toxicity of the ozonized mixtures was assessed on *Artemia salina*, and the results obtained were correlated with the mortality rate of this species. DAZ and DCF exhibited specific intrinsic ecotoxicity that evolves differently during ozonation depending on the clay catalyst. The toxicity was found to be strongly dependent on the distribution of the ozonation intermediates, which, in turn, were closely correlated with the acid-base properties of the catalyst surface. These valuable findings allow understanding the behavior of clay-containing media in natural depollution and self-regeneration. The second part of this research was devoted to the role of the simultaneous variation in the concentration of clay material and the contact time. Attempts were achieved to correlate the adsorption and ozonation of two pesticides, diazinon and atrazine, with their toxicity towards *Lemna minor*. These results were submitted for publication and are still under review. Based on factorial experimental designs for adsorption and ozonation, both processes did involve optimal and specific Clay:Pesticide interactions. The latter appear to govern the clay dispersion and both adsorptive and catalytic features in the liquid medium and strongly influence the pesticide toxicity. The results obtained herein provide valuable findings that allow predicting the natural oxidative degradation and the ecotoxicity of pesticides as a function of the host aqueous clay suspension. Deeper insights were achieved in the correlation between optimum catalyst concentration and ozonation time of DAZ and ATR on their effect on *L. minor* as expressed in terms to four toxicity criteria, namely the fresh weight, frond number, chlorophyll content and the amount of reactive oxygen species (ROS). This third part turns out to be a continuation of the previous one and was finalized in the form of a third paper published in the journal Molecule. The inhibition of *lemna minor* plant growth rate was correlated with pesticide removal efficiency and adsorption or ozonation time in the presence of clay materials. The negative impact from the persistence of an organic pollutant in nature strongly depends on the molecular structure of organic substrate, the contact time, and the nature of the host clay-containing media. These results are of great importance for future research because they clearly demonstrate that clay-containing media (Soils and clay suspensions in rivers and lakes) are capable of self-regeneration without external contribution.

Keywords: Clay material; Montmorillonite; Pesticides; Atrazine; Diazinon; Diclofenac sodium; Adsorption; Ozonation; Ecotoxicity; *Artemia salina*; *Lemna minor*.

INTRODUCTION

1. Mise en contexte

La pollution de l'environnement par les rejets de molécules organiques, tels que les hydrocarbures de combustibles fossiles, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les hydrocarbures halogénés, les pesticides, les médicaments et autres, est devenue une préoccupation majeure. La contamination des écosystèmes aquatiques, plus particulièrement par les pesticides est devenue presque généralisée à travers toute la planète à tel point qu'il n'existe presque plus de produits agricoles pour la nutrition humaine incluant les soi-disant aliments biologiques qui en sont totalement dépourvus. En effet, les pesticides polluent directement ou indirectement tout l'environnement, ayant été détectés dans l'air, l'eau, le sol et de nombreux écosystèmes même éloignés des activités humaines. En dépit de leurs bienfaits pour la production, les pesticides commencent déjà à être reconnus comme un mal de moins en moins nécessaire vu leur persistance dans la nature et la bioamplification de leurs impacts négatifs non seulement sur la biodiversité, la faune et la flore mais aussi sur la santé humaine.

Leur persistance et ou leur décomposition dans la nature a un impact négatif sur la santé même des sols et des eaux (Kammenga *et al.*, 2000), des écosystèmes et sur la santé humaine (Calderón-Preciado *et al.*, 2011). Les polluants peuvent subir des processus impliquant l'adsorption, la précipitation, la complexation, diverses réactions redox dont la biodégradation (Sarkar *et al.*, 2021). L'oxydation naturelle par la photolyse, la photo-oxydation simple, catalytique ou biologique sont des processus très courants dans l'environnement (Benitez *et al.*, 2013; Briceño *et al.*, 2007; Yan *et al.*, 2015). Cependant, leur devenir et leur comportement dans la nature sont régis par de nombreux facteurs, notamment les propriétés physico-chimiques du milieu récepteur (sol et/ou eau), le pH, la surface de contact, les charges des suspensions des particules de minéraux, l'humidité du sol et bien d'autres. Les propriétés du polluant même comme ses caractères acido-basique et hydrophile-hydrophobe, son potentiel d'oxydation ainsi que l'exposition aux radiations solaires, la température et la présence d'autres polluants ont aussi des influences significatives sur son impact sur l'environnement (Cerniglia *et al.*, 1992).

Le sol agit également comme une barrière pour les polluants en réduisant leur mobilité et en limitant leur diffusion vers les eaux souterraines ainsi que l'exposition des humains par les eaux contaminées. Les capacités de filtration et de rétention d'un polluant dans le sol ou sa solubilité dans l'eau conditionnent sa mobilité, son transport et sa dispersion dans l'environnement. La rétention d'un polluant dépend fortement de sa structure chimique, de la composition du sol, en particulier de ses teneurs en fraction argileuse et en matière organique, de son pH, de la composition ionique de la solution du sol et de sa charge microbiologique (Naidu et Bolan, 2008).

2. Problématique

La rétention du polluant organique par un sol est fonction de son caractère hydrophile-hydrophobe, mais les eaux peuvent transporter par ruissellement et érosion même les polluants les plus insolubles. La dispersion des particules du sol chargées de molécules organiques sous forme de suspensions aqueuses stables est la cause principale de leur expansion dans l'environnement. Néanmoins, ces suspensions peuvent aussi être responsable de leur dégradation au contact de facteurs favorisant leur oxydation naturelle. Cette dernière est souvent lente et incomplète, produisant des dérivés oxydés habituellement plus polaires et plus soluble dans l'eau, aggravant par la même la pollution.

Ceci déplacerait la problématique vers la formation inévitable d'eaux polluées et dévierait l'attention vers le traitement de celles-ci loin de la véritable problématique qui réside dans le caractère nocif même pour l'environnement du principe actif de la molécule organique. Les technologies de traitement conventionnelles des eaux mises en œuvre à ce jour se sont avérées plus ou moins efficaces, mais souvent insatisfaisantes de par la formation d'intermédiaires quelques fois plus nocifs (Gültekin et Ince, 2007). Le traitement biologique n'est pas plus satisfaisant à cause de la présence de polluants biologiquement récalcitrants, inhibiteurs et toxiques qui résistent à ce genre de traitement. La rétention des molécules organiques par l'adsorption n'est non plus plus efficace générant des boues toxiques qu'il faudrait retraiter. Les autres méthodes de traitement telles que la coagulation/floculation, l'osmose inverse, l'ultrafiltration, la chloration produisent des sous-produits de désinfection toxiques génotoxiques, mutagènes, cancérigènes et donc nocifs pour la santé humaine et la biodiversité (Labanowski *et al.*, 2010; Zhang, B. *et al.*, 2017). Les techniques d'oxydation peuvent paraître intéressantes en traitement tertiaire des eaux si elles sont conçues

pour atteindre une minéralisation totale du polluant organique en CO₂. Une oxydation non optimisée est incomplète et peut souvent donner naissance à des dérivés oxydés encore plus toxiques que la molécule-mère. C'est dans cette problématique que s'encadre l'approche de la présente recherche.

3. Approche et objectifs

Des technologies alternatives pour la décontamination de l'eau et du sol sont d'une importance primordiale (Mendez-Arriaga *et al.*, 2010). Les voies les plus viables restent tout de même celles impliquant des processus oxydatifs, plus particulièrement lorsqu'elles s'inspirent du comportement des sols. Ces techniques de traitement ne sont pas destinées à remplacer les systèmes conventionnels, mais à compléter les systèmes existants n'utilisant pas de produits chimiques pour une meilleure décontamination. Parmi celles-ci, l'ozonation s'est révélée très prometteuse malgré l'apparente consommation d'énergie pour la production de l'ozone. L'utilisation de catalyseurs naturels, non polluants et très disponibles comme les argiles pourrait être une approche encore plus intéressante et plus écologique lorsqu'elle est optimisée pour une minéralisation complète des polluants organiques sans traces d'intermédiaires écotoxiques.

L'oxydation naturelle des polluants organiques est un processus assez lent et souvent incomplets pouvant générer inévitablement des intermédiaires nocifs et persistants. L'hypothèse que les composts et les humus présentent des niveaux de dégradation beaucoup plus avancés lorsque mélangés à des sols suggère une activité catalytique de ces derniers. L'ozone est un puissant agent qui agirait d'une manière similaire à celles de microorganismes oxydants ou à l'exposition de la biomasse au soleil avec l'oxygène de l'air. Ces agents oxydants incluant l'ozone devraient être plus efficaces dans des milieux contenant des argiles tels les sols riches en argiles et les eaux turbides issues d'alluvions. L'utilisation de matériaux argileux comme catalyseurs fait toujours l'objet d'une ample littérature, mais sa combinaison avec l'ozone pour « mimer » une oxydation naturelle accélérée est un nouveau concept, qui constitue l'objectif majeur de cette recherche.

Simuler l'activité catalytique naturelle des sols riches en argile de manière à causer une oxydation naturelle des molécules organiques est un concept original qui permettrait de développer une méthode écologique et économique impliquant l'oxydation des composés organiques par

l’ozone sur une surface argileuse. Comme objectif spécifique, l’évaluation de l’impact de la progression de l’oxydation de différents polluants en présence de différents matériaux argileux sur la biodiversité est envisagée. Deux organismes vivants représentant les espèces végétales et animales de la biodiversité, à savoir la plante aquatique *Lemna minor* et le microcrustacé *Artemia salina*, ont été utilisés comme modèles d’étude en raison de leurs grandes sensibilités dans l’évaluation des risques d’écotoxicité (Schéma 0.1).

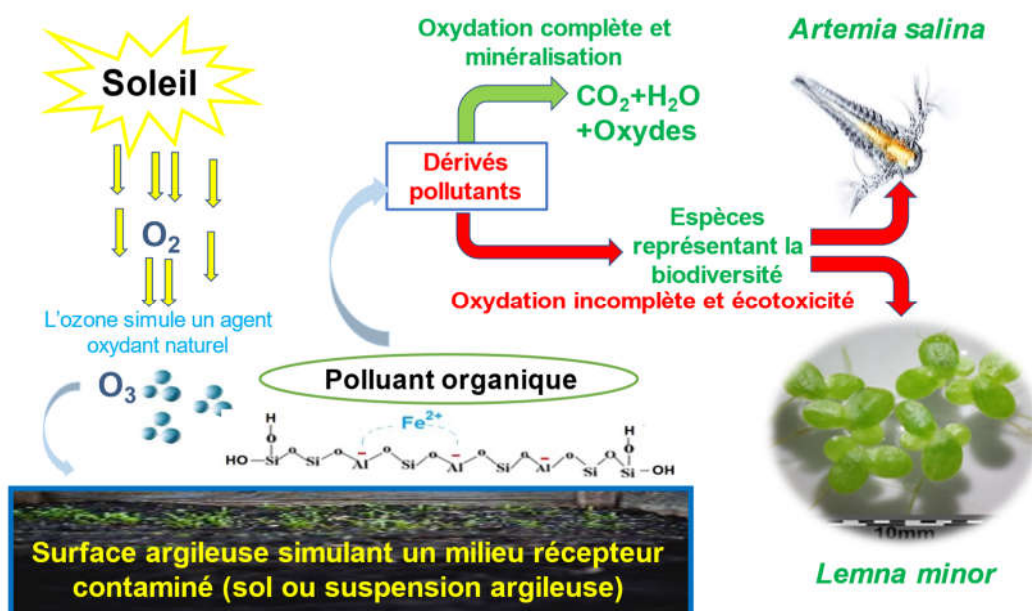


Schéma 0.1. Représentation de l’approche pour l’étude de l’écotoxicité de pesticides.

Les composés organiques étudiés dans la présente thèse ont été sélectionnés principalement en raison de leurs différentes natures, leur utilisation intensive et du manque de données sur l’effet toxique de leur oxydation naturelle partielle sur la biodiversité. Ceci permettra d’élucider l’effet de la structure moléculaire du polluant organique par rapport à sa dégradation oxydative et à la distribution de ses dérivées. Les tentatives de corrélation de ces deux aspects avec certains critères d’évaluation de l’écotoxicité sur les deux espèces vivantes seront également des objectifs spécifiques visés par la présente recherche. Pour mettre en exergue la réalisation de cette approche et l’atteinte des objectifs ciblés, le contenu de la présente thèse de doctorat a été structuré selon les six parties suivantes :

1. **Chapitre 1** : C'est une synthèse bibliographique présentant la thématique abordée et les différents aspects théoriques qui en découlent et qui sont relatifs aux moyens utilisés à cet effet. La première partie de ce chapitre est consacrée aux différents processus oxydatifs de dégradation des polluants organiques dans le sol et les eaux usées et ceux développés par les scientifiques, en mettant l'accent sur l'oxydation des pesticides. L'approche abordée ici consiste à mettre en évidence les principaux résultats d'une grande variété de traitements, plus particulièrement par ozonation, qui peuvent être utiles pour envisager des améliorations vers la minéralisation totale des polluants organiques. La seconde partie de ce chapitre se concentre sur une de ces améliorations, qui consistent à réaliser l'ozonation en présence des matériaux argileux en tant que catalyseurs. Ceci se base sur les dernières recherches ayant montré que l'ozonation en présence de catalyseurs solides est une méthode plus efficace dans l'oxydation de polluants organiques. Ainsi, diverses études sont incluses dans cette recherche pour démontrer le concept que les aluminosilicates naturels ont des propriétés catalytiques intrinsèques pour ce genre de processus. L'utilisation de ces matériaux particulièrement ceux développant des surfaces spécifiques élevées (les silicates, les aluminosilicates, les zéolithes et les minéraux argileux) est une stratégie judicieuse pour améliorer les performances de l'ozonation. Une troisième partie dans ce chapitre est dédiée, non pas au processus d'ozonation en soi, processus ayant fait l'objet de quelques travaux antérieurs de l'équipe de recherche, mais plutôt à l'évolution de la toxicité intrinsèque (avant oxydation) et extrinsèque (après oxydation) de divers polluants organiques. Un accent particulier est mis sur les deux espèces vivantes examinées dans cette recherche, l'une animale (*Artemia salina*) et l'autre végétale (*Lemna minor*), dont certains aspects de leur croissance et comportement vis-à-vis de polluants sont aussi discutés.

2. **Chapitre 2** : Ce chapitre regroupe les différentes procédures expérimentales utilisées dans cette recherche. Ceci inclut les réactifs, leurs solutions, les matériaux argileux, les espèces vivantes étudiées et leur culture en laboratoire, les équipements employés ainsi que les principes des méthodes d'analyses utilisés. Ce chapitre regroupe aussi les différentes étapes de préparation des catalyseurs argileux et leurs caractérisations, les modes opératoires des dispositifs utilisés pour l'adsorption, l'ozonation et les tests écotoxicologiques pour les deux organismes aquatiques.

3. Chapitre 3 : Ce chapitre fournit le contenu de la première publication dans la revue Dalton Transactions de la Royal Society of Chemistry. Cette partie de la présente recherche étudie comparativement la dégradation oxydative par ozonation d'un pesticide, le diazinon, et d'un médicament anti-inflammatoire, le diclofénac sodium en milieu aqueux. Les résultats obtenus permettent de corrélérer la mortalité de l'espèce *Artemia salina* au type de catalyseurs argileux. À cette fin, la montmorillonite (Mt) échangée avec des cations Na^+ et Fe^{2+} (NaMt et Fe(II)Mt), des bentonites activées par un acide et de l'hydrotalcite ont été utilisées comme catalyseurs argileux. Ceci a permis de démontrer que la dégradation naturelle d'un polluant organique varie selon la fraction argileuse contenue dans la matrice hôte (sol ou eau turbide, alluvions...). L'interaction de surface et l'adsorption sur la surface de l'argile se sont avérées régir la dispersion du catalyseur dans les milieux aqueux ainsi que l'activité et la sélectivité durant l'ozonation. Les caractéristiques de ces catalyseurs ont été corrélées avec l'écotoxicité des mélanges réactionnels ozonés, exprimée en termes de taux de mortalité d'*Artemia salina*. Il a été constaté que le DAZ et le DCF présentent une écotoxicité intrinsèque spécifique qui évolue au cours de l'ozonation différemment selon le catalyseur. L'écotoxicité s'est avérée fortement dépendante de la distribution des intermédiaires d'ozonation, qui, à son tour, semblait étroitement liée aux propriétés acido-basiques de la surface du catalyseur. Ces résultats sont d'une grande importance, car ils permettent de prédire la persistance d'un polluant organique selon le milieu naturel pollué et de simuler les limites de la capacité de la nature à s'autorégénérer.

4. Chapitre 4 : Il s'agit du contenu d'un article récemment soumis pour publication portant sur une approche inédite basée sur les effets de variations simultanées de la concentration en argile et de la durée d'adsorption et d'ozonation de deux pesticides. Des résultats concluants ont permis de mesurer l'évolution de l'écotoxicité du diazinon et de l'atrazine sur une plante aquatique, *Lemna minor*. La nouveauté réside dans le fait que le processus de dégradation oxydative est étudié comparativement dans un milieu dit SIS à pH initial fixe, avec une suspension de montmorillonite échangée aux cations Na^+ et Fe^{2+} . La conception de plans factoriels des expériences réside en une étude statistique pour obtenir des modèles sur les rendements d'adsorption et d'ozonation du pesticide. Ceux-ci sont exprimés en fonction de la concentration d'adsorbant/catalyseur argileux et de la durée du processus dans la suspension argileuse en présence. La mise en contact des surnageants (Parties filtrées) de ces suspensions SIS avec des milieux SIS de culture de *L. minor* a

permis de corrélérer le degré d'avancement des deux processus à la toxicité envers cette espèce vivante. Une forte interaction des deux paramètres semble masquer leurs effets individuels, démontrant ainsi qu'un taux d'adsorption ou d'ozonation ne peut être évalué avec précision pour différentes concentrations d'argile et durée constante du processus et inversement. Ce résultat est d'une grande importance, car il montre que la rétention et la dégradation d'un polluant organique dans un milieu naturel et encore moins son écotoxicité ne peuvent pas être évaluées selon sa teneur en argile et du temps de séjour séparément. Il existe des interactions Argile:Pesticide optimales et spécifiques dans les milieux liquides qui influencent fortement la toxicité des pesticides.

5. Chapitre 5 : Ce chapitre regroupe de nombreuses données de mesures de quatre critères d'évaluation de la toxicité de deux pesticides. Ce contenu est rédigé sous forme d'un article soumis pour publication portant sur l'étude de l'optimisation de l'activité catalytique de matériaux riches en montmorillonite échangées par des cations NaMt et Fe(II)Mt pour l'ozonation du diazinon et de l'atrazine dans un milieu de culture SIS. L'efficacité d'élimination des pesticides par adsorption et ozonation catalytique s'est avérée être optimale en présence de 2 g L⁻¹ d'argile. Celle-ci résulterait d'un compromis entre : **i.** une grande surface active à des quantités élevées d'adsorbant/catalyseur, mais à un pH élevé pour améliorer la dispersion en milieu aqueux, et **ii.** un pH acide favorable à l'ozonation, mais aussi à une diminution de la surface accessible par coagulation-floculation de l'argile. L'écotoxicité est évaluée en termes de variation du nombre de feuilles de *L. minor*, du poids frais, de la teneur en chlorophylles et de la production d'espèces réactives de l'oxygène.

6. Conclusion : Cette section rassemble les principales conclusions tirées sur les différentes études partielles rapportées dans chaque chapitre qui fournissent des analyses approfondies sur chaque aspect considéré. Celles-ci sont suivies d'une synthèse sous forme de conclusions plus générales de cette recherche en fournissant une analyse plus globale, en validant les hypothèses de départ pour l'atteinte des objectifs fixés, et en entrevoyant des recherches potentielles futures dans cette direction.

Ces six sections de la présente thèse sont supportées et suivies d'une liste bibliographique consistante. Celle-ci s'étale sur plusieurs décennies de recherche souvent dans des domaines connexes, confirmant le peu de littérature dans le domaine de cette recherche et par la même

occasion démontrant son originalité. Une dernière section est dédiée aux annexes qui regroupent les données de support pour les articles publiés ou soumis, ainsi que d'autres principes pour certaines techniques d'analyses de base.

CHAPITRE 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Pollution de l'eau par les composés organiques

La grande diversité de polluants qui entrent en contact direct avec l'environnement provoque des perturbations parfois irréversibles sur les différents écosystèmes. Parmi ceux-ci, les milieux aquatiques sont très sensibles à la pollution et fonctionnent simultanément comme des vecteurs de propagation de cette pollution vers d'autres milieux de vie. À défaut de vision écologique globale, la nécessité de recourir à différentes méthodes de traitement des effluents aqueux polluant continuellement l'environnement n'est qu'une approche instinctive de survie pour « arrêter l'hémorragie » et non pas de traiter ses causes. Ainsi, diverses stratégies ont été utilisées pour éliminer les pesticides des eaux usées (Chen *et al.*, 2021).

Une vision intéressante serait au moins de s'inspirer de la nature pour concevoir des méthodes de traitement des eaux. Dans cette optique, un intérêt particulier est porté ici aux eaux transportant des polluants organiques vu la grande diversité de leurs sources (industries chimiques, pharmaceutiques, alimentaires, usines de papier et de pâte, raffineries de pétrole, usines pétrochimiques, unités de fabrication de teintures et de textiles, activités agro-industrielles, et autres) (Djemai, 2021; Shahidi, D. *et al.*, 2015; Yasmine et Belhalfaoui). Ces polluants organiques peuvent être des colorants azoïques et polyméthiniques, des antibiotiques comme les tétracyclines et les amoxicillines, des pesticides organophosphorés et triazines, des détergents et autres. Ce sont des substances hautement toxiques qui ont fait l'objet d'une attention particulière en raison de leur omniprésence dans l'environnement (Tchinsa *et al.*, 2021).

Certains polluants organiques persistent plus longtemps dans l'environnement que d'autres en raison de leur plus grande stabilité à la biodégradation. Ils sont caractérisés par leurs aptitudes à la bioaccumulation et leur propagation à longue distance avec des impacts négatifs sur la santé humaine et la biodiversité (Qiu, M. *et al.*, 2021). Les concentrations admissibles de certains polluants organiques sont strictement contrôlées comme pour l'aldrine (0.25 mg m^{-3}), la dieldrine (0.25 mg m^{-3}), le chlordane (0.5 mg m^{-3}), l'endrine (0.1 mg m^{-3}), les PCB (0.5 mg m^{-3}), et les HAP

(0.2 mg m⁻³) (Gaur *et al.*, 2018; Singh, A. K. et Chandra, 2019). Les dioxines et les pesticides organochlorés sont d'autres polluants organiques persistants (Érseková *et al.*, 2014). Ces composés restent intacts dans l'environnement et résistent aux dégradations photochimiques, chimiques et biologiques. Ces polluants peuvent se disperser sur de longues distances dans l'atmosphère, les sols humides ou irrigués et les ruissellements d'eau. Ils peuvent avoir des effets néfastes de dégradation sur les équilibres écologiques (Gaur *et al.*, 2018; Pi *et al.*, 2018), d'empoisonnement des insectes, d'oiseaux et de mammifères (Alharbi *et al.*, 2018; Thakur et Pathania, 2020), d'altération de la fertilité et des systèmes de reproduction de certaines espèces aquatiques (Krawczyk *et al.*, 2021). Ils peuvent également affecter la santé humaine par des perturbations endocriniennes (Crinnion, 2011), l'apparition de problèmes de reproduction (Kumar, S., 2004) et cardiovasculaires (Ljunggren *et al.*, 2014), sans oublier les cancers (Woldemeskel, 2013) et le diabète (Tanaka *et al.*, 2011) entre autres.

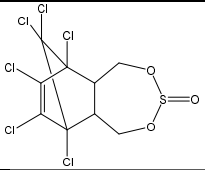
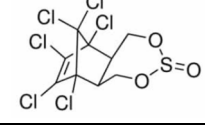
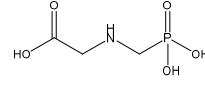
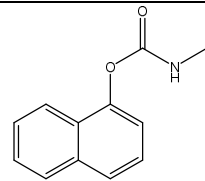
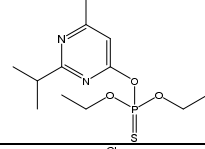
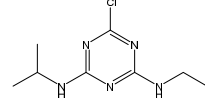
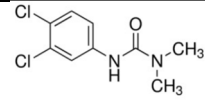
1.2 Pollution par les pesticides

Les pesticides sont largement utilisés dans le monde, essentiellement en agriculture pour protéger les cultures et la réduction des pertes en productivité. Certains pesticides comme l'Endosulfan (Kullman et Matsumura, 1996), l'Imidaclopride (Mahmoodi *et al.*, 2007), le Carbaryl (Quaglia *et al.*, 2001), le 4,4'-DDT (Peeraprasompong *et al.*, 2006), l'Alachlore (Rosenfeld et Feng, 2011), etc. sont utilisés dans la lutte antiparasitaire. Entre 2006 et 2012, la vente des pesticides aurait augmenté de près de 27%. La hausse des ventes est plus accentuée pour deux herbicides, le glyphosate et l'atrazine. En 2019, les concentrations d'atrazine dans les rivières échantillonnées au Québec ont dépassé les seuils de protection pour la toxicité chronique de la vie aquatique (1,8 µg/L) avec un maximum de 7,9 µg/L (Bérubé *et al.*, 2019). Ils sont considérés parmi les polluants organiques les plus répandus à travers la planète. De nombreuses études ont déjà abordé la problématique de la contamination des eaux par les pesticides par le biais d'effluents aqueux provenant d'usines de leur fabrication, d'eaux de ruissellement, de fermes agricoles et même d'activités domestiques tel le jardinage et autres (Appelgren, 1994; Brillas *et al.*, 2009; Faust et Suffet, 1966).

Les pesticides sont divers de par leurs différentes formulations et leurs modes d'action (Azzouz, Abdelkrim *et al.*, 2021). Leur utilisation est variable selon le continent et le pays avec des

pourcentages de 50 à 60% pour les herbicides, 20 à 30% pour les insecticides et 10 à 20% pour les fongicides. Ils peuvent être classés en catégories telles que les insecticides, les fongicides, les herbicides, les raticides et les algicides, certaines de ces catégories étant illustrées dans le **Tableau 1.1**.

Tableau 1.1. Caractéristiques et propriétés physico-chimiques de certains pesticides.

Pesticides	Structure chimique	Formule chimique	Classification	M (g mol ⁻¹)	Densité (g mL ⁻¹ à 20°C)	pKa	Solubilité dans l'eau (mg L ⁻¹)	EC ₅₀ (µg L ⁻¹)	Réf
α-Endosulfan		C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	Insecticide	406.9	-	-	0.51	0.52	(Banasiak <i>et al.</i> , 2011; Bouhafis, 2018; Maier-Bode, 1968; Mnif <i>et al.</i> , 2011; Munkegaard <i>et al.</i> , 2008; Patočka <i>et al.</i> , 2016)
β-Endosulfan		C ₉ H ₆ Cl ₆ O ₃ S	Insecticide	406.9	-	-	0.45	0.52	(Banasiak <i>et al.</i> , 2011; Bouhafis, 2018; Maier-Bode, 1968; Mnif <i>et al.</i> , 2011; Munkegaard <i>et al.</i> , 2008; Patočka <i>et al.</i> , 2016)
Glyphosate		C ₃ H ₈ NO ₅ P	Organo-phosphoré	169.07	1.7	< 2 ; 2.6 ; 5.6 et 10.6	12000	6.62	(Diez, 2010; Sikorski <i>et al.</i> , 2019; Zoubir, 2012)
Carbaryl		C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	Insecticide carbamate	201.2	1.232	10.4	< 1%	23.9 (4 j)	(Brooke, 1993; Mnif <i>et al.</i> , 2011; Mount et Oehme, 1981)
Diazinon		C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	Organo-phosphoré	304.36	1.116-1.118	2.6	40.0	10 ⁵	(Larkin et Tjeerdema, 2000; Mnif <i>et al.</i> , 2011)
Atrazine		C ₈ H ₁₄ N ₅ Cl	Herbicide de type Triazine	215.7	1.187	1.6	30.0 à 25°C	40	(Karimi <i>et al.</i> , 2016; Mnif <i>et al.</i> , 2011; Organization, 2003; Solomon <i>et al.</i> , 1996)
Diuron		C ₉ H ₁₀ Cl ₂ N ₂ O	Phénylurée	233.09	1.48	-	42 à 20°C	28.3	(Diez, 2010; Giacomazzi et Cochet, 2004; Wypych et Wypych, 2015)

Ces données montrent que toutes les molécules organiques sélectionnées aléatoirement présentent une valeur non-nulle pour la concentration efficace médiane (EC50), confirmant ainsi le fait qu'il n'existe pratiquement pas de composés de synthèse non toxiques. Il faudrait également souligner que le diazinon et l'atrazine présentent les valeurs les plus élevées de EC50 pour (10^5 et $40 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivement), d'où l'intérêt particulier accordé à ces deux pesticides dans cette recherche. Leurs solubilités respectives de 40 et 30 mg L^{-1} est un facteur de propagation de leur écotoxicité dont il faudrait tenir compte lors des évaluations d'impacts sur l'environnement.

Les institutions environnementales de plusieurs pays continuent de signaler la présence des pesticides dans la majorité des cours d'eau, et malheureusement dans la plupart des produits agro-alimentaires. Ceci est essentiellement dû à leurs solubilités, même faibles mais non-négligeables, dans les milieux aqueux. Dans la majorité des cas, les concentrations de pesticides détectées dépassaient les seuils acceptables pour la qualité de l'eau. À titre d'exemple, la concentration du chlorpyrifos dépasserait la concentration acceptable pour la protection de la vie aquatique atteignant des valeurs plus élevées que le seuil acceptable au Canada et aux États-Unis (Huang *et al.*, 2020). Une étude effectuée sur les eaux souterraines au Québec (Canada) a révélé la présence de pesticide dans près de 35% des puits (Giroux *et al.*, 2010). L'isoproturon, le diuron et le mécoprop sont les principaux herbicides retrouvés dans les eaux souterraines au Royaume-Uni, alors que l'atrazine, l'alachlore, le métolachlore ont été détectés dans les eaux souterraines des pays européens, en Amérique et en Afrique. Au Canada, divers pesticides tel que l'alachlore, le métolachlore, l'atrazine, le métribuzine, le cyanazine ont été retrouvés dans les eaux superficiels à une concentration allant de 0.17 à $0.34 \mu\text{g L}^{-1}$ (Goss *et al.*, 1998).

Selon leurs structures chimiques, les pesticides organiques synthétiques sont divisés en trois groupes principaux, à savoir les pesticides organo-azotés, organochlorés et organophosphorés. Leur élimination des sites contaminés impose le recours à différentes technologies de traitement qui tiennent compte de leur structure moléculaire (Shalan *et al.*, 2007; Wait et Thomas, 2003). Celles-ci reposent essentiellement sur des traitements physiques (adsorption, nanofiltration, chimiques (ozonation, Fenton, électro-oxydation, photo-oxydation, photo-Fenton) et biologiques (**Tableau 1.2**). Ces données démontrent encore fois que ce genre de traitement conventionnel atteint rarement une élimination totale du polluant organique, justifiant ainsi le recours à des techniques plus performantes pour obtenir des milieux dépourvus de toute trace de polluant. Il est

aussi intéressant de noter que les tentatives présentées ici ont été réalisées à des pH neutres vers acides, et ce par soucis de s'approcher le plus des caractéristiques courantes des eaux et des milieux habituels à traiter. Idéalement, un traitement efficace entraînera la dégradation du pesticide sans la génération des intermédiaires.

Tableau 1.2. Quelques procédés d'élimination de pesticides courants.

Classe	Pesticide	Processus	Conditions opératoires	Élim. (%) ^a	Réf.
Triazine	Atrazine	Adsorption sur charbon actif dans l'eau potable	[Atrazine]:0.8 g L ⁻¹ .	75-83	(Zadaka <i>et al.</i> , 2009)
		Adsorption sur le composite poly(4-vinylpyridine-co-styrène) -montmorillonite dans l'eau potable	Adsorbent : 2 g. Temps :20-40 min et pH:3	93-96	
Organophosphorés	Atrazine	Nanofiltration membranaire dans l'eau potable	pH :3-10. T : 45°C.	95	(Ahmad <i>et al.</i> , 2008)
	Diméthoate		Pression : 41 × 10 ⁺⁵ Pa.	85	
	Parathion	Ozonation dans l'eau usée	pH : 2-8	>90	(Mahmoodi <i>et al.</i> , 2007; Wu, Jiguo <i>et al.</i> , 2009)
	Méthyl-Parathion		Temps :20 min	>90	
	Diazinon		[TBA]: 50 mM	100	
Malathion	Adsorption sur résine amberlyst-15	[Malathion] : :50 mL (1 mg L ⁻¹). Adsorbent :0.5 g. Temps : 30 min. pH :6 et T:40°C	96	(Naushad <i>et al.</i> , 2014)	
Organoazotés	Bupirimate	Oxydation électrochimique dans l'eau usée	Anode en diamant dopé au bore (BDD) et cathode en platine. pH :6.2. Temps :120 min	74 (COD) ^b	(Errami <i>et al.</i> , 2012)
	Etridiazole	Photo-dégradation dans l'eau potable	Dose d'UV: 1375 mJ cm ⁻² . pH :7. Temps: 15 min	90	(Liu, C. <i>et al.</i> , 2009)
	Flutriafol	Traitement électrochimique dans l'eau usée	PbO ₂ Tridimensionnel. Temps :120 min	85	(Liu, S. <i>et al.</i> , 2018)
Organochlorés	Endrine	Photo Fenton dans l'eau potable	pH :3.4	-	(Haag et Yao, 1992)
	Fénitrothion	Fenton dans l'eau usée	pH :3-3.5. H ₂ O ₂ =5 g L ⁻¹ . Fe ²⁺ :H ₂ O ₂ = 1:3	>90	(Barbusiński et Filipek, 2001)
	Lindane	Fenton dans l'eau potable	pH :2.9		(Haag et Yao, 1992)
	Endosulfan	Biodégradation sur le sol avec <i>P. spinosa</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>B. cepacia</i>	Temps d'incubation : 14 j. pH :8, T=30°C	>90	(Hussain <i>et al.</i> , 2007)

^a Élim. (%) : taux d'élimination du pesticide par adsorption ou par ozonation (%).

^b COD : Demande chimique en oxygène. TBA : Alcool tertibutylique.

Certaines méthodes de traitement présentent une efficacité d'élimination élevée, mais souvent avec des technologies sophistiquées. À titre d'exemples, la nanofiltration membranaire et la photodégradation permettent des rendements de conversion dépassant 85% et 90%, respectivement, mais imposent des coûts élevés que les producteurs industriels et agricoles n'arrivent pas à inclure dans les frais de fonctionnement.

1.3 Action des polluants organiques sur la biodiversité

L'effet néfaste des pesticides sur la qualité de l'eau n'est pas lié seulement à leurs principes actifs qui déterminent leurs toxicités intrinsèques. Leur nature organique les rend plus aptes à se convertir en dérivés toxiques, quelques fois encore plus nocifs que la molécule-mère. Ceci leur confère une toxicité additionnelle dite extrinsèque, car induite par leur propre dégradation. La simple présence de molécules organiques synthétiques dans la nature est en soi une pollution qui perturbe les métabolismes des espèces vivantes (Gaur et al., 2018). Les pesticides en sont de bons exemples, constituant une menace continue pour les écosystèmes aquatiques, les espèces aquatiques et, directement ou indirectement pour la santé humaine (Abas, 2021; Demarco et al., 2022; Gaur et al., 2018; Giroux, 2018; Giroux et al., 2016; Landry, 2017). À titre d'exemple, l'atrazine, troisième herbicide le plus utilisé sur la planète après le glyphosate et le 2,4-D (Hayes et Hansen, 2017) inhibe la croissance des mauvaises herbes en bloquant le transport des électrons dans le photosystème II de l'appareil photosynthétique (Lopes *et al.*, 2020). Le mode d'action de l'atrazine peut également cibler des bactéries telles que les cyanobactéries dont le métabolisme implique la photosynthèse (Thiour-Mauprivez *et al.*, 2019). L'atrazine a aussi un effet perturbateur sur l'endocrine chez les poissons, les amphibiens et les reptiles. Il provoque l'altération des ratios d'hormones sexuelles, qui se traduit par une démasculinisation et une féminisation des mâles et une diminution de la production spermatique (Saint-Pierre et Hanna, 2021). Cet herbicide est capable également de stimuler la peroxydation des lipides chez le poisson (Nwani *et al.*, 2010).

Des recherches ont révélé un abaissement significatif de diverses populations d'oiseaux, en particulier chez les oiseaux piscivores et les oiseaux de proie (Risebrough et Jarman, 1985). Un dépeuplement en faucons pèlerins a été observé en Grande-Bretagne (Ratcliffe, D. A., 1963) et dans l'est des États-Unis (Berger *et al.*, 1969) (Hickey, Joseph James, 1969). Des études menées sur des populations arctiques de l'Alaska et des régions voisines (Cade *et al.*, 1971), de la Norvège

(Nygård, 1983) et du Groenland (Walker *et al.*, 1973) ont montré une étroite relation entre le décroissement des populations de faucons et d'oiseaux piscivores, la formation de coquilles d'œufs plus minces et des résidus d'un pesticide nommé DDE (Hickey, Joseph J et Anderson, 1968; Ratcliffe, D., 1967).

Diverses études ont confirmé l'existence de perturbations endocriniennes chez les poissons de lacs (Leatherland, 1992) et les organismes marins (Reijnders et Brasseur, 1992). L'altération de la chaîne alimentaire arctique due à des traces de pesticides organochlorés semble également affecter les populations humaines, surtout les inuites qui dépendent essentiellement des aliments locaux tels que le phoque, la baleine, le poisson et le caribou (Usher, 1976). D'autres études ont également signalé la présence de concentrations élevées de pesticides organochlorés dans les aliments et des composés biphényles polychlorés dans le lait maternel humain des populations inuites (Dewailly *et al.*, 1989). Il existe aussi une ample littérature sur les effets néfastes sur une grande diversité d'espèces aquatiques de deux pesticides parmi les plus utilisés, à savoir le diazinon (Agency, 2006; Aggarwal *et al.*, 2013; Fernández-Casalderrey *et al.*, 1995; Kurade *et al.*, 2016; Velki *et al.*, 2017) et l'atrazine (Fairchild *et al.*, 1997b; Klementová *et al.*, 2019b; Klementova *et al.*, 2015; Palma *et al.*, 2008). Ceci a stimulé un intérêt particulier pour ces deux pesticides, qui font l'objet de la présente recherche.

1.4 Processus de dégradations des polluants organiques dans la nature

Dans le cas où la suppression totale de l'utilisation des pesticides s'est avérée économiquement non viable, la stratégie adoptée dans la présente recherche sur le développement de techniques dites « vertes » d'élimination doit s'inspirer des processus de décomposition naturelle qui ont lieu dans l'environnement. Pour cela, il est nécessaire de se baser sur des connaissances plus approfondies sur les mécanismes des agents oxydants produits par les équilibres des différents écosystèmes, qui sont toujours interconnectés. Une fois libéré dans la nature, le polluant organique peut être adsorbé ou volatilisé selon ses propriétés chimiques et physiques et la nature du milieu récepteur (Meade et D'Angelo, 2005; Singh, N. *et al.*, 2004). Lorsque le composé organique s'accumule à la surface d'un milieu récepteur (Sols ou eaux), il peut subir divers processus de photo-décomposition. Ces processus sont fortement influencés par les propriétés intrinsèques et extrinsèques du milieu récepteur, ainsi que par la structure chimique du composé organique.

Après pénétration dans les milieux naturels par diverses voies (Gianfreda et Rao, 2008), les polluants organiques peuvent être faiblement ou fortement retenus par des colloïdes inorganiques et organiques par différents types d'interactions d'adsorption qui modifient leurs mobilités (Bailey et White, 1970; Cea *et al.*, 2007; Senesi, 1992). À titre d'exemple, la mobilité de l'atrazine dans les sols peut varier de modérée à forte, en particulier dans les sols à faible teneur en argile ou en matière organique (Barriuso et Calvet, 1992). L'atrazine est principalement retenue par une argile riche en silice par adsorption physique impliquant des interactions hydrophobes et physicochimiques par la matière organique du sol (Barriuso *et al.*, 1994). Les polluants organiques portant des atomes donneurs ou accepteurs de doublets libres d'électrons peuvent subir des interactions de type ponts hydrogène ou acide-base de Lewis exercées par les acides, les cétones et les alcools des humus et autres biomasses. Des interactions électrostatiques peuvent également avoir lieu entre des groupements amino-protonés en fonction cationique ammonium et les sites d'échange cationique d'une surface argileuse. Un exemple impliquant les différents types d'interactions possibles selon le pH du milieu est celui de l'adsorption du diazinon (Schéma 1.1) et de l'atrazine (Schéma 1.2) sur une surface montmorillonitique.

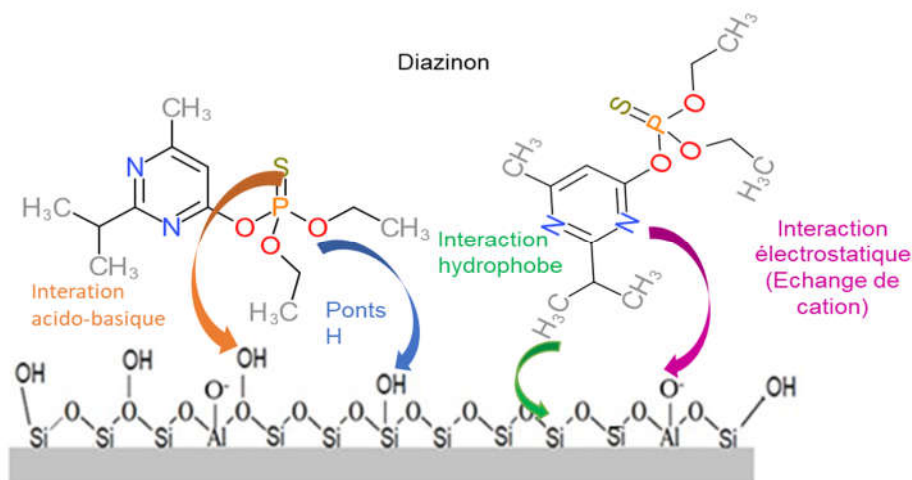


Schéma 1.1. Illustration de quelques modes d'interaction du diazinon avec une surface argileuse.

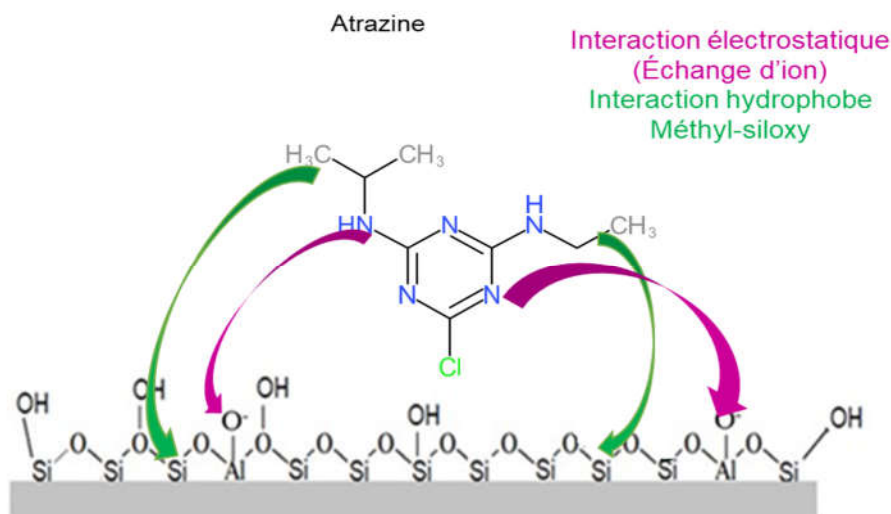


Schéma 1.2. Illustration de quelques modes d'interaction de l'atrazine avec une surface argileuse.

Certains des polluants organiques hautement toxiques sont extrêmement résistants à la biodégradation par la flore indigène (Rochkind-Dubins *et al.*, 2020), contrairement aux composés organiques naturels qui sont aisément recyclés dans l'environnement. Les activités microbienne et biochimique mêmes du sol sont sensibles à plusieurs changements induits par la pollution. Diverses bactéries et champignons présents dans les sols ont la capacité de dégrader ou même de minéraliser plusieurs groupes de pesticides (Briceño *et al.*, 2007), certaines parmi ces espèces sont présentées dans le **Tableau 1.3**.

Les données de ce tableau montrent que l'emploi des souches bactériennes produit rarement une élimination totale du polluant organique. Cela démontre encore une fois que le recours aux procédés biologiques, en plus de leurs coûts d'exploitation et la difficulté de faire le suivi correctement de la viabilité des bactéries, ne semble pas une stratégie plus efficace que toute autre technique conventionnelle de traitement des milieux pollués. L'élimination des pesticides de l'environnement par décomposition biologique est un moyen naturel. Cependant, pour être efficace, ce genre de processus, habituellement très lent, requiert souvent des semaines, des mois voire des années pour permettre à la nature de s'autorégénérer. Les micro-organismes ont la capacité d'interagir, à la fois chimiquement et physiquement avec des substances naturels ou synthétiques présentes dans le milieu récepteur (sols ou eau) (von Wirén-Lehr *et al.*, 2002).

Tableau 1.3. Efficacité de certains micro-organismes dans la dégradation de pesticides.

Micro-organisme	Pesticide		Conditions de dégradation			Réf
	Appellation	Conv. (%) ^a	Temps (Jours)	Milieu	pH	
Souche fongique	Atrazine	34	20	Milieu de sels minéraux	7.2	(Singh, S. B. <i>et al.</i> , 2008)
Microflore mixte	Chlorpyrifos	91	3	Sol (24% argile, 26% sable, 0,9% humus, 50% limon)	7.1	(Mohan <i>et al.</i> , 2004)
Souche fongique	Chlorpyrifos	> 80	7	Milieu de sels minéraux	7.2	(Yu, Y. L. <i>et al.</i> , 2006)
<i>B. thiooxidans</i> , <i>S. paucimobilis</i>	Lindane	100	3	Sédiment mélangé avec du MSM stérile	-	(Pesce et Wunderlin, 2004)
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	Iprodione	50	6h	Milieu de sels minéraux	-	(Mercadier <i>et al.</i> , 1997)
<i>B. adusta</i> , <i>P. ostreatus</i> <i>P. chrysosporium</i>	Terbufos, azinphos-méthyl, phosmet tri-bufos	50-96	4	Tampon phosphate	5	(Jauregui <i>et al.</i> , 2003)
<i>P. chrysosporium</i>	Bentazone	75	20	Paille de blé avec de l'eau et d'autres produits	8	(del Pilar Castillo <i>et al.</i> , 2001)
	Acide 4-chloro-2-méthylphénoxy acétique	65				

^aConv. (%) : taux de dégradation.

Parmi les populations microbiennes, les bactéries, les champignons et les actinomycètes sont les principaux agents de dégradation des pesticides (Schrijver et Mot, 1999). Les champignons biotransforment généralement les pesticides et autres xénobiotiques en introduisant des changements structurels mineurs dans la molécule. Ils la rendent supposément non ou peu toxique. Le produit résultant de la biotransformation est ensuite libéré dans le sol, où il subit d'autres biodégradations plus avancées par d'autres bactéries (Gianfreda et Rao, 2004).

Le diazinon est un pesticide organophosphoré qui se dégrade assez rapidement dans le sol par certains organismes impliquant principalement une hydrolyse. Ceci produit du phosphorothioate de O,O-diéthyle et le 2-isopropyl-4-méthyl-6-hydroxypyrimidine (Konrad *et al.*, 1967). Le taux de dégradation croît avec l'augmentation de la teneur en humidité, de la température et de l'acidité du sol (Harris, C. R. et Lichtenstein, 1961). Par ailleurs, plusieurs micro-organismes hydrolysent le trichlorfon en mono-méthyl (2,2,2-trichloro-1 hydroxyéthyl)phosphonate et en acide (2,2,2-trichloro-1-hydroxyéthyl)phosphonique (Zayed et Hassan, 1965). La N-désalkylation est la

principale voie de dégradation microbienne des chloro-s triazines, des méthoxy-s triazines et des méthylthio-s triazines dans le sol. La 2,4-diamino-6-chloro-s-triazine et la 2-amino-4,6-dihydroxy-s-triazine (ammélide) sont des métabolites de l'atrazine (Kaufman et Blake, 1969) et de la simazine (Kearney *et al.*, 1965), respectivement. L'oxydation de l'heptachlore en époxyde d'heptachlore est également produite dans le sol (Barthel *et al.*, 1960) par de nombreuses cultures microbiennes (Kaufman, 1974; Miles *et al.*, 1969). Il est fort intéressant de noter que les processus de biodégradation sont essentiellement oxydatifs, car se déroulant dans les couches supérieures et suffisamment oxygénées des milieux récepteurs. Les processus de réduction sont plus difficiles à observer, puisqu'ils ont lieu en conditions anaérobiques dans les couches plus profondes. Si la biodégradation des polluants organiques est similaire à celle se déroulant dans un compost, il est permis de croire que toute tentative de simuler l'autorégénération oxydative des écosystèmes requiert l'implication d'agents oxydants. C'est dans cette optique que s'encadre la stratégie de la présente recherche.

1.5 Ozone et ozonation

L'oxydation par l'ozone ou tout simplement l'ozonation en présence de minéraux argileux constitue l'essence même de cette stratégie. L'ozonation est considérée comme l'une des voies les plus prometteuses pour le traitement tertiaire des eaux usées quand cela est justifié. Elle est devenue progressivement une technique quasi incontournable pour une épuration rapide de l'eau grâce à la réactivité élevée de l'ozone, capable d'oxyder toute molécule organique voire minéraliser certaines d'entre elles. L'ozone peut être facilement généré par une décharge électrique utilisant de l'oxygène pur ou de l'air, avec une consommation énergétique moyenne de 8 à 17 kWh par kg d'ozone (Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015a). Les générateurs d'ozone sont des dispositifs de taille réduite, compacts et faciles à déplacer voire mobiles.

L'ozone peut donc être produit sur place au moment voulu par de tels générateurs, qui fonctionnent à pression et température ambiantes (Fontanier *et al.*, 2005). Ceci fait de l'ozonation la technique la plus simple, commode et non polluante de désinfection et de décomposition des molécules organiques. Une ozonation efficace est comme une « combustion totale à froid », ne produisant que du CO₂, de l'eau et des oxydes d'atomes autres que le carbone de la structure chimique de la molécule organique.

L'ozone reste quand même un gaz toxique pouvant entraîner la mort s'il est inhalé pendant de longues durées. L'ozone se trouve à haute altitude au-dessus de la surface de la terre, ou il joue le rôle de protecteur contre les rayons UV-B nocifs (Bolaji et Huan, 2013). Néanmoins, il peut également se former à basses altitudes et même en surface en petites quantités lors de phénomènes de SMOG ou de forts flux solaires. La formation de l'ozone sur terre nécessite un apport d'énergie élevé (rayonnement solaire) qui scinde la molécule d'oxygène (O_2) dans l'air en oxygène radicalaire libre, qui se combine rapidement avec une autre molécule d'ozone (Prabha *et al.*, 2015). L'ozone a des propriétés très particulières, dont une courte demi-vie de 15 à 25 min entre les pH 7 et pH 10, car il se décompose facilement en oxygène, et il a une faible solubilité dans l'eau d'à peine 570 mg L^{-1} à 20°C (Ghardia, 2021; Heim et Glas, 2011; Kells *et al.*, 2001; Kumar, P. et Sathyamurthy, 2013). Même moins réactif que le fluor moléculaire (Potentiel redox de 2.87 V) considéré comme l'agent le plus oxydant, l'ozone présente un pouvoir oxydant très élevé dû à son potentiel Redox plus fort (2.07 V) que celui du chlore (1.35-136 V) et de l'oxygène moléculaire même (0.40 V dans l'eau neutre et 0.7 V en milieu acide). Ceci explique la forte multiplicité des réactions d'oxydation qui rend complexe les processus d'ozonation.

Il existe de nombreux domaines d'application de l'ozone dans l'industrie tels que l'hygiène des surfaces alimentaires, l'assainissement des équipements des usines alimentaires, la réutilisation des eaux usées, la dégradation de polluants, etc (Boudissa, Farida *et al.*, 2019a; Boudissa, Farida *et al.*, 2020a; Larouk, Safa *et al.*, 2017; Mirilă *et al.*, 2020b; Shahidi *et al.*, 2014; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015a; Wang, J. et Chen, 2020; Zekkari *et al.*, 2022). Les effets bactéricides de l'ozone ont été documentés sur une grande variété d'organismes, y compris les bactéries Gram positives et Gram négatives ainsi que les spores et les cellules végétatives. Il a été démontré que l'ozone désactive une large gamme de virus, notamment les virus de l'encéphalomyélite équine vénézuélienne, l'hépatite A, la grippe A, la stomatite vésiculeuse et la rhinotrachéite infectieuse bovine, ainsi que plusieurs souches de bactériophages (Guzel-Seydim *et al.*, 2004). L'ozone est aussi utilisé en dentisterie et en médecine, son application pendant 10 ou 20 secondes est efficace pour tuer la plupart des micro-organismes dans la racine cariée. L'application de 10 secondes serait également capable de réduire le nombre de *Streptococcus mutans* et de *S. sobrinus* in vitro.

L'ozonation est largement appliquée à grande échelle, plus particulièrement en Europe. L'ozonation se déroule en deux voies : l'une dite « directe » impliquant la réaction directe avec les

molécules d'ozone non dissociées et l'autre dite indirecte conduisant à la décomposition de l'ozone en radicaux, essentiellement de type hydroxyle (OH^\bullet). La seconde voie est connue pour être favorisée par les milieux alcalins qui fournissent les ions hydroxyle considérés comme précurseurs de ce genre de radicaux. Les réactions de l'ozone avec la matière organique conduisent généralement à la formation d'aldéhydes et d'acides carboxyliques. Contrairement l'ozonation directe avec l'ozone moléculaire, les réactions des radicaux hydroxyle avec les molécules organiques sont rapides et non sélectifs.

1.5.1 Ozonation catalysée par les cations

La combinaison de l'ozone avec un catalyseur dissout (cations métalliques) ou solide insoluble dans une phase liquide (généralement l'eau, car tout solvant organique est consommateur compétitif d'ozone) résulte en deux types de processus catalytiques dits homogène et hétérogène. Le terme « homogène » provient en quelque sorte d'une utilisation abusive, car il ne devrait être rapporté qu'au terme « catalyse » et non pas forcément au processus global d'ozonation. En effet, l'ozonation est intrinsèquement et initialement un processus hétérogène : l'ozone gazeux en bulles peut déjà réagir à l'interface avec les molécules organiques dissoutes ou simplement dispersées dans le milieu liquide (**Schéma 1.3**).

En présence d'argile cationique, l'ozone peut se dissoudre et s'adsorber ensuite. Ces trois espèces d'ozone peuvent directement interagir avec les molécules organiques dissoutes, dispersés ou adsorbés avant ou après interaction avec le cation libéré en solution et/ou la surface solide. L'ozonation catalytique est un processus tellement complexe que des interactions ternaires avec toutes les espèces en présence restèrent possibles. L'ozonation catalytique devrait entraîner une décomposition de l'ozone par les ions métalliques et la formation des radicaux libres (Gracia *et al.*, 1996) et/ou la formation de complexes entre la molécule organique et le catalyseur, conduisant à la formation des radicaux hydroxyles responsables de l'oxydation du complexe (Beltrán *et al.*, 2005).

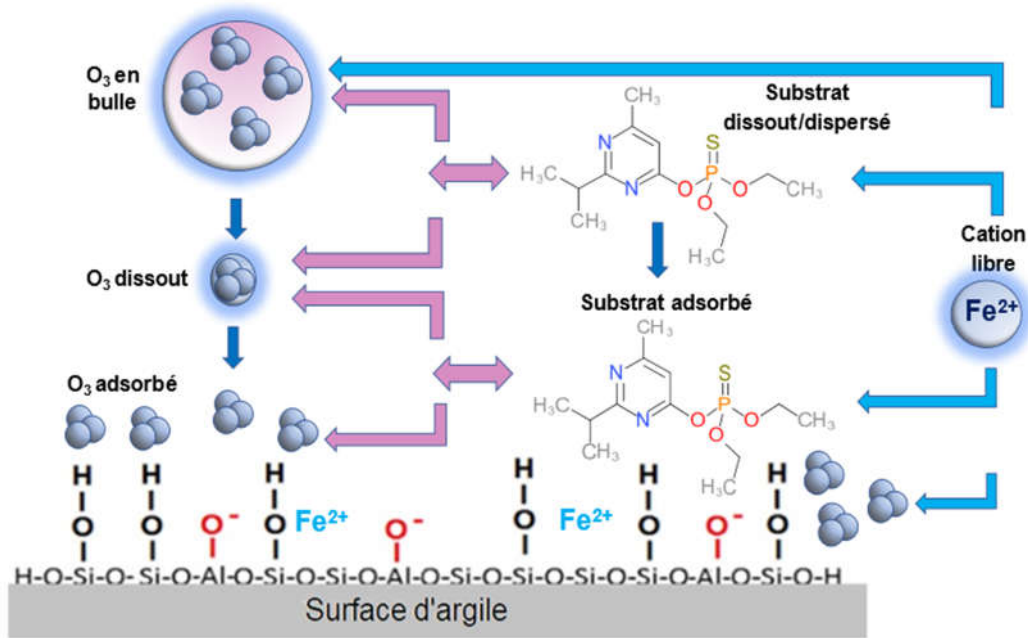
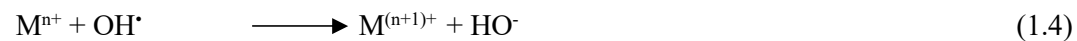
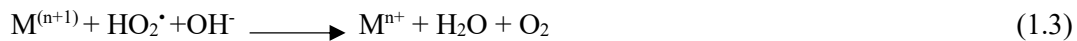
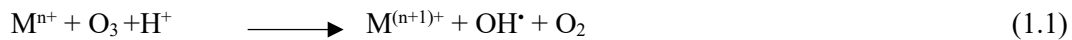


Schéma 1.3. Représentation synthétique de modes d'interaction potentielles du diazinon en catalyse hétérogène. Bleu : interaction cationique libérée avec l'ozone gazeux, dissout et adsorbé. Rose : Interaction du substrat organique avec les trois espèces d'ozone.

Le mécanisme de la décomposition de l'ozone catalysée par un cation métallique est supposé avoir lieu par interaction directe entre les deux espèces avec régénération du cation selon les réactions *1.1-1.4* (Beltrán *et al.*, 2003; Staehelin et Hoigne, 1985; Wang, J. et Chen, 2020).



La régénération des ions métalliques réduit devrait se produire via l'oxydation par les radicaux HO_2^{\cdot} formés lors de la décomposition de l' O_3 (Tang et Tassos, 1997). Plusieurs cations métalliques, plus particulièrement ceux de transition ont montré une efficacité comme catalyseurs dans l'ozonation (Beltrán *et al.*, 2005; Nawrocki et Kasprzyk-Hordern, 2010). Certains sont présentés dans le **Tableau 1.4**.

Tableau 1.4. Catalyseurs cationiques (ions métalliques) pour l'ozonation.

Composé organique	Cat ^a	[Cat] (mg L ⁻¹)	O ₃ dose mg L ⁻¹	pH	Temps (min)	Rend (%) ^b	Réf
Simazine	Mn(II)	> 0.2	9	9	30	> 90	(Rivas <i>et al.</i> , 2001)
Acide Benzoïque		500			60	80	
Acide Oxalique	Cu(II)	4000	30	2	60	70	(Shabalina <i>et al.</i> , 2012)
Méthylène bleu		-			1	100	
Monochlorobenzène	Fe(II)	6. 10 ⁻⁵ M	-	7	20	100	(Cortes <i>et al.</i> , 2000)
Phénol	Fe(II)	2	-	3.5- 4	60	90	(Barrault <i>et al.</i> , 2000)
Acide formique	Co(II)		8.5	2.8- 3.1	35	60.2	
Acide oxalique	Co(II)	4	12.8	2.2- 2.8	30	99.3	(El-Raady et Nakajima, 2005)
Acide maléique	Cu(II)		-	2.3- 4.1	45	100	
Acide nitrique	Ce(III)	50 mM	130	-	180	95	(Matheswaran <i>et al.</i> , 2007)
Acide citrique	Mn(II)	4	-	5.5	60	90	(Abd El-Raady <i>et al.</i> , 2005)
Méthyl orange	Fe(II)	1 mM	40	4	-	73	(Ge <i>et al.</i> , 2016)

*Cat : concentration du catalyseur

^bRend : Rendement

Plusieurs paramètres tels que le pH de la solution et la concentration du cation peuvent influencer à la fois l'efficacité du processus d'ozonation et son mécanisme et bien-sûr la toxicité du mélange ozoné. Les cations Cu(II) s'avèrent être les catalyseurs les plus performants avec des rendements de conversion variable de 70-100% selon la structure moléculaire du substrat organique et la quantité de catalyseur. Néanmoins, la toxicité de ce cation le rendrait moins intéressant au profit de Fe(II), qui de loin beaucoup moins toxique et plus recyclable. Dans le traitement de l'eau, l'ozonation catalysée par les cations impose leur élimination ultérieure, rendant sa mise en œuvre à grande échelle peu pratique.

1.5.2 Ozonation catalysée par les solides

Le recours à des catalyseurs solides insoluble apparaît comme une alternative plus prometteuse pour l'ozonation catalytique. La simple présence d'une surface permet d'améliorer la contribution de l'adsorption, qui est souvent une étape-clé du processus global d'ozonation (Muruganandham et Wu, 2008). Jusqu'à présent, une grande variété de supports solides a été testé dans des processus d'ozonation. Parmi ceux-ci, il y a lieu de citer les oxydes métalliques (MnO₂, TiO₂, Al₂O₃, FeOOH et CeO₂), les métaux (Cu, Ru, Pt, Co) aussi bien sous formes de cations que micro-ou

nanoparticules supportées sur certains solides tels les SiO₂, Al₂O₃, TiO₂, CeO₂, les charbons actifs, les zéolites modifiées avec des métaux et les minéraux argileux. Certains de ces catalyseurs sont présentés dans le **Tableau 1.5**.

Il est à noter que le phénol, certains colorants organiques et les chlorophénols semblent pouvoir se dégrader totalement pour des durées d'ozonation comprises entre 9 et 120 min en présence d'oxydes mixtes et d'argiles pontées, selon la structure moléculaire du substrat organique. La comparaison des tableaux 1.4 et 1.5 montre statistiquement des consommations d'ozone variant de 9 à 130 mg L⁻¹ en présence de cations et de 3,5 à 50 mg L⁻¹ pour des temps en présence de catalyseurs solides pour approximativement le même domaine de variation de la durée de l'ozonation. Les principaux critères pour un choix judicieux d'un catalyseur solide adéquat sont son inertie vis-à-vis de l'ozone, une grande surface spécifique pour favoriser l'adsorption, une porosité élevée pour éviter des phénomènes de freinage à la diffusion des réactifs, intermédiaires et des produits.

Les aluminosilicates présentent un avantage supplémentaire absent dans la presque totalité des autres solides testés à ce jour, à savoir la présence de charges négatives de surface qui rend possibles plusieurs types de modifications incluant l'échange d'ion. Lorsqu'elles sont compensées par des cations multivalents, ces charges négatives de surface causent une délocalisation et souvent une légère mobilité de ce cation selon le pH du milieu aqueux.

Ceci peut induire une distribution hétérogène de forces électrostatiques d'attraction-répulsion très bénéfiques à la catalyse, car favorisant l'adsorption et l'induction de dipôles sur les molécules d'ozone et de substrat organique. En tant qu'aluminosilicates lamellaires, les minéraux argileux présentent une structure en couches et une capacité d'échange d'ions qui permettent leur intercalation par différentes molécules organiques et des ions (Dasgupta et Toeroek, 2008). Cette intercalation permet de modifier la taille des pores et donc la porosité en fonction des tailles des particules insérées dans l'espace interlamellaire. Les argiles sont abondantes dans la nature, peu coûteuses, non-polluantes et recyclables, ce qui a stimulé leur utilisation dans plusieurs industries dont la fabrication des céramiques telle la porcelaine, des briques, des plastiques, des peintures, du papier, du caoutchouc, des cosmétiques et bien d'autres.

Tableau 1.5. Catalyseurs solides pour l'ozonation.

Composé organique	Catalyseur	Cat (g L ⁻¹) ^a	O ₃ dose mg L ⁻¹ min ⁻¹	Tem ps (min)	pH	Conv. (%) ^b	Réf
Phénol	(Al-Fe)-PILC	10	-	25	3.5–4	100	(Barrault <i>et al.</i> , 2000)
Acide salicylique	Al ₂ O ₃	130.43	0.652	10	7.2	52.3 (TOC)	(Vel Leitner <i>et al.</i> , 1999)
Substances humiques						47.2 (TOC)	
Acide succinique	Ru/CeO ₂	0.8	0.833	60	3.4	55	(Legube et Leitner, 1999)
Xylène	Cu 1.1-(Al-PILC)	0.05	-	60	2	28.2	(Bahranowski <i>et al.</i> , 1999)
Toluène				60		26.5	
Alachlore	Cu/Al ₂ O ₃	-	0.488	30	6.15	> 95	(Qu <i>et al.</i> , 2004)
					-		
					6.45		
Nitrobenzène	MnOx-0.01/MCM-41	1.0	0.975	10	6.91	88.9	(Sui <i>et al.</i> , 2011)
Réactif rouge 198 (colorant azoïque)	MgO	5	22.22	9	8	100	(Moussavi et Mahmoudi, 2009)
CI Réactif Bleu 5	AC ₀ -Ce-O	0.5	-	120	5.6	100 (TOC)	(Faria <i>et al.</i> , 2009)
2,4,6-trichloroanisole	γ-AlOOH	0.2	0.05	10	5.8	80.3	(Qi <i>et al.</i> , 2009)
Eaux usées	SnO ₂ /NH ₄ OH	2.5	-	60	4.25	60.24	(Zeng <i>et al.</i> , 2009)
Acide oxalique				300		85	
Chloroéthanol	Al ₂ O ₃			300		17	
Chlorophénols				30		84	
Acide oxalique				300		88	
Chloroéthanol	Fe ₂ O ₃ /Al ₂ O ₃	-	0.4	300	-	45	(Cooper, C. et Burch, 1999)
Chlorophénols				30		100	
Acide oxalique				300		87	
Chloroéthanol	TiO ₂ /Al ₂ O ₃			300		47	
Chlorophénols				30		100	
Acide oxalique	Fe ₂ O ₃ /Al ₂ O ₃	1.25	0.166	180	2.5	30	(Beltrán <i>et al.</i> , 2005)
Nitrophénol	CuO/Al ₂ O ₃	2	17.5	5	5.6-	67.9	(Udrea et Bradu, 2003)
Chlorophénols					6.0	74.9	

^aCat : concentration du catalyseur

^bConv. (%) : Rendement de conversion du pesticide par ozonation

^cTOC : rendement de dégradation sur la base du carbone organique total.

Parmi les différents groupes de minéraux argileux, les smectites sont une famille de plusieurs minéraux tels que la montmorillonite, la saponite, la vermiculite, la nontronite, la hectorite, la

sauconite, et la beidellite. Ces derniers diffèrent par le nombre, le type et la succession de leurs couches. La bentonite est un matériau argileux de type smectite très répandu sur Terre, étant composée majoritairement de montmorillonite et d'autres minéraux comme le feldspath, la biotite, le quartz, les pyroxènes et le zircon (Bergaya et Lagaly, 2006; Murray, 2007).

1.5.3 Ozonation catalysée par la montmorillonite et les silices mésoporeuses

La montmorillonite est un minéral argileux intéressant à étudier à cause de ses propriétés de surface assez particulières. Celles-ci peuvent être considérablement améliorées par de simples procédures, fournissant des matériaux efficaces pour l'adsorption et la catalyse (Bergaya et Lagaly, 2006), (Kaur et Kishore, 2012; Nagendrappa, 2002b). Elle est constituée de lamelles de silicate d'aluminium hydraté composées chacune de deux couches tétraédriques de silice (Tétraèdre SiO_4) (T) et d'une couche octaédrique centrale d'alumine (Octaèdre $\text{Al}(\text{OH})_6$) (O) (Schéma 1.4).

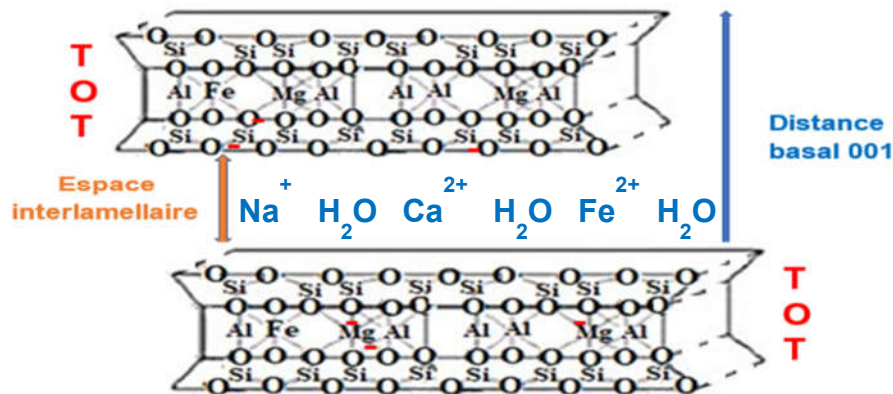


Schéma 1.4. Configuration de deux lamelles de montmorillonite.

La substitution isomorphique de l'aluminium trivalent dans les octaèdres par des cations bivalents génère une charge négative excédentaire compensée par des cations. En présence de molécules d'eau, l'espacement interfoliaire de la bentonite s'agrandit, induisant le gonflement de l'argile. Ceci facilite l'échange des cations interfoliaires, généralement Na^+ , K^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} dans la nature en l'absence de pollution métallique. Dans la montmorillonite sèche, les cations échangeables sont situés dans les cavités hexagonales de la couche de silice, mais lors de l'hydratation, les cations se déplacent dans l'espace interfoliaire (Nagendrappa, 2002a). Ces

déplacements induisent des délocalisations de charges bénéfiques pour la catalyse hétérogène. Ils varient en fonction du pH et peuvent même entraîner l'échange d'ion par les protons d'une eau acide. Plusieurs travaux ont été réalisés à ce jour dans notre laboratoire sur l'activité catalytique de silices mésoporeuses de types Santa-Barbara Amorphous (SBA-15 et SBA-16) ou Mobil Composition of Matter (MCM-41 et MCM-48), de bentonites naturelles et activées à l'acide sulfurique (HMt) et de montmorillonite échangées par les cations Na⁺ (NaMt), Fe²⁺ (Fe(II)Mt) et Co²⁺ (Co(II)Mt) entre autres (**Tableau 1.6**).

Tableau 1.6. Quelques substrats organiques ozonés en présence de smectites.

Substrat organique	Catalyseurs		Temps (min)	pH	Conv. (%) ^b	Réf.
	Type	Conc. (g L ⁻¹)				
Bleu de méthylène, vert et orange de méthyle, bleu de thymol de méthyle	Bentonite Bentonite activée à l'acide (HMt) ^a , NaMt et Fe(II)Mt	2	5	Intrinsèque	100	(Boudissa, Farida <i>et al.</i> , 2019a)
Bleu de méthylène	Montmorillonite type K10	0.25	40s	7.58	99	(Mirilä <i>et al.</i> , 2020b)
Vert malachite			(Avec 0.022 g d'O ₃)	6.7	95	
17 α -éthynylestradiol	Fe(II)Mt	2	1	3	96	(Boudissa, Farida <i>et al.</i> , 2020a)
17 α -éthynylestradiol	SBA-15, SBA-16, MCM-41 et MCM-48	2	-	-	100	(Zekkari <i>et al.</i> , 2022)
Sulfaméthoxazole et phénol	Fe(II)Mt	1.91	10	2.8	100	(Shahidi, Dariush, Moheb, Amira, <i>et al.</i> , 2015)
Orange-G	Hématite ou SBA-16	2	5	7.37	100	(Larouk, Safa <i>et al.</i> , 2017)
Diazinon	NaMt	2	30	8.0	100	(Benghaffour <i>et al.</i> , 2022)
Diclofénac sodium			10	5.8		
Acide lactique	NaMt	2.5	15	2.8	97	(El Baktaoui <i>et al.</i> , 2022)
Bisphénol A	HMt-1h	2	30	3	90	(Foka Wembe <i>et al.</i> , 2023)
Acide oxalique	Co(II)Mt	1.88	15	2.87	100	(Shahidi <i>et al.</i> , 2014)
	Fe(II)Mt	1.91		2.88		

^a L'activation d'une bentonite naturelle fournie par Aldrich par l'acide sulfurique concentré à des temps de contact de 1, 4, 8, 15 et 24 heures a permis l'obtention d'échantillons désignés par HMt-1, HMt-4, HMt-8, HMt-15 et HMt-24.

^bConv. (%) : Rendement de conversion du substrat organique par ozonation.

Débit d'ozone produit à partir de l'air : 600 mg h⁻¹, soit 0.208 mmol min⁻¹.

Une analyse synthétique des résultats obtenus montre que l'ozonation produit des taux de conversion de 95-100% variable selon la paire substrat-catalyseur. Ces performances élevées n'impliquent pas forcément une minéralisation totale, mais ont été réalisées à des pH essentiellement neutres à acides, à quelques exceptions près, pour des temps de réaction n'excédant

pas 30 min. Dans ce domaine de pH, l'action de l'ozone moléculaire est théoriquement largement prépondérante. L'action de l'ozone moléculaire devrait être beaucoup plus sélective qu'un mécanisme radicalaire, plus probable en domaine de pH alcalin où les anions hydroxyle, précurseurs connus du radical homonyme, prédominent. Ces données permettent d'ores et déjà de considérer ces catalyseurs comme intéressants à étudier.

1.6 Espèces pour l'évaluation de l'écotoxicité de polluants oxydés

La littérature scientifique ne fournit pas d'études globales évaluant l'écotoxicité de mélanges de polluants organiques partiellement oxydés en présence d'argile sur deux espèces vivantes simultanément. C'est ce qui a motivé cette recherche en ciblant dans une étude comparative une espèce animale, *Artemia salina*, et une espèce végétale, la plante aquatique *Lemna minor* comme modèles pour les essais éco-toxicologiques.

1.6.1 *Artemia salina* (*A. salina*)

Les artémies sont des micro-crustacés de la classe des branchiopodes qui appartient à la famille des Artémiidés (Barcellos *et al.*, 2022). Ces espèces sont largement répandues à travers le monde, dans des lacs et des étangs à forte salinité variant entre 60-300 ppt (Kumaresn *et al.*, 2015; Munteanu *et al.*, 2011). Elles tolèrent des températures de 10 à 30 °C et des pH allant de 7 à fortement alcalin (Persoone *et al.*, 1989). Les habitudes de reproduction des différents groupes de population varient considérablement. Dans certaines parties de l'Europe, la parthénogenèse est la norme, les mâles étant rares ou absents, mais en Amérique du Nord, la plupart des populations d'artémies semblent être diploïdes avec des mâles communs (**Figure 1.1**). L'utérus d'une femelle de *A. salina* peut contenir jusqu'à 200 œufs. Ces derniers peuvent résister longtemps à l'état sec, mais deviennent activées lorsqu'ils sont hydratés. Les œufs peuvent être conservés longtemps à l'état déshydratés au congélateur et tolèrent des températures en dessous de 0 °C et jusqu'à près du point d'ébullition de l'eau (Edition, 2002). Le cycle de vie de *A. salina* est de six mois dans lequel les larves nauplius passent par différents stades avant d'atteindre l'état adulte (Canuel, 2017).

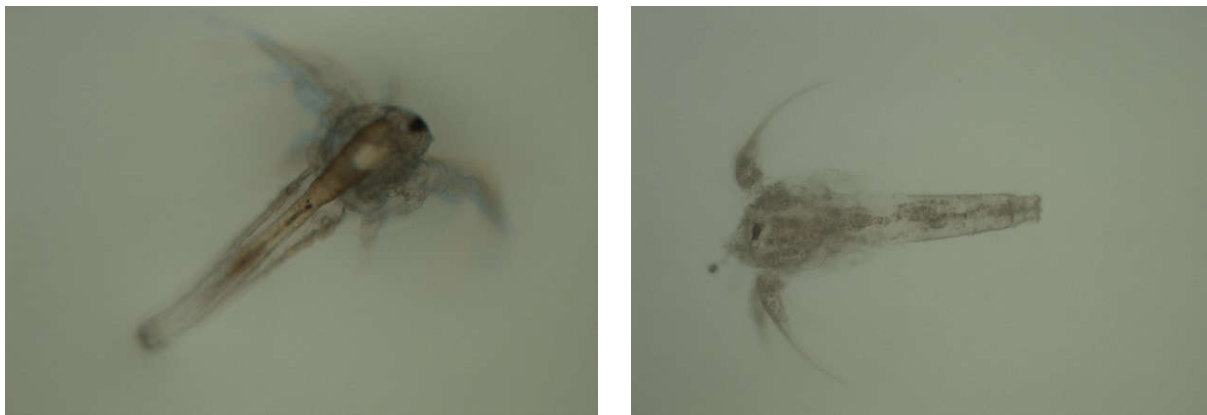


Figure 1.1. Photographie d'*Artemia salina* (Prise au laboratoire le 26 mars 2021).

À maturité, les artémies ont trois yeux et 11 paires de pattes. Le corps est composé de trois segments : tête, thorax et abdomen. Le mâle adulte atteint 8 à 10 mm de long, et la femelle 10-12 mm) (Vanhaecke *et al.*, 1987). Dans des conditions naturelles, *Artemia salina* se nourrit de microalgues, de protozoaires, de bactéries et de détritiques organiques. Leur mode d'alimentation consiste à filtrer et éliminer les particules fines en suspension (Munteanu *et al.*, 2011). Les populations d'artémies se reproduisent mieux lorsqu'elles sont nourries avec des algues, des fibres de riz (Sorgeloos *et al.*, 1978), de la farine de soja ou de la poudre de lactosérum (Bruggeman *et al.*, 1979). Les nauplius n'ont pas besoin de nourriture pendant quatre jours après l'éclosion. Les espèces *A. salina*, en premier stade (Nauplius) sont utilisés comme des aliments vivants pour de nombreuses espèces de poissons et d'animaux aquatiques désignés comme fruits de mer. En raison de sa large répartition géographique et de sa résistance à plusieurs conditions environnementales (températures, pH et salinités), c'est l'un des organismes les plus utilisés régulièrement depuis les années 1950 dans des études toxicologiques de différentes substances chimiques (Lima, C. P. d. *et al.*, 2011).

La durée standard des tests éco-toxicologiques sur les artémies est de 48 h. Néanmoins des tests de 14 jours ont aussi été développés (Manfra *et al.*, 2012). Des bio-essais standards ont été effectués sur différentes classes de composés chimiques tels le bifenthrine, l'imidaclopride, le diflubenzuron, le glyphosate (Demarco *et al.*, 2022), le diazinon (Bustos-Obregon et Vargas, 2010) et l'atrazine (Barcellos *et al.*, 2022). Ces espèces provoquent des sécrétions d'hormones de type œstrogène humain, semblable à la progestérone humaine entre 0.7 à 0.8 mg (Storicescu et Munteanu, 1977).

Ces hormones sont utilisées pour traiter les maladies gynécologiques telles l'insuffisance ovarienne et l'infertilité.

1.6.2 *Lemna minor* (*L. minor*)

Cette espèce végétale, appelée couramment lentille d'eau, est une macrophyte aquatique vasculaire de petite taille appartenant à la famille des lemnacées. *L. minor* se trouve assez fréquemment à la surface des eaux stagnantes, des étangs, des lacs et des cours d'eaux calmes. Elle a une structure morphologique simple avec des frondes flottantes et des racines fines immergées (**Figure 1.2**). Cette plante est répandue en Amérique du Nord, en Asie, en Afrique et en Europe. Ses frondes atteignent une longueur d'environ 2.5 mm et restent flottantes au-dessus de la surface de l'eau. La longueur des racines et des frondes varie généralement en fonction de la concentration d'azote (à la fois de nitrate et d'ammoniaque) et de phosphore. Elle se reproduit par des clones de manière végétative (Dasgupta et Toeroek, 2008). Ces frondes inhibent le développement d'autres macrophytes parasites, limitant jusqu'à 99 % leur accès à la lumière (Hasan et Rina, 2009). *L. minor* se présente dans des eaux à température variant de 6 à 33°C et tolère une large gamme de pH de 5 à 9 (Pala *et al.*, 2019). *L. minor* préfère les endroits peu profonds avec une faible turbulence de l'eau et riches en électrolytes (Pikosz et Messyasz, 2016).



Figure 1.2. Photographies de *Lemna minor* (Prise au laboratoire).

La croissance et le taux de survie sont influencés par le pH, la température de l'eau, les concentrations de nutriments, la présence et les concentrations de toxines dans l'eau, ainsi que la compétition avec d'autres plantes pour la lumière et les nutriments (Bartošová *et al.*, 2015). Néanmoins, la température et la disponibilité de la lumière sont les facteurs qui stimulent le plus la croissance et le développement de *L. minor* (Bartošová *et al.*, 2015). Cette plante a la capacité d'absorber les minéraux ainsi que le phosphore et le potassium présents dans l'eau (Gostyńska *et al.*, 2022). *L. minor* ainsi que les autres lemnacées ont aussi un grand potentiel économique et de nombreuses applications pratiques dans les domaines biotechnologiques et écologiques (Cascone *et al.*, 2004; Forni *et al.*, 2012). Elles sont largement utilisées pour déterminer les potentiels risques de toxicité de différentes substances polluantes telles le diazinon, le bisphénol A, l'atrazine, le diclofénac sodium (Foka Wembe *et al.*, 2023), le palladium (Jmii et Dewez, 2021), les nanoparticule d'argent (Dewez *et al.*, 2018; Oukarroum *et al.*, 2013), le cuivre (Perreault *et al.*, 2014), les nanoparticules d'oxyde de nickel (Oukarroum *et al.*, 2015) et autres contaminants (Dewez *et al.*, 2002) (**Tableau 1.7**). Ces données montrent que toutes les molécules organiques présentées ici manifestent une toxicité à des degrés différents envers *L. minor*, confirmant ainsi la sensibilité de cette espèce et justifiant son choix judicieux dans cette recherche.

Les plantes subissent constamment des changements environnementaux. Ces changements peuvent provoquer des stress qui altèrent l'homéostasie cellulaire. Ceci se traduit par une surproduction d'espèces réactives dérivant de l'oxygène, ERO (Reactive oxygen species, ROS), qui affectent la physiologie des plantes (Emamverdian *et al.*, 2015; Mittler, 2002; Parent *et al.*, 2008). Les ERO telles le superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et les radicaux hydroxyle (OH^{\cdot}), sont produites naturellement par des processus métaboliques lors des conditions optimales de croissance des végétaux. La majorité de ces espèces sont générées par des mécanismes photochimiques. Les cellules végétales possèdent de mécanismes de défense contre ces ERO et une capacité de neutraliser leur production. Lorsque la production des ERO est excessive et que les mécanismes de défense n'arrivent pas à les neutraliser, un phénomène dit « stress oxydatif » se produit. Les cellules photosynthétiques qui produisent et consomment de l'oxygène sont prédisposées au stress oxydatif parce qu'elles disposent les pigments photosensibles.

Dans les tissus végétaux, les ERO telles l'oxygène singulet et l'anion superoxyde sont issus principalement d'un système de transport d'électrons liés à la photosynthèse. Ainsi l'oxygène est

activé dans différents compartiments et organelles, chloroplastes, mitochondries, réticulum, peroxyosomes et parois cellulaire. Ainsi, l'étape primaire de la photosynthèse est initiée par deux principaux processus consommateurs d'oxygène ayant lieu dans les chloroplastes (Vangronsveld *et al.*, 1997) : 1. la réduction directe de l'oxygène moléculaire par la chaîne de transfert d'électrons du photosystème I (PS I) et 2. l'activité oxygénase de la Ribulose 1,5-biphosphate carboxylase (Rubisco).

Tableau 1.7. Toxicité de polluants organiques sur *L. minor* après 7 jours d'incubation.

Composé	Catégorie	Concentration testé (mg L ⁻¹)	Milieu testé	EC ₅₀ (mg L ⁻¹)	Réf	
Atrazine	Herbicide	Entre 0 et 1.06	Swedish Standard	0.128	(Klementová <i>et al.</i> , 2019b)	
17 α -éthynylestradiol	Œstrogène synthétique	Entre 0.63 et 10	Swedish Standard	7.2	(Markovic <i>et al.</i> , 2021)	
Diclofénac sodium	Anti inflammatoire	Entre 1.0 et 32		17		
Cilfoxacine	Antibiotique	40 (test de 5j)	Solution d'Hoagland	-	(Lima, A. <i>et al.</i> , 2021)	
Atrazine	Herbicide	-	Eau enrichie en nutriments	0.153	(Fairchild <i>et al.</i> , 1997b)	
Simazine				(Test de 4j)		0.166
Paraquat						0.051
Imazamox	Pesticide	Entre 0.018 et 0.091	Steinberg stérilisé	0.036	(Li, R. <i>et al.</i> , 2022)	
Diuron	Herbicide	Entre 0.0001 et 1	Inorganique et stérile	0.0283	(Gatidou <i>et al.</i> , 2015)	
Linuron				0.0305		
Monolinuron				0.300		
Métazachlore	Herbicide	Entre 0.0006 et 0.15	Steinberg modifié	0.0028	(Müller <i>et al.</i> , 2010)	
		Entre 0.004 et 0.064	Eau de mésocosme	0.0047		
Sulfadiazine	Antibiotique	1.5	Steinberg stérilisé	0.68	(Fabińska <i>et al.</i> , 2014)	
Sulfathiazole		2.5		4.84		
Sulfamerazine		0.15		0.07		
Sulfamethazine		2.5		1.74		
Sulfa-diméthoxine		0.05		0.02		

Il a été démontré que le stress oxydatif se produit chez les plantes exposées à une variété de facteurs environnementaux comme la salinité, la sécheresse, la présence de métaux, les températures extrêmes, le rayonnement ultraviolet, les polluants atmosphériques comme l'ozone ou le dioxyde de soufre ainsi que les pesticides et autres polluants organiques (Inze et Van Montagu, 1995; Xie *et al.*, 2019). Les pigments photosynthétiques sont des molécules colorées capables d'absorber des gammes de longueur d'onde distinctes de la lumière. Ce sont des composés

liposolubles (Saleem *et al.*, 2021) tels les caroténoïdes, les chlorophylles, les xanthophylles, les violaxanthines et autres (Baker, 2008; Horton *et al.*, 1996; Karp *et al.*, 2018; Liang *et al.*, 2022; Qiu, Zhiyong *et al.*, 2013). Parmi ceux-ci, les chlorophylles sont de couleur verte, et se trouvent dans toutes les plantes, les algues et le phytoplancton. Les teneurs en chlorophylles permettent de prédire la croissance de la biomasse des plantes. Toute variation des teneurs en chlorophylles est un indicateur de stress dû à un changement d'un paramètre environnemental tel que la température, l'humidité et la présence des polluants. L'évaluation des variations des teneurs en chlorophylles est un important critère d'évaluation de l'écotoxicité des polluants organiques, car il permet de signaler les facteurs de stress environnementaux tels que l'augmentation des niveaux de polluants résultant des activités anthropiques (Talebzadeh et Valeo, 2022). Il fait l'objet de la présente recherche.

CHAPITRE 2

APPROCHES MÉTHODOLOGIQUES ET PRINCIPES DES MÉTHODES D'ANALYSES

2.1 Préparation des matériaux argileux

Les différents matériaux argileux ont été préparés sur la base d'une bentonite (Sigma Aldrich). La bentonite brute est composée de diverses substances minérales, telles que le quartz, la cristobalite, les feldspaths et plusieurs sortes de minéraux argileux. Le composant majeur de la bentonite est la montmorillonite, qui est une smectite di-octaédrique. La forme sodique de montmorillonite (NaMt) est préparée à partir d'un échange d'ion de NaCl et la bentonite. Cet échange permet une purification de la bentonite par différence de densité pour séparer par décantation la phase lamellaire cristalline (montmorillonite) des cendres volcaniques plus denses donc plus lourdes. Pour cela, une suspension a été formée en mélangeant une quantité d'environ 200 g de bentonite et 70 g de NaCl dans 2 L d'eau distillée. Ensuite, le mélange a été chauffé pendant 7 h à 80 °C et sous une forte agitation. Après 24 h, la suspension est centrifugée pendant 20 min à 17709 g. Par la suite, la phase supérieure du surnageant et la phase inférieure d'impureté sont éliminées.

La suspension d'argile est gardée puis mélangée avec de l'eau distillé sous agitation jusqu'à homogénéisation. Les étapes de lavage et de centrifugation sont répétées plusieurs fois jusqu'à disparition du chlore. Un test d'AgNO₃ est utilisé pour vérifier la présence de ce dernier. Un précipité blanc d'AgCl est formé lors de la neutralisation des ions de chlorure avec le AgNO₃. L'absence de ce précipité est une preuve de la disparition de chlore et la fin du lavage répétitif. La pâte d'argile obtenue est ensuite séchée à l'étuve à 40 °C pendant 24 h, et ensuite gardée dans des contenants en verre (Shahidi *et al.*, 2014).

D'autres formes de montmorillonites tel que le Fe(II)Mt, KMt, CaMt, MgMt sont préparées par l'échange d'ion de NaMt préalablement préparé avec leur sel minéral FeCl₂, KCl, CaCl₂, MgCl, respectivement (**Schéma 2.1**). Pour ce faire, 3 g de NaMt et 1 g de chaque sel correspondant ont

été introduit dans un 100 mL d'eau distillée suivant la même procédure de préparation de NaMt (Kahr et Madsen, 1995).

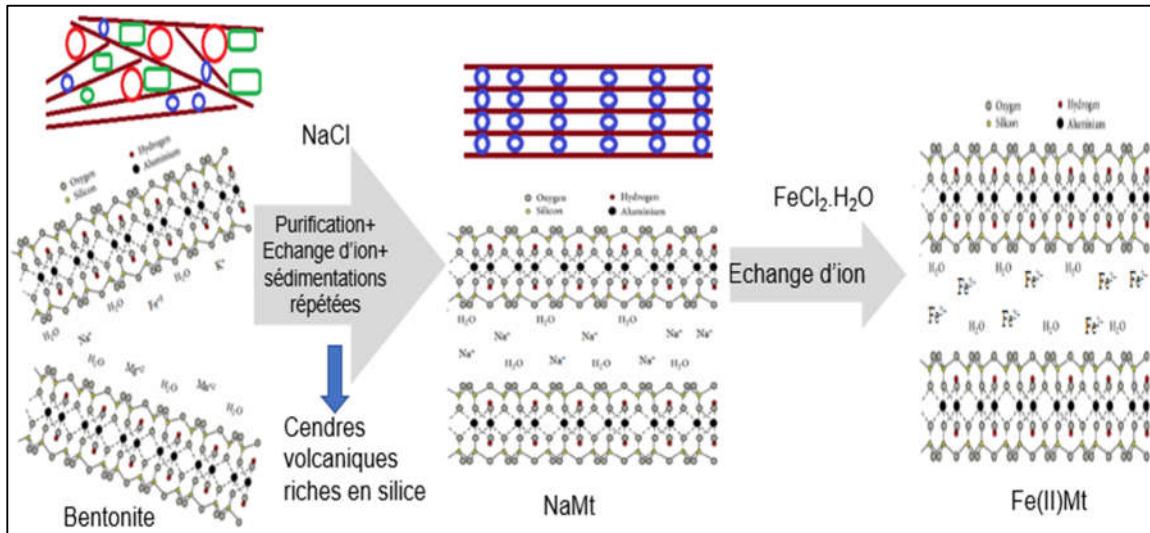


Schéma 2.1. Représentation schématique de la méthode de préparation des argiles échangées.

La bentonite a été aussi activée par l'acide sulfurique pendant 1, 4, 8, 15 h. Cette activation a pour but d'augmenter l'activité catalytique de la montmorillonite. Le traitement par l'acide sulfurique sert **1.** à éliminer les atomes d'aluminium dans la couche octaédrique; **2.** substituer les différents types de cations se trouvant dans l'espace interfoliaire par des cations hydronium (désignés H^+); Ceci a pour effet de réduire le caractère hydrophile qui masquait les interactions hydrophobes des groupements siloxy.

Une activation sévère de plus de 24 h risque d'éliminer totalement la couche octaédrique, ce qui résultera en une argile silicique (silice amorphe) (Neji et al., 2009). Pour la préparation, on a suivi la procédure d'Arus (Arus et al., 2018) avec quelques modifications. Pour ce faire, 200 g de bentonite brute et 1 L d' H_2SO_4 (5 M) sont mélangés. Le mélange est ensuite agité à 80 °C pendant différents temps : 1, 4, 8, 15 h. La suspension obtenue est ensuite laissée refroidie pendant 24 h suivie d'une centrifugation à 17709 g pendant 15 minutes (**Schéma 2.2**). Par la suite, le surnageant est séparé, puis l'argile est lavée à plusieurs reprises pour éliminer l'excès d'acide sulfurique. La pâte qui résulte est séchée à 80 °C pendant 12 h puis conservée. Les matériaux argileux obtenus ont été désignés par HMt-1h, HMt-4h, HMt-8h, HMt-15h selon le temps d'activation. Un autre

matériel argileux a été utilisé comme catalyseur dans les réactions d'ozonation, il est nommé hydrotalcite (Fluka). Cette argile anionique a été utilisée tel que reçu sans aucune modification.

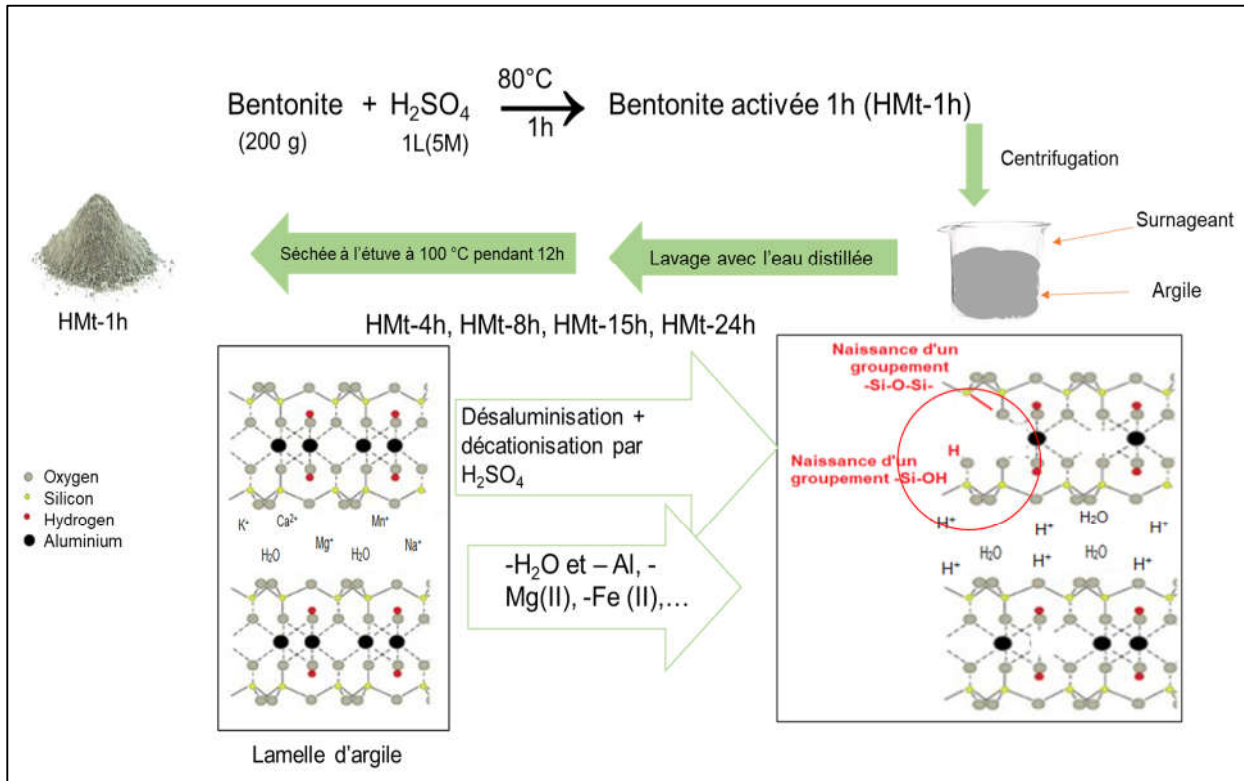


Schéma 2.2. Représentation schématique de la préparation des argiles activées à l'acide sulfurique.

2.1.1 Caractérisation des matériaux argileux

2.1.1.1 Par diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X (DRX) est une technique non destructive qui ne nécessite aucune préparation d'échantillon particulière à un large éventail d'analyses de matériaux, y compris les minéraux, les métaux, les polymères, les céramiques, les plastiques, les semi-conducteurs, etc (Ameh, 2019). La DRX permet de détecter les phases cristallines présentes dans un matériel ainsi que leurs proportions. Elle utilise des rayonnements ionisants émis par un tube à rayons X. Cette technique consiste à faire diffracter le faisceau de rayons X sur l'échantillon à analyser sous un angle Thêta (**Schéma 2.3**). Ainsi, l'intensité de diffusion est mesurée en fonction de la direction de sortie. Les interférences des rayons diffusés vont être alternativement constructives ou destructives.

Lorsque les directions dans lesquelles les interférences constructives sont appelées « pics de diffraction », ces derniers sont déterminés par la loi de Bragg :

$$2d \sin \theta = n\lambda$$

Avec d = distance entre deux plans cristallographiques ; θ = demi-angle de déviation (moitié de l'angle entre le faisceau incident et la direction du détecteur) ; n = ordre de réflexion ; λ = longueur d'onde des rayons X.

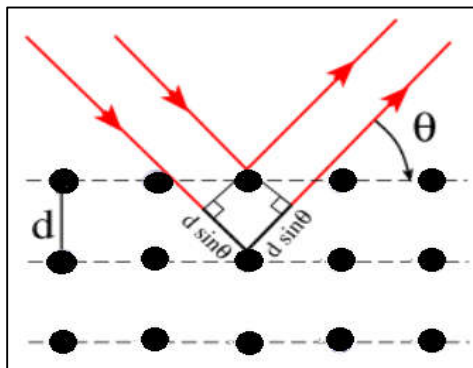


Schéma 2.3. Principe de diffraction des rayons X (Epp, 2016).

Tous les minéraux argileux ont été caractérisés par cette technique, à l'aide d'un appareil D8 Advance Bruker ($\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1.5418\text{\AA}$) à une tension de 40 kV. Les résultats sont traités par le logiciel Brentano Geometry. La caractérisation de tous les matériaux argileux a montré des modifications de chaque type d'argile étudié, ceux qui sont échangés avec des cations métalliques ou ceux activés à l'acide. Tous les diffractomètres montrent des lignes nettes et intenses, cela est une preuve de leur haute cristallinité. La purification de la bentonite en NaMt a montré une élimination de grandes quantités de cendres volcaniques, améliorant ainsi la cristallinité. La distance interarticulaire de NaMt est plus élevée que pour la bentonite (**Figure 2.1**). Les montmorillonites échangées par cations ont également montré une cristallinité élevée, comme illustré par des lignes DRX nettes et un espacement basal interarticulaire différent en raison de la taille différente des cations incorporés. Les bentonites actives à l'acide sulfurique ont montré un arrangement parfaitement parallèle des lamelles. Aucune perte de cristallinité n'a été constatée pour ces échantillons. Ils sont caractérisés par un remplacement des cations échangeables par des protons.

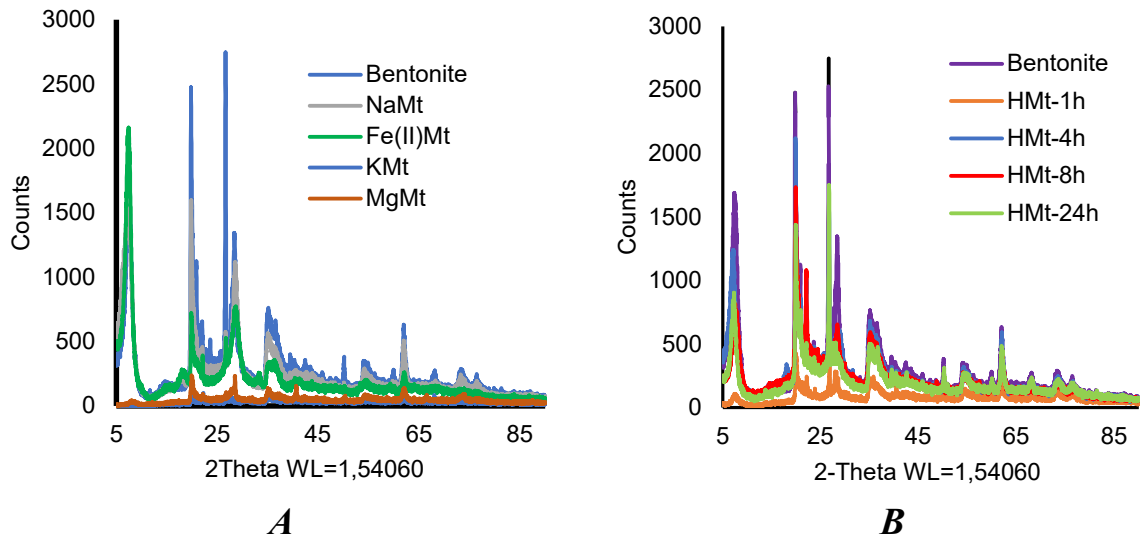


Figure 2.1. Spectres d’DRX de montmorillonite échangées (A) et bentonite activée à l’acide (B).

2.1.1.2 Par la mesure du potentiel Zêta

Lorsqu’une particule solide est en suspension dans un liquide, une charge électrique sera créée. Celle-ci sera composée par des ions de signe opposé provenant du milieu aqueux (Kim et Lawler, 2005). Cependant, les ions de même signe s’écartent de la surface. Cela conduit à un réarrangement des espèces ioniques à proximité de la surface et à la formation de la double couche électrique. Ainsi, la distribution des ions et l’intensité des potentiels électriques seront données par cette double couche. Lorsqu’un champ électrique est appliqué, la couche comprenant les ions spécifiquement adsorbés et les ions hydratés est déplacée. Par la suite un plan de cisaillement est créé. Le potentiel zêta est la différence de potentiel existant entre la solution et ce plan de cisaillement. En d’autres termes, c’est la différence de potentiel entre la phase solide et liquide (**Schéma 2.4**).

Fondamentalement, pour déterminer le potentiel zêta, Les particules sont mises en mouvement par un champ électrique. Les particules chargées migreront vers l’électrode de charge opposée. La vitesse de ces particules est déterminée puis convertit à l’aide de l’appareil en potentiel zêta (Hamieh, 1997). La valeur de potentiel zêta détermine la stabilité des colloïdes, plus le potentiel zêta est élevé, plus le colloïde est stable. Les matériaux argileux se manifeste comme des colloïdes en suspension dans un liquide (Lagaly et Ziesmer, 2003). Dans ce projet, cette technique a été utilisée pour déterminer la nature des charges des matériaux argileux disperser dans l’eau Nanopure

et dans les contaminants en solution. En d'autres mots, il indique le comportement possible de la dispersion.

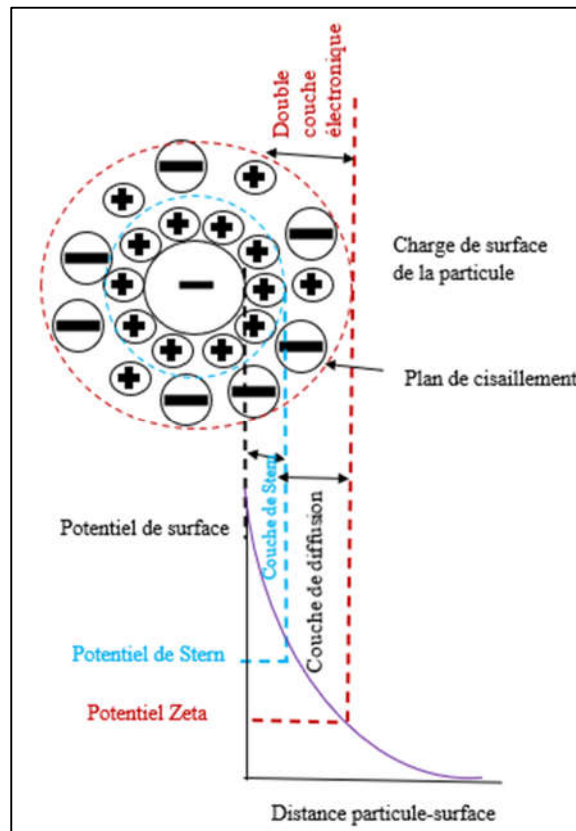


Schéma 2.4. Principe du potentiel zêta par la théorie de la double couche limite (inspiré de (Taroco et al., 2011)).

Pour cela un appareil de type ZetaPlus (BrookHaven Instrument Corp, ZetaPlus / BI-PALS) a été utilisé. 2 mL de catalyseur dispersé dans l'eau Nanopure ou le mélange d'eau Nanopure avec le contaminant a été utilisé pour l'analyse. 40 mg de catalyseur a été dispersé dans 20 ml de solution de pesticide ou d'eau Nanopure afin d'avoir une concentration de 2 mg L⁻¹.

2.1.1.3 Par l'analyse de la taille des particules

La diffusion dynamique de la lumière (pour son acronyme en anglais, DLS « Dynamic Light Scattering ») est utilisée pour quantifier le mouvement brownien des particules individuelles dans les liquides à des fins d'analyse de la taille des particules (Babick, 2020). Le mouvement Brownien est le déplacement aléatoire de particules dans un liquide dû aux chocs par les molécules de solvant

qui les entourent. Plus la particule ou la molécule est grosse, plus le mouvement brownien sera lent. Une température connue avec précision est nécessaire pour le DLS, car la connaissance de la viscosité est requise (la viscosité d'un liquide est liée à sa température). Dans la diffusion dynamique de la lumière, l'échantillon est illuminé par un faisceau laser et la lumière diffusée est mesurée sous un angle de diffusion défini. Les signaux de diffusion sont directement reçus par le détecteur. La vitesse à laquelle les particules diffusent en raison du mouvement brownien est mesurée. Cela se fait en déterminant la vitesse à laquelle l'intensité de la lumière diffusée fluctue lorsqu'elle est détectée à l'aide d'un agencement optique approprié. La taille des particules est calculée à partir du coefficient de diffusion translationnelle en utilisant l'équation de Stokes Einstein **2.1** (Pecora, 1985) :

$$d(H) = (kT) / (3\pi\eta D) \quad (2.1)$$

Où $d(H)$ = diamètre hydrodynamique, D = coefficient de diffusion translationnelle, k = constante de Boltzmann, T = température absolue, η = viscosité. Le diamètre mesuré en DLS est une valeur qui fait référence à la façon dont une particule se diffuse dans un fluide, il est donc appelé diamètre hydrodynamique.

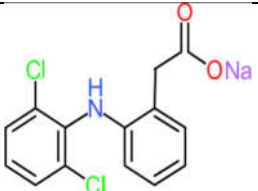

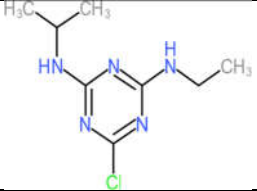
La taille des particules des catalyseur argileux a été déterminée par la DLS avec un granulomètre ZetaPlus (Brookhaven Instruments) à l'aide du logiciel 90Plus Particules Sizing Software Version 4.20. La même suspension de 2 mg L^{-1} a été utilisée. 3 ml de cette suspension ont été ajoutés dans une cellule de 12 mm. Les paramètres appropriés ont été choisis comme suit : viscosité 1.0031 cP, indice de réfraction 1.33, absorption 0.1.

2.2 Préparation des solutions

Les produits organiques utilisés dans ce projet sont deux pesticides et un produit pharmaceutique, à savoir le diclofénac de sodium, le diazinon et l'atrazine. Leurs caractéristiques sont regroupées dans le **Tableau 2.1**. Les solutions aqueuses de diazinon et de diclofénac sodium (98%; CAS 15307-79-6) utilisés dans la partie 1 (chapitre 3) ont été achetées auprès de Sigma-Aldrich, et elles ont été préparées dans de l'eau Nanopure à des concentrations spécifiques en fonction de leur solubilité et de leur présence dans les eaux usées : $2 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ pour DAZ ; $31 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ pour DCF. L'atrazine (PESTANAL®, 97.4% pureté, Sigma-Aldrich) et le diazinon commercial

(500 g L⁻¹, United Agriproducts Canada Inc.) utilisés dans la partie 2 (chapitre 4 et 5) ont été préparés directement dans le milieu de culture de la plante aquatique *Lemna minor* à une concentration de 10 mg L⁻¹ pour chaque pesticide.

Tableau 2.1. Caractéristiques des composés organiques étudiés.

Composé organique	Structure de la molécule	Formule	pK _a	λ _{max} (n m)	Rapport (O/C)	Masse molaire (g/mol)
Diclofénac sodium (DCF)		C ₁₄ H ₁₀ Cl ₂ NNaO ₂	4.35 ± 0.2	275	1/14	318.1
Diazinon (DAZ)		C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	2.6	250	3/12	304.35
Atrazine (ATR)		C ₈ H ₁₄ ClN ₅	1.6	220 265	-	215.69

2.3 Tests d'ozonation

Des tests d'ozonation ont été effectués pour simuler l'oxydation partielle de ces trois composés organiques dans la nature. Des solutions de 20 mL de chaque composé organique ont été transversées dans des tubes (28 mm × 115 mm) de 50 mL, puis 40 mg de catalyseur ont été ajoutés dans chaque tube. Par la suite, les échantillons sont ozonés à différents temps de 20 secs à 30 min à pH intrinsèque et température ambiante (**Schéma 2.5**). D'autres réactions d'ozonation ont été effectuées en absence des matériaux argileux pour comparer l'effet de l'ajout du catalyseur. L'ozone a été produit à l'aide d'un générateur de marque Ozone Inc., USA qui produit de l'ozone à partir de l'air à un débit de 600 mg h⁻¹. L'ozone est produit sur place grâce à ce générateur qui transforme l'oxygène de l'air par décharge électrique à haute tension en ozone. Lorsque les réactions

d'ozonation sont terminées, tous les échantillons sont centrifugés à une vitesse de 3075 g pendant 20 min, puis filtrés à l'aide d'un filtre de 0.22 μm pour des analyses ultérieures.

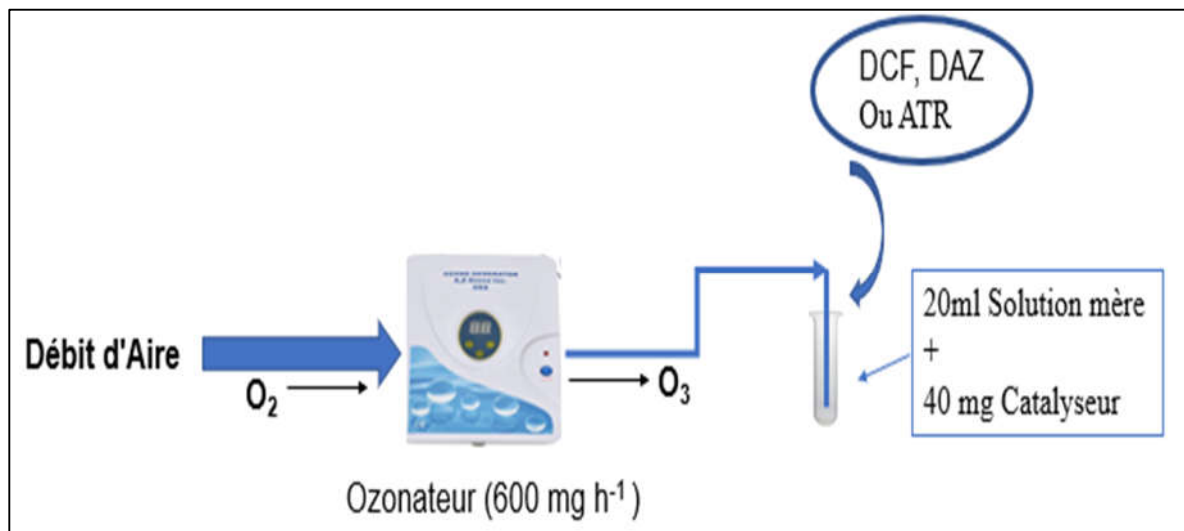


Schéma 2.5. Procédure d'ozonation catalytique avec le générateur A2Z.

2.4 Analyse des produits de transformation

Tous les échantillons ozonés et filtrés sont analysés qualitativement par la spectrophotométrie UV-Vis et quantitativement par HPLC-UV pour évaluer l'avancement de la réaction d'ozonation. L'analyse par LC-Tof-MS a été également effectuée pour identifier les produits de dégradation de chaque composé organique.

2.4.1.1 Par UV-VIS

La spectrophotométrie UV-VIS est une technique d'analyse basée sur la mesure de la quantité de lumière absorbée (absorbance) par un échantillon à une longueur d'onde donnée. La lumière de longueur d'onde spécifique est absorbée par le mouvement des électrons de l'état fondamental à un état excité. Cette méthode spectrophotométrique est basée sur la loi de Beer-Lambert telle que exprimée mathématiquement avec l'équation $A = -\log T = \log I_0 / I = \epsilon bc$, où les symboles sont définis par les suivants : (A) absorbance, (T) transmittance, (I_0) intensité de la lumière incidente sur l'échantillon, (I) intensité de la lumière sortante de l'échantillon, (ϵ , $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) absorptivité molaire, (b, cm) longueur du trajet de l'échantillon, et (c, mol L^{-1}) la concentration molaire de l'analyte (Parnis et Oldham, 2013; Skoog *et al.*, 2007). Le principe de mesure de la loi de Beer-

Lambert repose sur un faisceau de lumière monochromatique parallèle qui irradie la surface du milieu testé. Après avoir traversé le milieu avec une certaine épaisseur, le milieu absorbe une partie de l'énergie lumineuse, affaiblissant l'intensité de la lumière transmise traversant le milieu (Guo, Yuchen *et al.*, 2020) (**Schéma 2.6**).

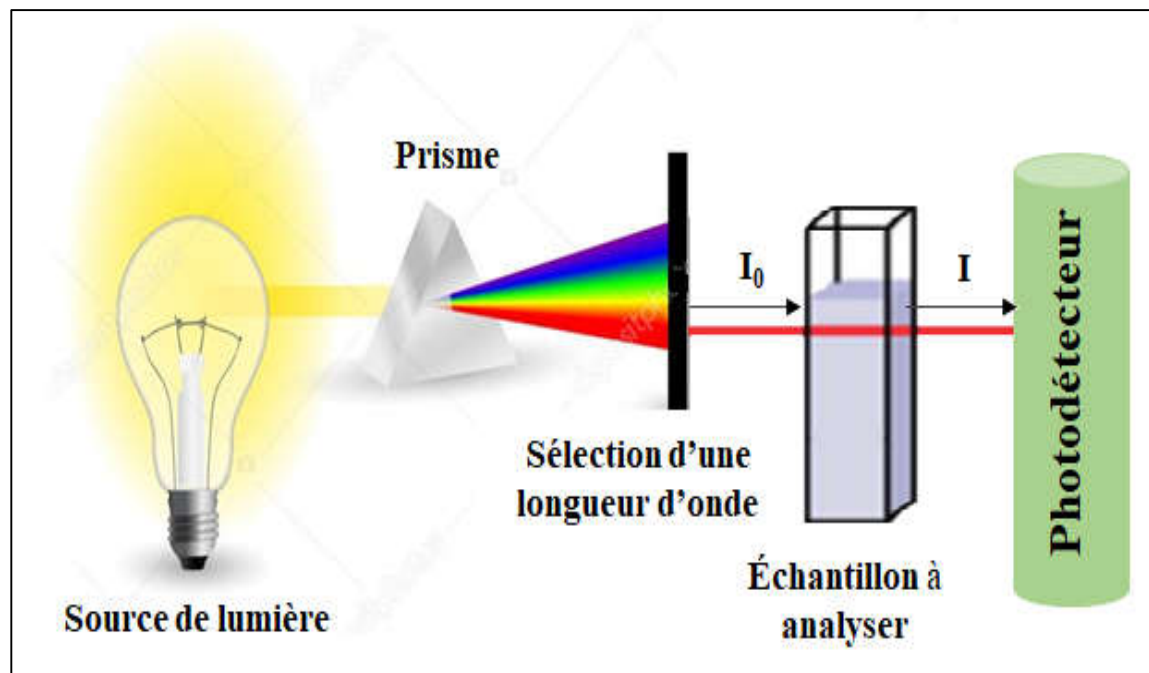


Schéma 2.6. Principe de la spectrophotométrie UV-visible inspiré de (Verma et Mishra, 2018).

L'UV à des longueurs d'onde comprises entre 200 à 400 nm et le spectre du visible de 400 à 800 nm (Yahiatene, 2016). Cette technique a permis d'évaluer l'avancement qualitative de la réaction d'ozonation et de l'évolution de la concentration de chaque molécule organique étudiée en présence et en absence de catalyseur. Elle a permis également de déterminer les groupes fonctionnels et les liaisons présents dans les échantillons. Un appareil de marque Agilent-Cary 60 (Agilent Technologies, USA) et une cellule en quartz de 1 cm sont utilisés pour cette analyse. La gamme de longueurs d'ondes s'étend de 190-800 nm. Ensuite, un ordinateur accessoire avec un logiciel Carywin a servi pour traiter les données. D'après la loi de Beer Lambert, il existe une relation entre la concentration et l'absorbance. Celle-ci a permis de tracer des courbes d'étalonnage pour chaque molécule organique étudiée en mettant l'absorbance en fonction de la concentration. Ainsi l'absorptivité molaire de chaque substrat organique peut être calculée puisqu'elle représente la pente de la droite (Oshina et Spigulis, 2021).

2.4.1.2 Par HPLC-UV

Cette technique permet la séparation d'un ou de plusieurs composés d'un mélange afin de les identifier et de les quantifier. Le mélange à analyser (le soluté) est injecté à l'aide d'une phase mobile, puis transporté au travers du système chromatographique. La phase mobile est poussée sous haute pression par une pompe. Le mélange entraîné par la phase mobile à travers une colonne constituée d'une greffe de polymère à 18 carbones (C18). Les substances seront séparées en sortant successivement. Les substances séparées se répartissent selon leurs affinités entre la phase mobile et la phase stationnaire. Par la suite, le détecteur qui se trouve à la sortie de la colonne caractérise les solutés par un pic. Dans notre projet, le HPLC-UV a permis de suivre l'évolution dans le temps de la concentration de chaque substrat organique étudié et de leurs intermédiaires. Cette détermination est basée sur la variation de l'aire du pic qui est proportionnelle à la concentration (**Schéma 2.7**).

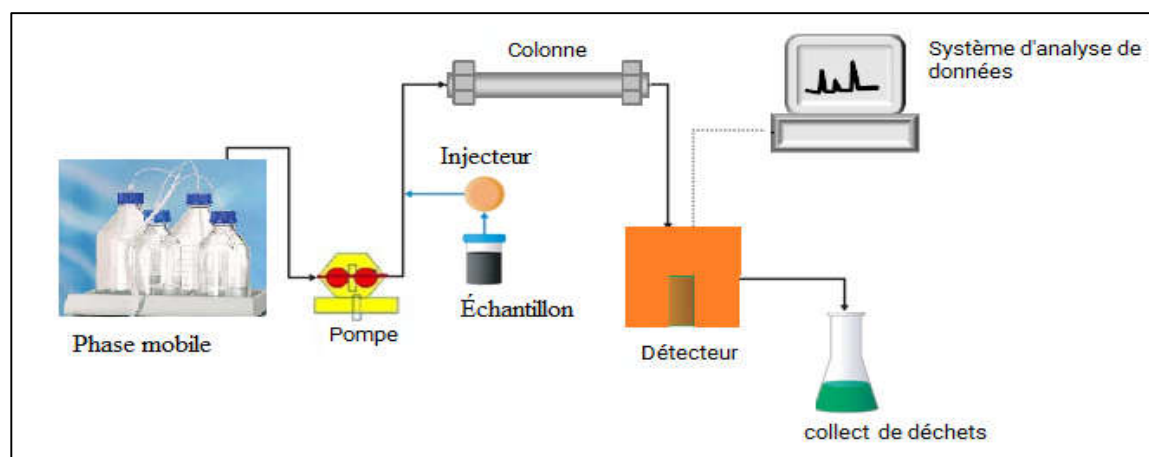


Schéma 2.7. Conception générale du HPLC inspiré de (Moldoveanu et David, 2022).

Les analyses ont été réalisées à l'aide de deux types d'appareils. Pour la première partie (Article 1, chapitre 3), on a utilisé un appareil de type Alliance série 1260 couplé à un détecteur UV (WATERS-2487 à double canaux). Un logiciel d'acquisition STAR (Varian Analytical Instruments) a été utilisé pour le traitement des données. La colonne utilisée est de type Agilent Eclipse plus C18 (3.5 μm , 4.6 x 250 mm). Pendant la deuxième partie (Article 2 et 3, chapitre 4 et 5), l'appareil utilisé est de marque Agilent technologie modèle 1200 couplé à un détecteur UV de longueur d'onde variable. Un logiciel de type Star version 6 et une colonne C18 (5 μm , 4.6 x 150 mm) de la

marque Zorbax Eclipse Plus ont été utilisés. Les conditions chromatographiques utilisées dans chaque partie sont détaillées dans l'annexe A et l'annexe B.

2.4.1.3 Par LC-TOF-MS

La chromatographie en phase liquide (LC) couplée à la spectrométrie de masse (Time of Flight Mass Spectrometry, TOF-MS) est la combinaison de deux techniques sélectives qui permet de séparer et d'identifier le ou les analyte(s) d'intérêt dans des mélanges très complexes. Le LC différencie les composés par leurs propriétés physico-chimiques et l'analyse TOF-MS différencie les composés par masse (en particulier leur rapport masse sur charge) grâce à sa haute résolution (Roman *et al.*, 2013). C'est cette double sélectivité qui fait de la LC-MS un outil analytique puissant qui va permettre d'identifier les masses moléculaires grâce au détecteur de spectrométrie de masse.

Les molécules de l'échantillon sont converties en ions en phase gazeuse dans la source d'ionisation avant d'être accélérées dans l'analyseur de masse via l'orifice d'échantillonnage et le guide d'ions. Les ions sont alors déviés par des champs électrostatiques dans le quadripôle en fonction de leur masse et de leur charge au sein de l'analyseur de masse. Le détecteur convertit l'énergie des ions en des signaux électriques, qui sont ensuite transmises à un ordinateur pour le traitement des données, y compris les calculs nécessaires pour la quantification. Les spectromètres de masse ne mesurent pas directement la masse moléculaire mais plutôt le rapport masse/charge (m/z) des ions formés à partir des molécules (Sargent, 2013).

Dans ce projet, Les échantillons ont été analysés par LC-TOF-MS sur un équipement Série 1260 couplé à un spectromètre de masse 6224 TOF, tous deux de Agilent Technologies (Santa Clara, CA). La colonne chromatographique était de type Atlantis C18, 100 x 2.1 mm, 3 μm de taille de particules (Waters, Milford, MA) pour DAZ et XSelect CSH C18, 100 x 2.1 mm, 3.5 μm de taille de particules (Waters, Milford, MA) pour ATR, et chaque colonne est maintenue à 60 °C. Les injections étaient à 0.5 μL et à un débit de 0.4 mL/min. Les composés ont été séparés en mode gradient (**Tableau 2.2**). La source d'ionisation est en mode de balayage positif avec une configuration à double pulvérisation. Les spectres de masse ont été acquis dans l'intervalle de valeurs 70-1000 m/z avec un cycle d'acquisition de 1 scan/sec. La tension électro-spray, le fragmenteur et la température de la source ont été fixées à 3 kV, 150 V et à 350 °C, respectivement.

Tableau 2.2. Conditions standards d'analyse par LC-TOF-MS en mode gradient.

DAZ			ATR		
%A (5 mM de formiate d'ammonium dans l'eau ultrapure)	%B (Acétonitrile)	Temps (min)	%A (5 mM de formiate d'ammonium dans l'eau ultrapure)	%B (Acétonitrile)	Temps (min)
90	10	0.2	95	5	0.2
5	95	0.2-6	20	80	0.2-7
5	95	6-7	20	80	7-7.8
90	10	7-7.2	95	5	7.8-8
90	10	7.2-12	95	5	8-12

2.4.1.4 Par ICP-OES

En spectrométrie d'émission optique (OES), l'échantillon est soumis à une température élevée pour l'excitation de ses atomes. Plus récemment, les plasmas ont été utilisés comme sources d'atomisation/excitation pour les OES. Le plasma est un mélange gazeux contenant une concentration importante d'électrons et de cations, qui peuvent conduire l'électricité et peuvent être affectés par un champ magnétique. Il existe trois types de plasmas à haute température parmi lesquels le plasma à couplage inductif (ICP), qui est largement utilisé comme une analyse élémentaire sensible en OES (Charles et Fredeen, 1997).

Cette technique permet la quantification des traces élémentaires jusqu'à 10 mg L^{-1} pour certains éléments dans des solutions liquides préalablement dissout dans un acide (Caruso *et al.*, 2017). L'échantillon est ionisé lorsqu'il est injecté dans le plasma. Les atomes composants l'échantillon sont excités. Lorsque ces atomes excités reviennent en position de basse énergie, des rayons d'émission (rayons du spectre) sont libérés et les rayons d'émission qui correspondent à la longueur d'onde du photon sont mesurés. Le type d'élément est déterminé sur la base de la position des rayons photoniques, et le contenu de chaque élément est déterminé sur la base de l'intensité des rayons (Khan, 2019).

Dans ce projet, la composition élémentaire des catalyseurs en milieu aqueux et du milieu de culture SIS a été déterminée. L'analyse ICP-OES a été effectuée sur l'équipement Agilent Technologies 5100. Ce spectromètre avait une configuration plasma axiale avec un nébuliseur à quartz concentrique. Les conditions instrumentales ont été optimisées pour obtenir une sensibilité

et une précision suffisantes. Six éléments majeurs (Na, Mg, K, Ca et Fe) ont été déterminés. Les solutions d'étalonnage ont été préparées à partir de la dilution de la solution standard de 1000 ppm de chaque métal (Solutions standards pour ICP - Sigma Aldrich). Les concentrations des éléments ont été comprises entre 0 et 15 000 ng mL⁻¹ avec la même concentration de HNO₃ (5%) que celle des solutions d'échantillon.

Ces courbes montrent la relation entre le changement de l'intensité de l'émission en fonction des différentes concentrations de solutions étalons. Ensuite, les résultats ont été traités par le logiciel ICP Expert. Pour déterminer cette composition élémentaire, 40 mg de chaque catalyseur dissout dans 25 mL d'eau Nanopure et/ou de milieu SIS a été placé dans un récipient propre avec un mélange de 15 ml de HCl et 5 ml de HNO₃ (HCl : HNO₃ 3:1 v : v), puis chauffé pendant 2 h à 220 °C. Après digestion, la solution a été soigneusement recueillie puis passée sur un filtre d'une taille de 0.45 µm (Sterile Millex-HV Millipore). La solution a été mise dans un erlenmeyer de 100 ml, puis de l'eau Nanopure a été ajoutée.

2.5 Analyses éco-toxicologiques

Tout le matériel, y compris les Erlenmeyers, les bouteilles et les fioles utilisés pour la présente étude, a été lavé avec du savon, par la suite par le méthanol (80 %) et rincé plusieurs fois avec de l'eau Nanopure. Le matériel a été ensuite autoclavé durant 45 min.

2.5.1 Culture d'*Artemia salina* et préparation des échantillons

Dans la partie 1 (Article 1, chapitre 3), des tests de toxicité en triplicata ont été réalisés en mettant en contact *Artemia salina*, une espèce de crustacés vivant dans l'eau salé, avec différents mélanges d'ozonation pour chaque substrat organique testé (DAZ, ATR) qui ont été obtenus à différents temps d'ozonation (0, 0.33, ..., 30 min) en présence de divers catalyseurs, selon une procédure conventionnelle légèrement modifiée. Par conséquent, 0.5 g d'œufs de *A. salina* (achetés auprès d'Aquatic Lifeline, Utah, États-Unis) ont été ajoutés à 100 ml d'une solution de sel de mer Instant Ocean (35 g L⁻¹, achetée auprès d'Instant Ocean Spectrum Brands, Virginie, États-Unis) dans un récipient en plastique de 15 × 15 × 15 cm.

Le mélange a été incubé sur un agitateur orbital à une vitesse de 80 rpm (HOS-100, Huanghua Faithfull Instrument Co., LTD) pendant 48 heures sous une lumière constante en utilisant des lampes fluorescentes à $100 \pm 20 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ à $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Une fois les œufs éclos, 10 individus adultes ont été collectés et mis dans des petits pots contenant 20 mL de solution Instant Ocean (35 g L^{-1}) et 100 μL de mélange réactionnel ozonisé. Les pots ont ensuite été maintenus sous exposition lumineuse pendant 48 h, et le taux de mortalité a été déterminé (**Figure 2.2**).

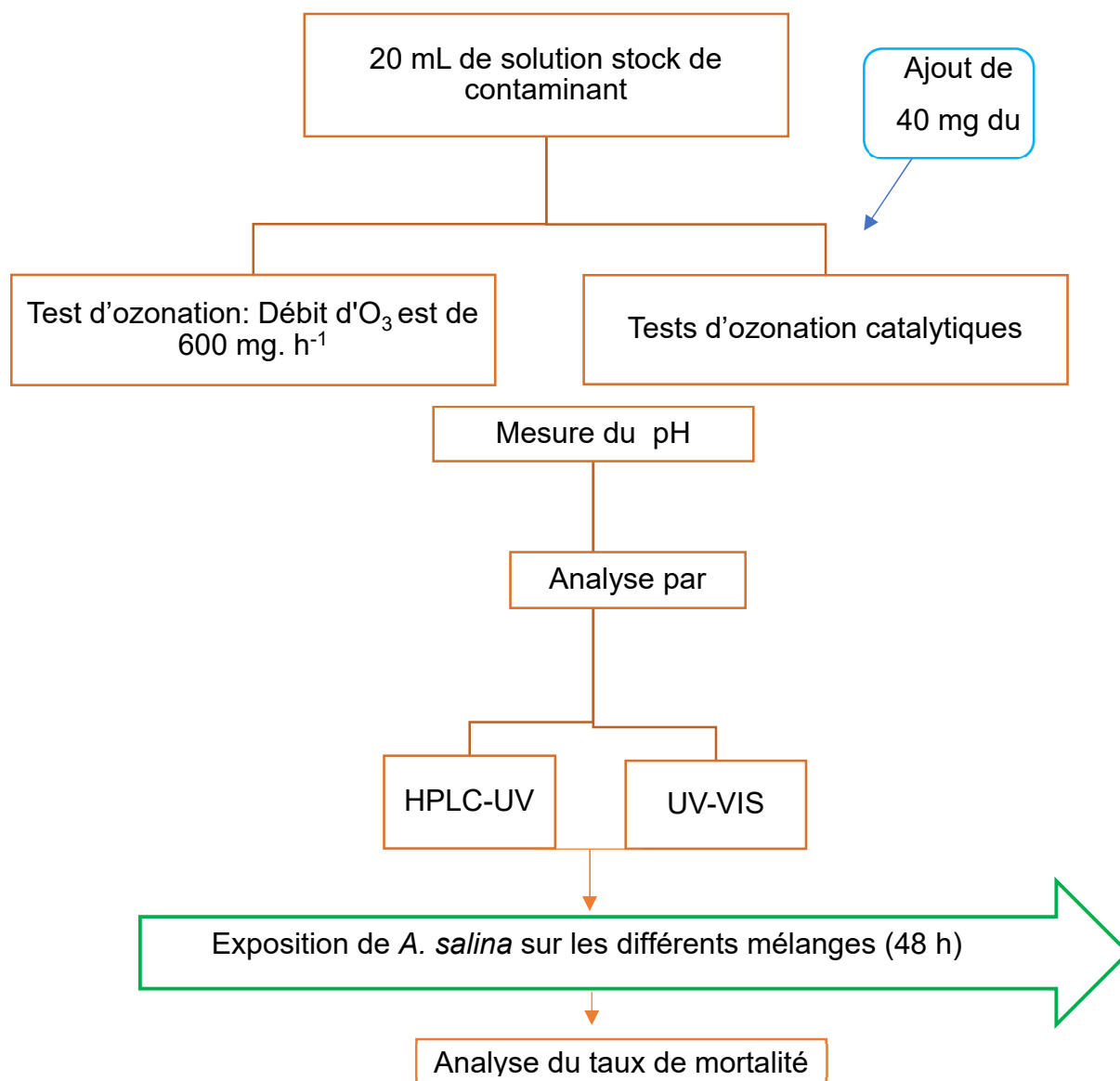


Figure 2.2. Procédure expérimentale utilisée dans la première partie du projet.

2.5.2 Culture de *Lemna minor*

Dans la deuxième partie du projet (Article 2 et 3, chapitre 4 et 5), les plantes aquatiques *Lemna minor* ont été obtenues auprès d'une collection de culture provenant du laboratoire de Pr Philippe Juneau au département des Sciences biologiques à l'UQAM. Cette espèce végétale est un organisme aquatique approprié pour les tests toxicologiques de notre étude et elle est facile à cultiver au laboratoire sous nos conditions expérimentales. La culture de *Lemna minor* a été maintenue dans un milieu nutritif établi d'après celui de l'Institut suédois de normalisation (No, 2006) (**Tableau 2.3**).

Tableau 2.3. Composition du milieu de croissance pour *Lemna minor* établi par la norme suédoise (Swedish standard (SIS) Lemna growth medium).

Solution stock No.	Substance	Concentration dans la solution stock (g dm ⁻³)	Concentration dans le milieu préparé (mg dm ⁻³)	Milieu préparé	
				Élément	Concentration (mg dm ⁻³)
I	Na NO ₃	8.50	85	Na; N	32; 14
	KH ₂ PO ₄	1.34	13.4	K; P	6.0; 2.4
II	MgSO ₄ .7H ₂ O	15	75	Mg; S	7.4; 9.8
III	CaCl ₂ .2H ₂ O	7.2	36	Ca; Cl	9.8; 17.5
IV	Na ₂ CO ₃	4.00	20	C	2.3
V	H ₃ BO ₃	1.0	1.0	B	0.17
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0.20	0.20	Mn	0.056
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.010	0.010	Mo	0.0040
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.050	0.050	Zn	0.011
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.0050	0.0050	Cu	0.0013
	Co(NO ₃).6H ₂ O	0.010	0.010	Co	0.0020
	VI	FeCl ₃ .6H ₂ O	0.17	0.84	Fe
	Na ₂ -EDTA.2H ₂ O	0.28	1.40	-	-
VII	MOPS (buffer)	490	490	-	-

Cette culture a été maintenue sous les conditions recommandées selon l'Organisation de Coopération et de Développement Économique (OCDE) dans les « Lignes directrices pour les essais de produits chimiques. *Lemna* sp. Test d'inhibition de la croissance » (**Tableau 2.4**) (No, 2006).

Au départ, les sept solutions mères ont été préparées dans de l'eau Nanopure, à l'aide de réactifs de qualité chimique. Par la suite, les solutions sont filtrées sur une membrane de 0.22 µm dans des bouteilles stériles.

Tableau 2.4. Conditions d'incubation utilisées pour la culture de *Lemna minor*.

Température	24 ± 3 °C
Cycle de lumière	16 h lumière / 8 h obscurité
Intensité de lumière	85 - 135 uE m ⁻² s ⁻¹ (6500-10000 lux) (Tubes fluorescents blancs, Sylvania GroLux F36W)
pH	6.5 ± 2°C
Renouvellement du milieu	7 jours

Afin de préparer 1 litre de milieu SIS, des volumes précis (10 ml du stock I, 5 ml de II, 5 ml de III, 5 ml de IV, 1 ml de V, 5 ml de VI, 1 ml de VII) de chaque solution mère ont été prélevés et 900 ml d'eau Nanopure ont été ajoutés. Le volume est finalement ajusté à 1 litre avec de l'eau Nanopure. Ensuite, le pH est ajusté à 6.5 ± 0.2 avec du HCl 0.1 M ou du NaOH 0.1 M. Finalement, le milieu de culture a été autoclavé pendant 55 min.

2.5.2.1 Préparation des solutions

Après les tests d'adsorption ou d'ozonation, le pH de la solution a été ajusté à 6.5 à l'aide de NaOH ou HCl 1 N. Cette valeur de pH est considérée comme optimale pour *L. minor*. La toxicité vis-à-vis de *L. minor* a été évaluée en ajoutant trois plantes ayant chacune trois frondes (feuilles) au mélange d'adsorption ou d'ozonation. Les erlenmeyers préalablement stérilisés ont été utilisés avec 25 mL de chaque solution afin d'avoir une profondeur de 2 cm. Chaque erlenmeyer a été fermé avec des bouchons en éponge pour permettre les échanges gazeux durant les sept jours d'incubation. Des conditions de température et de lumière identiques à celles de la culture ont été appliquées pour une période d'exposition de sept jours.

La toxicité intrinsèque des pesticides a été étudiée aux différentes concentrations de 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1 et 10 mg L⁻¹ pour chaque pesticide préparé dans le milieu de croissance SIS. Des expériences similaires de solution de pesticide à 10 mg L⁻¹ ont été réalisées en présence de 1, 2 et 3 g L⁻¹ de minéral argileux pour contrôler l'effet de la quantité résiduelle de pesticide, après adsorption et ajustement du pH à 6.5. Des tentatives supplémentaires ont été réalisées en imprégnant les plants dans 25 ml de 10 mg L⁻¹ de solutions de DAZ ou ATR après ozonation en présence de 1, 2 et 3 g L⁻¹ de minéral argileux pour différents temps et ajustement consécutif du pH à 6.5.

Ces expériences avaient pour but d'étudier l'écotoxicité causée par le pesticide résiduel et ses dérivés générés par l'ozonation. Ici, l'uniformisation du pH devrait supprimer l'effet spécifique des différents niveaux de pH induits par les différents mélanges d'ozonation. Dans toutes les expériences, des triplicatas ont été effectués pour vérifier la reproductibilité des résultats. À cet égard, on a considéré trois critères de toxicité, à savoir la quantité de biomasse exprimée en termes de poids frais, du nombre de frondes, de la teneur en chlorophylle *a* et de la quantité relative d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par rapport aux plantes d'origine non traitées (control).

2.5.2.2 Mesure de la biomasse

Pour le calcul de la biomasse, la totalité des plants a été collectée après 7 jours d'incubation, et le nombre de frondes individuelles est compté pour chaque expérience. Le poids frais de chaque échantillon, y compris l'échantillon témoin (sans pesticide et sans ozonation), a été séché et pesé à l'aide d'une balance analytique.

2.5.2.3 Mesure des pigments chlorophylliens

La quantité de chlorophylles *a* (Chl *a*) et *b* (Chl *b*) a été déterminée en recueillant la biomasse résultante après 7 jours et en la broyant dans un mortier contenant 5 mL de méthanol (100 %) à température ambiante. Les pigments extraits ont été centrifugés à 4500 g pendant 5 min à 4°C. Les absorbances à 665 nm (A665) pour Chl *a* et 648 nm (A648) pour Chl *b* ont été mesurées à l'aide d'un lecteur de microplaques (Infinite M200®, Tecan). Les concentrations de pigments ont été calculées par les équations 2.2-2.3:

$$\text{Chl } a = 13.36 \times (A665) - 5.19 \times (A648) \quad (2.2)$$

$$\text{Chl } b = 27.43 \times (A648) - 8.12 \times (A665) \quad (2.3)$$

Où Chl *a* et Chl *b* sont respectivement la teneur en chlorophylle *a* et chlorophylle *b* (**Figure 2.3**).

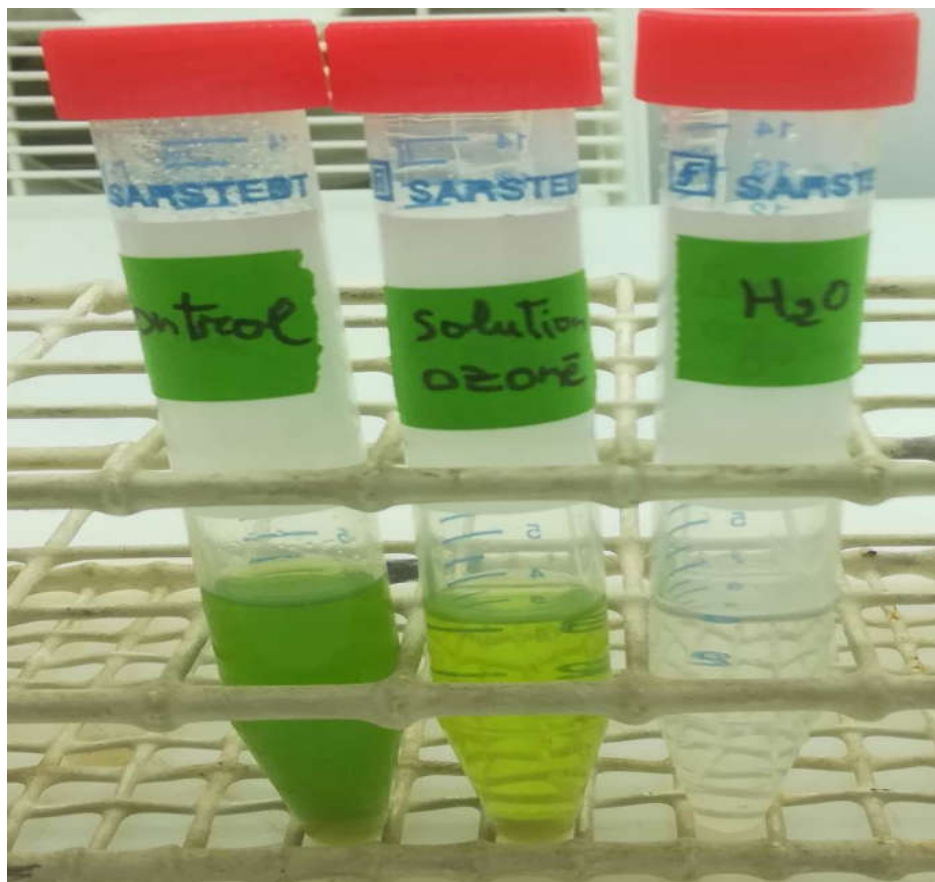


Figure 2.3. Photographie de l'extrait de *L. minor* pour la mesure des pigments chlorophylliens avant (control) et après contact avec le mélange ozoné.

2.5.2.4 Mesure des espèces réactives oxygénées

La quantité d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) a été évaluée dans l'ensemble des cellules de la biomasse (noyau, mitochondries et chloroplastes) selon une procédure spécifique. A cet effet, la totalité des plants exposés aux différents milieux pendant 7 jours a été collectée. Ensuite, ils ont été séchés sur un papier absorbant Kimwipe puis incubés pendant 30 min avec une solution CellROX® orange de 5 μ M (réactif fluorescent Thermo Fisher Scientific) à 24 ± 2 °C. Par la suite, les plantes ont été lavées 3 fois avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS). L'émission de la fluorescence relative a été mesurée à température ambiante à 545 nm à l'aide d'une longueur d'onde d'excitation lumineuse à 565 nm. Les résultats ont été normalisés par poids frais et représentés en pourcentage par rapport au contrôle. L'appareil utilisé est de type Infinite M200® (Tecan) avec un gain de 200. Des tests en triplicatas ont été effectués. Une représentation schématique de la procédure expérimentale utilisée a été présentée dans la **Figure 2.4**.

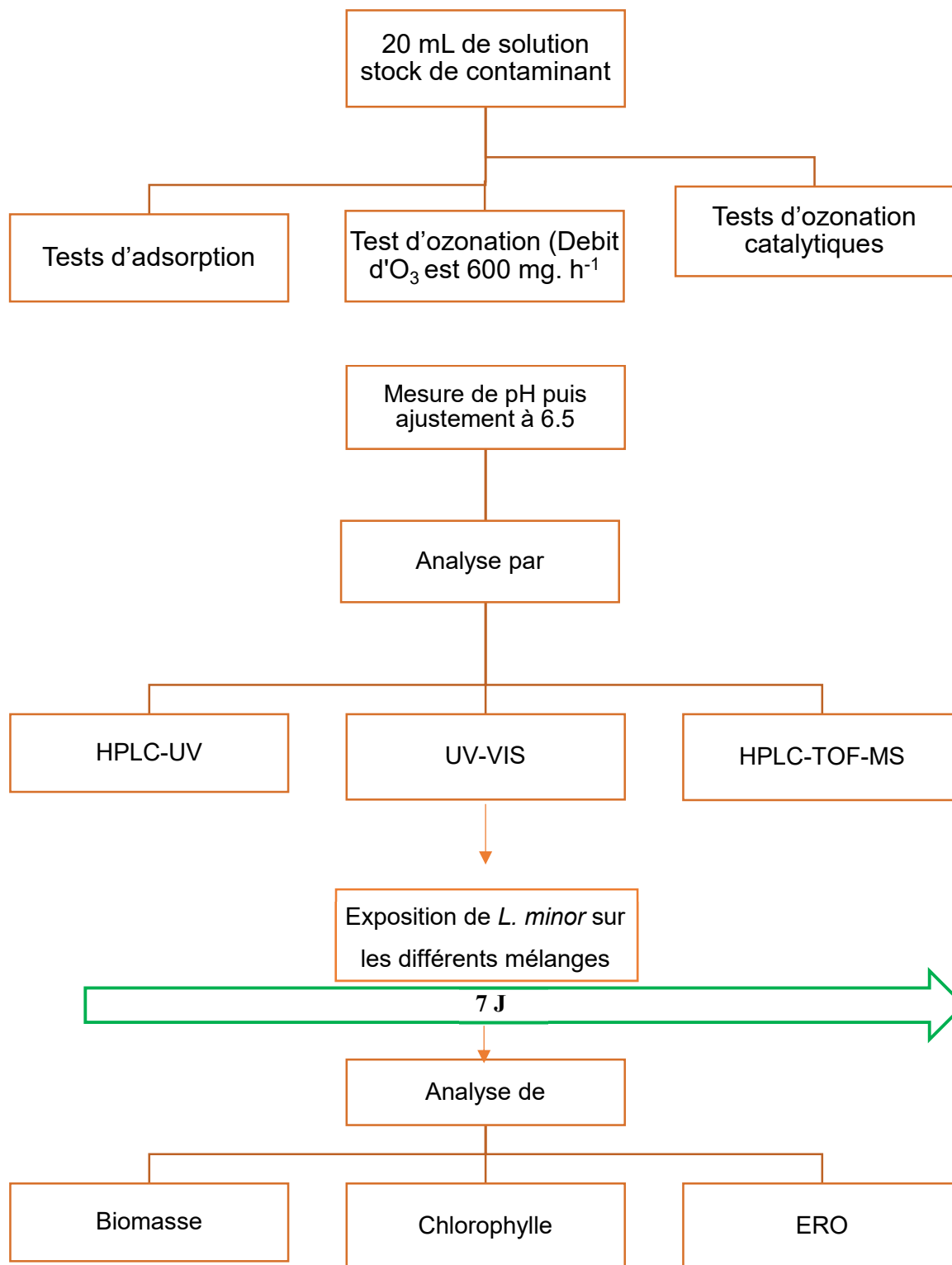


Figure 2.4. Procédure expérimentale utilisée dans la deuxième partie du projet.

CHAPITRE 3
INSIGHT IN NATURAL MEDIA REMEDIATION THROUGH
ECOTOXICITY CORRELATION TO CLAY CATALYST SELECTIVITY
IN ORGANIC MOLECULE OZONATION

Amina Benghaffour^a, Eric Foka Wembe^a, Maroua Dami^b, David Dewez^a, Abdelkrim Azzouz^{a,b,*}

^a *Nanoqam, Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal, QC, Canada H3C 3P8.*

**Corresponding author: Pr. Abdelkrim AZZOUZ*

^b *École de Technologie Supérieure, Montréal, Québec, H3C 1K3, Canada.*

E-mail : azzouz.a@uqam.ca; Tel: 1 514 987 3000 Ext. 4119, Fax: 1 514 987 4054

Author's contribution

Amina Benghaffour:

Preparation of protocols, development of HPLC-UV technique specific to each organic molecule, realisation of experiments for the study of ozonation, catalytic ozonation and ecotoxicological tests, data analysis of experimental results and writing of the manuscript.

Eric-Noel Foka-Wembe:

Contribution to the realization of ozonation and catalytic ozonation tests for diazinon.

Maroua Dami:

Contribution to the realization of ozonation and catalytic ozonation tests for diclofenac sodium.

David Dewez:

Review and development of the design protocol for ecotoxicological tests, re-verification of preliminary experiments, review of ecotoxicological results and correction of the manuscript.

Abdelkrim Azzouz:

Proposal of the concept, design and direction of the research on the ozonation of organic substrates, verification and correction of the interpretations of the results, finalization of the article.

Abstract

The oxidative degradation of diazinon (DAZ) and diclofenac sodium (DCF) in aqueous media was comparatively investigated and correlated to the mortality of *Artemia salina* in the presence of clay catalysts. For this purpose, montmorillonite (Mt) exchanged with Na⁺ and Fe²⁺ cations (NaMt and Fe(II)Mt), acid activated bentonites along with hydrotalcite were used as clay catalysts. Surface interaction and adsorption on the clay surface were found to govern the catalyst dispersion in aqueous media and activity and selectivity in ozonation. Both catalysts features were correlated to the ecotoxicity of the ozonised reaction mixtures as expressed in terms of mortality rate of *Artemia salina*. DAZ and DCF display specific intrinsic ecotoxicity that evolves differently during ozonation according to the catalyst. The ecotoxicity was found to strongly depend on the distribution of the ozonation intermediates, which, in turns is narrowly correlated to the catalyst surface properties. These valuable findings allow predicting the behaviour of the clay-containing media in natural remediation.

Keywords: Ozonation; Clay minerals; Montmorillonite; UV-Vis; HPLC-UV.

3.1 Introduction

Ecotoxicity due to organic molecule release and unavoidable oxidation in waters and soils still remains a major challenge to be addressed. Unless total mineralization, natural partial oxidation of organic molecules is an unavoidable process that may generate harmful and persistent intermediates (Alvares *et al.*, 2001; Boudissa, Farida *et al.*, 2020b). Given that clay catalysts already turned out to be quite effective in the oxidation of organic pollutants (Azzouz, A. *et al.*, 2010; Azzouz A. *et al.*, 2019; Boudissa, F., 2019; Boudissa, Farida *et al.*, 2020b; Larouk, S. *et al.*, 2017; Shahidi, Dariush, Moheb, Amira, *et al.*, 2015; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b), their type and content in soils and turbid waters are key-factors that govern the ecotoxicity.

The oxidative degradation of an organophosphorus pesticide (Diazinon or DAZ) (Cox, 2000) and a nonsteroidal anti-inflammatory drug (Na⁺- diclofenac or DCF) was herein investigated. The interest devoted to these two molecules is justified by their opposite behaviour regarding their ecotoxicity (Acuña *et al.*, 2015; Lonappan *et al.*, 2016; Lonappan *et al.*, 2017; Vieno et Sillanpää,

2014; Zhang, Yongjun *et al.*, 2008), when released in nature (Cormier, 2015; Gasperi *et al.*, 2008; Stulten *et al.*, 2008). DAZ displays intrinsic toxicity to animals, humans and aquatic organisms (Colovic *et al.*, 2010; Daneshvar *et al.*, 2007). DCF derived from phenylacetic acid is supposed to be a harmless drug for human (Méndez-Arriaga *et al.*, 2008) but was found to be toxic to fish, daphnia and green algae (Qiu, Z. *et al.*, 2020). So far, some attempts to eliminate these organic pollutants involved photo-degradation (Amiruddin, 2013; Iovino *et al.*, 2017), electrochemical degradation (Molla Mahmoudi *et al.*, 2022; Tran, 2016), biodegradation (Moreira, I. S. *et al.*, 2018; Rizk, 2012; Sethunathan et MacRae, 1969) and ozonation (Beltrán *et al.*, 2010; Ku, Chang, Shen, *et al.*, 1998). Total mineralization turned out to be difficult to achieve, resulting in the unavoidable formation of persistent derivatives with more or less ecotoxicity (Paxeus, 2004; Zhang, Y. *et al.*, 2008). Ozone can easily be generated by convenient techniques (Tjahjanto et Wardhani, 2012), and is assumed to generate at least some reactive oxidizing specie (ROS) similar to those produced by oxygen under sun-exposed turbid waters and soils. Consequently, the use of ozone is a judicious approach to “mimic” accelerated oxidation and understand clay-based soil behaviour towards persistent by-products and ecotoxicity (Guo, Yifei *et al.*, 2012; Meçabih *et al.*, 2006).

However, the low solubility and short lifetime of ozone in aqueous media are major limitations for large scale purposes. Clay-catalysed ozonation was found to allow overcoming these drawbacks at least for some organic pollutants by favouring adsorption on solid particles. (Azzouz, A. *et al.*, 2010; Azzouz A. *et al.*, 2019; Boudissa, F., 2019; Boudissa, Farida *et al.*, 2020b; Larouk, S. *et al.*, 2017; Shahidi, Dariush, Moheb, Amira, *et al.*, 2015; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015a, 2015b). Most clay minerals are widely available and affordable materials (Azzouz, Abdelkrim *et al.*, 2016; Nayak et Singh, 2007), which can act both as catalysts and adsorption. Assessment of their surface charge and particle size could provide useful information on their possible interactions with dispersed species in aqueous media. This is expected to explain the role of the catalyst chemical composition on the ozonation evolution in time, and subsequently on the partial oxidation level of organic probe molecules and formation of harmful intermediates.

Changes in toxicity during the progressive degradation of organic molecules were already reported (Inticher *et al.*, 2021; Kalivel *et al.*, 2021; Sanchez-Montes *et al.*, 2020; So *et al.*, 2020; Wang, J. et Wang, 2021), but only few works were related to oxidative processes and derivative ecotoxicity, more particularly on *Artemia salina* (GilPavas *et al.*, 2020; Punzi, Anbalagan, *et al.*,

2015; Punzi, Nilsson, *et al.*, 2015). A deep analysis of the literature revealed no attempts to correlate the activity and selectivity of a variety of catalysts with the ecotoxicity of oxidized mixtures. That is why the present work was undertaken. Ecotoxicity tests on DAZ and DCF oxidation mixtures when contacted with *Artemia salina* taken as an aquatic crustacean probe species is expected to allow correlating the viability of this species to the activity and selectivity of clay catalysts. These features are herein expressed in terms of degradation yields of the parent molecules and intermediate amounts, respectively. Spectroscopic and chromatographic techniques were used for this purpose.

3.2 Experimental

3.2.1 Catalyst preparation and characterization

A bentonite (50-200 μm particle size) was used for the preparation of various ion-exchanged montmorillonite and acid-activated samples. Thus, a 400 g amount of bentonite and 50 g of NaCl were introduced in 2 L of distilled water and then heated at 80°C under a vigorous stirring for 7 hours. After cooling for 24 hours, the clay suspension was repeatedly centrifuged and washed with distilled water until no chloride is detected by aqueous AgNO_3 test. Na^+ -exchanged montmorillonite-rich material (NaMt) was recovered by centrifugation and air-drying at 40°C overnight.

Further ion-exchange into Fe(II)Mt, MgMt and CaMt forms was achieved through impregnation of NaMt suspension in aqueous solutions of corresponding metal salts. The resulting clay catalyst was then repeatedly centrifuged and washed with distilled water. Besides, acid-activated samples (HMt-1, HMt-4, HMt-8, HMt-15 and HMt-24) were prepared through bentonite impregnation in concentrated sulfuric acid for 1, 4, 8, 15 and 24 hours (Arus *et al.*, 2018). For comparison, commercially available hydrotalcite (Fluka) was also used herein as an anionic clay catalyst.

All catalysts showed sharp 001 X-ray diffraction lines by means of a D8 Advance Bruker instrument and, $\text{CuK}\alpha$ radiation ($\lambda = 1.5418\text{\AA}$) at a voltage of 40 kV) and a Bragg Brentano Geometry processing system for data treatment. This is a special feature of sufficiently pure materials, and the sharp 001 xrd reflexion indicates a perfectly parallel layout of the clay lamellae as observed for any homo-ionic form. No crystallinity loss was noticed for both ion-exchanged

montmorillonites (**Fig. S1a**) and acid-activated bentonites (**Fig. S1b**) as supported by the flat baselines observed for all XRD spectra. However as expected, shift of the 001 lines from 2-Theta value of 10-11 degrees for NaMt down to 5-7 degrees for KMt (higher cation radius) and Fe(II)Mt (bulkier solvated cation) accounts for an enlargement of the interlayer space. Clay dispersion in aqueous media dramatically reduces and even suppresses the effect of the interlayer space.

X-ray fluorescence (S-4 Pioneer equipment; Brüker Rh tube; Powder press 34 mm with 10% boric acid; standardless method with 0.5% error) revealed progressive increase in the Si/Al mole ratio and a total cation substitution of the exchangeable metal cations by protons, as reported earlier (Arus *et al.*, 2018). Additional analyses were carried out through measurements of the Zeta potential (ZP) and particle size (PS) of the clay catalyst suspensions previously prepared by dispersing 40 mg of clay powder in 20 mL at room temperature in pure water and aqueous solutions of each organic molecule. The PS was assessed using a Malvern-Zetasizer S90 Nanoseries equipment and a 90-Plus particle sizer software (version 4.20). The ZP was measured with a Brookhaven device (Zeta-Plus/BI-PALS).

3.2.2 Ozonation tests and product analysis

Aqueous solutions of Diazinon (DAZ) and Na⁺-diclofenac (DCF, 98%; CAS 15307-79-6), purchased from Sigma-Aldrich, were prepared in nanopure water in specific concentrations according to their solubility and occurrence in wastewaters ($2 \cdot 10^{-5}$ M for DAZ and $31 \cdot 10^{-5}$ M and for DCF). UV-Vis spectra and HPLC-UV diagrams of both DAZ and DCF at different concentrations were obtained through UV-Vis spectrophotometry (UV-Vis) and High-Performance Liquid Chromatography coupled to an ultraviolet-visible detector (HPLC-UV). This allowed plotting calibration curves at room temperatures and intrinsic pH of both aqueous solutions (**Fig. S2-3**). UV-Vis analysis was carried out by means of an Agilent-Cary 60 instrument (1 cm quartz cell), HPLC-UV measurements were performed using an Agilent Technologies model 1290 equipment and a C₁₈ column (4.6 x 150 mm, 5 µm particle size). For this purpose, HPLC-grade methanol (Purity >99.8 %, Sigma-Aldrich) was used in two Water-Methanol mixtures as mobile phases with volume ratios of 35:65 for DAZ and 30:70 for DCF. Other HPLC-UV measurements for DCF were achieved using Agilent Eclipse Plus C₁₈ column (250 x 4.6 mm, 5 µm particle size) at room temperature and with the same mobile phase conditions, injection volume: 7 µL. The

relative peak area (PA/PA_0) was calculated as the instant (PA) to initial (PA_0) peak area ratio for each organic molecule, the conversion yield being $[1-(PA/PA_0)] \times 100\%$.

Non catalytic ozonation was performed by ozone bubbling (600 mg h^{-1}) produced by an A2Z ozone generator (A2Z Ozone Inc. USA) in cylindrical vessels ($28 \times 115 \text{ mm}$) containing 20 mL samples of DAZ or DCF, at intrinsic pH and room temperature for various ozonation times (0.33 to 30 minutes). The same procedure was applied for the ozonation after addition of 40 mg of dry clay catalyst, but centrifugation was required for obtaining non-turbid and perfectly clear supernatant to be analysed. Triplicate analysis of the supernatant of each ozonation test was carried out by both UV-Vis and HPLC-UV. These two complementary techniques were respectively used for the qualitative evolution in time of the reaction mixture and quantitative determination of the yields of conversion for both molecules and of production of their main derivatives. The ozone consumption was monitored by measurement through conventional methods (Supporting information).

3.2.3 Biological tests

Triplicate toxicity tests were performed by contacting *Artemia salina* (*A. salina*) dispersions with different ozonation mixtures obtained for each organic substrate at different times of ozonation (0 min, 0.33 min, ..., 30 min) in the presence of various catalysts, according to a conventional procedure (Canuel, 2017) slightly modified. Hence, 0.5 g of *A. salina* eggs (purchased from Aquatic Lifeline, Utah, USA) was added to 100 mL of Instant Ocean Sea salt solution (35 g L^{-1} , purchased from Instant Ocean Spectrum Brands, Virginia, USA) in a $15 \times 15 \times 15 \text{ cm}$ plastic container. The mixture was incubated on an orbital stirrer at 80 rpm speed for 48 hours under constant light using fluorescent lamps at $100 \pm 20 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ at $24 \pm 1^\circ\text{C}$. Once the eggs hatched, 10 adult individuals were collected and put in small pots (30 mL) containing 20 mL of Instant Ocean solution (35 g L^{-1}) and 100 μL of ozonised reaction mixture. The pots were then maintained under light exposure for 48 h, and the mortality rate was determined (Arulvasu *et al.*, 2014).

3.3 Results and discussion

3.3.1 Non-catalytic ozonation

Non-catalytic ozonation of DAZ solutions produced a new broad band at 190–220 nm, whose intensity increase for all UV-Vis bands shades DAZ degradation (**Fig. 3.1A-B**). This is a common feature of most organic molecule ozonation processes. Here, the formation of early hydroxylated intermediates with higher light absorptivity in this region indicates that the oxidative process is triggered (Azzouz, A. *et al.*, 2010; Azzouz A. *et al.*, 2019; Boudissa, F., 2019; Boudissa, Farida *et al.*, 2020b; Larouk, S. *et al.*, 2017; Shahidi, Dariush, Moheb, Amira, *et al.*, 2015; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b).

In contrast, no new band was noticed for DCF degradation, suggesting a higher reactivity ozone towards early hydroxylated intermediates, if any. The intensity decay of ca. 90% accounts for advanced DCF conversion, in agreement with previous data (García-Araya *et al.*, 2010). Additional analysis through HPLC-UV of the reaction mixture provided a much more quantitative evaluation of the depletion in time of DAZ (**Fig. S4a**) and DCF (**Fig. S4b**).

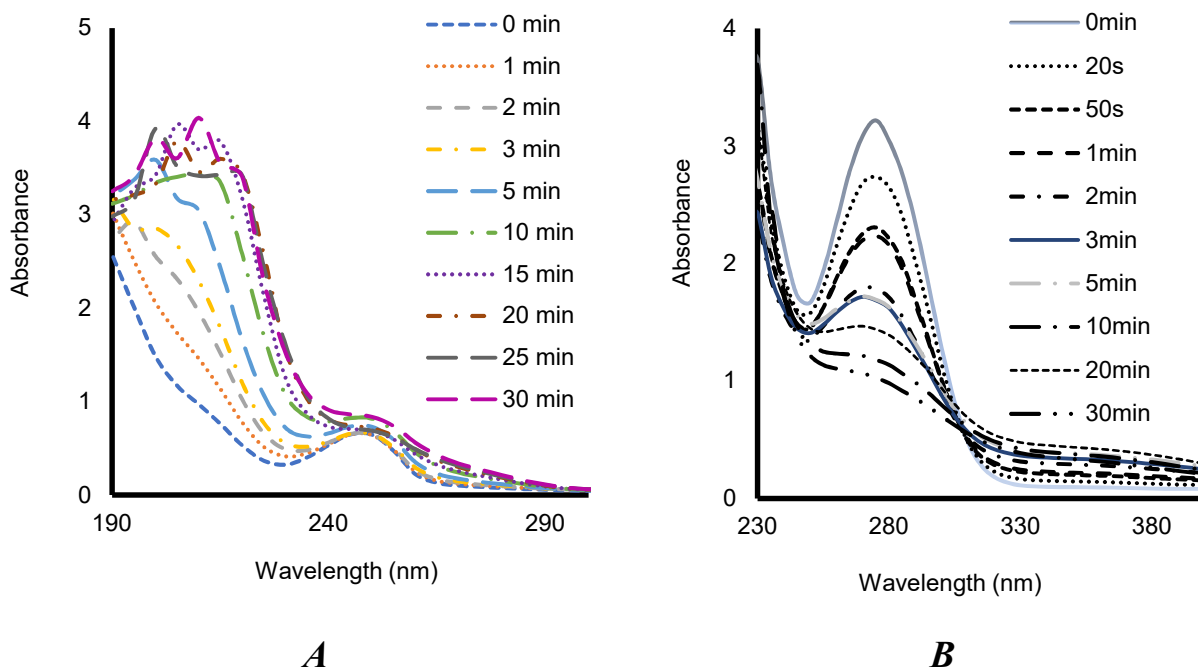


Figure 3.1. Evolution of UV-Vis spectra of diazinon (a) and diclofenac (b) during non-catalytic ozonation. Sample volume = 20 mL Quartz cell width: 1 cm.

For comparison, the Instant-to-Initial peak area ratio (PA/PA_0) decreased slowly from unity for 30 min up to an almost total disappearance of DAZ (**Fig. 3.2A**). A much more pronounced PA/PA_0 decay down to 0.06-0.07 was registered for DCF after less than 5 min ozonation (**Fig. 3.2B**). This apparently higher reactivity of DCF towards ozone must be due not only to its central amino group but also to a lower Oxygen/Carbon atom ratio (3/12 for DAZ *versus* 2/14 for DCF) (**Table S1**). The reactivity towards ozone is assumed to increase with increasing molecular size and decreasing oxidation level (Boudissa, F., 2019; Boudissa, Farida *et al.*, 2020b).

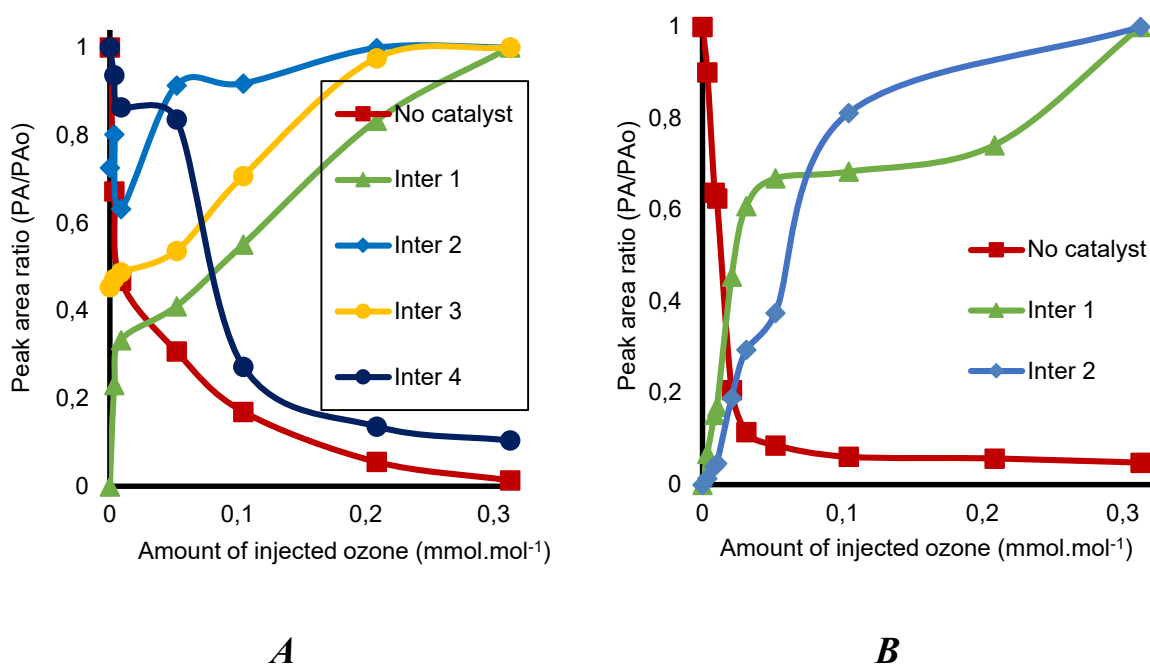


Figure 3.2. Evolution of the HPLC-UV peak area ratio of aqueous solutions of diazinon (A) and diclofenac (B) during non-catalytic ozonation. Ozone flow rate: 600 mg h⁻¹. Catalyst concentration 2 mg mL⁻¹. Sample volume = 20 mL. The relative peak area (PA/PA_0) was calculated as the instant/initial peak area ratio of each organic substrate. This ratio allows quick assessment of the conversion yield as being $(1-PA/PA_0) \times 100\%$.

The low pH of the initial montmorillonite-containing reaction mixtures is expected to promote early direct action of ozone molecules (Azzouz A. *et al.*, 2019; Mirilă *et al.*, 2020a; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b; Wu, Jiguo *et al.*, 2009). This was found to trigger P=S conversion yielding sulphate anion (Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b; Wu, Jiguo *et al.*, 2009). The early production of sulphate must even take place in the presence of dissolved ozone

molecules in the vicinity of the ozone bubble surface in agreement with other works (Lee *et al.*, 2020). This supposes early, fast and sufficient ozone dissolution. Since the maximum solubility of ozone (barely up to 1.45 mg L⁻¹ under most favourable conditions), which still remains low, cannot be attained before 10 min of ozone bubbling (**Fig. S5**), the appreciable quantity of P=O functionalized intermediates as compared to trace of dissolved ozone during the first 30 seconds of ozonation suggests that direct ozonation with gaseous ozone must also take place (Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b). The conversion of the P=S bond into a phosphoryl group (P=O) is a common feature of organo-phosphorus compound such as DAZ in oxidative processes (Ayoubi-Feiz *et al.*, 2019; Wu, Jiguo *et al.*, 2009).

The ample literature reported for diazinon oxidation processes allows achieving a comprehensive illustration of the main reaction pathways in DAZ degradation (**Scheme S1**). A deep analysis showed that oxidation, hydrolysis, hydroxylation and oxidation are the first ozonation steps (Asgari *et al.*, 2020; Ayoubi-Feiz *et al.*, 2019; Ku, Chang, Shen, *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2020; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b; Wu, Jiguo *et al.*, 2009; Zhang, Y. *et al.*, 2010). The shapes of the evolution of Inter-3 or Inter-4 amounts during ozonation (**Fig. 3.2A**) suggest the production of trace amounts of short-life intermediate, most likely diazoxon. The latter seems to be quickly hydrolysed into 2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinols and diethyl phosphate. Simultaneously, two persistent oxons, namely methyl paraoxon and paraoxon, are also expected to be generated (Wu, Jiguo *et al.*, 2009).

These four derivatives should account for the major intermediates of DAZ ozonation investigated herein. This is well supported by the fact that direct DAZ hydrolysis and hydroxylation yield only trace amounts of diethyl thiophosphate and low amounts of hydroxy diazinon and hydroxy-2-isopropyl-6-methyl-4-pyrimidinols, respectively (Lee *et al.*, 2020). The latter should be further mineralized after prolonged ozonation into phosphate, carbonate and nitrate anions (Ku, Chang, Shen, *et al.*, 1998). The late formation of phosphate, nitrate and carbonate anions appears to be due decreasing pH due to the progressive appearance of acidic species and step-wise oxidation of N-compounds (Lee *et al.*, 2020). In the absence of catalysts, DCF ozonation in aqueous solutions gave rise to two major intermediates (**Fig. 3.2B**) in agreement with other works (Eyjolfsson, 2000). After the unavoidable protonation of DCF, the fast production of Intermediate 1 during the first minute of ozonation appears to involve successive hydroxylation of the phenyl rings, carboxyethyl-

phenyl ring and then readily of the di-chlorophenyl ring (**Scheme S2**). This is supposed to generate similar early intermediates ($C_{14}H_{11}Cl_2NO_3$ and $C_{14}H_{11}Cl_2NO_4$) as in other oxidative processes (Calza *et al.*, 2006; Coelho *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2021; Pérez-Estrada *et al.*, 2005; Sein *et al.*, 2008; Vogna *et al.*, 2004; Yu, H. *et al.*, 2013). Simultaneous formation of 2,6-dichlorophenyl indolin-2-one ($C_{14}H_9Cl_2NO$) through carboxyl reaction with the protonated amino group and water loss often takes place before C-N cleavage (Galmier *et al.*, 2005; Hájková *et al.*, 2002; Jiang *et al.*, 2021; Karamancheva *et al.*, 1998) giving rise to a wide variety of intermediates. Consecutive processes are expected to lead to short chain derivatives, carbon dioxide and others. The presence of different clay catalyst is expected to promote different selectivity towards different processes resulting in different intermediate distribution.

3.3.2 Effect of catalyst addition

HPLC-UV analysis of the supernatant revealed a paradoxically faster DAZ depletion during the first 20 min of non-catalytic ozonation, as expressed by a more pronounced PA/PA₀ as compared to the catalytic ozonation (**Fig. 3.3A**).

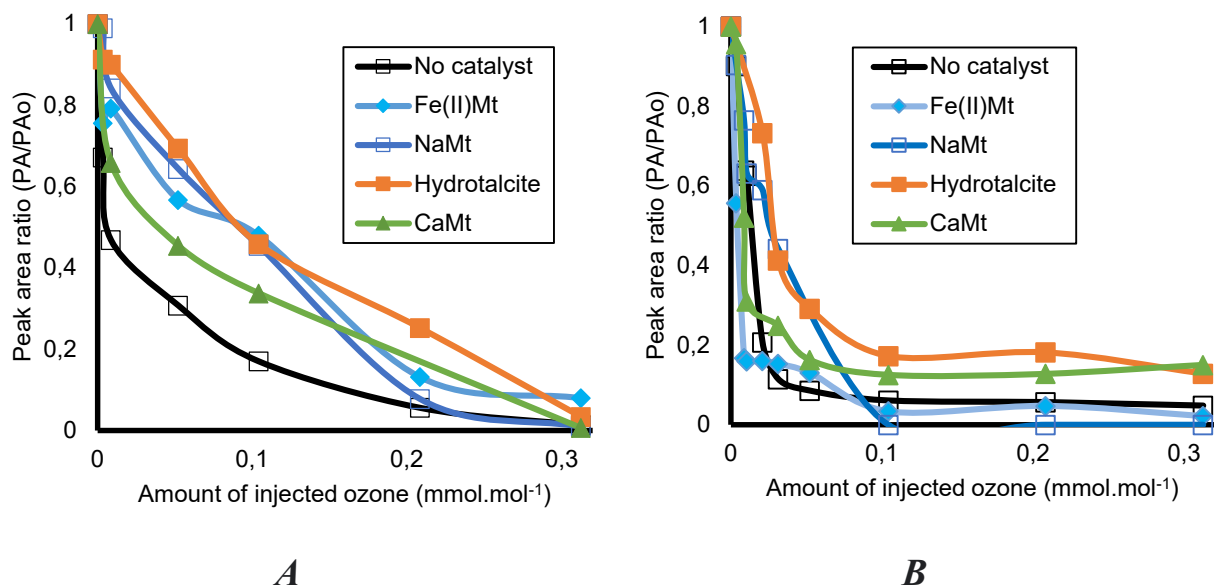


Figure 3.3. Evolution during catalytic ozonation of the relative area of the HPLC-UV peak of DAZ (A), DCF (B). Ozone flow rate: 600 mg h^{-1} . Catalyst concentration 2 mg mL^{-1} . Sample volume = 20 mL . The relative peak area (PA/PA_0) was calculated as the instant/initial peak area ratio of each

organic substrate. This allows quick assessment of the conversion yield as being $(1-PA/PA_0) \times 100\%$.

This can be due to a major contribution of molecular ozone in both gas and dissolved forms during the first steps of ozonation and/or to a competitive consumption of ozone in the oxidation of early intermediates in the presence of clay catalysts. These effects appear to be mitigated for longer ozonation time due to progressive adsorption on the catalyst surface. This resulted in similar degradation yield of DAZ of ca. 99.0-99.5% for ozone alone and NaMt, slightly lower for Ht (98%) and Fe(II)Mt (94-95%). A much faster DCF depletion down to ca. 85-90% conversion yield was registered after only 2-3 min with ozone alone and in the presence of Fe(II)Mt (**Fig. 3.3B**).

Total DCF disappearance was noticed in the presence of NaMt and Fe(II)Mt after 10 and 30 min of ozonation, respectively. This was reflected by lower PA/PA₀ values for both catalysts as compared to ozone alone, thereby confirming their activity in the ozonation of other organic pollutants (Boudissa, Farida *et al.*, 2020b). Unlike DAZ, DCF still persisted in Ht-catalysed ozonation even after 30 min. This must be due to its deprotonated carboxylate group (pK_a 4.35 versus 2.6 for DAZ) (Azzouz, Abdelkrim *et al.*, 2021) (**Table S1**). The induced hydrophilic character should hinder DCF adsorption on hydrophobic Ht surface but not on montmorillonite-based catalysts.

3.3.3 pH evolution during ozonation

As a general tendency, ozonation resulted in a pH decrease in time for both molecules due to the formation of acidic derivatives. Correlation attempt revealed a reverse proportionality between the pH and conversion yield (**Fig. 3.4**).

This pH decrease with increasing DAZ degradation yield was much less pronounced in non-catalytic ozonation and in the presence of Fe(II)Mt as compared to NaMt and hydrotalcite, well known to display basicity. This effect progressively disappeared for high conversion yield of 95-100%, since, except for hydrotalcite, most pH converges towards a common value of ca. 2.6-2.8 for (**Fig. 3.4A**). This must be due to a loss in catalyst selectivity as a result of a shading effect of the formation bottleneck of common short chain acids from the two parent molecules.

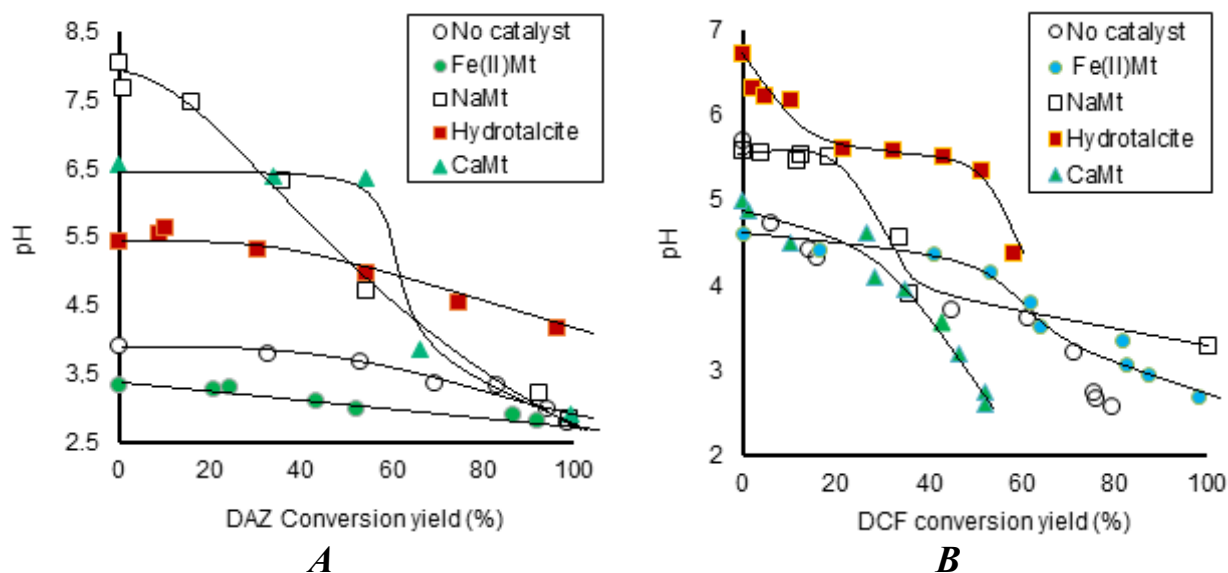


Figure 3.4. Evolution of pH during ozonation of diazinon (A) and diclofenac (B). Ozone flow rate: 600 mg h⁻¹. Amount of catalysts: 40 mg. Sample volume = 20 mL.

3.3.4 Effect of pH on catalyst dispersion

Decreasing pH in the reaction mixture is expected to reduce clay catalyst dispersion and subsequently of the catalytic surface. The very intrinsic pH of the reaction mixture was found to vary even before ozonation according to the clay catalyst and organic substrate. Comparison for the most effective catalyst revealed pH decreases for pure water (from 6.27 for NaMt to 3.76 for Fe(II)Mt), DAZ solution (from 2.82 to 2.78, respectively) and DCF solution (from 4.61 to 4.53, resp.) (Table 3.1).

Table 3.1. Initial physico-chemical feature of the reaction mixture before ozonation.

pKa	Water			Diazinon			DCF		
	pH ^a	PS ^b (μm)	ZP ^c (mV)	pH ^a	PS ^b (μm)	ZP ^c (mV)	pH ^a	PS ^b (μm)	ZP ^c (mV) ^f
	14			2.6			4.35 \pm 0.2		
NaMt	6.27	0.76	-22.39	2.82	1.34	-24.34	4.61	1.07	-30.26
Fe(II)Mt	3.76	2.59	-22.20	2.78	2.07	-19.65	4.53	2.17	-26.81
LDH	3.94	4.00	+5.54	-	-	-	6.74	3.85	+8.9

^a Initial intrinsic pH of the aqueous media before ozonation.

^b PS: Catalyst particle size;

^c ZP: Zeta potential of the clay catalyst suspension.

This induced increases in clay particle size in water (from 0.76 to 2.59 μm , resp.), DAZ solution (from 1.34 to 2.07 μm , resp.) and DCF solution (from 1.07 to 2.17 μm , resp.). This is in agreement with visible decay in Zeta potential for catalyst suspension in pure water (from -22.39 to -22.20 mV, resp.), DAZ solution (from -24.24 to -19.65 mV, resp.) and DCF solution (from -30.26 to -26.81 mV, resp.). Correlation attempts for all the clay catalysts investigated herein (**Table S2**) allowed confirming this tendency, where decreasing pH induces clay aggregation into larger particle size (**Fig. 3.5A**). This phenomenon is more visible for crude and acid-activated bentonites along with Na^+ and K^+ -exchanged smectites both in water and DCF solutions (**Fig. 3.5B**). This arises from a depletion of the repulsive negative charges on clay catalyst surface with decreasing pH. The higher ZP values registered in DCF solution as compared to water must be due to additional negative charges of deprotonated DCF at pH higher than the pK_a (4.35) (**Table 3.1**).

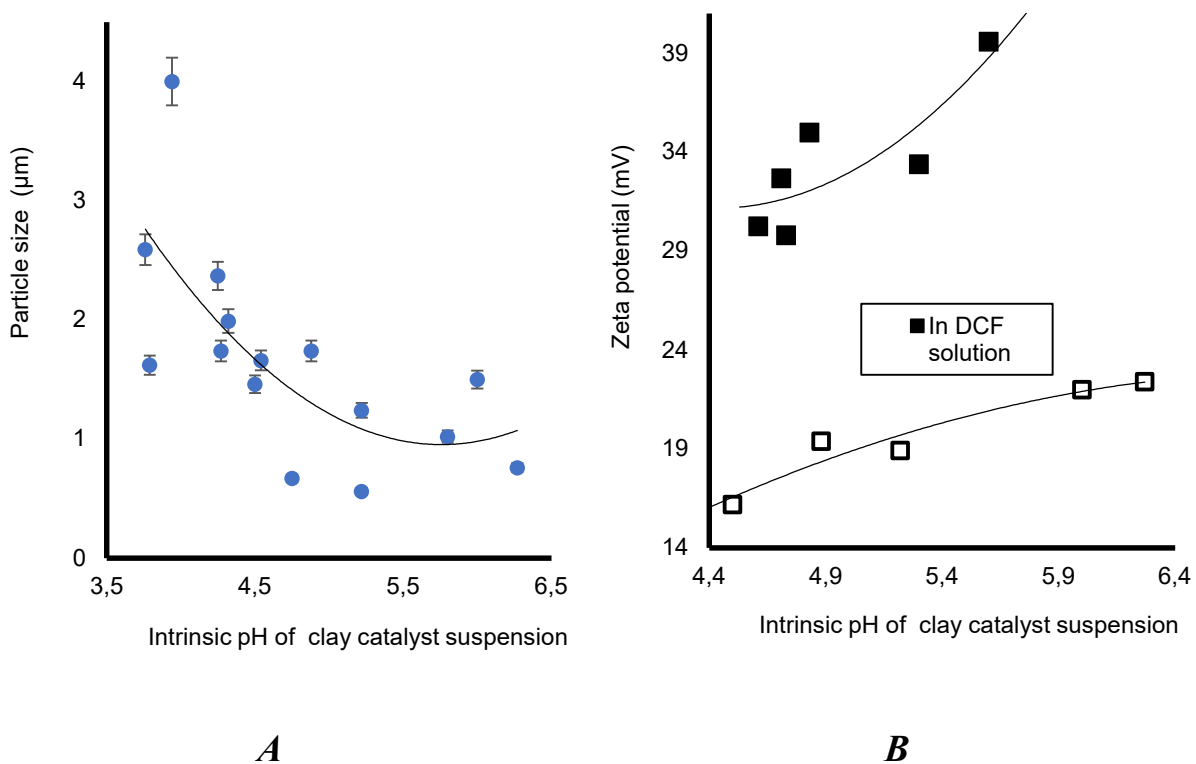


Figure 3.5. Effect of pH on the particle size in aqueous suspensions of smectite-based catalysts (A) and absolute value of the Zeta potential for monovalent cation-exchanged catalysts (B) in water and in DCF solution before ozonation.

Similar but much less pronounced phenomenon was also registered for NaMt in DAZ solution (-24.34 versus -22.39 mV, resp.) but not for Fe(II)Mt. The latter rather induced a ZP decay from -22.20 to -19.65 mV. This appears to be a common feature of all bivalent cations (**Table S2**), most likely due to their “sandwiching effect” through charge sharing between neighbouring clay lamellae. This effect should be more pronounced with decreasing pH, enhancing even more clay coagulation-flocculation (Assaad, E. *et al.*, 2007), at the expense of catalyst dispersion and accessibility to the catalytic surface. The lowest pH values induced Fe(II)Mt are due to Bronsted acidity resulting a hydrolysis of water molecules surrounding highly polarizing and small size Fe²⁺ cations (Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b). This contrasts with the highest catalytic activity of this catalyst, more particularly in DCF degradation (**Fig. 3.5**). A possible explanation resides at least partly in a higher catalyst dispersion due to a higher pH in DCF solution (4.53) than in water (3.76) and DAZ solution (2.78). Since no protonation of DCF⁻ anion should occur under these conditions pKa (4.35), an adsorption contribution via hydrophobic interaction with siloxy groups must also be involved (Boudissa, Farida *et al.*, 2018; Boudissa, F. *et al.*, 2020; Mirilă *et al.*, 2020a). The fact that DCF ozonation was found to be better obey 2nd order kinetics in the first 3 min of ozonation with all catalysts except LDH, CaMt, MgMt (**Fig. S6**).

The fact that both DCF and ozone vary in time indicates no involvement of O₃-saturated liquid media and suggests an early direct ozonation with dissolved ozone. At this stage, the catalyst surface is assumed to allow overcoming at least partly the low solubility of ozone in aqueous media by favouring fast and competitive ozone adsorption at the expense of its dissolution. Gaseous ozone bubbles are assumed to have only contribution. Further saturation of the aqueous media by ozone was often found to shade ozone consumption by adsorption and appearance of progressively more oxidized and subsequently more refractory intermediate towards ozone, inducing unavoidable changes in reaction kinetics (Boudissa, F., 2019; Boudissa, F. *et al.*, 2020; Larouk, S. *et al.*, 2017; Shahidi, Dariush, Moheb, Amira, *et al.*, 2015; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b).

3.3.5 Intrinsic ecotoxicity of DAZ and DCF and evolution during ozonation

Artemia salina was chosen for its sensitivity towards xenobiotics (Nunes *et al.*, 2006). A first overview of the effect of the concentration showed that DAZ display higher intrinsic ecotoxicity, which triggers beyond a DAZ concentration threshold of 1x10⁻⁵ mol L⁻¹ (**Fig. 3.6**).

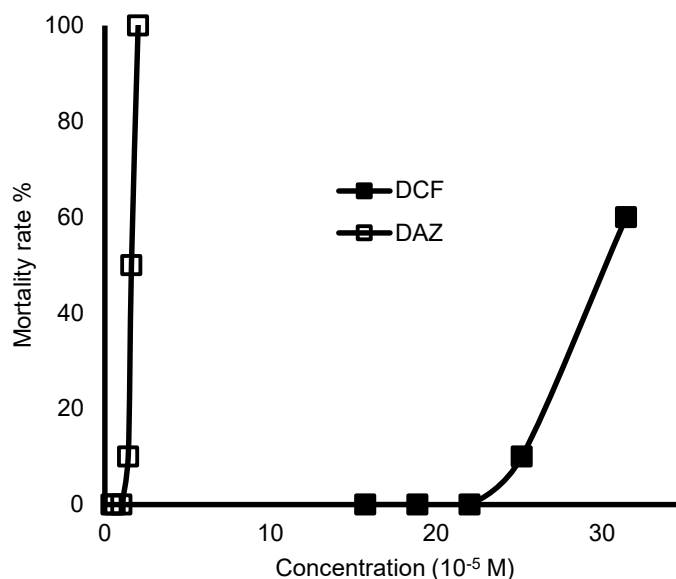


Figure 3.6. *Artemia salina* mortality rate versus initial concentration of organic substrate.

A total mortality rate in the *Artemia salina* sample was attained with concentrations of 2×10^{-5} mol L⁻¹. As expected, DCF was found to produce no *Artemia salina* mortality at this concentration. The intrinsic ecotoxicity was triggered beyond a 70 mg L⁻¹ concentration and barely reached 60% for a 100 mg L⁻¹ concentration.

For DAZ, the general tendency is a decrease of the relative mortality of *A. salina* with increasing degradation yields (**Fig. 3.7A**). This accounts for an ecotoxicity decay in time and indicates the production of harmless early derivatives (denoted as *Intermediate 1a*). Ecotoxicity almost totally disappeared with complete DAZ degradation by ozone alone, in agreement with many works (Asgari *et al.*, 2020; Ayoubi-Feiz *et al.*, 2019; Azzouz A. *et al.*, 2019; Ku, Chang, Shen, *et al.*, 1998; Lee *et al.*, 2020; Mirilă *et al.*, 2020a; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b; Wu, Jiguo *et al.*, 2009; Zhang, Y. *et al.*, 2010). Nonetheless, ecotoxicity seems to be revived beyond DAZ degradation threshold of 25% in clay catalysed ozonation without overpassing the initial intrinsic DAZ toxicity.

This must be due to the rise of harmful intermediates but still less toxic than the parent molecule, presumably those acetylcholinesterase inhibitors already reported (Wu, Jiguo *et al.*, 2009; Wu, J. *et al.*, 2007). This, it clearly appears that unlike with ozone alone, the ecotoxicity of DAZ and its

derivatives is expected to persist in the presence of clay catalyst, suggesting a similar behaviour of clay-based soils. The same tendency was observed in DCF ozonation, as reflected by the slight initial decrease in the relative mortality for conversion yield not exceeding 37-37% both in the presence and absence of catalyst (**Fig. 3.7B**). This accounts for the rise of harmless early intermediates (also denoted as *Intermediate 1b*) for ozonation times not exceeding 5 minutes, followed by that of DCF derivatives (*Intermediate 2b*) displaying more toxicity as compared not only to those of DAZ but also to the very parent DCF molecule. This result is of great importance, because it clearly demonstrates that early oxidation produces no additional toxicity and that changes in process selectivity take place in time according to the catalyst. Indeed, the toxicity mitigation noticed for conversion yield beyond 45-50% for Fe(II)Mt and Ht must be due to the catalyst selectivity.

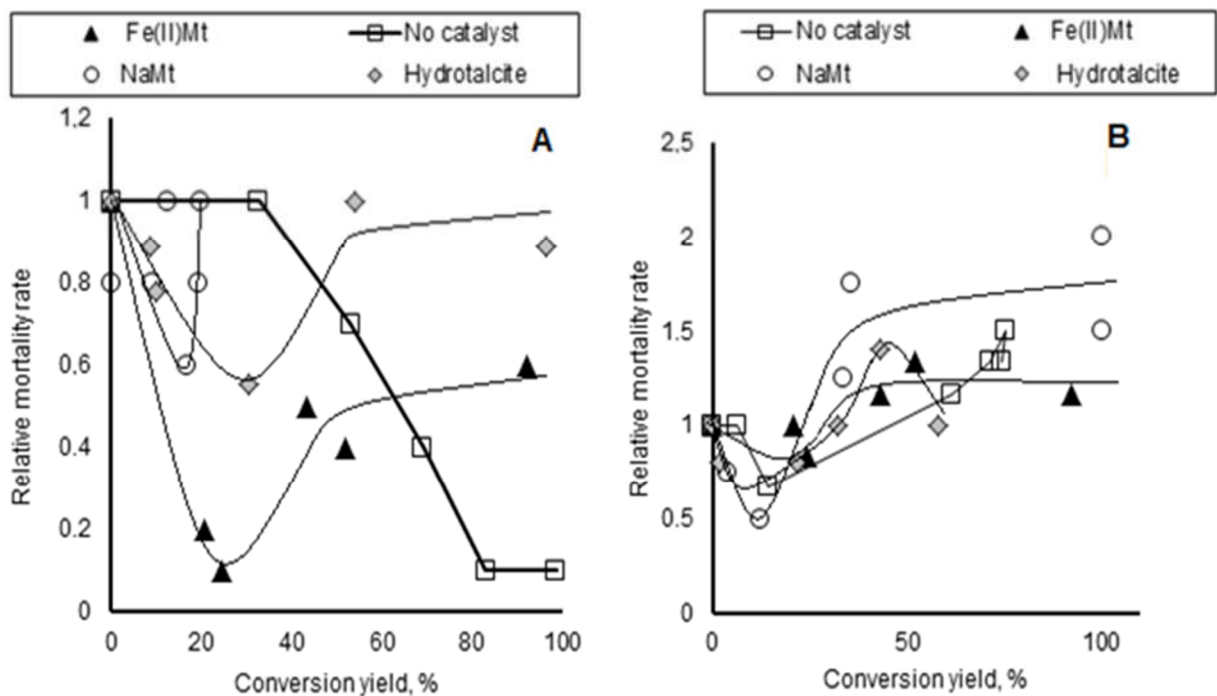


Figure 3.7. Effect of conversion yield on mortality rate (%) of *A. salina* exposed for 48 hours to ozonised mixtures of DAZ (A) and DCF (B). The mortality rate was calculated according to the formula of Arulvasu (Arulvasu *et al.*, 2014). The relative mortality defined as the actual-to-intrinsic mortality ratio is a more suitable tool for comparing the effect of the conversion yields under different conditions.

In DCF ozonation, most derivatives were found to be harmless, except oxalaldehyde and N-(2,6-dichlorophenyl)-2-oxoacetamide, which still exhibits toxicity towards fish, daphnia, and green algae (Qiu, Z. *et al.*, 2020). In non-catalytic ozonation, the major early intermediates are in decreasing sequence $C_{14}H_{12}NO_3Cl_2$, $C_6H_6NOCl_2$, C_7H_8N , C_6H_7NOCl , $C_6H_6NCl_2$, $C_{14}H_{10}NO_2Cl_2$ and $C_7H_6NOCl_2$.

3.3.6 Selectivity effect on ecotoxicity

Correlating the progressive production of oxidized intermediates (Fig. 3.2) with increasing conversion yield of DAZ and DCF by ozonation allowed achieving deeper insights in the effect of the catalyst selectivity on ecotoxicity (Fig. 3.8-3.9). Fluctuations of the relative mortality of *Artemia salina* was observed according to the different clay catalysts with the progressive formation of Intermediates 1a and 2a (Inter-1a and Inter-2a) from DAZ oxidation (Fig. 3.8a) and Inter-1b and Inter-2b from DCF degradation (Fig. 3.8b).

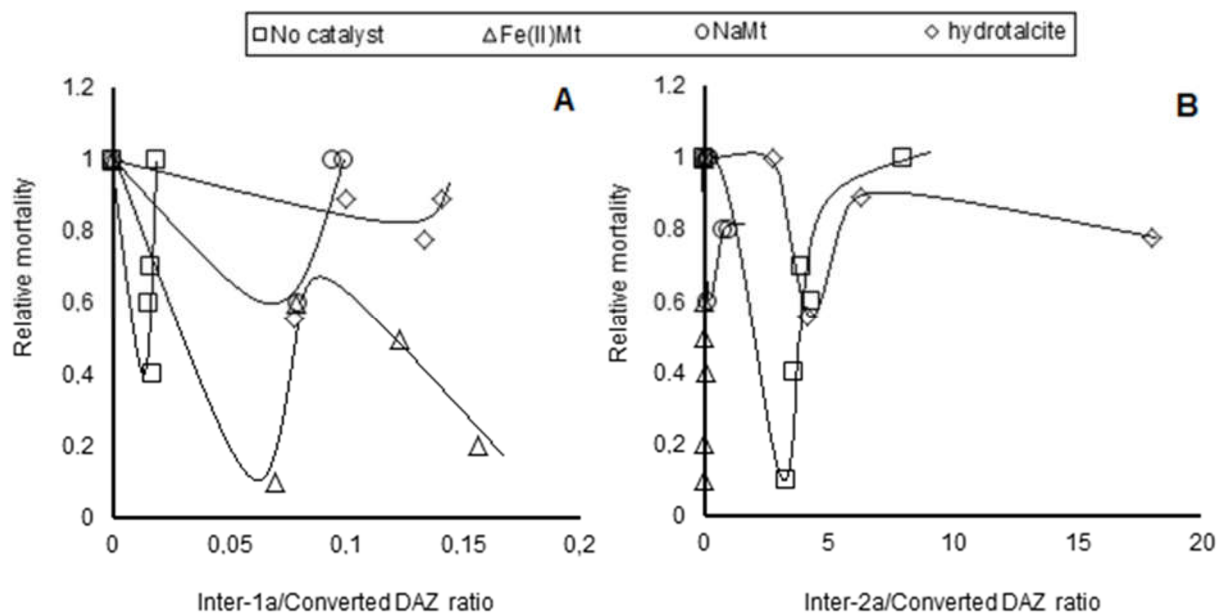


Figure 3.8. Effect of selectivity towards Intermediates Inter-1a (A) and Inter-2a (B) on *A. salina* relative mortality in ozonised DAZ solution. The selectivity expressed in terms of Intermediate/converted molecule ratio was defined as the corresponding HPLC peak area ratio for each organic substrate.

A quick overview of the data presented in **Fig. 3.8** showed decay in *A. salina* relative mortality, from unity with increasing Inter-1a/Converted DAZ and Inter-2a/Converted DAZ ratios, indicating that DAZ derivatives are less harmful than the parent molecules. Here, oxons produced by DAZ ozonation are assumed to exhibit no inhibition effect on gap junctional intercellular communication (GJIC) at all concentrations tested, indicating a beneficial effect of ozonation in water treatment even for the production of drinking water without formation of GJIC toxicity (Wu, J. *et al.*, 2007). In other works, oxon and diazoxon were found to be more toxic than their precursor compounds (Lee *et al.*, 2020), thereby explaining the slight increase in the relative mortality for prolonged ozonation after previous toxicity depletion in the presence of clay catalysts. The values close to unity were obtained for low DAZ degradation yield and for less acidic clay catalysts such as NaMt and hydrotalcite. This result is of great interest, because it clearly demonstrates that ecotoxicity strongly depends on the clay catalyst, and, most importantly, suggests that DAZ intermediates persist more in basic soils than on acidic surface.

Less clear correlation was obtained for the selectivity towards Inter-1b in DCF ozonation (**Fig. 3.9A**). However, a vague tendency is that relative mortality higher than unity was registered for low Inter-1b/Converted DCF ratio and lower than unity in non-catalytic ozonation and in the presence of Ht, Fe(II)Mt and NaMt at moderate Inter-1b/Converted DCF ratio. This result suggests that Inter-1b displays higher ecotoxicity as compared to DCF but disappears upon prolonged ozonation. The simultaneous increase of the amounts of Inter1b and Inter-2b and of the relative mortality.

This is in agreement with the formation of two DCF oxidation derivatives through DCF ozonation in aqueous solutions (Eyjolfsson, 2000), probably $C_{14}H_{11}Cl_2NO_3$ and $C_{14}H_{11}Cl_2NO_4$ as reported earlier (Calza *et al.*, 2006; Coelho *et al.*, 2009; Jiang *et al.*, 2021; Pérez-Estrada *et al.*, 2005; Sein *et al.*, 2008; Vogna *et al.*, 2004; Wu, J. *et al.*, 2007; Yu, H. *et al.*, 2013). The lower ecotoxicity level noticed for low Inter-2b/Converted DCF ratios (**Fig. 3.9B**) must be due to the early DCF degradation combined with a delayed appearance of Intermediate 2b. Except for hydrotalcite, higher Inter-2b/Converted DCF ratio led to a mortality increase. It results that this intermediate exhibit higher toxicity as compared to DCF and that acidic surface promotes ecotoxicity.

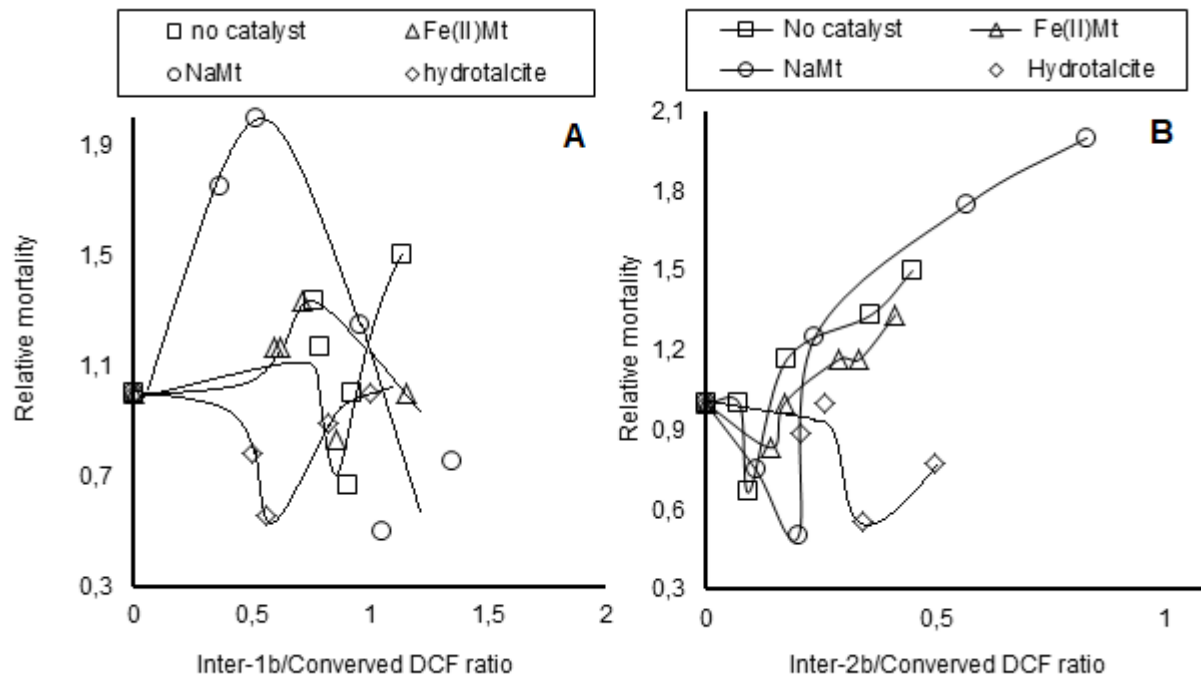


Figure 3.9. Effect of selectivity towards Intermediates Inter-1b (A) and Inter-2b (B) on *A. salina* relative mortality in ozonised DAZ solution. The selectivity expressed in terms of Intermediate/converted molecule ratio was defined as the corresponding HPLC peak area ratio for each organic substrate.

3.4 Conclusion

These results lead to the conclusion that ozone is differently reactive towards diazinon and diclofenac. This reactivity is related to the chemical structure of the organic molecule and nature of the catalyst. These two factors demonstrate the key role of the adsorption step in the overall ozonation process. Clay catalysts display dual behaviour as adsorbent-catalysts, and beneficial compensating effect of the low solubility of ozone. Other results led to the conclusion that the conversion efficiency of organic molecules depends on the clay catalyst. Ozonation appears to be a combination of actions of ozone bubbles and dissolved. This research allowed demonstrating that ecotoxicity strongly depends on the clay catalyst and that DAZ intermediates persist more in basic soils than on acidic surface and that DCF ozonation produces intermediate with higher ecotoxicity as compared to DCF but disappears upon prolonged ozonation.

CHAPITRE 4

**CORRELATION OF PESTICIDE ECOTOXICITY WITH CLAY
DISPERSION EFFECT ON ADSORPTION AND OZONATION – AN
APPROACH THROUGH IMPACT ASSESSMENT ON LEMNA MINOR**

Amina Benghaffour^a, David Dewez^{a*}, Abdelkrim Azzouz^{a,b*}

^a *Nanoqam, Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal, QC, Canada H3C 3P8.*

^b *École de Technologie Supérieure, Montréal, Québec, H3C 1K3, Canada.*

*Corresponding authors: Pr. Abdelkrim AZZOUZ and Pr. David Dewez

E-mail: azzouz.a@uqam.ca; Tel: 1 514 987 3000 Ext. 4119, Fax: 1 514 987 4054

dewez.david@uqam.ca; Tel: 1 514 987 3000 Ext. 3278

Author's contribution

Amina Benghaffour:

Preparation of protocols, the development of HPLC-UV technique specific for each pesticide, realization of the experiments for the study of adsorption, ozonation, catalytic ozonation and ecotoxicological tests of each pesticide, treatment of analysis data, experimental results and drafting the manuscript.

David Dewez:

Revision and development of the protocol design of ecotoxicological tests, reverification of the preliminary experiments, revision of the ecotoxicological results and correction of the final manuscript.

Abdelkrim Azzouz:

Proposition of the concept, design, and direction of research on the ozonation of organic pollutants, verification, and correction of interpretations of results, finalization of the article, submission of the article and initiation of the student to the submission process.

Abstract

An unprecedented approach allowed correlating the adsorption and ozonation of diazinon (DAZ) and atrazine (ATR) in SIS media-suspensions of Na⁺ and Fe²⁺-exchanged montmorillonites to their toxicity towards aquatic plant *Lemna minor*. Simultaneous variations of the clay concentration and process duration revealed a strong parameter dependence that partly shades their individual effects. Pesticide interactions appear to govern the clay dispersion and the extent of the clay surface accessible, inducing a strong influence of adsorption and ozonation effectiveness on pesticide toxicity. These results provide valuable findings for predicting pesticide ecotoxicity according to their natural oxidative degradation in the host clay-suspension.

Keywords: Diazinon; Atrazine; *Lemna minor*; Adsorption; Ozonation; Montmorillonite.

Highlights

- Pesticide retention and oxidation in clay-based media govern their ecotoxicity.
- Optimum clay amount improves the active surface and reduces clay coagulation.
- Clay:Pesticide interactions evolve during adsorption and ozonation.
- Pesticide toxicity on *Lemna minor* depends on pesticide degradation level.
- Pesticide ecotoxicity correlates to clay content and dispersion in water.

4.1 Introduction

Pesticides are used in agriculture to increase productivity but often at the expense of food quality, environmental considerations, and even human health. The mere presence of pesticides negatively

impacts the very behavior of soils through biodiversity alteration with unavoidable aftermaths on surface and ground waters (Čolović *et al.*, 2010; Velioglu *et al.*, 2018). Prolonged exposure to pesticides or their ingestion was already found to be harmful to human health. Pesticide release in nature unavoidably leads to natural oxidation processes that can generate even more hazardous derivatives inducing an additional ecotoxicity to that of the very pesticide. A comparative study of the role of the molecular structures of two widely used pesticides, namely Diazinon (DAZ) and Atrazine (ATR) is expected to provide valuable data in this regard.

DAZ is a non-selective organophosphorus insecticide, regarded by the World Health Organization as a “moderately hazardous” class II pesticide with a toxicity dose to aquatic organisms of 350 ng L⁻¹ and a lethal dose for humans of approximately 90–444 mg kg⁻¹ with a maximum acceptable dose of 1 ppm (Azzouz, Abdelkrim *et al.*, 2021). This pesticide is known to inhibit the acetylcholinesterase activity (AChE) by phosphorylation of the serine hydroxyl group in the substrate-binding domain of the enzyme resulting in the accumulation of acetylcholine and associated neurotoxicity (Fulton et Key, 2001). A slight solubility in water makes DAZ sufficiently carriable by surface waters for spreading to larger areas (Phuong *et al.*, 2019). Its toxicity varies according to the aquatic organisms with LC-50 (96 h) values ranging from less than 5 ug L⁻¹ for the most sensitive species (freshwater cladocerans and marine shrimps) to 90 ug L⁻¹ for the most resistant one (freshwater teleosts) (Eisler, 1986). ATR, an agricultural herbicide (Palma *et al.*, 2008), displays a relatively high chemical and biological stability in soils and waters that explains its persistence in surface and ground waters even at critical concentrations (Kovaios *et al.*, 2006). ATR acts by hindering the electron transfer at the reducing site of photosynthesis complex II in the chloroplasts (Cooper, R. L. *et al.*, 2007). *Lemna minor* is an interesting model of vegetal organism due to its presence in aquatic media which are usually first contaminated by organic pollutant and its high sensitivity to evaluate the potential risk of toxicity towards biodiversity.

As long as the use of pesticides is regarded as a necessary inconvenience, interest still remains focused on approaches targeting their elimination from aqueous effluents (Burrows *et al.*, 2002; Franko *et al.*, 2005; Harris, C. *et al.*, 1984; Ikehata et Gamal El-Din, 2005; Kafarski *et al.*, 2001; Meijers *et al.*, 1995; Miwa *et al.*, 2006; Percherancier *et al.*, 1995; Samet *et al.*, 2010; Stoytcheva, 2011; Vlyssides *et al.*, 2004). More viable routes are undoubtedly those mimicking natural oxidative degradation of organic compounds in clay-rich soils (Benghaffour *et al.*, 2022; Foka

Wembe *et al.*, 2023). Among these, clay-catalyzed ozonation could be even a more interesting and green approach that allows affording thorough mineralization of organic pollutants carbon dioxide (CO₂) and other oxides (NO_x, SO_x,...) with no traces of persistent intermediates (Azzouz, A, 2012; Boudissa, Farida *et al.*, 2019b; Larouk, S. *et al.*, 2017; Shahidi *et al.*, 2014; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b). This was often related to a significant contribution of adsorption (Azzouz, A, 2012; Azzouz, Abdelkrim *et al.*, 2021; Azzouz, A. *et al.*, 2010; Azzouz A. *et al.*, 2019; Boudissa, Farida *et al.*, 2019b; Boudissa, Farida *et al.*, 2020a; Larouk, S. *et al.*, 2017; Mirilă *et al.*, 2020a; Shahidi *et al.*, 2014; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b; Zekkari *et al.*, 2022). Pesticides are known to adsorb on clay surfaces (Kabwadza-Corner *et al.*, 2014). The clay type and content in soils or aqueous suspensions are expected to promote differently natural degradation inducing different eco-toxicity levels (Benghaffour, Azzouz, *et al.*, 2023; Benghaffour, Dewez, *et al.*, 2023; Benghaffour *et al.*, 2022).

A judicious strategy resides in correlating the oxidative degradation and adsorption yields to the residual ecotoxicity according to pesticide molecular structure. That is why the present work was undertaken. For this purpose, two montmorillonite samples fully exchanged with Na⁺ and Fe²⁺ cations (NaMt and Fe(II)Mt, respectively) were investigated due to their opposite acid-base properties in aqueous suspensions. Fe(II)Mt was also recognized as an effective catalyst in organic pollutant ozonation (Boudissa, Farida *et al.*, 2019b; Boudissa, Farida *et al.*, 2020a; El Baktaoui *et al.*, 2022; Shahidi *et al.*, 2014; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b). Changes in the toxicity of ozonized DAZ or ATR mixtures in the presence of each clay catalyst will be examined in similar SIS media (Swedish Institute for Standards) with similar adjusted pH for achieving almost similar initial stresses to *L. minor*. The results will be discussed in terms of three toxicity criteria, namely the growth rate, chlorophyll-a content, and content in reactive oxygen species (ROS).

4.2 Experimental

4.2.1 Catalyst preparation and characterization

Fully ion-exchanged Na⁺ and Fe²⁺-montmorillonite-rich materials (NaMt and Fe(II)Mt, respectively) were prepared through purification of a crude bentonite supplied by Sigma-Aldrich (USA) according to a procedure fully described elsewhere (Benghaffour *et al.*, 2022). Preliminary characterization through X-ray diffraction (Siemens D5000, CuK α , $\lambda = 1.54051 \text{ \AA}$) of both

montmorillonites revealed no crystallinity loss. The sharper 001 XRD reflexion as compared to the starting bentonite indicates a perfectly parallel layout of the clay lamellae.

4.2.2 Preparation of pesticide solutions and clay suspensions

Diazinon (DAZ) and Atrazine (ATR) were used for their different physical-chemical features (**Table S1**). A commercial diazinon solution (500 g L⁻¹) was provided by Pr. Philippe Juneau's laboratory at UQAM. Atrazine (PESTANAL[®], 7.4% purity) was purchased from Sigma-Aldrich (USA). A Swedish Standard growth medium (pH 6.5) containing inorganic nutrients was previously prepared based on OCDE rules (OCDE 2006) (**Table S2**). Nano pure water, pesticide solution (10 mg L⁻¹ at intrinsic pH), SIS media and SIS-based pesticide solutions were used to prepare 2 mL of aqueous suspension of 2 g L⁻¹ of each catalyst. This 2 g L⁻¹ value was previously assessed through preliminary optimization. DAZ and ATR aqueous solutions (10 mg L⁻¹) showed intrinsic pH of 5.28 and 9.5 respectively as assessed with an Accumet[®] model 15 pH-meter.

The Zeta potential was measured by the electrophoretic mobility method using a ZetaPlus system (BrookHaven Instrument Corp, ZetaPlus / BI-PALS). The particle size distribution was determined by dynamic light scattering (DLS) with a ZetaPlus particle sizer (Brookhaven Instruments) using 90Plus Particles Sizing Software Version 4.20. Duplicate measurements were carried out at room temperature (22°C) in a 12 mm cell under suitable operating conditions (viscosity: 1.0031 cP, refractive index: 1.33 and absorption: 0.1). The pH, particle size and Zeta potential were also measured for SIS-based clay suspensions (**Table S3**).

4.2.3 Adsorption experiments and ozonation tests

Both adsorption and ozonation tests were carried out in similar SIS-based 10 mg L⁻¹ pesticide solutions for attenuating the differences in the initial stress caused to *Lemna minor*. Clay addition to the SIS media unavoidably produced an enrichment by Na⁺ cation from 4.9 ppm up to 18.21 ppm in NaMt and from 0.67 ppm to 5.3 ppm in Fe(II)Mt as assessed through ICP-OES analysis. In the meantime, the concentrations of earth-alkaline cations increased at the expense of Fe²⁺ ions (**Table S4**). Almost total leaching of iron occurred from 25.73 ppm in Fe(II)Mt down to a similar content as in NaMt (0.09 ppm).

ICP-OES analysis was performed by means of an Agilent Technologies-5100 device (USA) with an axial plasma configuration and a concentric quartz nebulizer. Six major elements (Na, Mg, K, Ca, and Fe) were determined using calibration solutions prepared by dilution of the standard solution of each metal, with elemental concentrations of up 15000 ng mL⁻¹ at similar HNO₃ concentration as that of the blank.

Adsorption tests were performed by impregnating 1, 2 and 3 g L⁻¹ of clay adsorbent in 25 mL of 10 g L⁻¹ SIS-pesticide solution under vigorous stirring at room temperature (RT= 25 ± 2°C) for 1, 5, 9 and 30 min. In a second step, oxidation tests were performed in glass tubes (28 × 115 mm) containing 25 mL of each SIS-pesticide solution and appropriate amount of each catalyst concentration under a constant 600 mg h⁻¹ ozone bubbling fed by an A₂Z generator (A₂Z Ozone Inc, USA) at RT for similar ozonation times.

Adsorption and ozonation of DAZ and ATR in the presence of NaMt and Fe(II)Mt were studied through 9 adsorption or ozonation attempts (3² factorial experiment designs) performed at RT by varying the clay amount (X₁) and contact time (X₂) around their suspected optimum values already estimated by preliminary tests (**Table S5**). After adsorption and ozonation, each clay suspension was first centrifuged at 3075 g, then filtered through a cellulose acetate membrane (pore size of 0.2 μm) for further analyses and ecotoxicity tests. The individual effects and interaction of both factors were evaluated on the basis of measurements of the residual pesticide concentration for each experimental attempts and coefficients calculations for each Taylor's second-order polynomial model (Assaad, E. *et al.*, 2007; Bodo *et al.*, 2004; Duckworth et Le Gall, 1973; Shahidi *et al.*, 2014).

4.2.4 Ozonation products analysis

The filtrate of each adsorption or ozonation mixture was analyzed by pH measurements (Accumet® model 15 pH-meter) and High-Performance Liquid Chromatography coupled to an ultraviolet-visible detector (HPLC-UV) using an Agilent Technologies model 1290 equipment), HPLC grade methanol (Sigma-Aldrich (USA) as the mobile phase (**Table S6**). The removal yields of DAZ and ATR after adsorption or ozonation in the presence of NaMt and Fe(II)Mt were calculated by the equation: $(1-A/A_0) \times 100\%$, on the basis of the instant/initial HPLC peak area of the residual pesticide concentration (A/A_0) as determined by calibration plots (**Fig. S1**). Product

identification was achieved by additional analysis of short time ozonation mixtures (0, 10, 20, 30 s) through liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry (LC-ToF-MS). For this purpose, an Agilent 1260 Series LC System from Agilent Technologies (Santa Clara, CA) was used under specific operating conditions.

4.2.5 Toxicity criteria measurements

The pH of the SIS-based supernatant was adjusted to a constant 6.5 level regarded as being optimal for *L. minor* growth using 1 N NaOH or HCl. Duplicate toxicity tests were carried out by introducing three plant specimens into the above SIS-based supernatants and then maintained under alternate 16 h exposure to a natural light beam of $100 \pm 10 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 8 h darkness for seven days at $24 \pm 2^\circ\text{C}$ and a relative humidity of $60 \pm 5\%$. The intrinsic toxicity of pesticides was previously evaluated by impregnating series of three triple-fronded *L. minor* specimens in 20 mL of DAZ or ATR solution at different concentrations of 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, and 10 mg L⁻¹ in SIS growth medium for seven days, *ii.* 20 mL of 10 mg L⁻¹ pesticide solution in the presence of 1, 2 and 3 g L⁻¹ of clay mineral and *iii.* 20 mL of 10 mg L⁻¹ DAZ or ATR solutions after ozonation for 1, 2 and 3 g L⁻¹ clay concentrations.

Three toxicity criteria were considered, namely the biomass amount as expressed in terms of fresh weight, frond number, chlorophyll-a content and the relative amount of reactive oxygen species (ROS) as compared to the starting specimens. *Lemna minor* specimens were collected after 7 days of incubation, and the number of individual fronds was counted. The fresh weight of each sample including the control sample (with no pesticide and no ozonation) were dried and weighed by an analytical scale (OCDE). The amount of chlorophylls (Chl a) and Chl b) was extracted by grinding the dry biomass in a mortar containing 5 mL of 100% methanol at RT and centrifuged at 1968 g for 5 min at 4°C. The absorbances at 665 nm (A_{665}) for Chl a and 648 nm (A_{648}) for Chl b were measured using a micro-plate reader (Infinite M200®, Tecan) (Dere *et al.*, 1998). The amount of reactive oxygen species (ROS) was determined in the entire biomass cells by contacting *Lemna minor* specimens already contacted with different media for 7 days, collected and dried on a kimwipe paper for 30 min with 5 μM CellROX® orange solution (Thermo Fisher Scientific fluorescent reagent) at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (Babu *et al.*, 2003). The plants were further washed 3 times with phosphate-buffered saline solution, and the relative fluorescence emission was measured at RT at

545 nm using a light excitation wavelength at 565 nm and an Infinite M200® (Tecan) with a gain of 200.

4.3 Results and discussion

4.3.1 Effects of clay amount and contact time

Separate variation of the clay amount and contact time revealed marked increase of the adsorption yield during the first 10 min of contact time reaching 39.2%, 31.5% and 53.2% DAZ removal rate by 1, 2 and 3 g L⁻¹ of NaMt, respectively (**Fig. 4.1**). This was followed by a visible attenuation of the process for longer impregnation time of up to 30 min affording slight increase up to 62.2%, 57.7% and 64.8%, respectively.

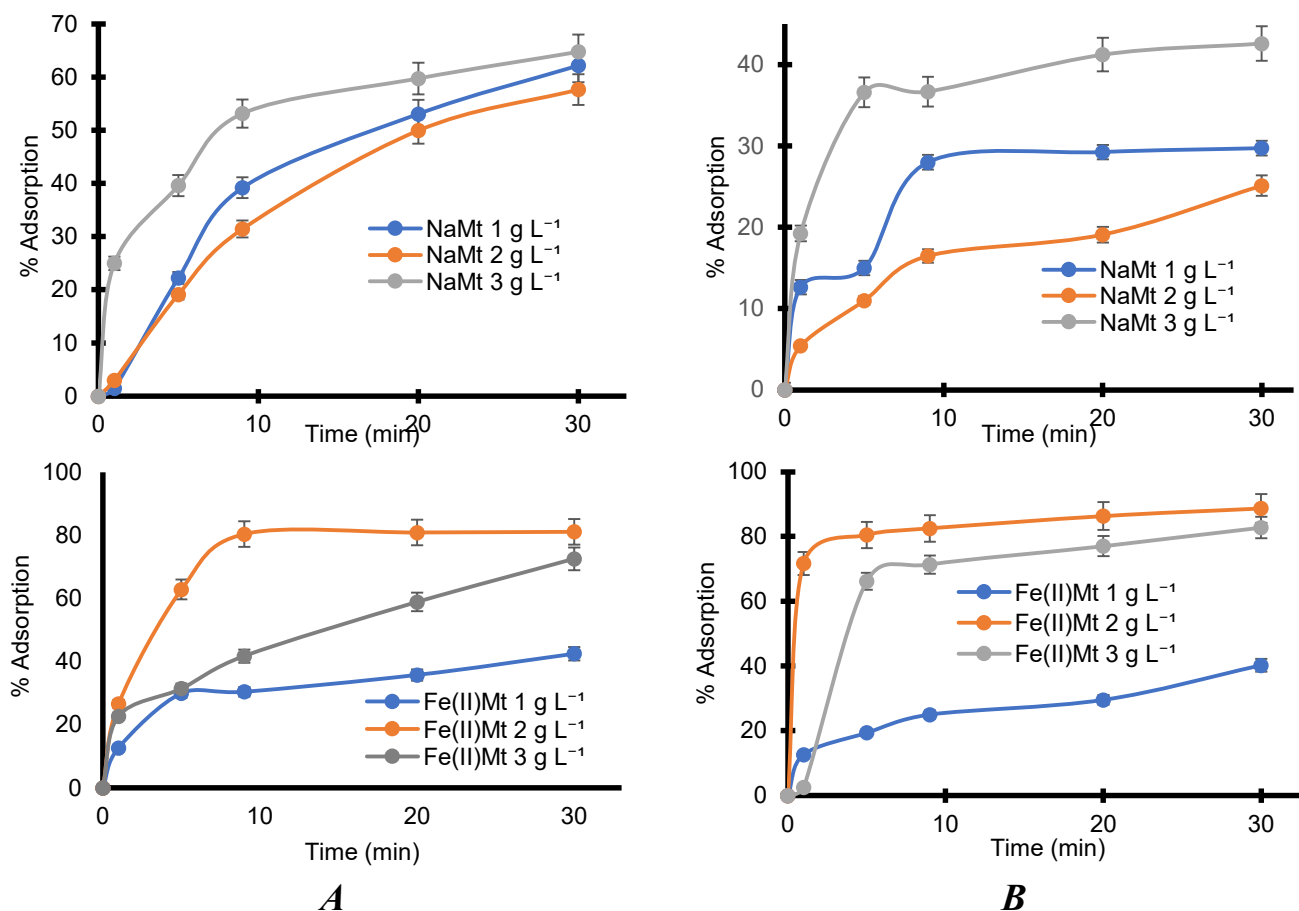


Figure 4.1. Evolution in time of adsorption yield of DAZ (A) and ATR (B) on NaMt (Top) and on Fe(II)Mt (bottom). Sample volume = 25 mL. The relative peak area (A/A_0) calculated as the instant/initial HPLC-UV peak area ratio of DAZ or ATR. This allowed assessing the adsorption

yield as being $(1-A/A_0) \times 100\%$, where A is the instant HPLC-UV peak area and A_0 is the initial HPLC-UV peak area with 3% accuracy.

Similar evolution in time was observed for ATR but with lower adsorption yields not exceeding 41-41% after 30 min contact time. For NaMt, the removal yields seem to be proportional to the number of adsorption sites accessible (Moussavi *et al.*, 2013), but a 2 g L^{-1} Fe(II)Mt amount appears to be optimum affording even higher removal yield of up to 80%. The clear slope change around 10 min suggests the occurrence of a parameter interaction that makes separate variations of the clay amount and contact time inaccurate. The conversion yield also increased during 10 min of ozonation, reaching maximum plateau close to 100% for DAZ with 2 g L^{-1} of NaMt or Fe(II)Mt (**Fig. 4.2A**) and to 97-99% for ATR with 2 g L^{-1} of Fe(II)Mt only (**Fig. 4.2B**). This indicates a higher reactivity of DAZ toward ozone in agreement with the literature (Meijers *et al.*, 1995; Ohashi *et al.*, 1994).

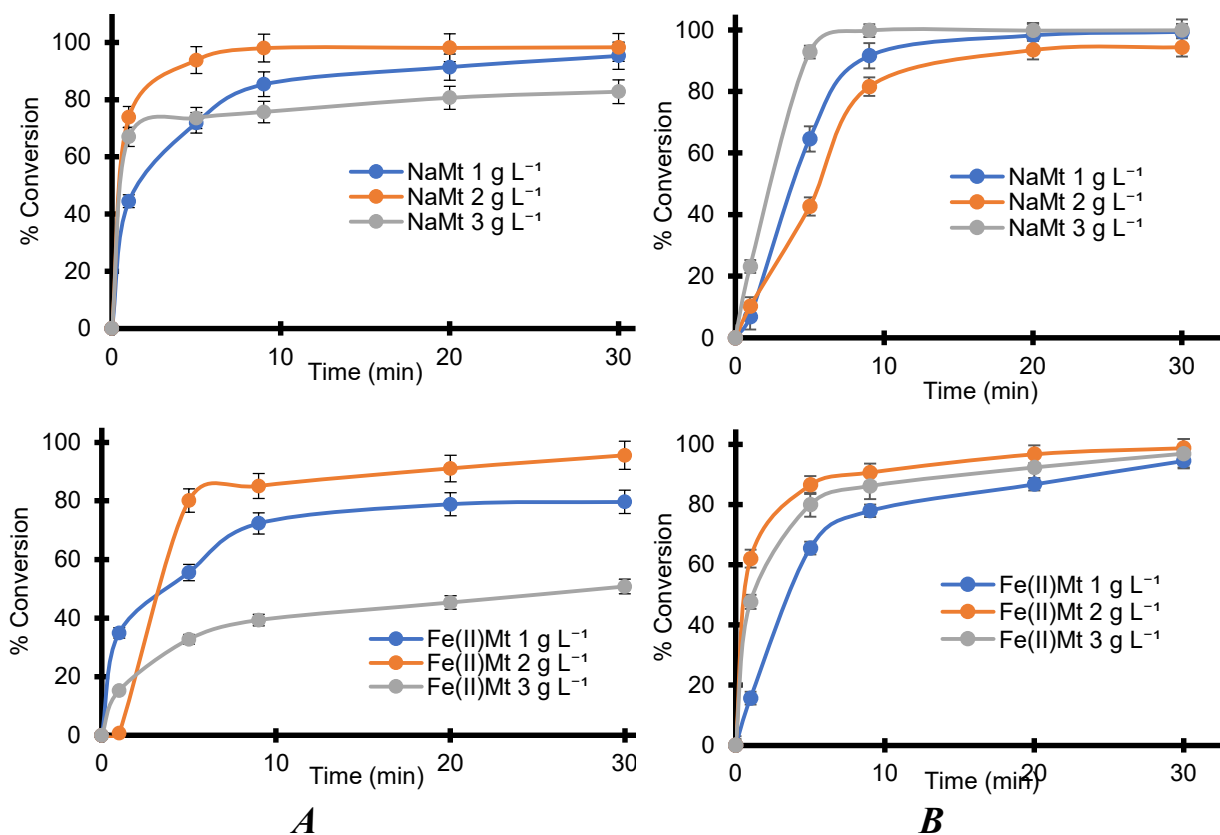


Figure 4.2. Conversion yield evolution during ozonation for DAZ (A) and ATR (B) on NaMt (Top) and on Fe(II)Mt (bottom). Sample volume = 25 mL. The relative peak area (A/A_0) calculated as the

instant/initial HPLC-UV peak area ratio of DAZ or ATR. This allowed assessing the adsorption yield as being $(1-A/A_0) \times 100\%$, where A is the instant HPLC-UV peak area and A_0 is the initial HPLC-UV peak area with 3% accuracy.

The slightly lower effectiveness of Fe(II)Mt must be due to Fe^{2+} cation release upon leaching and pH decrease in the SIS-media. This should promote clay coagulation-flocculation, loss in accessible active surface and diffusion hindrance (Kaufhold *et al.*, 2018; Naceradska *et al.*, 2019). This phenomenon was reported to be optimal around a 2 g L^{-1} montmorillonite amount (Assaad, Elias, 2006; Shahidi *et al.*, 2014).

Attempts to correlate both processes around this critical 2 g L^{-1} clay amount gave higher removal by ozonation as compared to adsorption and much lower contribution of adsorption on NaMt as compared to Fe(II)Mt. This must be due to specific Clay:Pesticide and Clay:Clay interactions that can be strongly influenced by the evolution in time of ozonation and unavoidable pH decrease as a result of the rise of acidic derivatives. This explains why the clay amount (X_1) and contact time (X_2) should be varied separately.

4.3.2 Effect of initial adsorption on ozonation

Deeper insights by varying simultaneously the clay amount (X_1) and contact time (X_2) around their suspected optimum values gave maximum adsorption yield of both pesticides mostly for at $2\text{-}3 \text{ g L}^{-1}$ clay amount and $4\text{-}9$ min contact time (**Experiments 5-9**), but higher removal yields by ozonation (**Table S7**). NaMt gave slightly higher DAZ adsorption yields of $19.15\text{-}53.16\%$ than for ATR ($11.00\text{-}36.68\%$).

This suggests that ATR alters NaMt particle dispersion as supported by a slightly higher particle size than with DAZ (**Table S3**). NaMt particle size also increased from 678 nm in SIS medium up to 936 nm and 580 nm in DAZ and ATR SIS solutions, respectively. This can be explained by the pesticide acid character, slightly stronger for ATR (pK_a 1.6) as compared to DAZ (pK_a 2.6) that favors clay coagulation-flocculation (Kaufhold *et al.*, 2018; Naceradska *et al.*, 2019). NaMt gave higher conversion yield by ozonation of DAZ ($44.52\text{-}98.08\%$) and ATR ($6.80\text{-}99.83\%$) as compared to Fe(II)Mt ($15.30\text{-}85.11\%$ and $15.67\text{-}90.61\%$) presumably be due to clay sheet aggregation in stronger acidity of the Fe(II)Mt-containing SIS media.

Regardless to the Clay-Pesticide pair, increasing adsorption yield appears to enhance the conversion yield by ozonation (**Fig. 4.3**). Interestingly, NaMt produced the highest conversion yield for the lowest adsorption yields that contrast with its supposedly higher dispersion. Here, other factors such as the pH and accessible surface must also be taken into accounts.

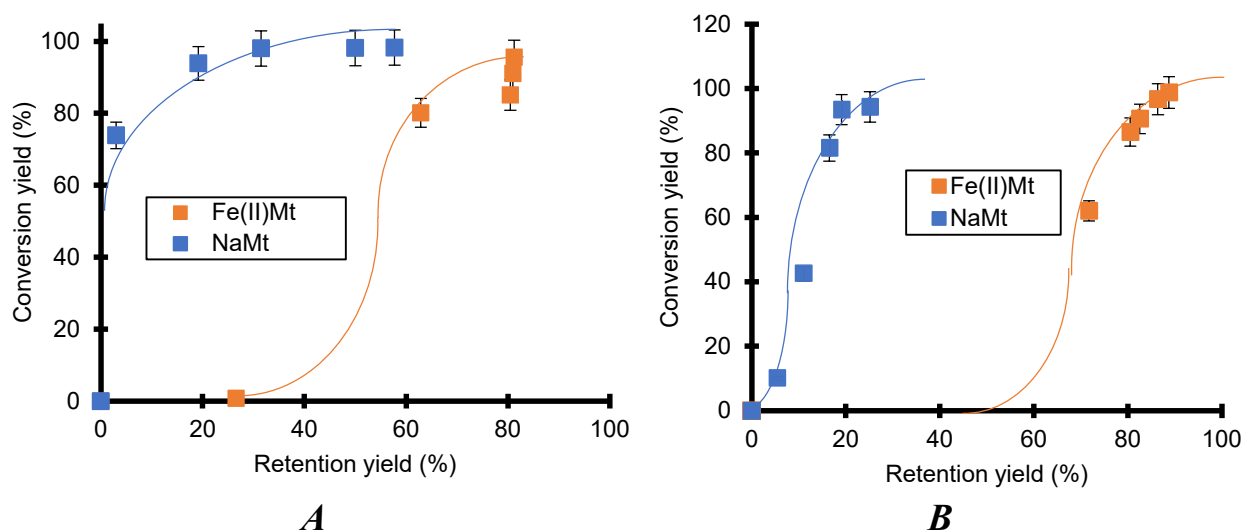


Figure 4.3. Conversion yield upon ozonation of DAZ (A) and ATR (B) versus corresponding adsorption yield. Catalyst concentration: 2 g L⁻¹ of Fe(II)Mt or NaMt.

The most plausible explanation resides in that NaMt-induced pHs promote the deprotonation of clay silanols (Lowe *et al.*, 2015) and amino groups of the pesticide molecules, as reflected by high Zeta potential values in aqueous and SIS solutions of DAZ and ATR (**Table S3**). This is supposed to enhance repulsive Clay:Pesticide forces that hinder adsorption via ion-exchange in favor of hydrophobic interaction.

4.3.3 Initial pH effect on initial clay dispersion

Regardless to clay-pesticide-water interaction, the general tendency is that increasing initial pH reduces the particle size, thereby improving clay dispersion (**Fig. 4.4**). This is a beneficial effect for adsorption that confirms the role of clay dispersion in the liquid media and the occurrence of acid-base interactions. Acidic molecules such as DAZ (pKa 2.6) and ATR (pKa 1.6) reduced the initial pH from 8.8 in water to 8.5 and 8.2, respectively (**Table S3**), thereby enhancing silanol protonation (pKa 5.6 and 8.5) (Lowe *et al.*, 2015) at the expense of clay dispersion. This was

reflected by increases in NaMt particle size from 659 nm in water up to 746 nm and 819 nm in DAZ and ATR aqueous solutions, respectively. This effect seems to be suppressed in SIS media.

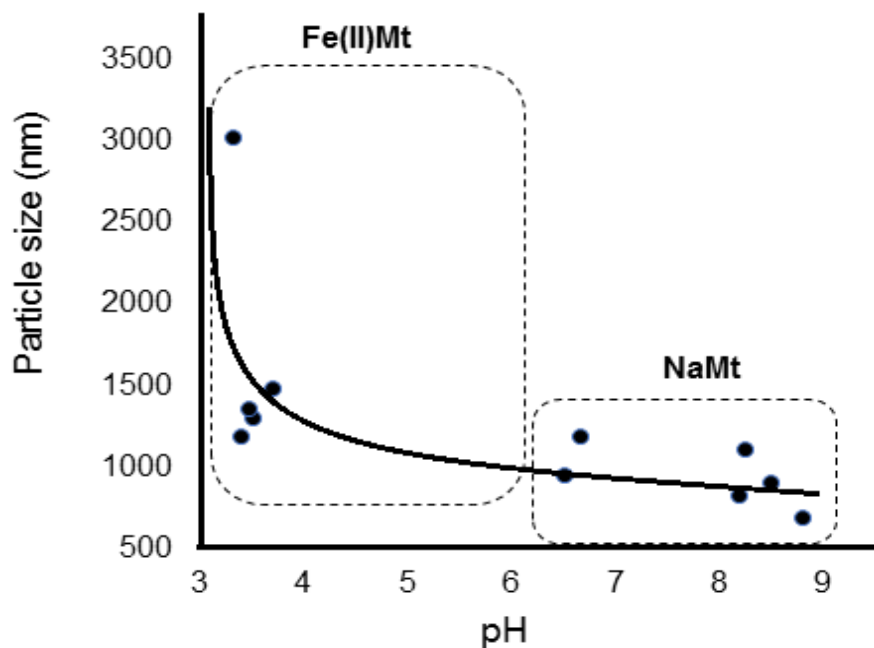


Figure 4.4. Initial pH effect on clay particle size.

Adsorbed or free Fe^{2+} cations also induced acidic pH, in agreement with particle size increase from 689 nm in water up to 1307 nm and 1353 nm in DAZ and ATR aqueous solutions, respectively, and from 3020 nm in SIS medium to 4087 nm and 1487 nm in DAZ and ATR SIS-solutions (**Table S3**). Interestingly, the pH slightly increased from 3.41 in the aqueous clay suspension up to 3.52 and 3.47 in DAZ and ATR aqueous solutions and from 3.32 up to 5.8 and 3.7 in their corresponding SIS-solutions. This must be due to H^+ consumption in the protonation of both pesticide molecules, slightly more pronounced in DAZ-containing media.

The low pH induced by Fe^{2+} cation should confer positive charges to all ammonium groups of DAZ and ATR, thereby favoring adsorption via ion-exchange that reduces the surface charge density, as supported by the lower Zeta potentials for Fe(II)Mt as compared to NaMt in all liquid media. This is expected to enhance even more clay coagulation-flocculation via additional hydrophobic interaction between organoclay lamellae, suggesting a synergistic effect of cations and organic molecules as already reported (Assaad, E. *et al.*, 2007).

The general tendency is that the initial pH remained almost constant during adsorption, presumably due to a buffering effect (**Fig. S2**). The barely detectable slight pH decrease in the presence of Fe(II)Mt and ATR must be due to the stronger acidity induced by these two species. The unavoidable rise of acidic ozonation products appeared to alter this buffering effect, leading to pH decrease but only after a more or less sustained plateau at pH 5.65 (Fe(II)Mt) and 6.5 (NaMt) for pesticide conversion yield beyond 35% and 75%, respectively (**Fig. S3**).

The initial pH decreases from ca. 6.5 to approximately 5.7-5.8 detected with increasing DAZ conversion yield up to 50-55% and short initial plateau up to ca. 20-25% ATR conversion by non-catalytic ozonation suggest that this buffering is affected by the absence of clay mineral. This result is of great importance, because it demonstrates that favorable natural clay-containing media for *L. minor* growth can mitigate the detrimental effect of pH decrease for low pesticide oxidation levels.

4.3.4 Effect of parameter interaction

Model calculations for the adsorption and ozonation of both pesticides (Assaad, E. *et al.*, 2007; Bodo *et al.*, 2004; Duckworth et Le Gall, 1973; Shahidi *et al.*, 2014) gave absolute values of coefficients a_1 (9.14) ca. three times higher in DAZ adsorption on NaMt than on Fe(II)Mt (3.80) (**Table S8**). This indicates a stronger individual effect of NaMt amount (X_1) on DAZ adsorption as compared to Fe(II)Mt, which displayed a ca. three times stronger influence in ATR adsorption (16.84) than on NaMt (6.15). Strongly detrimental effect of increasing Fe(II)Mt concentration ($a_1 = -12.58$) but slightly favorable influence of high NaMt amount (+2.42) in ozonation confirm the opposite behavior of both clay catalysts. The contact time showed constantly favorable effect with relatively high and positive a_1 values, instead.

The non-zero coefficient a_{12} for all clay-pesticide pairs provides evidence of parameter interaction, much more accentuated for ATR adsorption and ozonation (+18.61 and -11.35, respectively) and to a lesser extent for DAZ ozonation (-8.06). This confirms, once again, that the individual effects (coefficients a_1 and a_2) cannot be accurately evaluated by separate variations of the clay amount and contact time.

The quadratic terms for X_1 suggests the occurrence of optimum clay material amount, since both processes are favored by increasing clay amount up to a threshold where Clay-Clay interactions

are enhanced at the expense of Clay:Pesticide ones (Assaad, E. *et al.*, 2007; Shahidi, Dariush, Moheb, Amira, *et al.*, 2015; Shahidi *et al.*, 2014). This optimum appears to be more accentuated for the clay amount as compared to the contact time in the adsorption of both DAZ and ATR (**Fig. S4**) and their ozonation (**Fig. S5**). All optimum clay amounts occurred within the investigated parameter ranges for the adsorption and ozonation of both pesticides regardless to the clay materials (NaMt or Fe(II)Mt). This reflects the judicious and accurate delimitation of the parameter variation ranges. NaMt showed adsorption minima according to the clay amount, while Fe(II)Mt gave adsorption maxima for both DAZ and ATR. This must be due to different Clay:Pesticide interaction for NaMt and Fe(II)Mt during adsorption. Ozonation maxima were obtained with both clay materials (**Fig. S5**).

The adsorption minima produced by NaMt contrast with its maximum conversion yield by ozonation of both pesticides (**Fig. S5-up**). This is in agreement with the high pH levels induced by NaMt that enhance deprotonation of not silanols that promotes clay dispersion (Sulpizi *et al.*, 2012) but also of ammonium groups favoring Clay:Pesticide repulsion. Therefore, pesticide adsorption must be restricted to at most hydrophobic interaction, thereby to explain the weaker retention yields on NaMt as previously stated. The consecutive increase of NaMt surface density was supported by higher Zeta potentials in both aqueous and SIS-solutions of DAZ and ATR (**Table S3**). The strong repulsive Clay:Clay forces favor high NaMt dispersion and high pesticide conversion by ozonation. Interestingly, for all clay-pesticide pairs, optimum clay amounts were assessed by equalizing the first two model derivatives to zero (**Table S9**). These values are close to 2.0-2.6 g L⁻¹ for both adsorption and ozonation in agreement with previous works (Shahidi *et al.*, 2014) and indicate that both processes occur simultaneously.

These optimum clay amounts can be explained by the occurrence of two opposite (compensatory) effects: *i.* adsorption and ozonation are surface processes that requires increased surface through increased clay material amounts; *ii.* Excessive clay material amounts promote clay-clay interactions and aggregation that reduces the accessible surface. The slightly higher X₁ values for ATR in the presence of Fe(II)Mt must be due to a need of higher clay amounts to compensate the clay coagulation-flocculation in acidic pH. This is in concordance with the higher acidity of ATR (pka 1.6) and of Fe²⁺ cations released by leaching in Fe(II)Mt-containing media as compared to DAZ (pka 2.9) and NaMt (Assaad, Elias, 2006).

4.3.5 Intrinsic toxicity of pesticides and oxidized derivatives

The intrinsic pesticide toxicity after 7 days exposure of *L. minor* in SIS media was illustrated by decreasing amount of fresh weight and fronds number with increasing DAZ and ATR concentrations (Fig. 4.5-up).

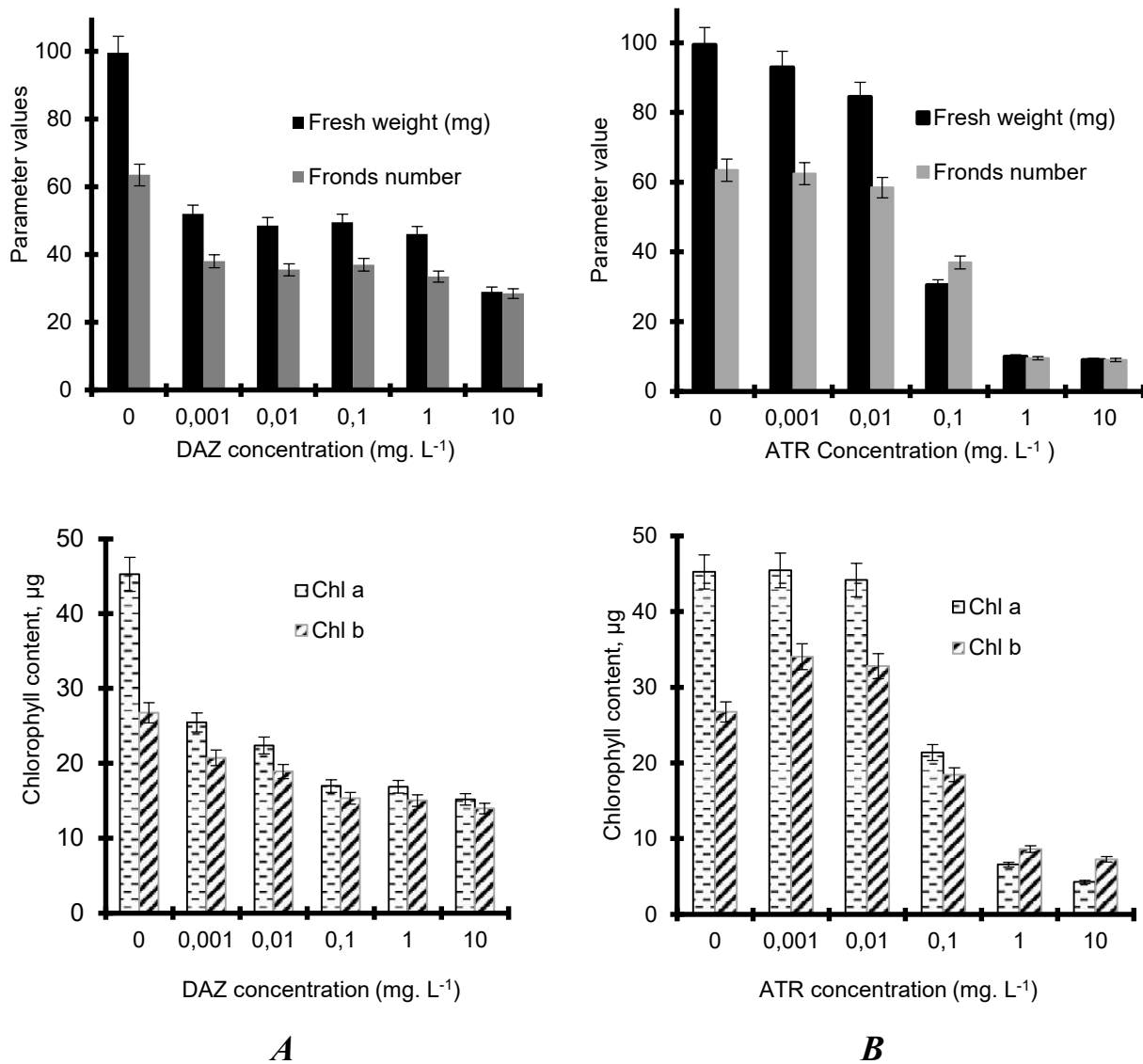


Figure 4.5. Effect of the concentration of DAZ (A) and ATR (B) on fresh weight and fronds number (Top) and on chlorophyll contents (Bottom). The fresh weight and chlorophyll content of *Lemna minor* was measured after 7 days of exposure to various pesticide concentrations. The average data presented in these figures result from triplicate measurements. The control sample (Blank) was achieved by impregnating *Lemna minor* by pesticide-free SIS media for 7 days.

Under DAZ-treated conditions, triplicate measurements revealed a significant decrease in fresh weight and fronds number by approximately 45 and 29%, respectively as compared to the blank (control sample). Similar results were observed for ATR-treated condition from a concentration of 0.1 mg L⁻¹.

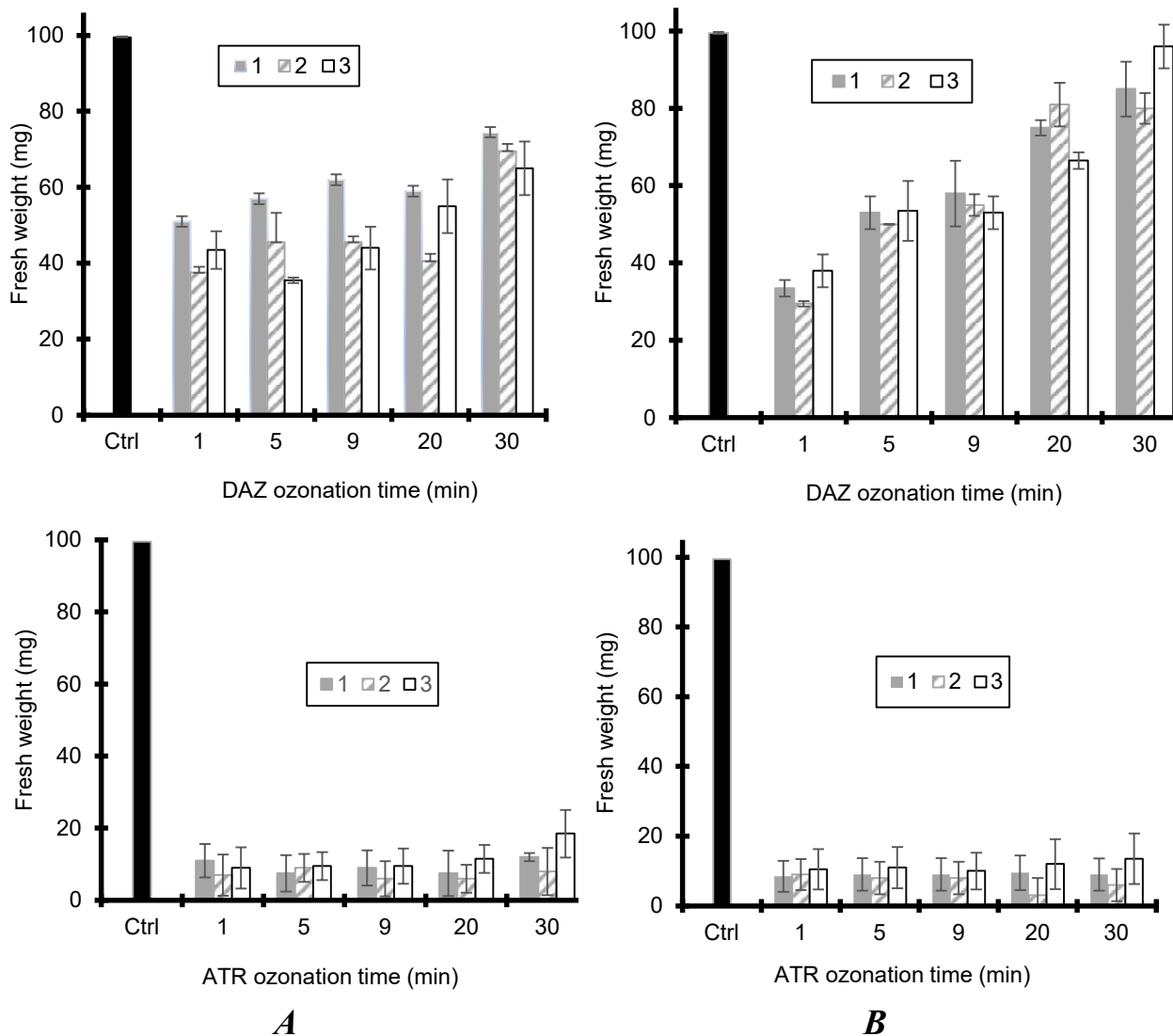


Figure 4.6. Effect of clay-catalyzed DAZ (Top) and ATR (Bottom) ozonation time on *L. minor* fresh weight in presence of various concentrations (1, 2 and 3 g L⁻¹) of NaMt (A) and Fe(II)Mt (B) catalysts. The fresh weight of *Lemna minor* was measured after 7 days of exposure to various pesticide concentrations. The average data presented in these figures result from triplicate

measurements. The control sample (Blank) was achieved by impregnating *Lemna minor* by pesticide-free SIS media for 7 days. Pesticide concentration: 10 mg L⁻¹.

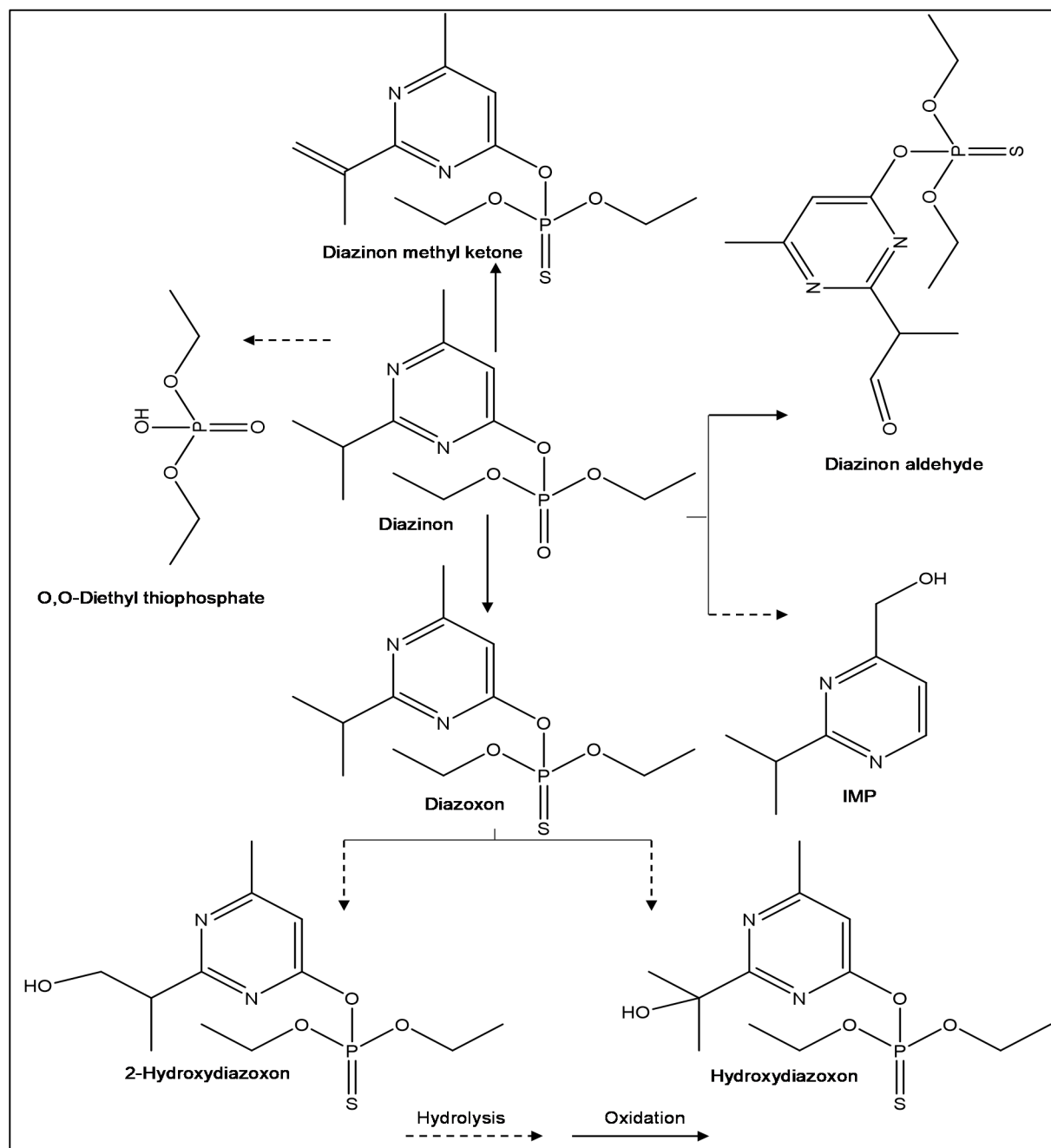
These observations are in agreement with the literature and are due to the pesticide capacity to inhibit plant growth (Mishra *et al.*, 2015; Sidhu *et al.*, 2019; Stevens *et al.*, 2008). Simultaneously, significant decreases in *Chl a* and *Chl b* contents were also registered (**Fig. 4.5-down**). These decreases were pronounced with DAZ concentration not exceeding 0.001 mg L⁻¹, but quite weak for ATR concentrations ten times higher. However, this intrinsic toxicity seems to disappear upon progressive pesticide oxidation upon clay-catalyzed ozonation, at least for DAZ. This is illustrated by fresh weight increases from ca. 40-55 mg up more than 70-75 mg and from approximately 35-38 mg to 85-95 mg in 30 min ozonation of DAZ and pesticide, respectively (**Fig. 4.6-up**).

This accounts for a toxicity decay, due to pesticide depletion and/or progressive rise of less toxic derivatives as identified by LC-MS analyses of ozonized DAZ (**Table S10**). For ATR, based on literature it's growth inhibition for *Lemna minor* revealed an EC50 (Median effective concentration) value of 128.4 µg dm⁻³ (Klementová *et al.*, 2019b). This toxicity was found to persist during ozonation, inasmuch as the fresh weight remained almost constant even after 30 min ozonation (**Figure 4.6-down**). The most plausible explanation resides in the progressive appearance of toxic intermediates (**Table S11**) that compensate ATR depletion (Foka Wembe *et al.*, 2023). Detectable fluctuations of the fresh amount were registered outside the error range (max. 3%) upon changes in the clay concentration. This is a precise indicator of an influence of the clay surface on the pesticide adsorption and oxidative degradation. This will be examined through further investigations in this regard.

4.3.6 Potential ozonation pathways

Based on the literature and on evolution in time of the HPLC peak areas for the main derivatives of both pesticides (**Fig. S6-S7**), pathways for the degradation under catalytic ozonation were proposed for DAZ (**Scheme 1**) (Kouloumbos *et al.*, 2003; Zhang, Y. *et al.*, 2010) and ATR (**Scheme 2**) (Bianchi *et al.*, 2006; Moreira, A. J. *et al.*, 2017). LC-MS analysis of DAZ ozonation mixture at early stage revealed intermediates such as IMP, diazoxon, hydroxydiazoxon, 2-hydroxydiazoxon, Diazinon methyl ketone, diazinon aldehyde and diethyl thiophosphate (**Table**

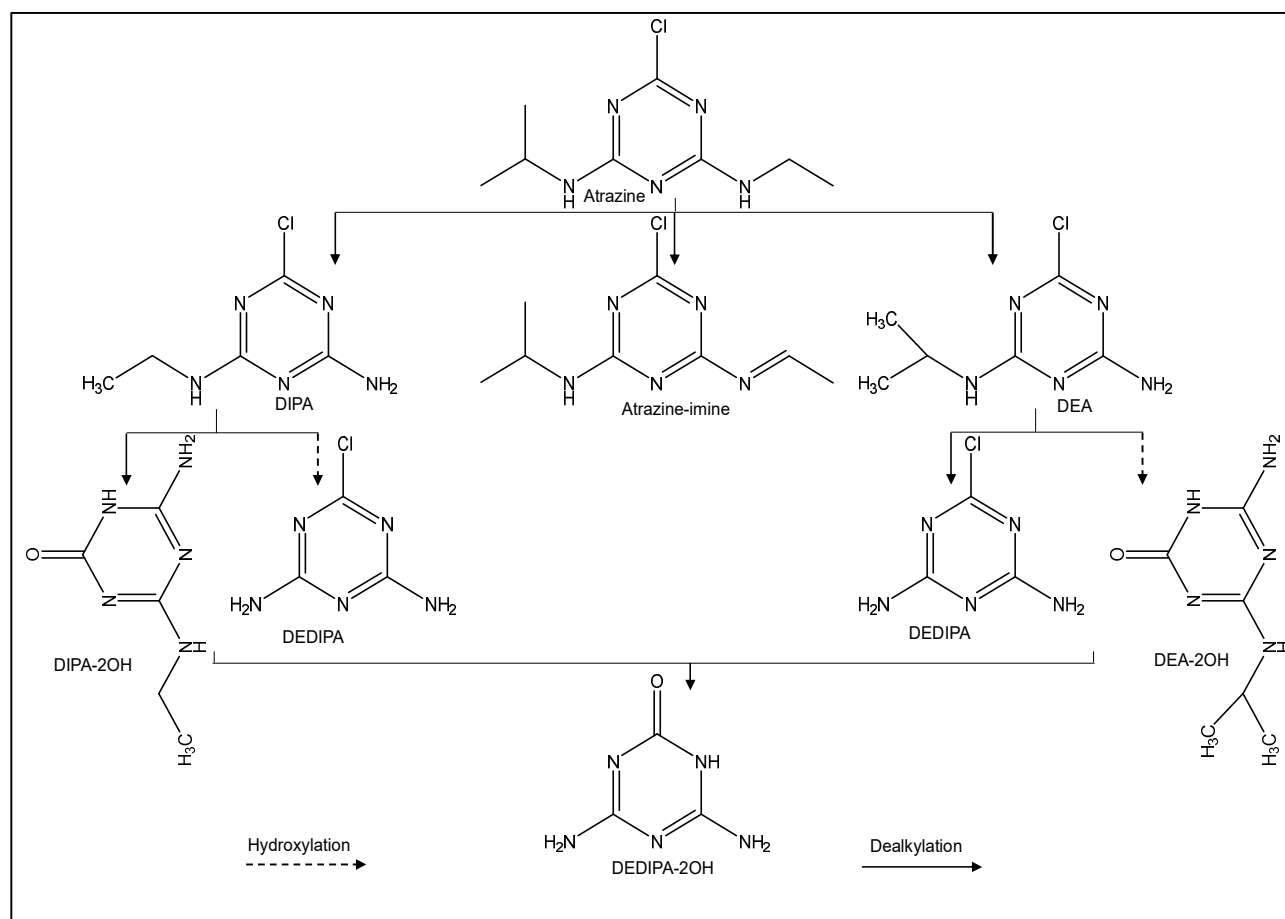
S10). In the absence or presence of NaMt, early ozonation yielded relatively high amounts of diazoxon, IMP and 2-hydroxydiazoxon



Scheme 4.1. Proposed pathways of diazinon degradation under catalytic ozonation inspired from (Kouloumbos *et al.*, 2003; Zhang, Y. *et al.*, 2010).

In the presence of Fe(II)Mt, appreciable amounts of only the last two intermediates were detected. Here, the oxidation of the P=S bond of diazinon to a P=O bond is supposed to generate

diazoxon, which appears to be readily converted into hydroxydiazoxon or 2-hydroxydiazoxon through fast hydrolysis. The cleavage of the P-O bond (pyrimidine group) is expected to yield IMP, while the direct hydrolysis of diazinon should give rise to diethyl thiophosphate. Hydroxylation of the primary or secondary carbon atoms of the isopropyl group of diazinon is assumed to produce hydroxydiazinon or 2-hydroxydiazinon, respectively. These two compounds were not detected herein, but, if any, they should undergo further oxidation into diazinon aldehyde and diazinon methyl ketone (**Scheme 1**) (Kouloumbos *et al.*, 2003; Lee *et al.*, 2020). The later was observed at low amounts after NaMt-catalyzed ozonation, but was not detected with Fe(II)Mt. Diazinon aldehyde was also detected in trace amounts after only 20 s of non-catalytic ozonation.



Scheme 4.2. Pathways of atrazine degradation under ozonation inspired from (Bianchi *et al.*, 2006; Moreira, A. J. *et al.*, 2017).

With the exception of this intermediate, all by-products were generated by non-catalytic and NaMt-catalyzed ozonation, but only IMP, hydroxyl-diazoxon and diethyl thiophosphate were produced in the presence of Fe(II)Mt (**Fig S6**). This provides clear evidence of the occurrence of different selectivity according to the absence or presence of a catalytic surface and metal cations.

LC-MS analysis revealed that ATR ozonation in the presence of NaMt and Fe(II)Mt generated seven intermediates namely, DEDIPA-2OH, DIPA-2OH, DIPA, DEA-2OH, DEDIPA, ATR-imine and DEA. These by-products appeared from the first seconds of ozonation (10, 20 and 30 s). DEA and ATR-imine turned out to be the major intermediates in both the catalytic and non-catalytic ozonation. Dealkylation of ethyl and isopropyl groups in ATR was confirmed as one of the main processes during ozonation (**Scheme 2**) (Adams et Randtke, 1992; Hapeman *et al.*, 1995; Torrents *et al.*, 1997). Under direct ozone attack, the N-ethyl group of atrazine should be more reactive than the N-isopropyl group, producing unstable acetamide or imino derivatives in higher proportion (Acero *et al.*, 2000). The isopropyl group should react mainly via de-alkylation to the free amino group (Bianchi *et al.*, 2006). DEA must be rather generated via the direct action of molecular ozone than by radical oxidation. Reportedly (Adams et Randtke, 1992), molecular ozone should also trigger N-dealkylation processes, giving rise to DEA, DIA and DEDIPA.

Oxidation by OH radical is supposed to promote atrazine hydroxylation (dechlorination) (Fan *et al.*, 2014). Non-catalytic ozonation produced higher DEA amounts as compared clay-catalyzed processes, indicating that ATR ozonation, dealkylation of ethyl group are favored at the expense of the same reaction with isopropyl group (Hapeman *et al.*, 1995). DEDIPA-2OH and DIPA were not detected in Fe(II)Mt-catalyzed ozonation, while DIPA was not detected in NaMt-catalyzed process.

4.3.7 Effect of clay suspension on pesticide toxicity

A first attempt to correlate the effect of the adsorbed species on the ecotoxicity towards *L. minor* was achieved by plotting the biomass fresh weight (FW) in the same variation ranges for the catalyst amount and contact time (**Fig. S8**). Minimum FW were noticed in the presence of NaMt-adsorbed DAZ and ATR, which accounts for maximum, in agreement with the lowest adsorption yields (**Fig. S4**). Almost similar effect was observed for DAZ adsorption on SIS-impregnated

Fe(II)Mt but for slightly shifted optimum clay amount (**Fig. S9-a**), while ATR showed maximum FW for medium contact time and high clay amount (**Fig. S9-b**). The most plausible explanation resides in that increasing amount of SIS-impregnated Fe(II)Mt results in high amount of released Fe^{2+} cation, which is by itself a micronutrient for vegetal biomass growth (Rout et Sahoo, 2015; Schmidt *et al.*, 2020). Fe^{2+} release by leaching must be mitigated by higher pH induced by less acidic DAZ (pKa 2.6).

The adsorbed and ozonized pesticides in the presence of clay materials were found to exhibit optimum influences on their toxicity towards *L. minor*, as well as illustrated by a 3^2 experimental design. Indeed, except for few experiments (marked by an asterix), the adsorption and ozonation of both pesticides in the presence of NaMt and Fe(II)Mt resulted in optimum values of the clay amount (X_1) and contact time (X_2) mostly within the considered parameter ranges (-1,+1) (**Table S12**). These data demonstrate the occurrence of minimum and maximum toxicity based on the three criteria investigated herein (**Table S13**).

It appears that optimum clay amounts close to 2 g L^{-1} produce mostly minimum fresh weight and Chl a content. These results showed that both adsorbed pesticides and their ozonation derivatives exhibit maximum toxicity towards *L. minor* in clay-containing media. No clear correlation was established for the reactive oxidized species (ROS), presumably due the very ROS formation upon ozone bubbling and to possible multiple reaction with the numerous chemical species present in the liquid media. Maximum fresh weight and Chl a content were registered only in Fe-containing SIS media, thereby confirming the beneficial role of Fe^{2+} cation release by leaching.

4.4 Conclusion

The results obtained herein allow concluding that pesticide adsorption and ozonation can be investigated only through simultaneous variations of the clay concentration and process duration. Accurate evaluation of the strong interaction occurring between both parameters allowed correlating the adsorption and ozonation of diazinon (DAZ) and atrazine (ATR) in the SIS media-suspension of Na^+ and Fe^{2+} -exchanged montmorillonites. Both processes involve specific Clay:Pesticide interactions that also govern the pesticide toxicity. Optimum clay concentrations

around 2 g L⁻¹ produce mostly minimum fresh weight and Chl a content. These results showed that both adsorbed pesticides and their ozonation derivatives exhibit maximum toxicity towards *L. minor* depending on the clay-containing media. The fresh weight and Chl a content were found to be favored by the beneficial presence of Fe²⁺ cation released upon leaching in the SIS media. This work opens allows envisaging accurate prediction on natural oxidative degradation and ecotoxicity of pesticides based on the features of the host clay-containing aqueous media.

Acknowledgments: We are grateful to Alexandra Furtos-Matei (University of Montreal) and Marie Ferrières (ENSC-Lille, France) for their technical assistance. Analysis by liquid chromatography-high resolution tandem mass spectrometer (LC-MS) was performed at the Center of Excellence in Orphan Diseases Research – Courtois Foundation (CERMO-FC) research network (UQAM).

CHAPITRE 5
ECOTOXICITY OF DIAZINON AND ATRAZINE MIXTURES AFTER
OZONATION CATALYZED BY Na⁺ AND Fe²⁺ EXCHANGED
MONTMORILLONITES ON LEMNA MINOR

Amina Benghaffour^a, Abdelkrim Azzouz^{a,b}, David Dewez^{a*}*

^aNanoQAM, Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal, QC, Canada, H3C 3P8.

^bÉcole de Technologie Supérieure, Montréal, QC, Canada, H3C 1K3.

**Corresponding authors: Pr. David DEWEZ and Pr. Abdelkrim AZZOUZ*

E-mail: dewez.david@uqam.ca, Tel.: 1 514 987 3000 Ext. 3278; azzouz.a@uqam.ca, Tel.: 1 514 987 3000 Ext. 4119, Fax: 1 514 987 4054.

Author's contribution

Amina Benghaffour:

Preparation of protocols, the development of HPLC-UV technique specific for each pesticide, realization of the experiments for the study of adsorption, ozonation, catalytic ozonation and ecotoxicological tests of each pesticide, treatment of analysis data, experimental results and drafting the manuscript.

David Dewez:

Revision and development of the protocol design of ecotoxicological tests, reverification of the preliminary experiments, revision of the ecotoxicological results and correction of the final manuscript.

Abdelkrim Azzouz:

Proposition of the concept, design, and direction of research on the ozonation of organic pollutants, verification, and correction of interpretations of results, finalization of the article, submission of the article and initiation of the student to the submission process.

Abstract

The toxicity of two pesticides, diazinon (DAZ) and atrazine (ATR), before and after montmorillonite-catalyzed ozonation was comparatively investigated on the duckweed *Lemna minor*. The results demonstrated the role of clay-containing media in the evolution in time of pesticide negative impact on *L. minor* plants. Pesticides conversion exceeded 94% after 30 min of ozonation in the presence of both Na⁺ and Fe²⁺ exchanged montmorillonites. Toxicity testing using *L. minor* permitted us to evaluate the change in pesticide ecotoxicity. The plant growth inhibition involved excessive oxidative stress depending on the pesticide concentration, molecular structure, and degradation degree. DAZ conversion by ozonation on clay surfaces significantly reduced the toxicity towards *L. minor* plants, from 81.83 (without ozone and catalyst) to 14.45 and 23.77% of inhibition in the presence of Fe(II) and Na- exchanged montmorillonite, respectively. The results showed a strong correlation between the pesticide toxicity towards *L. minor* and the level of reactive oxygen species, which was found to depend on the catalytic activity of the clay minerals, pesticide exposure time to ozone, and formation of harmful derivatives. These findings open promising prospects for developing a method to monitor pesticide ecotoxicity according to clay-containing host-media and exposure time to ambient factors.

Keywords: diazinon; atrazine; adsorption; ozonation; *Lemna minor*; toxicity.

5.1 Introduction

Pesticides are organic compounds used for pest control purposes and classified into several groups depending on the pest organisms targeted (Parry, 1998). Pesticides are hardly (bio)degradable, and their presence has been significantly increased in freshwater environment due to agricultural runoffs contaminated by pesticide wastes. The use of pesticides has detrimental effects on freshwater reservoirs serving as drinking water, and it has become a major environmental and public health issue. In natural ecosystems, non-target aquatic organisms can accumulate pesticide doses causing toxicity impacts on major cell physiological processes (e.g. photosynthesis, respiration, enzymatic activities, macromolecules biosynthesis), leading to growth inhibition and eventuality death (Malhotra *et al.*, 2021; Matozzo *et al.*, 2018; Pisa *et al.*, 2015).

Among extensively used pesticides contaminating surface freshwaters, Diazinon and Atrazine are well known as being hazardous compounds acting via different toxicity mechanisms. DAZ is a neurotoxic organophosphorus insecticide inhibiting the acetylcholinesterase activity, and ATR is an herbicide hindering the photosynthetic electron transport and the growth of plants (Pan et Dutta, 1998; Richard *et al.*, 1983; Üner *et al.*, 2006). The use of various sophisticated degradation methods for preserving the freshwater quality would induce the conversion of these pesticides into several derivatives having different chemical and toxicological properties (Čolović *et al.*, 2010; Hu *et al.*, 2021). The latter need to be investigated for water remediation technologies and toxicity risk assessment.

Pesticides removal from water can be performed by chemical treatments such as photolysis, hydrolysis, and oxidation (Felsot, 1996; Ware *et al.*, 2003). Ozone-based advanced oxidation processes (AOPs) are particularly efficient methods for achieving high removal yields of organic pollutants (Masten et Davies, 1994). This is a complex process that should involve a variety of transformations such as tautomerization, isomerization, protonation and dimerization and others (Jović *et al.*, 2013). Pesticide molecules are oxidized by generated ozone molecules and/or hydroxyl radicals depending on the pH into various oxidized derivatives. Nonetheless, total mineralization into harmless carbon dioxide (CO₂), water and other inorganic oxides, if any, is seldom attained by ozonation unless using efficient catalysts.

Owing to their adsorption capacity that reduces ozone consumption, solids catalysts already turned out to be much more effective and convenient as compared to their soluble counterparts that often induce contamination of the treated waters. The use of widely available, low cost and recyclable clay minerals is particularly interesting when targeting “green” ozone-based water treatments. Clay catalysts display expandable structure without pore size limitation and coagulation-flocculation capacity that allow easy recovery after settling. Among clay catalysts, montmorillonite ion-exchanged by transition metals was found to exhibit high catalytic activity in the ozonation of organic molecules (Azzouz, A, 2012; Azzouz, A. *et al.*, 2010; Azzouz A. *et al.*, 2019; Benghaffour *et al.*, 2022; Boudissa, Farida *et al.*, 2019b; Boudissa, Farida *et al.*, 2020a; Boudissa, F. *et al.*, 2020; Larouk, S. *et al.*, 2017; Shahidi, D. *et al.*, 2015; Shahidi *et al.*, 2014; Shahidi, Dariush, Roy, René, *et al.*, 2015b).

Like in nature, total mineralization of the parent organic molecules and intermediates cannot be achieved by incomplete oxidation, low doses of oxidizing species and/or short exposure times. The derivative persistence is usually proportional to their oxidation level, thereby explaining the fact that highly oxidized intermediates and short chain acids are quite refractory to ozone even after total degradation of the parent molecule. Their mere presence in waters is a new source of ecotoxicological effects that is worth of being investigated. Since DAZ and ATR oxidation can also lead to new hazardous derivatives with toxicological properties, it is crucial to monitor the toxicity of their ozonation mixtures with an appropriate testing method.

At this juncture, using a sensitive organism model for such toxicological evaluation will be useful in investigating the effect of the oxidation grade of different pesticide-containing solutions obtained after different ozonation times. Among such sensitive organism models, an aquatic vascular plant, *Lemna minor* (Lemnaceae), and microcrustacean *Daphnia magna* have widely been used in several pollutants toxicity testing studies, being regarded as reliable ecological bioindicators at the basis of the aquatic food chain (Aydın et Köprücü, 2005; Hamm et Hinton, 2000; Klementová *et al.*, 2019a; Sánchez-Bayo, 2012). However, *Lemna minor* is known to be much easier to cultivate in laboratory conditions for toxicity testing, and the plants can capture and accumulate rapidly dispersed or dissolved contaminants due to its small structure and high contact surface (Wang, W., 1990).

In this study, *Lemna minor* population was used for a comparative study of the toxicity before and after catalytic ozonation of two pesticides with different molecular structures and chemical properties, namely diazinon (DAZ) and atrazine (ATR). This was achieved in so-called SIS medium, i.e., aqueous solution prepared according to the Swedish Institute for Standards. Like any organic molecule bearing chemical functions, DAZ and ATR will interact with the aqueous media and dispersed species according to the pH. All these interactions are expected to influence their adsorption and ozonation, and the latter, in turn, should also modify their ecotoxicity. This was the main objective of this research.

In this regard, the effects of clay catalysts on the ozonation advancement in time on different toxicity biomarkers related to cell growth and physiological state of plant were considered. This study is expected to contribute to a better understanding of how the oxidative degradation of

pesticides can modify the toxicological properties of their host-media and therefore the environmental impact. The monitoring relevance of using *Lemna* toxicity testing was also discussed herein.

5.2 Material and Methods

5.2.1 Clay materials preparation and characterization

Fully ion-exchanged Na^+ and Fe^{2+} -montmorillonite-rich materials (NaMt and Fe(II)Mt, respectively) were prepared through purification of a crude bentonite supplied by Sigma-Aldrich (USA) according to a procedure described previously (Benghaffour *et al.*, 2022). Preliminary characterization through X-ray diffraction (Siemens D5000, $\text{CuK}\alpha$, $\lambda = 1.54051 \text{ \AA}$) of both montmorillonites revealed no crystallinity loss. The sharper 001 XRD reflexion of these homo-cationic forms of montmorillonite as compared to the starting bentonite indicated an improvement of the parallel layout of the clay lamellae. Both clay materials were used in adsorption and ozonation tests prior to the toxicity evaluation. The particle size for NaMt and Fe(II)Mt was of 689 nm and 1189 nm in distilled water and of 1107 nm and 3020 nm in SIS media at intrinsic pH, respectively.

5.2.2 Pesticide stock solutions

Diazinon (DAZ) as an insecticide and Atrazine (ATR) as an herbicide were used for their different chemical and toxicological properties. Commercial DAZ 500E solution (CAS no 333-41-5) with a 500 g L^{-1} concentration was provided by Pr. Philippe Juneau's laboratory (Department of Biological Sciences, UQAM, Montreal, QC, Canada). ATR (PESTANAL analytical standard, purity $\geq 98.0\%$, CAS no 1912-24-9) was purchased from Sigma-Aldrich Canada Co (Oakville, ON, Canada).

5.2.3 Adsorption and ozonation experiments

Both adsorption and ozonation tests were carried out in the SIS medium without or with added 10 mg L^{-1} pesticide. Adsorption tests were performed by impregnating 2 g L^{-1} of clay adsorbent in 25 mL of 10 mg L^{-1} SIS-pesticide solution under vigorous stirring at room temperature ($\text{RT} = 25$

± 2 °C) for 1, 5, 9 and 30 min. In a second step, ozonation tests were performed in glass tubes (28×115 mm) containing 25 mL of each SIS-pesticide solution and 2 g L^{-1} of clay catalyst under a constant 600 mg h^{-1} ozone bubbling fed by an A₂Z generator (A₂Z Ozone Inc, USA) at room temperature for similar ozonation times. After adsorption and ozonation, the resulting mixtures were centrifugated and the pH was adjusted to 6.5 using 1 N NaOH or HCl. The supernatant of each adsorption or ozonation mixture was analyzed through High-Performance Liquid Chromatography coupled to an ultraviolet-visible detector (HPLC-UV) and then exposed to *Lemna minor* plants for toxicity testing. HPLC-UV analysis was performed by using an Agilent Technologies model 1290 equipment. HPLC grade methanol (Sigma-Aldrich) was employed as the mobile phase. The removal yields of DAZ and ATR after adsorption or ozonation in the presence of NaMt and Fe(II)Mt were calculated by the equation: $(1-A/A_0) \times 100 \%$, on the basis of the instant/initial HPLC peak area of the residual pesticide concentration (A/A_0) as determined by calibration plots.

5.2.4 *Lemna minor* cultivation

Plants of *Lemna minor* were obtained from a culture collection from the Centre St-Laurent's laboratory of Environment and Climate Change Canada (Montreal, Qc, Canada). The cultivation was carried out in accordance with the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) guideline 221 (OECD, 2006). The plants were grown in an aqueous medium prepared according to the Swedish Institute for Standard (SIS) growth medium with the following nutritive chemical composition (in mg L^{-1}): NaNO₃, 85; KH₂PO₄, 13.4; MgSO₄•7H₂O, 75; CaCl₂•H₂O, 36; Na₂CO₃, 20; H₃BO₃, 1; MnCl₂•4H₂O, 0.20; Na₂MoO₄•5H₂O, 0.010; ZnSO₄•7H₂O, 0.050; CuSO₄•5H₂O, 0.005; Co(NO₃)₂•6H₂O, 0.010; FeCl₃•6H₂O, 0.84, Na₂-EDTA•2H₂O, 1.4; MOPS buffer, 490. The medium pH was adjusted to 6.5 ± 0.2 , and then filtered through a 0.2- μm filter for experiments under axenic condition. Stock plants were maintained under 24 ± 2 °C, with a photoperiod of 16 h of illumination (light intensity of $100 \pm 10 \mu\text{mol of photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and 8 h of darkness, under a relative humidity of $60 \pm 5\%$.

5.2.5 Pesticide exposure

In a first step, the intrinsic toxicity of DAZ and ATR was assessed using five nominal concentrations of each pesticide previously prepared in SIS medium: 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 mg L^{-1}

¹ and then exposed to *Lemna minor* for 7 days. In a second step, a 20 mL volume of each supernatant of the adsorption and ozonation mixtures was put in contact in a 50 mL Erlenmeyer with three triple-fronded *L. minor* plants without any lesions or chlorosis. Measurements of the growth rate, the pigment content, and the production of reactive oxygen species (ROS) were achieved after 7 days exposure to the same light and temperature conditions as the stock culture.

5.2.6 Growth inhibition

After 7 days, the number of fronds and fresh weight were measured in each flask and compared to blank samples consisting of non-exposed plants. The growth rate was calculated based on the measured fresh weight or fronds number by using the equation 5.1, according to the guidelines of the Organisation for Economic Cooperation and Development 2006 (OECD) (OECD, 2006):

$$\mu_{i-j} = [\ln(N_j) - \ln(N_i)] / 7 \quad (5.1)$$

In this equation, μ_{i-j} accounts for the specific growth rate from *i* to *j*, N_i is the variable measured for each treatment (including the control) at time *i* (day 0) and *j* (day 7), and *t* is the time from *i* to *j* (7 days). The growth inhibition (Ir in%) was calculated using the equation 5.2.

$$Ir = [(\mu_C - \mu_T) / \mu_C] \times 100 \quad (5.2)$$

Where μ_C and μ_T are respectively the specific growth rate for the control and treated sample (OECD, 2006):

5.2.7 Pigment content and ROS production

After 7 days exposure, the remaining plants were grinded in a mortar containing 5 mL of 100% methanol at room temperature. The extract was then centrifuged at 1968 g for 5 min at 24°C. Using a micro-plate reader (Infinite M200®, Tecan), the supernatant absorbance was measured at 665 nm (A665) for Chl *a*, and at 648 nm (A648) for Chl *b*. The pigment concentrations ($\mu\text{g mL}^{-1}$) were estimated according to the equation 5.3 and 5.4 (Lichtenthaler, 1987), and the ratio Chl *a/b* was determined based on fresh weight:

$$\text{Chl } a = 13.36 \times (A665) - 5.19 \times (A648) \quad (5.3)$$

$$\text{Chl } b = 27.43 \times (A648) - 8.12 \times (A665) \quad (5.4)$$

For the ROS production assessment in the cytosol of live cells, the plants were incubated for 30 min at 24°C with the fluorogenic probe CellROX orange at 5 µM (absorption/emission maxima of 545/565; ThermoFisher Scientific). After the incubation, the plants were washed with phosphate-buffered saline solution for 10 min at room temperature. The relative fluorescence emission was measured at 565 nm with a micro-plate reader (Infinite M200, Tecan) having a gain of 200 using a light excitation wavelength at 545 nm. The results were normalized by fresh weight and represented in percentage compared to the control.

For all toxicity tests, the means and corresponding standard deviations were determined for triplicate measurements (n = 3). The difference between treated and control (Blank) samples were tested using a one-way analysis of variance with Tukey's post-hoc test for $p < 0.05$, by using Graph Pad prism software version 8.0.2.

5.3 Results and discussion

5.3.1 Intrinsic effect of pesticide on plant growth

Pesticides are synthetic organic molecules that act as alien chemical species with intrinsic toxicity for living species growths and metabolisms, even before degradation. The toxicity of different concentrations of DAZ and ATR ranging from 0.001 to 10 mg L⁻¹ on *Lemna minor* after 7 days exposure was first evaluated through the inhibition grade of two complementary growth parameters, namely the frond number and fresh weight. A first overview of the results obtained revealed slightly lower values of the inhibition grade of the frond number (**Fig. 5.1-A**) as compared to the fresh weight (**Fig. 5.1-B**) upon exposure to both pesticides.

This accounts for a stronger negative effect on the biomass growth as compared to frond multiplication. Similar increasing tendency of the inhibition grade for both parameters was observed with increasing pesticide concentration. This increase was much more accentuated for ATR as compared to DAZ. This indicates a stronger toxicity of ATR towards *L. minor*, in agreement with its herbicide action and harmfulness against plants. *L. minor* fronds showed no signs of deterioration, necrosis, or chlorosis after 7 days of exposure.

Based on the fresh weight data, the EC₅₀ was estimated to be of 0.85 ± 0.01 and 0.045 ± 0.001 mg L⁻¹ for DAZ and ATR, respectively. This higher toxicity of ATR was already explained in terms of its molecular structure specifically tailored for herbicide action unlike diazinon that rather exhibits insecticide features (Cáceres *et al.*, 2008; Cai *et al.*, 2009; Kurade *et al.*, 2016; Mishra et Sabat, 2015). This EC₅₀ value of ATR is slightly lower than that reported for *L. minor* but ca. twice lower as compared to that registered for other living species such as *L. gibba* (0.089 mg L⁻¹) (Brain *et al.*, 2012; Fairchild *et al.*, 1997a; Klementová *et al.*, 2019a; Kumar, K. S. et Han, 2010; Mohammad *et al.*, 2010).

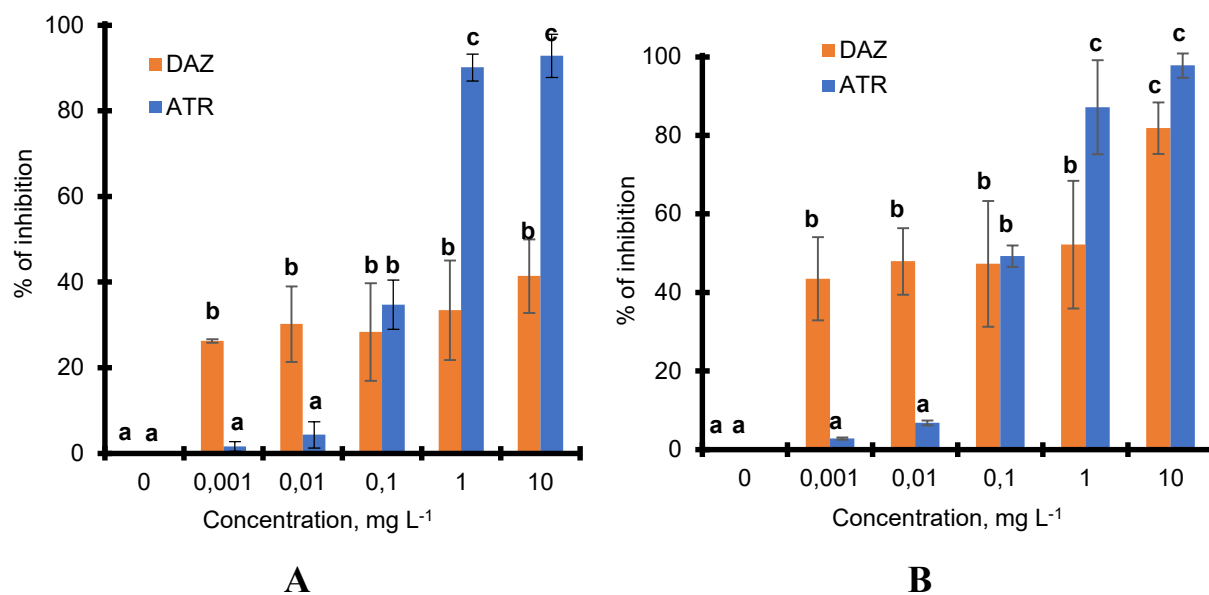


Figure 5.1. Effect of pesticide concentration on growth inhibition of *Lemna minor* based on fronds number (A) and fresh weight (B) after 7 days exposure. Triplicates measurements were achieved for all pesticides concentrations including the pesticide-free control sample (0 mg L⁻¹). Different letters used as symbols account for different data significances at $p < 0.05$. Data with similar significance are marked with similar symbols (Characters).

This indicates a higher sensitivity of *Lemna minor* to atrazine, thereby justifying the choice of such a plant species as a reliable bioindicator for accurate assessment of pesticide ecotoxicity. Here, even in trace amounts, ATR is supposed to affect photosynthesis with detrimental effect on plant growth, acting as uncouplers to prevent oxidative phosphorylation and formation of the proton gradient. This should involve ATR binding to the electron acceptor protein, thus inhibiting electron transport (Casida, 2009; Kumar, K. S. et Han, 2010). Therefore, deeper insights in the pesticide

effects on photosynthetic pigments and ROS production are expected to provide valuable data for elucidating not only the intrinsic toxicity pathway of ATR but also of its oxidized derivatives.

5.3.2 Change in photosynthetic pigments

Photosynthesis is an essential process for plants growth and can be altered directly or indirectly by several pollutants. The latter can affect the very action of the photosynthetic pigments and their distribution, often reflected by detectable changes in the contents of chlorophylls *a* and *b* (Chl *a* and Chl *b*). That is why the ratio Chl *a/b* was used as a general biomarker of chlorophylls biosynthesis and of chlorophylls-proteins complexes. The Chl *a/b* ratio was found to decrease from its starting ratio of ca. 1.35-1.40 for the control sample with increasing concentration of both pesticides from 0 to 10 mg L⁻¹, indicating changes in the distribution of the photosynthetic pigments (Fig. 5.2). More pronounced and continuous Chl *a/b* decrease down to 0.40-0.45 was noticed within the entire ATR concentration range (0-10 mg L⁻¹) as compared to DAZ. The latter rather showed a weaker Chl *a/b* decrease down to a plateau at approximately 1.2 in the DAZ concentration range of 0.1-10 mg L⁻¹. This suggests detrimental effects of both pesticides on the photosynthetic pigments, more pronounced towards Chl *a* as compared of Chl *b*, and a stronger toxicity of ATR as compared to DAZ.

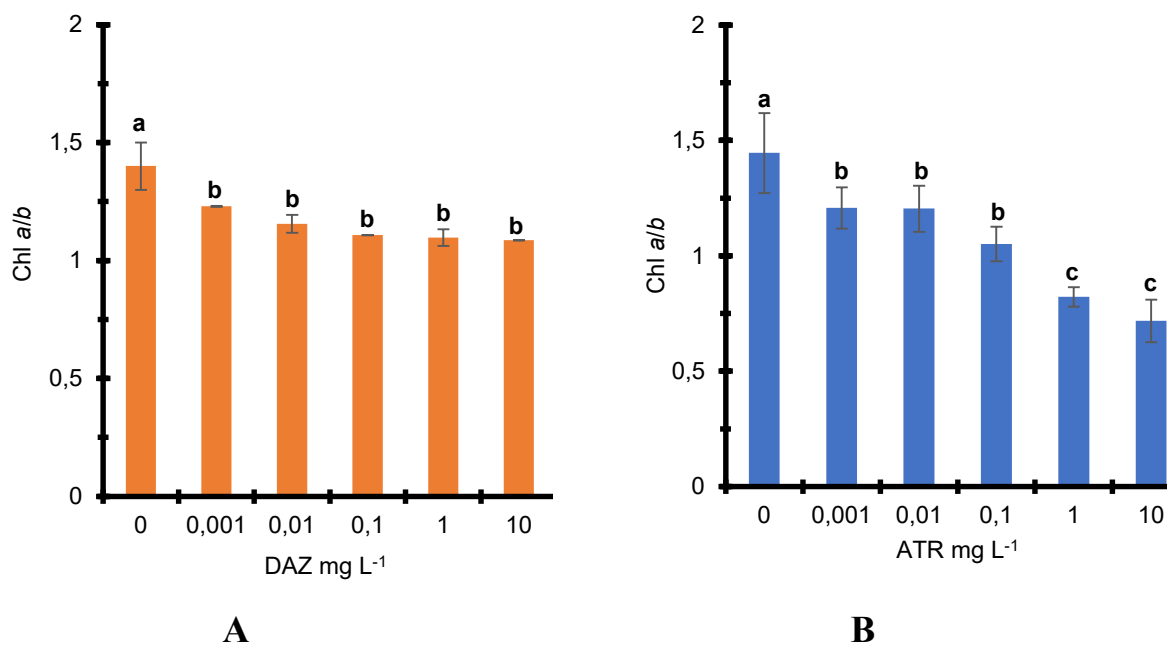


Figure 5.2. Effect of DAZ (A) and ATR (B) concentration on (Chl *a/b*) ratio of *Lemna minor* after 7 days exposure. Triplicates measurements were achieved for all pesticides concentrations

including the pesticide-free control sample (0 mg L⁻¹). Different letters used as symbols account for different data significances at $p < 0.05$. Data with similar significance are marked with similar symbols (Characters).

5.3.3 ROS production under pesticide stress

In nature, *L. minor* is continuously exposed to oxidative stress due to the accumulation of reactive oxygen species (ROS) during different metabolic processes (Foyer *et al.*, 1997). The plant has a natural capacity to trigger protective mechanisms involving antioxidant compounds and enzymatic activities (Alla et Hassan, 2006). The presence of oxidizing agent and oxidant precursors such as ozone, UV radiations, unusual acidity or alkalinity, heavy metals and organic pollutants can induce excessive ROS production (Chaves *et al.*, 2002; Gille et Sigler, 1995). The latter would readily affect cellular components by oxidizing essential macromolecules, such as lipids, proteins, and nucleic acids (He et Häder, 2002; Knörzer et Böger, 1999). In this study, exposure to increasing pesticide concentrations in the range of 0-10 mg L⁻¹ induced a visible increase in ROS production for both pesticides (**Fig. 5.3**).

After 7 days of exposure, ROS formation in *L. minor* plants increased by 54-55 and 45-46% with increasing concentrations of DAZ and ATR, respectively. The rise of excess ROS induced by the pesticide with respect to the control sample explains the inhibition intensification of the plant growth and confirm the key-role of ROS in the toxicity of both pesticides, in agreement with the previous observations. This different ROS production must be due to different mechanisms in the oxidative stress between DAZ and ATR, and contrasts with their reversed toxicity sequence. The fact that DAZ induced higher ROS production at the highest concentrations (1 and 10 mg L⁻¹), but lower toxicity as compared to ATR suggests the occurrence of different mechanisms pathways and different type and/or distribution of ROS.

A possible explanation resides in the fact that DAZ toxicity is assumed to induce an oxidative stress in the cytosol, while ATR would rather trigger the oxidative stress in the chloroplast through the alteration of chlorophyll-proteins complexes in the photosystems and by blocking the electron flow in the photosystem II (Li, X. *et al.*, 2012). The induction of ROS such as O₂^{•-} radical, H₂O₂ and •OH can result from a series of reactions starting with the interaction between chlorophyll molecules and oxygen, forming singlet oxygen (¹O₂) (Mittler, 2002). Other possible explanations

could involve the role of the early physical-chemical interactions between the pesticide molecules and each of the key-actor in the *L. minor* autoprotective system, even before that the oxidative stress is triggered. This remains to be elucidated by deeper insights.

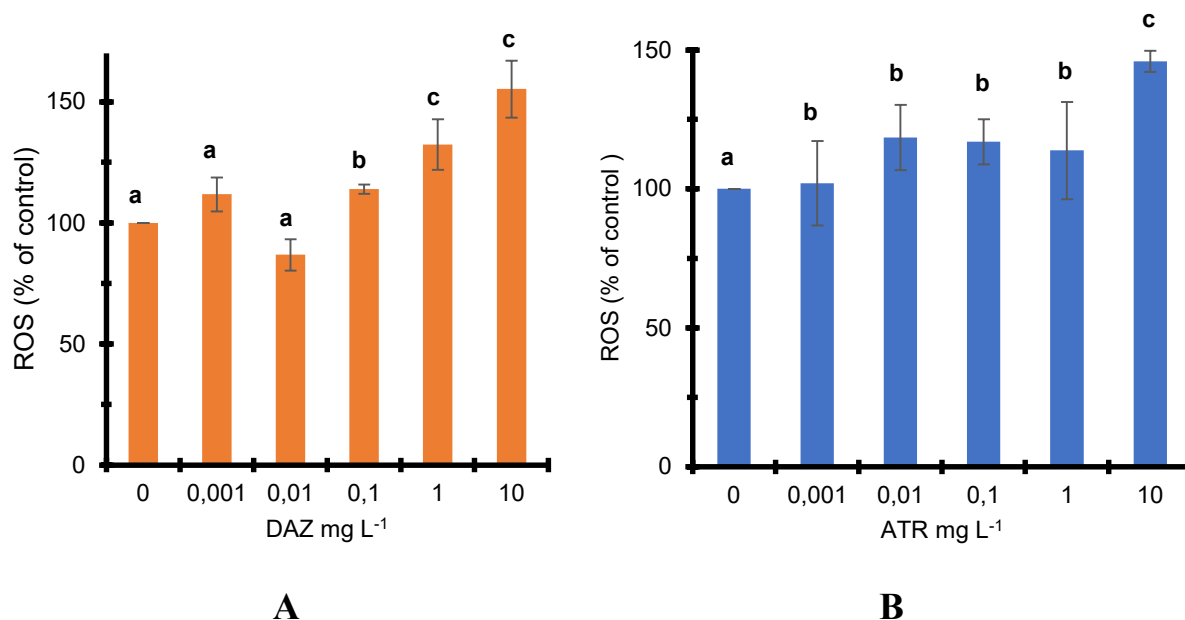


Figure 5.3. Effect of DAZ (A) and ATR (B) concentration on *Lemna minor* ROS production after 7 days exposure. Triplicates measurements were achieved for all pesticides concentrations including the pesticide-free control sample (0 mg L⁻¹). Different letters used as symbols account for different data significances at $p < 0.05$. Data with similar significance are marked with similar symbols (Characters).

5.3.4 Effect of adsorption and catalytic ozonation

A comprehensive strategy resides in investigating the role of both adsorption and oxidation as simulated by ozonation in the presence of clay-materials (2 g L⁻¹) in the toxicity changes on *L. minor* using the highest concentration of pesticide (10 mg L⁻¹) (**Fig. 5.4**).

Investigating the effect of ozonized DAZ and ATR reaction mixture is a useful approach for demonstrating that, in nature, pesticide ecotoxicity evolves in time, according to the host media, and that any attempt to oxidative treatments of pesticide-containing waters can contribute to this

toxicity evolution. In nature, pesticides are usually spread on soils supposed to contain clays, but they can also be dispersed in larger areas by runoff waters. They can undergo physical-chemical interactions such as adsorption in solid particles and oxidation in both adsorbed and dispersed states in both soils and waters-containing clays.

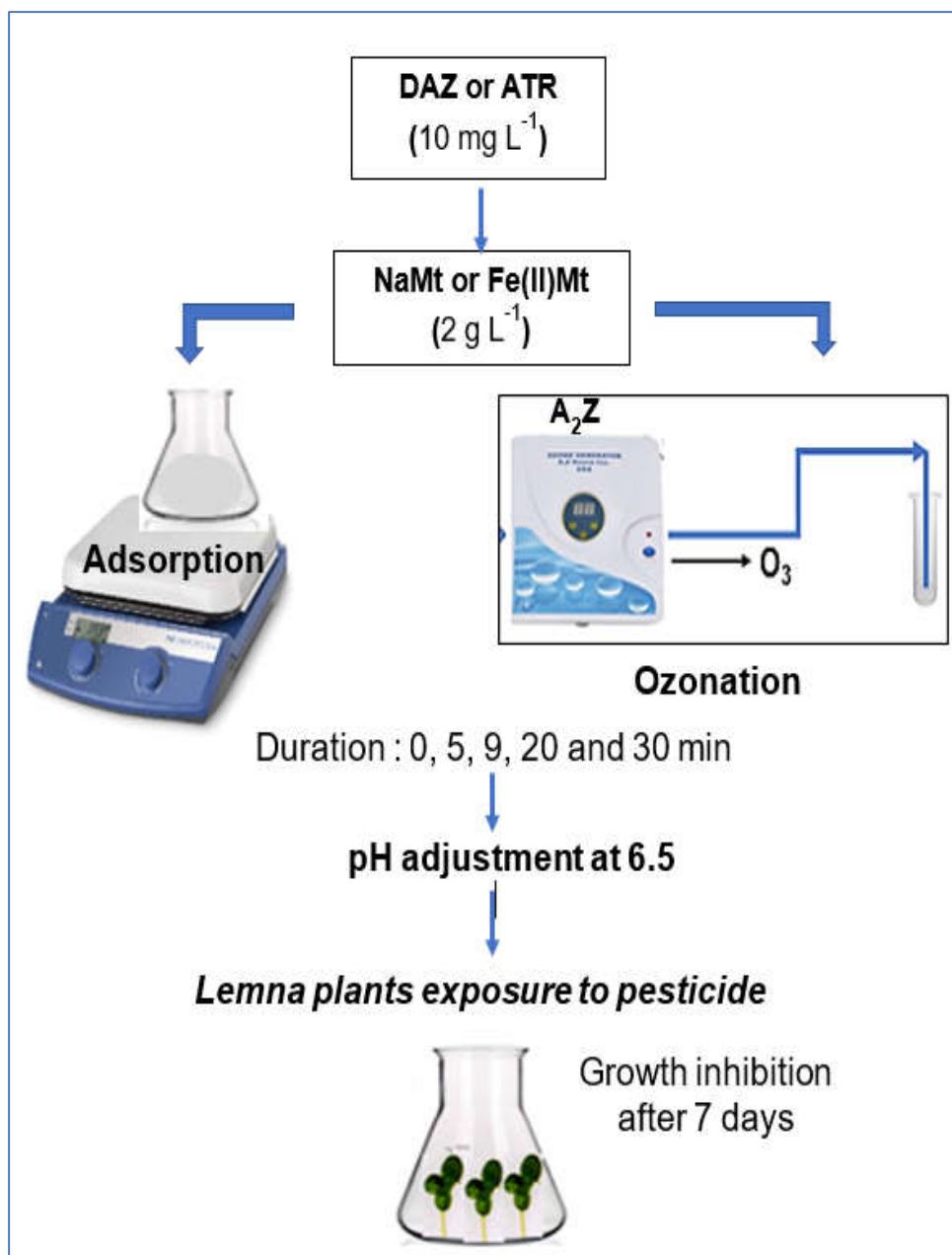


Figure 5.4. Schematic procedure for investigating the effects of pesticide adsorption and ozonation in the presence of two montmorillonites (NaMt and Fe(II)Mt) on the toxicity towards *Lemna minor*.

As a general feature, ozonation produced higher removal yield than adsorption for both pesticides in the presence of 2 g L⁻¹ of NaMt or Fe(II)Mt (Fig. 5.5).

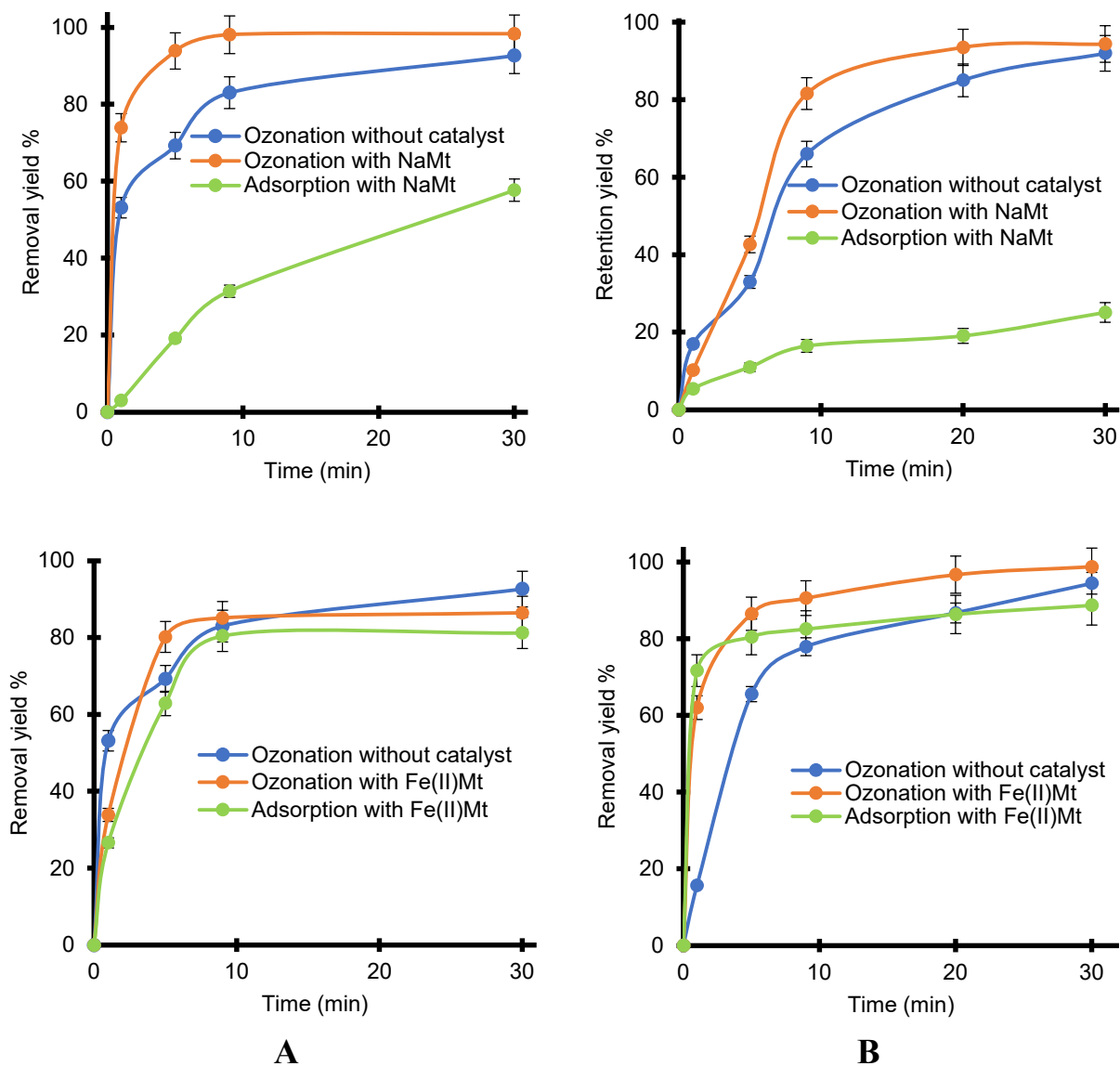


Figure 5.5. Removal yield of DAZ (A) and ATR (B) by adsorption and ozonation in the presence of 2 g L⁻¹ NaMt (Top panel) and Fe(II)Mt (bottom panel). Sample volume = 25 mL. The relative peak area (A/A_0) was calculated as the instant/initial HPLC-UV peak area ratio of DAZ or ATR. This ratio allows expressing the adsorption yield as: $(1-A/A_0) \times 100\%$. Triplicates measurements were achieved including the non-adsorbed and non-ozonized pesticide solution taken as the starting control sample (10 mg L⁻¹).

This clay concentration is regarded as being close to the critical coagulation concentration of clay minerals (Assaad, E. *et al.*, 2007), and it's optimal for high catalytic activity in the ozonation of organic pollutants (Azzouz, A. *et al.*, 2010; Boudissa, Farida *et al.*, 2019b; Boudissa, Farida *et al.*, 2020a; Shahidi, D. *et al.*, 2015; Shahidi *et al.*, 2014). The difference between both removal yields was found to be in the same magnitude order as the pesticide conversion by non-catalytic ozonation. This result provides evidence that adsorption is a key-step in clay-catalyzed ozonation. The general increase of the removal yield in time for both pesticides and both catalysts indicates that the adsorption and/or diffusion of the reactant (Ozone and pesticide) appears as kinetic-controlling steps.

NaMt gave pesticide conversion yields of up to 97-98% for DAZ after only 10-20 min ozonation, similar as those obtained with Fe(II)Mt but after longer ozonation (30 min). This accounts for slower initial ozonation for Fe(II)Mt that contrasts with its much higher adsorption yields for DAZ (80-81% after 10 min) and ATR (up to 83-86% after 30 min) registered in the presence of Fe(II)Mt as compared to NaMt (58% after 30 min and 23-25%, respectively). A possible explanation should consist in the fact that massive adsorption of pesticides induces the appearance of diffusion hindrance. This must be due to a ‘‘sandwiching’’ effect of bivalent Fe^{2+} cations shared by next neighboring clay sheets that induces weaker swelling behaviour of Fe(II)Mt (Kabwadza-Corner *et al.*, 2014).

The higher removal by ozonation as compared to adsorption and much lower contribution of adsorption on NaMt as compared to Fe(II)Mt must be due to specific Clay:Pesticide and Clay:Clay interactions. The latter should be strongly influenced by the unavoidable pH decrease during ozonation. During this process, various Clay:Clay, Pesticide:Clay, Pesticide:Ozone, Clay:Ozone, and more particularly those involving silanol groups (-Si-O-H) can take place according to the pH level attained (Benghaffour *et al.*, 2022; Foka Wembe *et al.*, 2023).

5.3.5 Toxicity changes upon pesticide adsorption.

Pesticide impacts on plant growth are expected to evolve specifically in time according to the molecular structure of the organic molecules, external environmental factors, and features of the host-media. Therefore, depending on the starting intrinsic toxicity, the progressive pesticide

degradation should significantly modify the global impact of a given pesticide through changes in the intermediate distribution. In this study, the toxicity of DAZ and ATR on *L. minor* plants was evaluated after different times of adsorption and catalytic ozonation in SIS medium and further pH adjustment to 6.5. The results revealed a decrease in the growth inhibition rate with increasing retention yield for both DAZ and ATR on NaMt but almost no modification on Fe(II)Mt (Fig. 5.6).

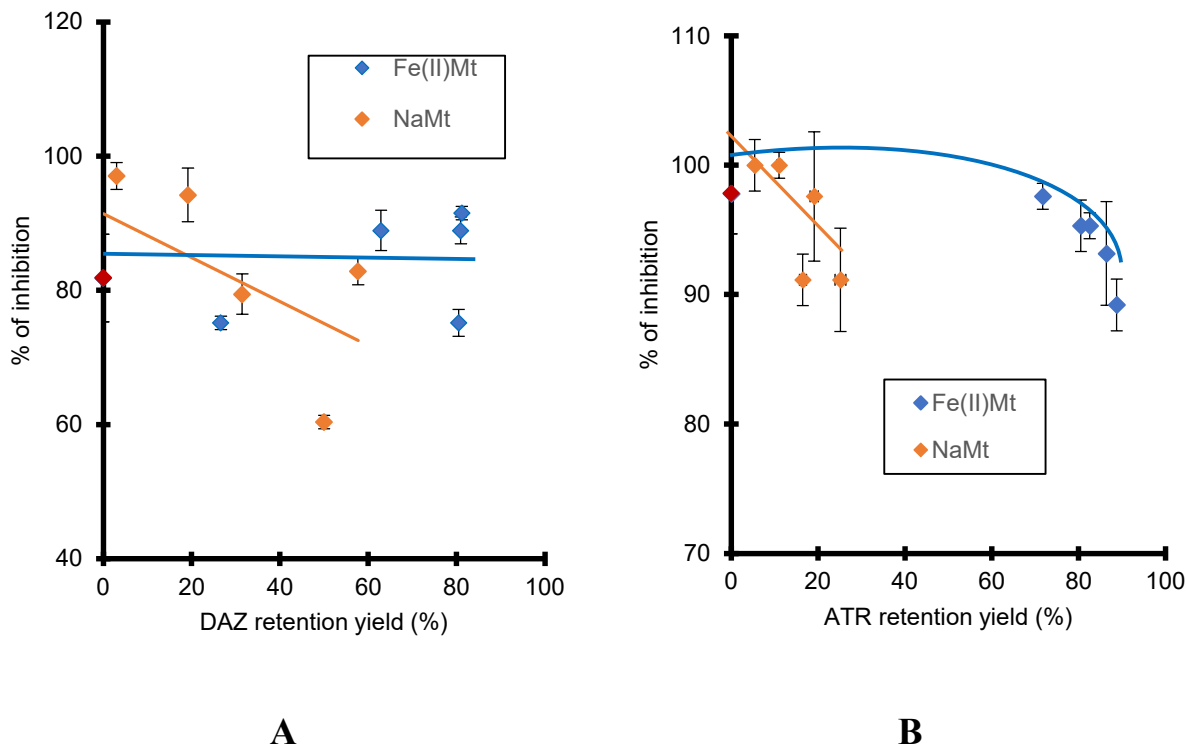


Figure 5.6. Effect of the retention yield (%) of DAZ (A) and ATR (B) with 2 g. L⁻¹ of Fe(II)Mt and NaMt on the inhibition grade (%) of *Lemna minor*. Triplicates measurements were achieved including the non-adsorbed and non-ozonized pesticide solution taken as the starting control sample (10 mg L⁻¹).

This decrease was somehow expected since pesticide adsorption on NaMt reduced both the amount of residual non-adsorbed molecules and persistent toxicity towards *L. minor*. In contrast, the presence of Fe(II)Mt paradoxically induced almost constant inhibition grade. This can be explained by the fact that any fluctuations of the inhibition grade are shaded by the higher pesticide removal yield through the adsorption on Fe(II)Mt as compared to NaMt.

5.3.6 Toxicity induced by pesticide degradation.

As expected, increasing DAZ conversion by ozonation resulted in decreasing toxicity reflected by a depletion of the inhibition grade, more pronounced in the presence of Fe(II)Mt as compared to NaMt (**Fig. 5.7A**). This is due to a progressive decay of the residual toxicity towards *L. minor* as a result of depleting amount of residual non-adsorbed molecules of DAZ. This effect seems to be shaded by the higher toxicity of ATR (**Fig. 5.7B**) and/or the progressive appearance of more harmful ATR derivatives as compared to those of DAZ.

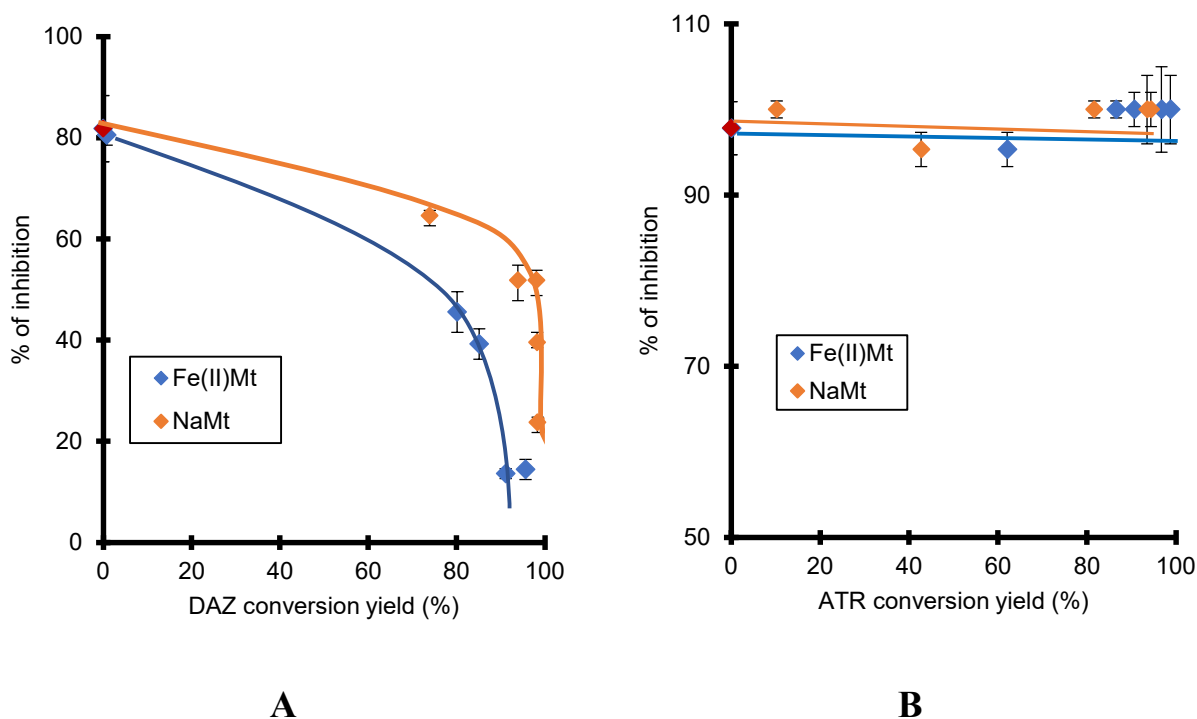


Figure 5.7. Effect of the conversion yield by ozonation (%) of DAZ (A) and ATR (B) with 2 g L^{-1} of Fe(II)Mt and NaMt on the inhibition grade (%) of *Lemna minor*. Triplicates measurements were achieved including the non-adsorbed and non-ozonized pesticide solution taken as the starting control sample (10 mg L^{-1}).

Among ATR derivatives, desethyl-atrazine, desisopropyl-atrazine, desethyl-desisopropyl-atrazine, and hydroxyderivatives of these compounds, namely 2-hydroxyatrazine, 2-hydroxy-desethylatrazine, 2-hydroxy-desisopropylatrazine and 2-hydroxy-desethyl-desisopropylatrazine were already identified (Klementová *et al.*, 2019b). These intermediates are hydroxylated and dealkylated compounds (Scribner *et al.*, 2005). Some degradation products may actually be more

toxic than the parent compound (Tixier *et al.*, 2002). The most pronounced toxicity was noticed with desethyl-atrazine, desisopropyl-atrazine and desethyl-desisopropyl-atrazine (Tchounwoul *et al.*, 2000). DAZ degradation was rather found to generate diazoxon, hydroxydiazinon, hydroxyethyl derivative of diazinon, diazinon methyl ketone and 2-hydroxydiazinon. Most of these turned out to be less toxic as compared to the parent diazinon molecule (Ku, Chang et Cheng, 1998), unlike diazoxon having the highest toxicity (Kouloumbos *et al.*, 2003; Zhang, Q. et Pehkonen, 1999) even for fish (Debski *et al.*, 2007).

5.3.7 Effect of pesticide removal on ROS production

A first overview of the data illustrated by **Figures 5.8-5.9** showed fluctuations in ROS production with increasing ozonation time, suggesting toxicity changes with the pesticide degradation level. The most plausible explanation resides in the successive formation of various intermediates that induce different oxidative stress on *L. minor*. These fluctuations also varied with increasing clay catalyst concentration in the ozonation mixture and were more pronounced for the relatively high catalyst concentrations of 2-3 g L⁻¹. The latter gave the highest increase in ROS production up to ca. 112 and 116% (with NaMt), and 118 and up to 121% (with Fe(II)Mt) after 9 min ozonation of DAZ mixture as compared the intrinsic ROS value of the control sample (100%). The slightly ROS production from ATR is in agreement with its higher growth inhibition induced by ozonation on *L. minor* (**Fig. 5.1**) as compared to NaMt.

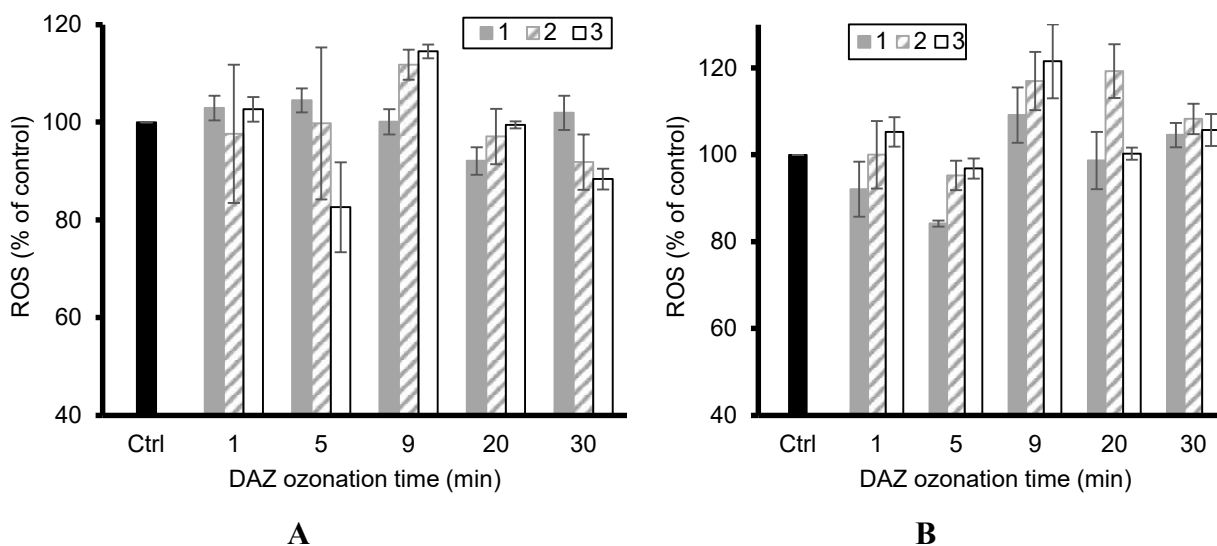


Figure 5.8. Change in ROS production of *L. minor* in DAZ ozonized mixture in the presence of NaMt (A) and Fe(II)Mt (B) catalysts (1, 2 and 3 g L⁻¹). The data represents triplicate measurements after plant exposure for 7 days including the control sample (*L. minor* in SIS without DAZ ozonized).

ATR ozonation gave the highest increase in ROS production up to ca. 113 and 145% (with NaMt) after 5 min ozonation of ATR, and 108 and up to 118% (with Fe(II)Mt) after 20-30 min ozonation as compared the intrinsic ROS value of the control sample (100%). This result is of great importance because it demonstrated that the toxicity towards *L. minor* and ROS production evolve simultaneously according to the catalytic activity of the clay minerals and during the progressive oxidative degradation of the pesticides and derivatives. This provides a clear confirmation of the narrow relationship between both factors. A plateau corresponding to a constant ROS production was observed with increasing ATR conversion yield by ozonation (**Fig. 5.7**). This must be due to a shading effect of simultaneous ATR depletion and progressive rise of harmful derivatives, thereby confirming the previous statements.

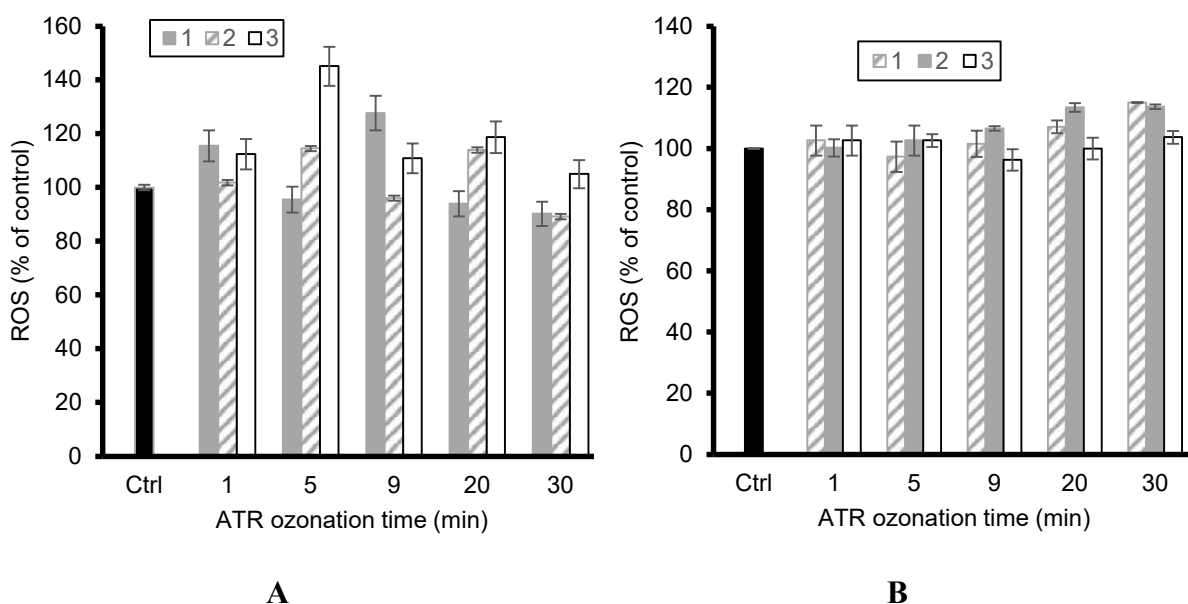


Figure 5.9. Change in ROS production of *L. minor* exposed to ATR ozonized mixture in the presence of NaMt (A) and Fe(II)Mt (B) catalysts (1, 2 and 3 g L⁻¹). The data represents triplicate measurements after plant exposure for 7 days including the control sample (*L. minor* in SIS without ATR ozonized).

5.4 Conclusion

These results allow concluding that the pesticide toxicity towards *L. minor* evolves in time upon oxidation according to their molecular structure and the presence of clay minerals. *Lemna minor* turned out to be a sensitive and reliable bioindicator for the accurate assessment of pesticide ecotoxicity. The latter affect the plant growth through excessive oxidative stress and changes in the distribution of the photosynthetic pigments. The ROS production differs according to the pesticide concentration, molecular structure, degradation level and action mechanisms. Massive adsorption of pesticides induced the appearance of diffusion hindrance but reduced the toxicity towards *L. minor*. High DAZ conversion by ozonation resulted in a toxicity decay, more pronounced in the presence of Fe(II)-exchanged montmorillonite as compared to NaMt. The progressive appearance of more harmful ATR derivatives shades the simultaneous depletion of the parent molecule resulting in a constant toxicity in time. The toxicity towards *L. minor* and ROS production evolve simultaneously according to the catalytic activity of the clay minerals and during the progressive oxidative degradation of the pesticides and derivatives. A constant ROS production arises from enhanced pesticide conversion by ozonation and progressive rise of harmful derivatives. These results provide valuable findings that allow predicting pesticide ecotoxicity according to its molecular structure, the type of clay-containing host-media and exposure time to ambient factors.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les travaux de cette thèse concernant l'action oxydative de l'ozone sur des polluants organiques en présence de matériaux argileux et la toxicité qui en résulte sur deux espèces vivantes représentant la faune et la flore de la biodiversité ont permis de démontrer que malgré la dégradation rapide et totale (100 %) de diclofénac sodium, 98,32% d'DAZ avec NaMt et 98,77% d'ATR avec Fe(II)Mt en moins d'une heure, l'absence de minéralisation totale due à la persistance de certains intermédiaires est une indication de l'évolution de l'écotoxicité et une cause importante des impacts négatifs sur la biodiversité. Les résultats obtenus ont permis d'aboutir aux conclusions suivantes :

Première partie

- La première partie de cette recherche a montré que l'utilisation de l'ozone pour "imiter" une accélération des conditions oxydatives naturelles de molécules organiques en présence d'argiles et d'évaluer leurs impacts sur la biodiversité est une stratégie judicieuse pour comprendre l'action catalytique des milieux contenant ces matériaux et le principe de leur auto-régénération.
- Les catalyseurs argileux améliorent la dégradation oxydative du diclofénac-sodium et du diazinon.
- Les polluants organiques dispersés dans des suspensions aqueuses de minéraux argileux peuvent subir des interactions favorisant leur adsorption et leur décomposition oxydative.
- Les montmorillonites échangées avec des cations Na^+ et Fe^{2+} (NaMt et Fe(II)Mt) se sont avérées être des catalyseurs efficaces assurant une dégradation complète du diclofénac-sodium et du diazinon après seulement 10 min d'ozonation.
- Le pH et la surface des catalyseurs argileux ont manifesté des effets significatifs.
- Les interactions de surface ont un effet important sur l'activité catalytique des minéraux argileux sur l'ozonation de chaque molécule organique.
- Le pH du milieu joue un rôle important dans la dispersion des argiles, car il gouverne les interactions électrostatiques, hydrophobes et ponts hydrogène en corrélation avec le pKa de la molécule étudiée.

- Une ozonation rapide d'une minute de chaque composé organique génère une grande variété d'intermédiaires avec une plus ou moins longue durée de vie, démontrant ainsi l'effet néfaste d'une oxydation précoce et incomplète.
- La réactivité très élevée du DCF vis-à-vis de l'ozone est due non seulement à son groupement amino central, mais aussi à son rapport atomique oxygène/carbone plus faible (2/14 pour DCF contre 3/12 pour DAZ), confirmant ainsi que, la réactivité envers l'ozone augmente avec la diminution du niveau d'oxydation.
- Les catalyseurs argileux présentent différentes efficacités démontrées par les différentes distributions des intermédiaires de réaction.
- La diminution du pH induit l'aggrégation de l'argile en particules de taille plus grosses, réduisant ainsi leur surface de contact et leur efficacité en adsorption et ozonation.
- Le DCF et le DAZ ont montré des toxicités intrinsèques moyennes à élevées vis à vis d'*Artemia salina* avec des taux de mortalité respectifs de 60 et 100% à des concentrations respectives de 100 mg L⁻¹ et 2 × 10⁻⁵ mol L⁻¹.
- La mortalité de *A. salina* diminue avec l'augmentation des rendements d'ozonation du DAZ, et cette décroissance de leur toxicité est due à la production de dérivés moins ou non toxiques.
- Les catalyseurs argileux induisent des écotoxicités différentes selon leur caractère acido-basique de surface et les caractéristiques des substrats organiques.
- Le caractère acido-basique de la surface argileuse est un facteur-clé de leur dispersion en milieux aqueux, de leur activité catalytique, de la distribution des intermédiaires et de l'écotoxicité induite dans les milieux récepteurs des polluants. Ces résultats sont d'une grande importance, car ils fournissent des fondements précieux permettant de prédire l'évolution et la persistance de l'écotoxicité de polluants organiques telles les pesticides et les médicaments selon le milieu hôte contenant de l'argile.

Seconde partie

- La deuxième partie de cette recherche a montré une différence significative concernant l'impact négatif de l'oxydation naturelle incomplète des deux pesticides étudiés.

- L'adsorption du substrat organique a une contribution importante dans l'ozonation en présence de catalyseurs argileux, impliquant une synergie entre la concentration en argile et le temps de contact.
- Ceci démontre que ces deux facteurs ne peuvent varier indépendamment l'un de l'autre pour atteindre des taux de rétention et de conversion oxydative optimaux du polluant organique. En d'autres mots, la persistance d'un polluant organique dans la nature est simultanément en fonction du temps de séjour et de la teneur en argile dans le milieu naturel récepteur.
- Les rendements de rétention d'ATR sont proportionnels à la concentration de catalyseur argileux jusqu'à un seuil optimum de 2 g L^{-1} correspondant à un taux d'élimination de 80 %. La diminution de ce taux au-delà de ce seuil s'explique par une intensification des interactions entre lamelles d'argile qui favorise l'agrégation avec la réduction de la surface de contact.
- Les mesures de potentiel Zêta et de la taille des particules en fonction du pH ont permis de démontrer que l'efficacité catalytique de l'argile dépend de sa dispersion dans le milieu aqueux et donc de sa surface de contact et de son traitement préalable.
- NaMt donne des rendements de conversion par ozonation de DAZ plus élevé par rapport à Fe(II)Mt dont le caractère acide affecte sa dispersion en milieu aqueux.
- Les pH neutres à alcalins induits par NaMt favorisent la déprotonation des silanols argileux et des groupement amino des molécules de pesticides.
- DAZ et ATR réduisent le pH initial dans l'eau, améliorant ainsi la protonation des silanols (pK_a 5.6 et 8.5) au détriment de la dispersion de l'argile.
- L'accroissement de la quantité de NaMt produit un effet individuel plus fort sur l'adsorption de DAZ par rapport à celui de Fe(II)Mt.
- La déprotonation aux pH plus élevés induit des forces répulsives Argile:Argile qui favorisent sa dispersion élevée de NaMt et une conversion élevée des pesticides par ozonation.
- La toxicité intrinsèque des deux pesticides se traduit par une diminution du poids frais, du nombre de frondes et de la teneur en chlorophylles de *L. minor*. Cette toxicité est accrue avec l'augmentation des concentrations de DAZ et de ATR.

- L'ozonation précoce de ATR et du DAZ en présence de Fe(II)Mt produit relativement moins de produits de dégradation par rapport à NaMt.
- L'ozonation du DAZ en présence de Fe(II)Mt produit des intermédiaires moins toxiques pour la plante *lemna minor*.
- L'adsorption et l'ozonation des deux pesticides en présence de NaMt et de Fe(II)Mt nécessite des quantités optimales d'argile de 2 g L⁻¹ pour un temps de contact optimal.
- Le taux d'inhibition de la croissance de la biomasse de *L. minor* évolue en sens inverse de celui du rendement de dégradation de DAZ en présence des deux catalyseurs entraînant une diminution de la toxicité.
- Ces résultats permettent de prédire la persistance d'un pesticide dans un milieu contenant de l'argile et son écotoxicité, et fournissent les bases pour la conception de traitements de l'eau peu coûteux et sans les traces d'intermédiaires persistants.
- Les fondements élaborés durant cette recherche peuvent s'appliquer également à d'autres matériaux naturels de types silicates et aluminosilicates.
- Les résultats de ce travail contribuent également à l'avancement des connaissances sur le comportement des polluants organiques en suspension argileuse, et à une meilleure compréhension des interactions entre les paramètres environnementaux et les polluants organiques dans le but de prévoir leurs toxicités dans les milieux naturels où se développe la biodiversité.

Troisième partie

- Des essais de corrélation entre la concentration optimale des catalyseurs et le temps d'ozonation de DAZ ainsi que la toxicité induite sur *L. minor* ont fait ressortir que l'impact négatif de la persistance d'un polluant organique de nature forte dépend de la structure moléculaire du substrat organique, du temps de contact et de la nature du milieu hôte contenant de l'argile.
- L'efficacité d'élimination des pesticides par adsorption et ozonation catalytique s'est avérée être optimale en présence de 2 g L⁻¹ d'argile. Cette valeur est un compromis entre : *i.* une augmentation de surface active à des quantités élevées d'adsorbant/catalyseur, et *ii.* l'apparition d'interactions argile-argile qui favorise son agrégation au détriment de sa dispersion et sa surface de contact.

- Un pH élevé améliore la dispersion de l'argile en milieu aqueux, mais réduit la contribution de l'ozone moléculaire.
- Un pH acide favorise l'ozonation, mais réduit la surface accessible par coagulation-floculation de l'argile.
- Les milieux argileux (Sols et suspensions argileuses dans les rivières et les lacs) sont capables de s'auto-régénérer sans apport extérieur.
- *Lemna minor* s'est avéré être un bioindicateur sensible et fiable pour l'évaluation de l'écotoxicité des pesticides pendant le processus d'oxydation.
- La production de ROS diffère selon la concentration du pesticide, de sa structure moléculaire, du niveau de dégradation et du mécanisme d'action.
- La conversion élevée de DAZ par ozonation a entraîné une réduction drastique de la toxicité, plus prononcée en présence de montmorillonite échangeuse de Fe(II) par rapport au NaMt.
- L'apparition progressive de produits dérivés de ATR plus nocifs a caché la faible toxicité de la molécule mère entraînant une toxicité constante dans le temps.
- La toxicité des ROS envers *L. minor* a évolué simultanément en fonction de l'activité catalytique des minéraux argileux et lors de la dégradation oxydative progressive des pesticides et des dérivés.

Ce travail de recherche n'est qu'un maillon d'une chaîne dans une direction intéressante pour le développement de nouveaux pesticides qui soient en conformité avec la nature des sols récepteurs. Pour cela, cette recherche pourrait être poursuivie par certaines des actions suivantes :

1. Étudier la réactivité de l'ozone sur une plus grande gamme de couples argile-polluant organique.
2. Étudier la réactivité de l'ozone sur les différents complexes cation-polluant formés.
3. Étudier plus en profondeur la corrélation entre le comportement de l'ozone, la dégradation du polluant organique, sa toxicité intrinsèque et celles de ses dérivés oxydés autour de la concentration critique de coagulation (CCC).
4. Appliquer ces fondements à d'autres matériaux naturels de types silices, silicates et aluminosilicates.

5. Étudier d'autres critères de toxicité pour comprendre le mécanisme de létalité.
6. Étudier les effets des pesticides sur l'appareil photosynthétique de *Lemna minor* par des mesures de fluorescence de la chlorophylle *a* et sur d'autres paramètres physiologiques.

ANNEXE A
SUPPORTING INFORMATION DE L'ARTICLE 1

INSIGHT INTO NATURAL MEDIUM REMEDIATION THROUGH ECOTOXICITY
CORRELATION WITH CLAY CATALYST SELECTIVITY IN ORGANIC MOLECULE
OZONATION

Amina Benghaffour^a, Eric Foka Wembe^a, Maroua Dami^b, David Dewez^a, Abdelkrim Azzouz^{a,b,*}

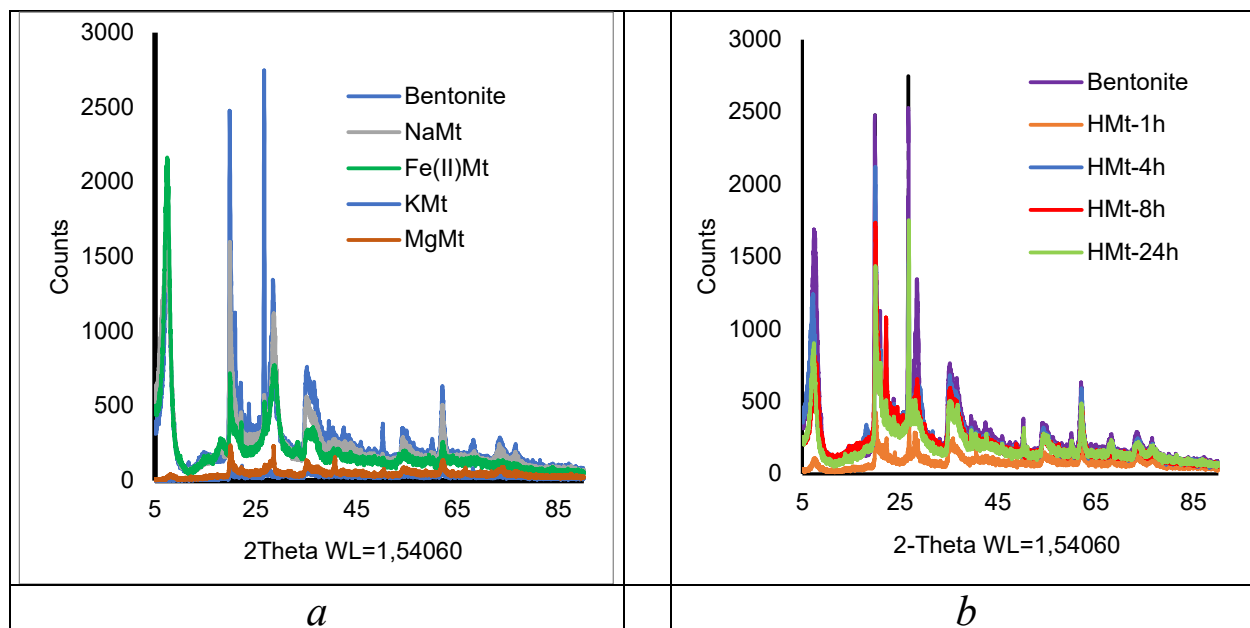


Fig. S1. XRD patterns of ion-exchanged montmorillonites (a) and acid-activated bentonites (b).
Table S1. Some features of the investigated organic molecules.

Organic compound	Structure de la molécule	Oxygen/Carbon atom ratio	pK _a	λ _{max} (nm)	Masse molaire (g mol ⁻¹)
Diazinon (DAZ)		3/12	2.6	250	304.35
Diclofenac sodium (DCF)		2/14	4.35 ± 0.2	275	318.1

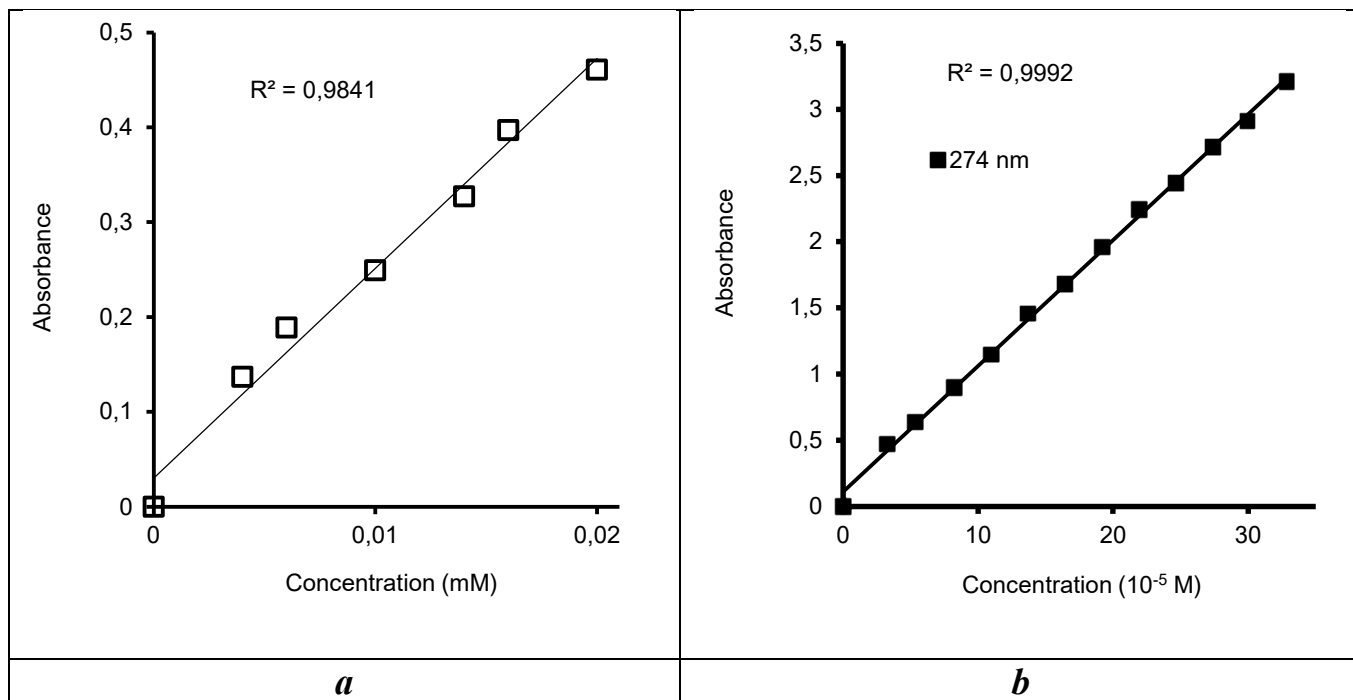


Fig. S2. Calibration curve of DAZ (a) and DCF (b) as assessed by UV-VIS. Quartz cell width: 1 cm.

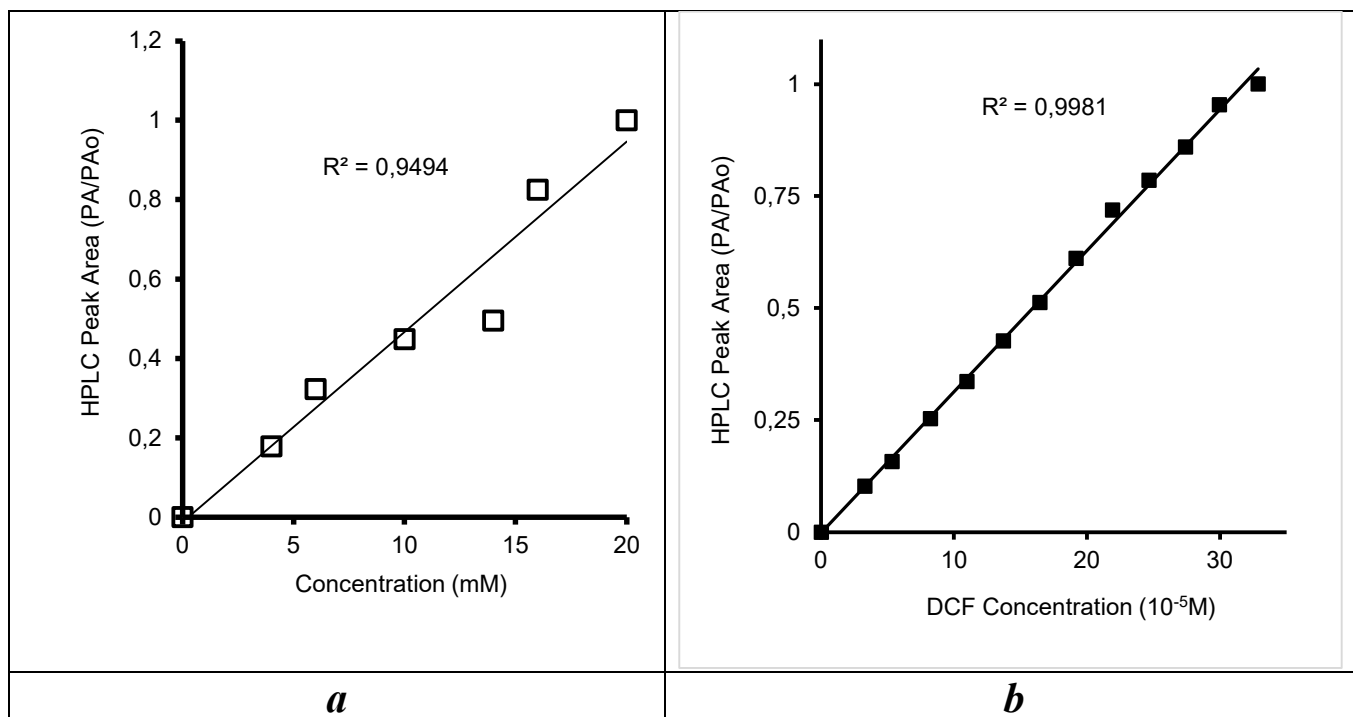


Fig. S3. Calibration curves of DAZ (a) and DCF (b) as assessed by HPLC-UV.

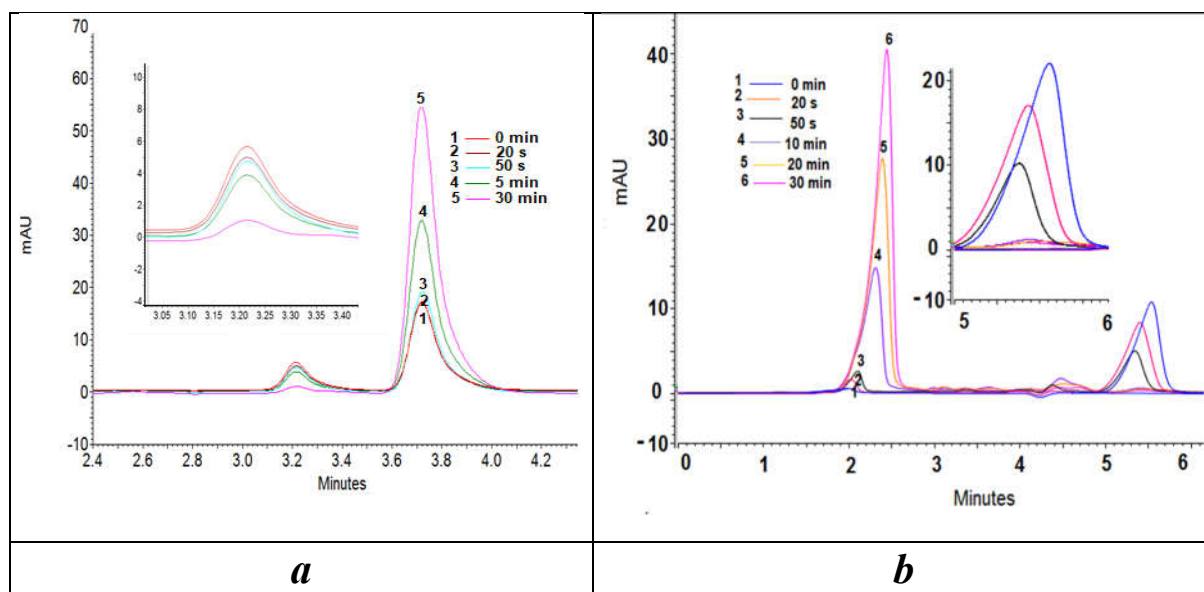


Fig. S4. Evolution during non-catalytic ozonation of the HPLC-UV peak area of Diazinon (a), Diclofenac (b). Ozone flow rate: 600 mg. h⁻¹. Sample volume = 20 mL. Substrate initial concentration: 10⁻⁵ M.

Table S2. Initial physico-chemical feature of the reaction mixture before ozonation.

Catalyst	Water			DCF		
	pH ^a	Particle size (μm) ^b	Zeta potential (mV) ^c	pH ^d	Particle size (μm) ^e	Zeta potential (mV) ^f
Bentonite	6.00	1.50	-21.98	5.60	0.36	-39.58
HMt-1	4.88	1.74	-16.18	4.83	2.07	-34.99
HMt-4	4.50	1.46	-19.38	4.71	1.60	-32.68
HMt-8	4.27	1.74	-34.40	4.63	0.88	-31.25
HMt-15	3.79	1.62	-35.93	4.72	1.37	-27.44
HMt-24	4.25	2.37	-22.29	4.73	2.00	-29.80
NaMt	6.27	0.76	-22.39	4.61	1.07	-30.26
KMt	5.22	0.56	-18.91	5.30	2.10	-33.39
CaMt	4.75	0.67	-23.14	5.01	0.55	-15.49
MgMt	5.80	1.02	-15.85	5.05	0.66	-19.73
CoMt	5.22	1.24	-15.66	5.44	1.32	-18.45
CuMt	4.32	1.99	-05.18	4.59	1.86	-23.63
NiMt	4.54	1.66	-27.22	5.51	1.22	-23.00
Fe(II)Mt	3.76	2.59	-22.20	4.53	2.17	-26.81
LDH	3.94	6.76	+5.54	6.74	3.85	+8.90

^a These pH measurements were carried out in 20 mL of distilled water with 40 mg of clay catalyst at T = 22 °C.

^b These particle size values were measured in the absence of organic molecules.

^c These Zeta potential values were measured in the absence of organic molecules.

^d pH of the aqueous solution in the presence of the organic molecule at T = 22 °C after addition of catalyst.

^e These particle size values were measured in the presence of organic molecules.

^f These Zeta potential values were measured in the presence of organic molecules.

Ozone determination by titration of the KI solution

Ozone was titrated by iodometry. For this purpose, ten samples of 200 mL potassium iodide solution (KI) were prepared by dissolving 0.5 g KI and 0.05g of potassium iodate (KIO₃) in 200 mL distilled water. Each sample was acidified with 10 mL of 1M HCl and then mixed with 7.8 mL of 0.1 M sodium thiosulfate (Na₂S₂O₃) (dark yellow solution). All samples were ozonized for five minutes at different ozone concentrations (10-100%) and then analyzed by UV-Vis spectrophotometry. A 1 mL amount of starch indicator was added to the solution (blue) and titrated was achieved with 0.1M Na₂S₂O₃ until the appearance of the pale-yellow color. The mole number $n(O_3)$ and mass flow, D_{mass} , were calculated from the consumed volume of sodium thiosulphate, $V(S_2O_3^{2-})$

$$n(O_3) = [S_2O_3^{2-}]V(S_2O_3^{2-})/2$$
$$D_{mass} = (n(O_3) * 48 \text{ g/mol})/\Delta t$$

1. Ozone determination by titration of the potassium iodide (KI) solution

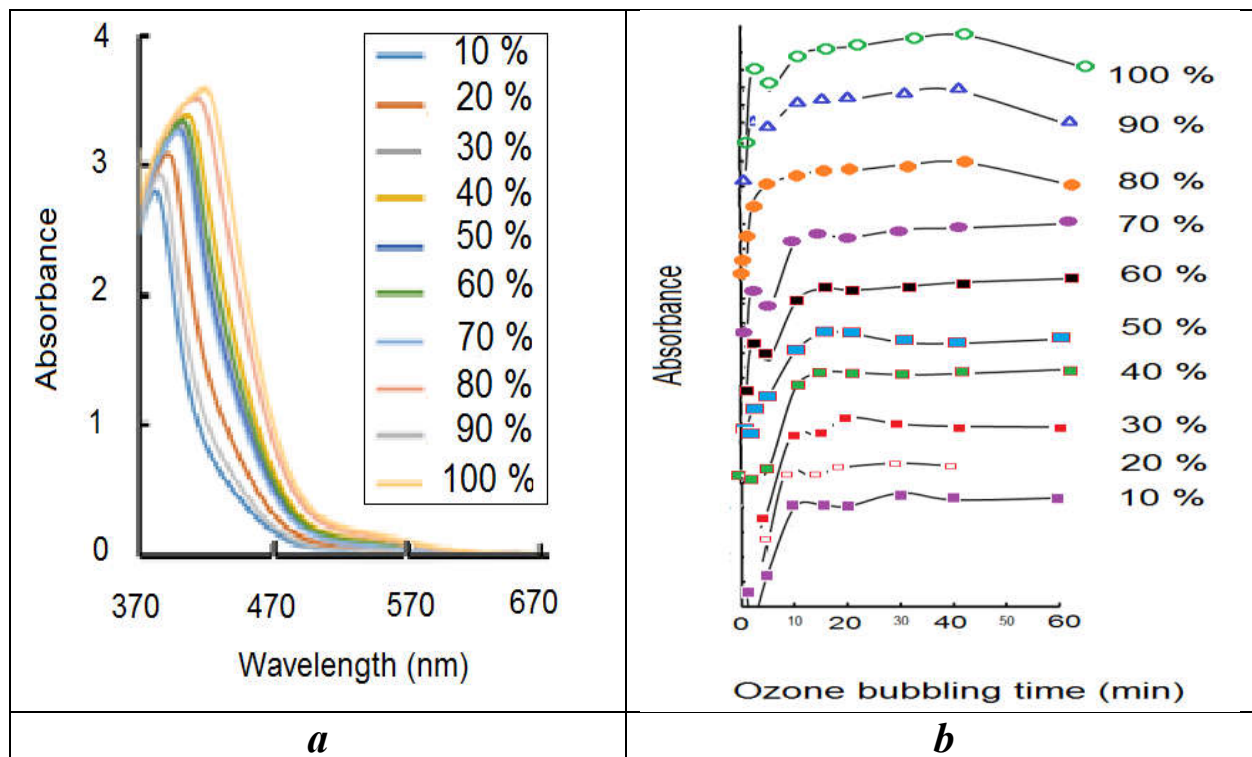


Fig. S5. UV-Vis absorbance spectra of ozone in KI solution (**a**) and absorbance evolution as a function of ozone proportion in the bubbling air (%) (**b**). Each percentage accounts for an ozone concentration.

DCF ozonation kinetics

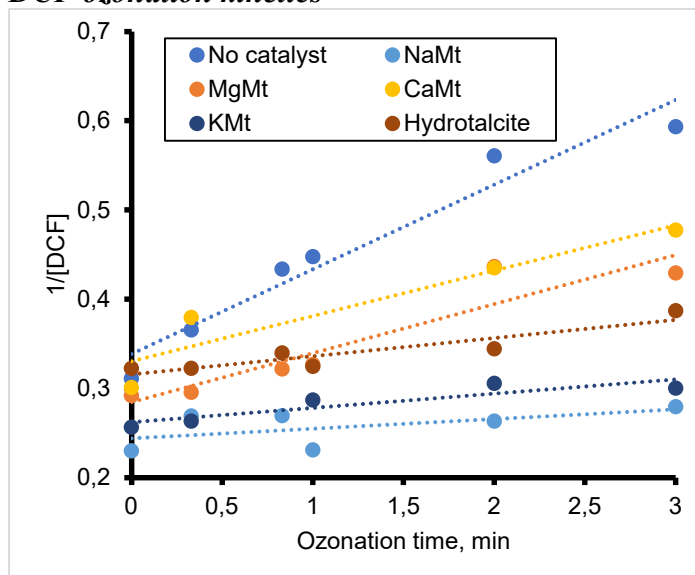
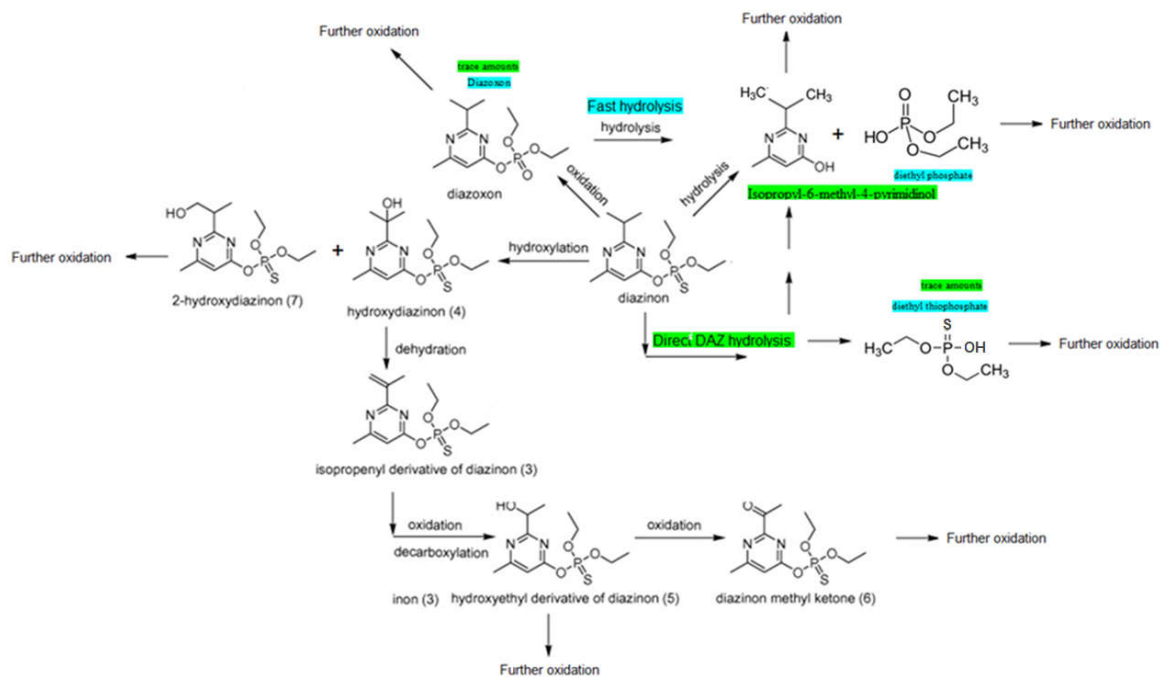
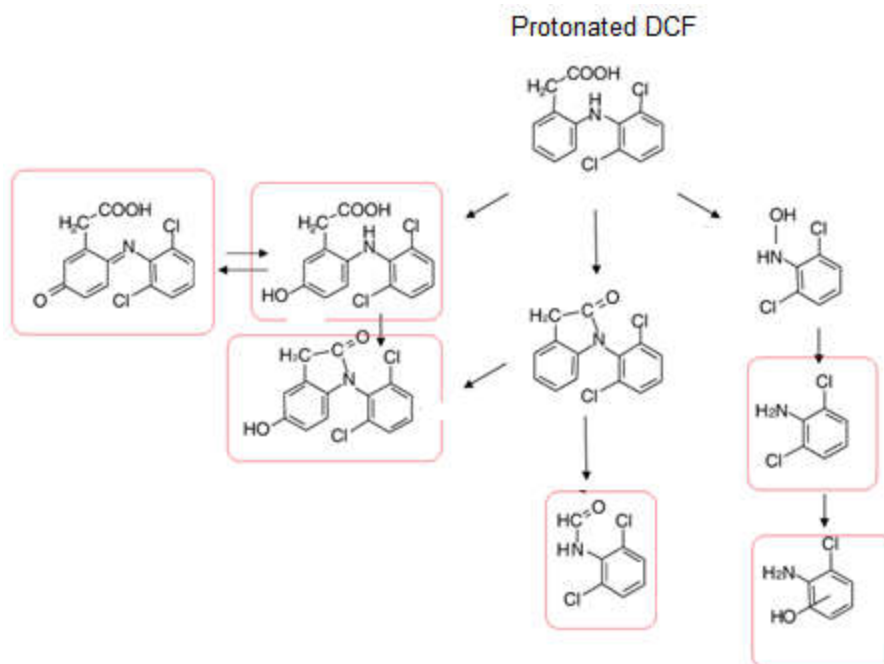


Fig. S6. 2nd-order kinetics of DCF catalytic ozonation.

Possible reaction pathways of ozonation based on a synthetic analysis of the literature



Scheme S1. Synthetic illustration of simultaneous degradation pathways in diazinon ozonation.



Scheme S2. Synthetic illustration of simultaneous degradation pathways in Diclofenac-Na ozonation. The most predominant DCF intermediates are presented in red frames.

ANNEXE B
SUPPORTING INFORMATION DE L'ARTICLE 2

CORRELATION OF PESTICIDE ECOTOXICITY WITH CLAY DISPERSION EFFECT ON
ADSORPTION AND OZONATION – AN APPROACH THROUGH IMPACT ASSESSMENT ON
LEMNA MINOR

Amina Benghaffour, David Dewez*, Abdelkrim Azzouz*

Table S1. Some features of the investigated organic molecules.

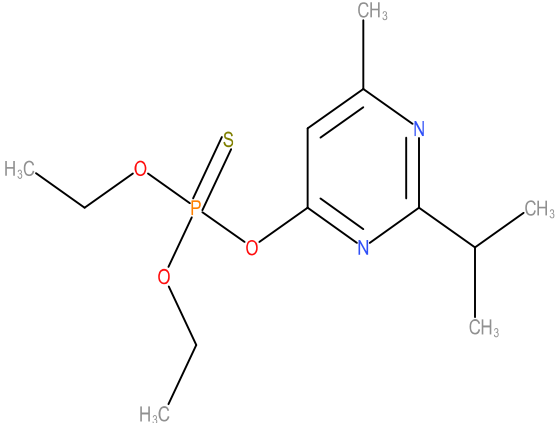
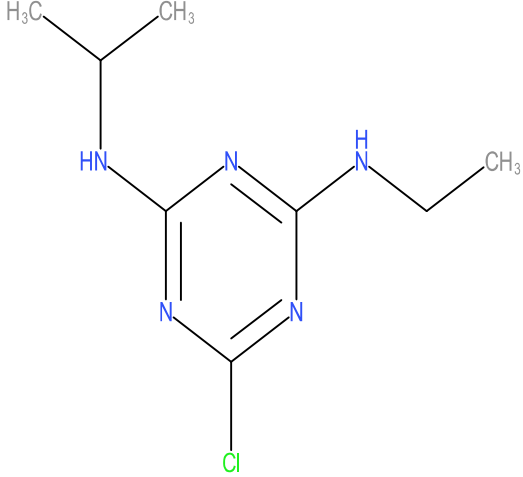
Organic compound	Structure de la molécule	pK _a	λ _{max} (nm)	Masse molaire (g/mol)
Diazinon (DAZ)		2.6	250	304.35
Atrazine (ATR)		1.6	220 265	215.69

Table S2. Swedish Standard *Lemna* growth medium (SIS).

Stock solution	Substance	Concentration (g dm ⁻³)		Composition of SIS medium	
		Stock solution	SIS medium	Chemical element	Concentration (mg dm ⁻³)
I	Na NO ₃	8.50	85	Na; N	32; 14
	KH ₂ PO ₄	1.34	13.4	K; P	6.0; 2.4
II	MgSO ₄ .7H ₂ O	15	75	Mg; S	7.4; 9.8
III	CaCl ₂ .2H ₂ O	7.2	36	Ca; Cl	9.8; 17.5
IV	Na ₂ CO ₃	4.00	20	C	2.3
V	H ₃ BO ₃	1.0	1.0	B	0.17
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0.20	0.20	Mn	0.056
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.010	0.010	Mo	0.0040
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.050	0.050	Zn	0.011
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.0050	0.0050	Cu	0.0013
	Co(NO ₃).6H ₂ O	0.010	0.010	Co	0.0020
	VI	FeCl ₃ .6H ₂ O	0.17	0.84	Fe
VII	Na ₂ -EDTA.2H ₂ O	0.28	1.40	-	-
	MOPS (buffer)	490	490	-	-

To prepare 1 litre of SIS medium, the following volumes of the stock solutions I – VII were added to ca 900 mL of ultrapure water in a 1 L flask: 10 mL of solution I, 5 mL of solution II, 5 mL of solution III, 5 mL of solution IV, 1 mL of solution V, 5 mL of solution VI, 1 mL of solution VII. The pH was adjusted to 6.5 ± 0.2 with either 0.1 M HCl or 0.1 M NaOH. The volume was finally adjusted to 1 litre.

Table S3. Some features of NaMt and Fe(II)Mt suspensions in water and SIS solutions of pesticides.

System	pH	Particle size (nm)	Zeta potential (mV)
Measurements in aqueous media with intrinsic pH of water = 6.8			
DAZ in H ₂ O	7.2	-	-
ATR in H ₂ O	7.5	-	-
NaMt in H ₂ O	8.8	689	-39.095
Fe(II)Mt in H ₂ O	3.4	1189	-42.64
NaMt + DAZ in H ₂ O	8.5	909	-47.7
NaMt + ATR in H ₂ O	8.2	826	-35.52
Fe(II)Mt + DAZ in H ₂ O	3.52	1307	-37.15
Fe(II)Mt + ATR in H ₂ O	3.47	1353	-20.875
Measurements in SIS media			
SIS Medium	6.5	-	-
DAZ in SIS Medium	6.6	-	-
ATR in SIS Medium	6.7	-	-
NaMt in SIS Medium	8.26	1107	-36.07
Fe(II)Mt in SIS Medium	3.32	3020	0.915
NaMt + DAZ in SIS Medium	6.67	1185	-174.915

NaMt + ATR in SIS Medium	6.51	948	-28.695
Fe(II)Mt + DAZ in SIS Medium	5.8	4087	-33.79
Fe(II)Mt + ATR in SIS Medium	3.7	1487	-

Intrinsic pH of DAZ and ATR aqueous solution is 5.28 and 9.5 respectively. ^a These average data arise from duplicate measurements carried out at T = 22 °C in 20 mL of pesticide solution (10 mg.L⁻¹ and intrinsic pH) in the presence of 40 mg of clay catalyst, which accounts for a catalyst concentration of 2 g L⁻¹. This catalyst concentration was regarded as nearly optimum, as previously assessed through preliminary optimization study.

Table S4. Main cations distributions in the clay materials investigated

Metal ^a	NaMt	NaMt in SIS medium	Fe(II)Mt	Fe(II)Mt in SIS medium
Na ⁺	4.90	18.21	0.67	5.3
Fe ²⁺	2.50	0.09	25.73	0.09
K ⁺	0.32	0.5	0.42	0.25
Ca ²⁺	1.43	5.96	1.54	4.94
Mg ²⁺	0.74	0.39	1.74	0.33

^a Metal cations concentration are expressed in ppm as assessed by ICP-OES analysis of NaMt and Fe(II)Mt by digestion method with aqua regia solution (HCl: HNO₃ 3:1 v: v) at 220 °C.

Table S5. Parameter variation ranges for 3² factorial designs at T =25°C and intrinsic pH.

Parameter	Symbol (Coded Variation)	Variation levels ^a		
		Minimum (-1)	Center (0)	Maximum (+1)
Clay material amount (g. L ⁻¹)	X ₁	1	2	3
Contact time (min) ^b	X ₂	1	5	9

^a in brackets: the coded value of the variation levels for expressing the reduced (non-dimensional) value of each parameter.

^b The contact time is the duration of the adsorption or ozonation process.

Table S6. Parameters of HPLC and LC-MS analyses.

Method	Parameter	Specification
HPLC	Apparatus model	Agilent Technologies model 1290 equipment
	Column specification	C18 column 4.6×150mm, 5µm
	Mobile phase composition	Water/Methanol (45/55 v/v) for DAZ and (80/20 v/v) for ATR
	Detection wavelength	250 nm for DAZ and 220 nm for ATR
	Elution	Isocrati
	Flow rate	1 mL.min ⁻¹
	Temperature	40°C
	Pump pressure	18 MPa
LC	Apparatus model	1260 Series HPLC system from Agilent Technologies (Santa Clara, CA)
	Column specification	For DAZ: Atlantis C18, 100×2.1mm,3µm particle size (Waters,Milford,MA) For ATR: XSelect CSH C18, 100×2.1mm,3.5 µm particle size (Waters,Milford,MA)
	Mobile phase composition	5 Mm Ammonium Formate in water (solvent A) and acetonitrile (solvent B)
	Elution	Gradient for DAZ: 0-0.2 min, 10%B; 0.2-6.0 min, 10-95%B; 6.0-7.0 min, 95%B; 7.0-7.2 min, 95-10%B and 7.2-12.0 min, 10%B Gradient for ATR: 0-0.2 min, 5%B; 0.2-7.0 min, 5-80%B; 7.0-7.8 min, 80%B; 7.8-8 min, 80-5%B and 8.0-12.0 min, 5%B
	Flow rate	0.4 mL/min

	Oven temperature	60°C
	Sample volume	5µL
MS	Apparatus model	6224 TOF mass spectrometer, Agilent Technologies (Santa Clara, CA)
	Ionization type	HESI Heated Electrospray Ionization
	Ionization spray voltage	3 kV
	Ionization oven capillary temperature	350°C
	IT-record	Full MS (70-1000 m/z)

Table S7. DAZ and ATR adsorption and ozonation yields on NaMt and Fe(II)Mt.

Nr	Response-function		Adsorption				Ozonation			
	Reduced parameter level ^a		DAZ		ATR		DAZ		ATR	
	X ₁	X ₂	NaMt	Fe(II)Mt	NaMt	Fe(II)Mt	NaMt	Fe(II)Mt	NaMt	Fe(II)Mt
			Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂
1	-1	-1	01.50	12.68	12,64	12.64	44.52	34.95	06.80	15.67
2	-1	0	22.23	30.01	15,00	19.41	71.91	55.60	64.65	65.56
3	-1	1	39.21	30.49	27,99	25.03	85.44	72.35	91.62	99.55
4	0	-1	03.00	26.60	05,43	21.70	73.92	22.82	10.21	62.04
5	0	0	19.15	62.87	11,00	80.49	93.89	80.15	42.66	86.53
6	0	1	31.46	80.44	16,48	82.52	98.08	85.11	81.57	90.61
7	1	-1	25.00	22.73	19,25	2.57	67.05	15.30	23.17	47.69
8	1	0	39.63	31.50	36,60	66.18	73.60	32.78	92.85	80.00
9	1	1	53.16	41.78	36,68	89.39	75.72	39.34	99.83	86.15

^a X₁ = Clay material amount (g L⁻¹) varying between 1 g L⁻¹ (-1) and 3 g L⁻¹ (+1); X₂ = Contact time (min) varying between 1 min (-1) and 9 min (+1) with a medium value for each parameter (denoted as 0).

^b The contact time is the duration of the adsorption or ozonation process.

Table S8. Model coefficients for DAZ and ATR adsorption and ozonation on NaMt and Fe(II)Mt

Process		DAZ adsorption		ATR adsorption		DAZ conversion		ATR conversion	
Variables	Coef.	NaMt	Fe(II)Mt	NaMt	Fe(II)Mt	NaMt	Fe(II)Mt	NaMt	Fe(II)Mt
		Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂	Y ₁	Y ₂
X ₀	a ₀	01.47	35.30	-	50.28	41.74	37.68	16.47	39.71
X ₁	a ₁	09.14	03.80	06.15	16.84	02.42	-12.58	08.79	05.50
X ₂	a ₂	15.72	15.12	07.30	18.34	12.29	20.62	38.80	25.15
X ₁ ²	a ₁₁	12.25	-28.44	13.72	-42.36	-18.92	-20.97	18.35	-13.95
X ₂ ²	a ₂₂	-01.45	-05.67	-	-08.05	-05.68	-11.20	-14.52	-10.40
X ₁ .X ₂	a ₁₂	-02.39	00.31	00.51	18.61	-08.06	-03.34	-02.03	-11.35

^a X₁ = Clay material amount (g L⁻¹) varying between 1 g L⁻¹ (-1) and 3 g L⁻¹ (+1); X₂ = Contact time (min) varying between 1 min (-1) and 9 min (+1) with a medium value for each parameter (denoted as 0).

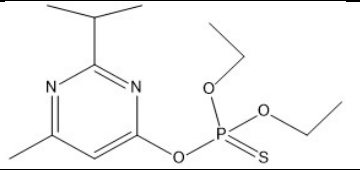
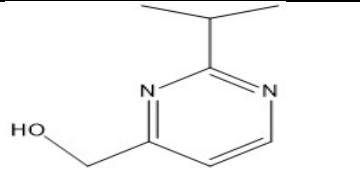
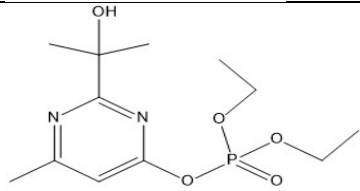
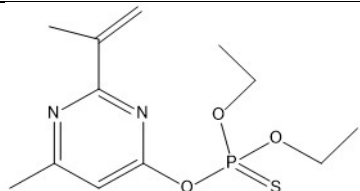
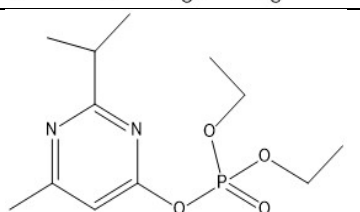
^b The contact time is the duration of the adsorption or ozonation process.

Table S9. Calculated adimensional and real optimum parameter values for adsorption and ozonation.

Process	Value	DAZ				ATR			
		Fe(II)Mt		NaMt		Fe(II)Mt		NaMt	
		X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂
Adsorption	Adimensional	0.07	1.32*	0.14	5.30*	0.60	1.55*	0.28	3.19*
	Real (g L ⁻¹ ; min)	2.07	10.3	2.1	26.2	2.60	11.2	2.3	17.7
Ozonation	Adimensional	0.37	0.97	0.19	1.22*	0.42	1.45*	0.16	1.32*
	Real (g L ⁻¹ ; min)	2.37	8.9	2.2	9.9	2.42	10.8	2.2	10.2

* These values are outside the considered range. They are qualitatively assessed using a formula that is valid only within the considered parameter ranges.

Table S10. Main intermediates in the catalytic ozonation of diazinon.

Name	Structural formula	Structural formula
O,O-Diethyl O-[4-methyl-6-(propan-2-yl)pyrimidin-2-yl] phosphorothioate (Diazinon)	C ₁₂ H ₂₂ N ₂ O ₃ PS	
2-Isopropyl-6-hydroxymethylpyrimidine (IMP)	C ₈ H ₁₂ N ₂ O	
Hydroxydiazoxon	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₅ P	
Diazinon methyl ketone	C ₁₁ H ₁₇ N ₂ O ₄ PS	
Diazoxon	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₄ P	

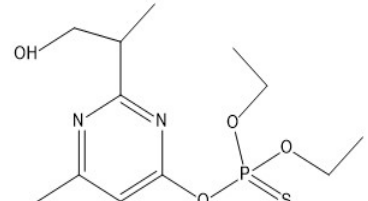
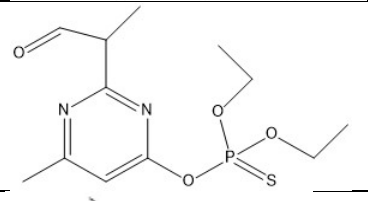
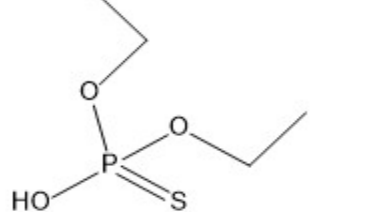
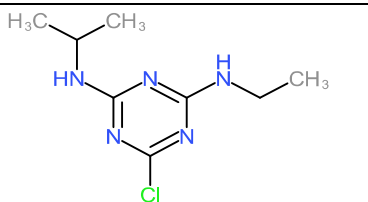
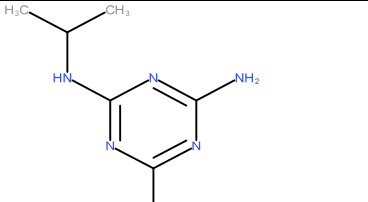
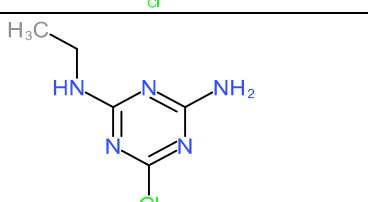
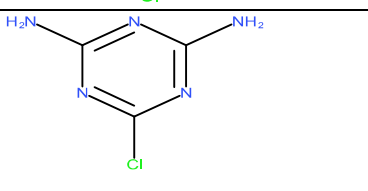
2-Hydroxydiazoxon	$C_{12}H_{21}N_2O_4PS$	
Diazinon aldehyde	$C_{12}H_{19}N_2O_4PS$	
O,O-Diethyl thiophosphate	$C_{12}H_{22}N_2O_5PS$	

Table S11. Main intermediates in the catalytic ozonation of Atrazine.

Compound	Name	Structural formula	Chemical structure
(2-chloro-4-(ethylamino)-6-isopropylamino-s-triazine	Atrazine	$C_8H_{14}ClN_5$	
Desethyl-atrazine	DEA	$C_6H_{10}ClN_5$	
Desisopropyl-atrazine	DIPA	$C_5H_8ClN_5$	
2-Chloro-4,6-diamino-s-triazine (Desethyl-desisopropyl-atrazine)	DEDIPA	$C_3H_4ClN_5$	

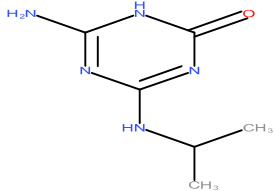
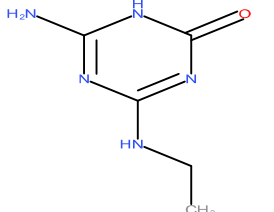
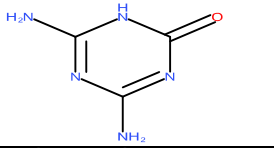
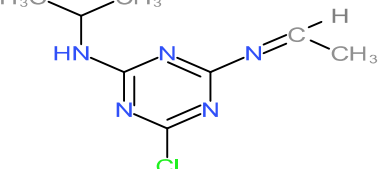
Atrazine-desethyl-2-hydroxy	DEA-2OH	C ₆ H ₁₁ N ₅ O	
Atrazine-desisopropyl-2-hydroxy	DIPA-2OH	C ₅ H ₉ N ₅ O	
Atrazine-desethyl-desisopropyl-2-hydroxy	DEDIPA-2OH	C ₃ H ₅ N ₅ O	
2-chloro-4-ethylimino-6-isopropylaminotriazine	ATR-imine	C ₈ H ₁₂ ClN ₅	

Table S12. Calculated adimensional and real optimum parameter values for three toxicity criteria

Toxicity criterion measured	Process	Value	DAZ				ATR			
			Fe(II)Mt		NaMt		Fe(II)Mt		NaMt	
			X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂
Fresh weight	Adsorption	Adimensional	0.01	2.01*	0.31	0.43	0.07	0.02	0.03	0.03
		Real (g L ⁻¹ ; min)	2.02	13.04	2.31	6.72	2.07	5.04	2.03	5.12
	Ozonation	Adimensional	0.26	0.85	0.42	0.71	0.72	0.24	2.71*	1.5*
		Real (g L ⁻¹ ; min)	2.26	8.43	2.42	8.16	2.72	5.96	4.71	11
Chlorophyll a	Adsorption	Adimensional	0.30	10.09*	0.47	0.48	0.65	0.86	0.15	0.15
		Real (g L ⁻¹ ; min)	2.30	45.36	2.47	6.92	2.65	8.44	2.15	5.6
	Ozonation	Adimensional	0.15	0.24	2.93*	1.95*	1	2*	2.02*	0.22
		Real (g L ⁻¹ ; min)	2.15	5.99	4.93	12.8	3	13	4.02	5.88

* These values are outside the considered parameter ranges (-1,+1), and cannot be taken into account in the result discussion, given that they were assessed using a formula that are valid only within this range.

Table S13. Calculated adimensional and real optimum parameter values for three toxicity criteria

Toxicity criterion measured	Process	DAZ				ATR			
		Fe(II)Mt		NaMt		Fe(II)Mt		NaMt	
		X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂	X ₁	X ₂
Fresh weight	Adsorption	-	-	Min	Min	Max	-	Min	Min
	Ozonation	Min	-	Min	-	Min	-	Min	-
Chlorophyll a	Adsorption	Min	Max	Min	-	Min	Max	Min	Min
	Ozonation	Min	Max	-	-	Min	-	Max	Min

* These values are outside the considered parameter ranges (-1,+1), and cannot be taken into account in the result discussion, given that they were assessed using a formula that are valid only within this range.

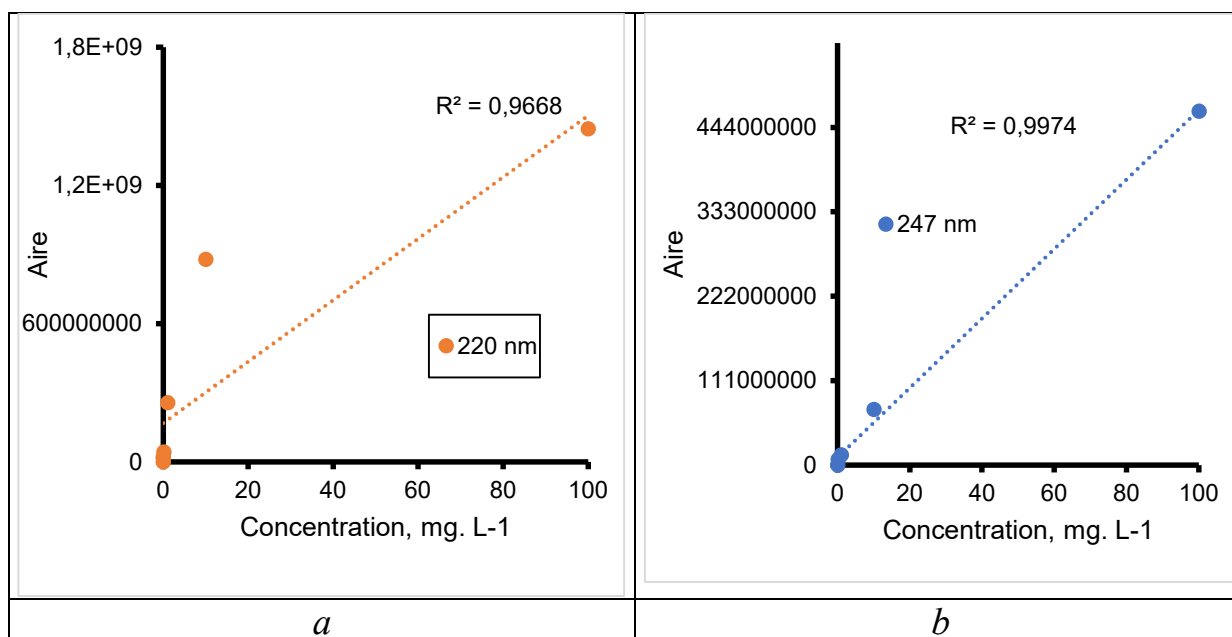


Fig. S1. Calibration curves of DAZ (a) and ATR (b) as assessed by UPLC-UV

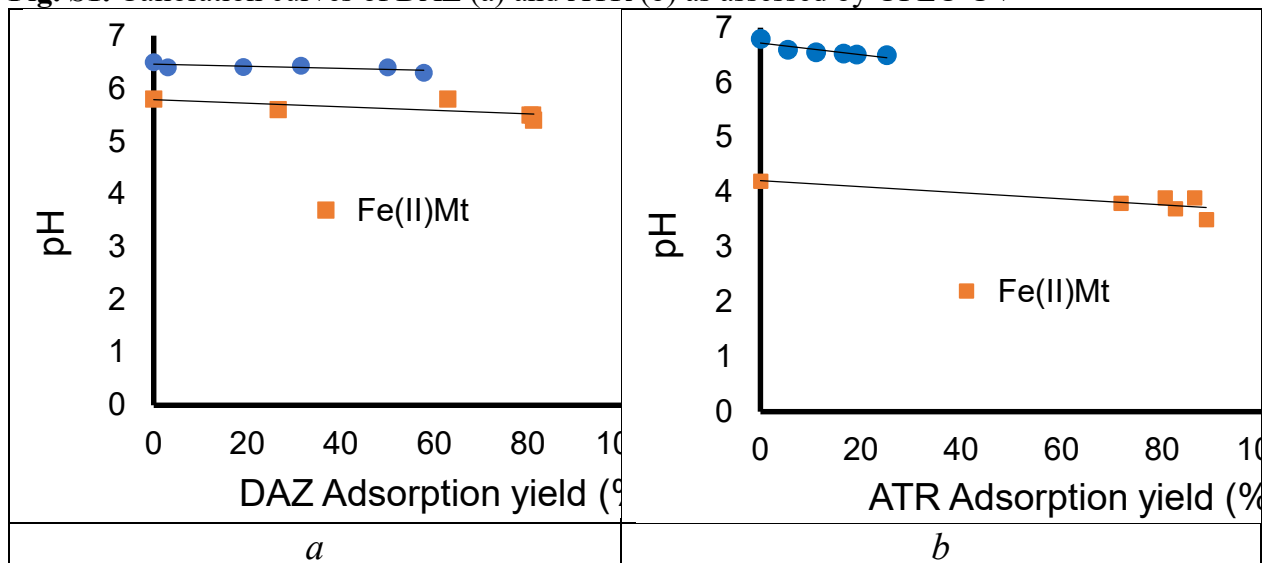


Fig. S2. Instant pH dependence on the adsorption yield of DAZ (a) and ATR (b) in the presence of 2 g L^{-1} clay amount. Sample volume = 25 mL. The relative peak area (PA/PA_0) calculated as the instant/initial HPLC-UV peak area ratio of each pesticide. The pH was assessed for each adsorption yield measured in time by HPLC-UV up to a constant value of the maximum retention yield obtained for each Clay:Pesticide pair. Initial pesticide concentration = 10 mg. L^{-1} .

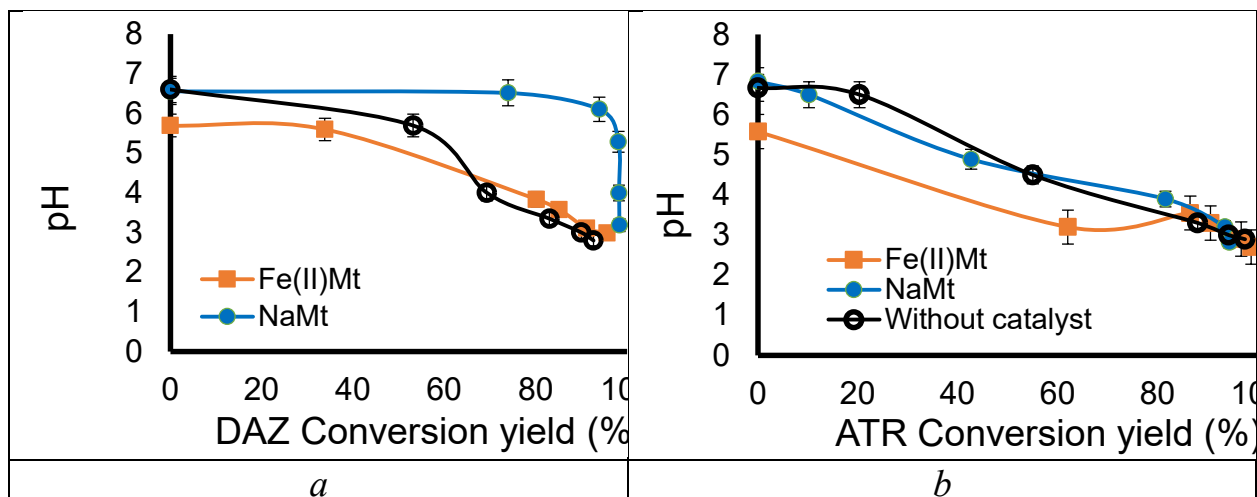


Fig. S3. Instant pH dependence on the conversion yield of DAZ (a) and ATR (b) in the presence of 2 g L^{-1} clay amount. Sample volume = 25 mL. The relative peak area (PA/PA_0) calculated as the instant/initial HPLC-UV peak area ratio of each pesticide. The pH was assessed for each adsorption yield measured in time by HPLC-UV up to a constant value of the maximum retention yield obtained for each Clay:Pesticide pair. Initial pesticide concentration = 10 mg. L^{-1} .

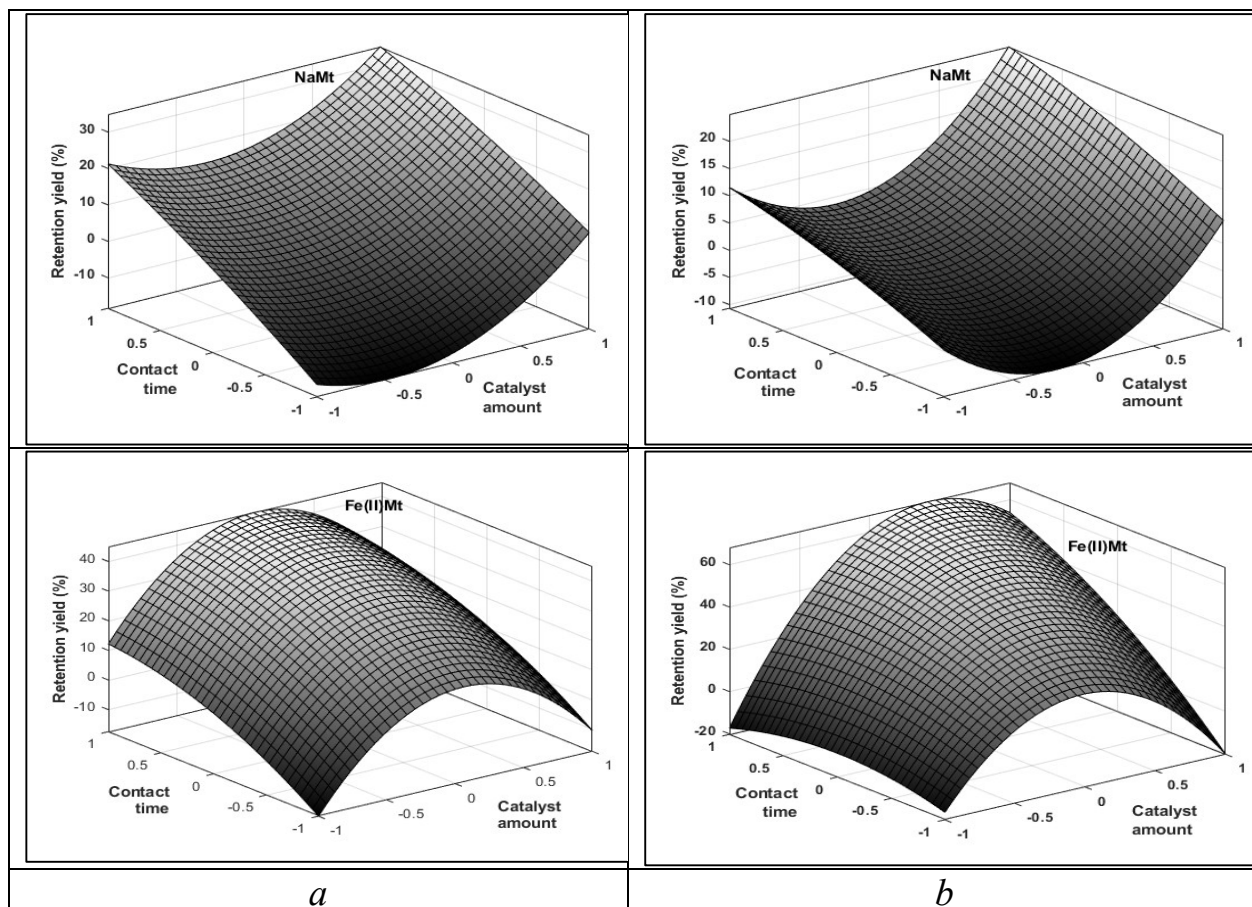


Fig. S4. Response surface of DAZ (a) and ATR (b) retention on NaMt (up) and Fe(II)Mt (down). Initial pesticide concentration = 10 mg. L^{-1} . The contact time and clay material amount are expressed in non-dimensional units in the range [-1,1].

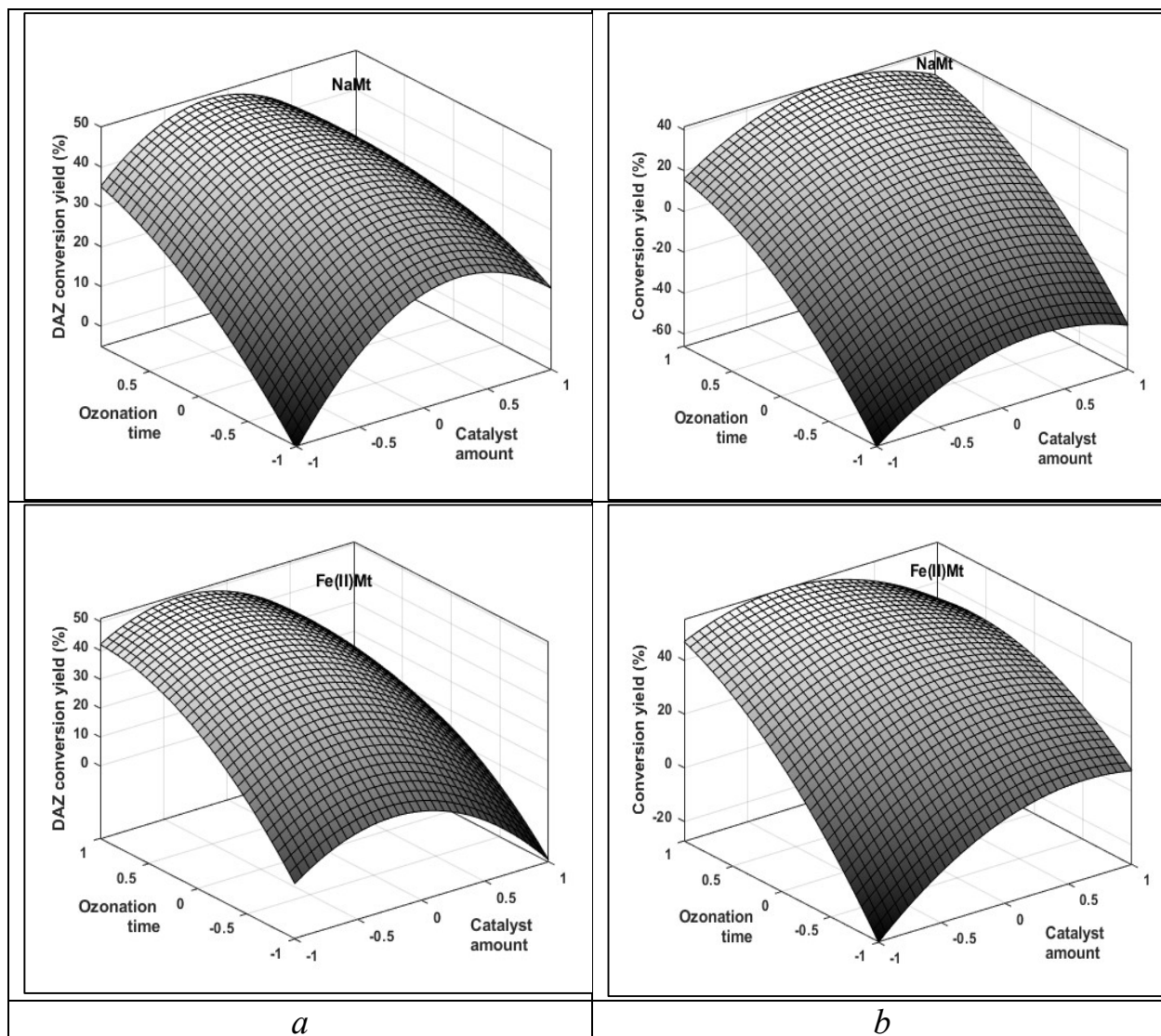


Fig. S5. Response surface of DAZ (a) and ATR (b) ozonation with NaMt (up) and Fe(II)Mt (down). Initial pesticide concentration = 10 mg. L⁻¹. The contact time and clay material amount are expressed in non-dimensional units in the range [-1,1].

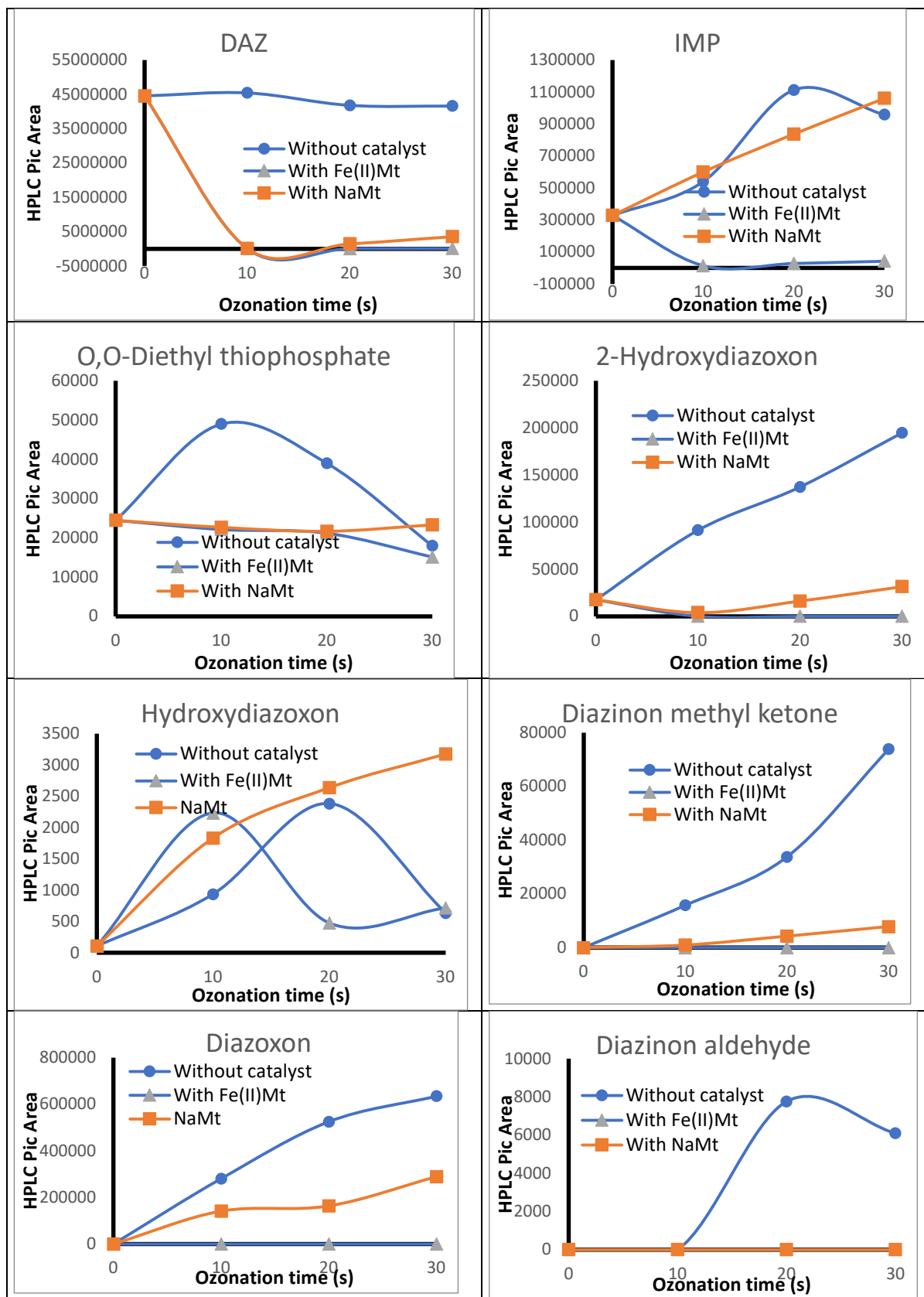


Fig S6. Evolution of the HPLC peak area of diazinon and its degradation products ozonation.

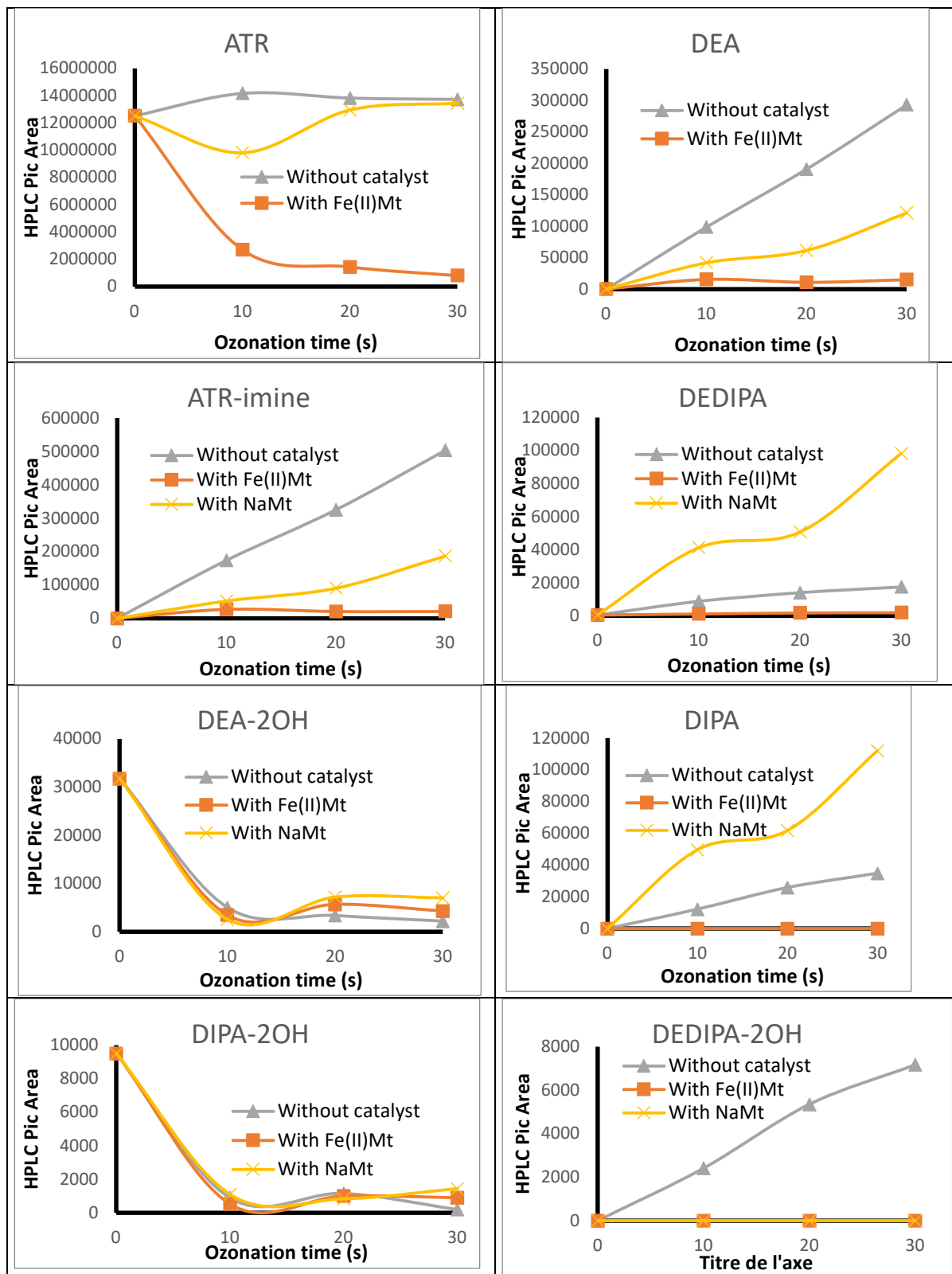


Fig S7. Evolution of the Area of atrazine and its degradation products during catalytic and non catalytic ozonation.

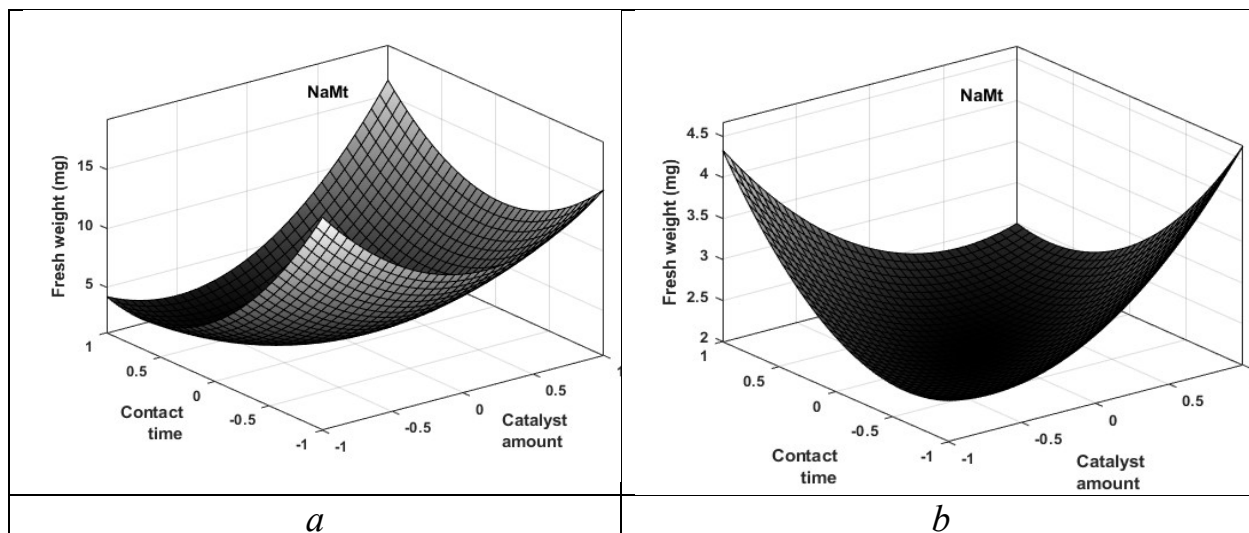


Fig. S8. Effect of DAZ (a) and ATR (b) adsorbed on NaMt on biomass fresh weight. Initial pesticide concentration = 10 mg. L⁻¹. For this test, *L. minor* was contacted for 7 days with DAZ and ATR adsorbed on NaMt previously obtained by varying the contact time and clay material amount in the range [-1,1].

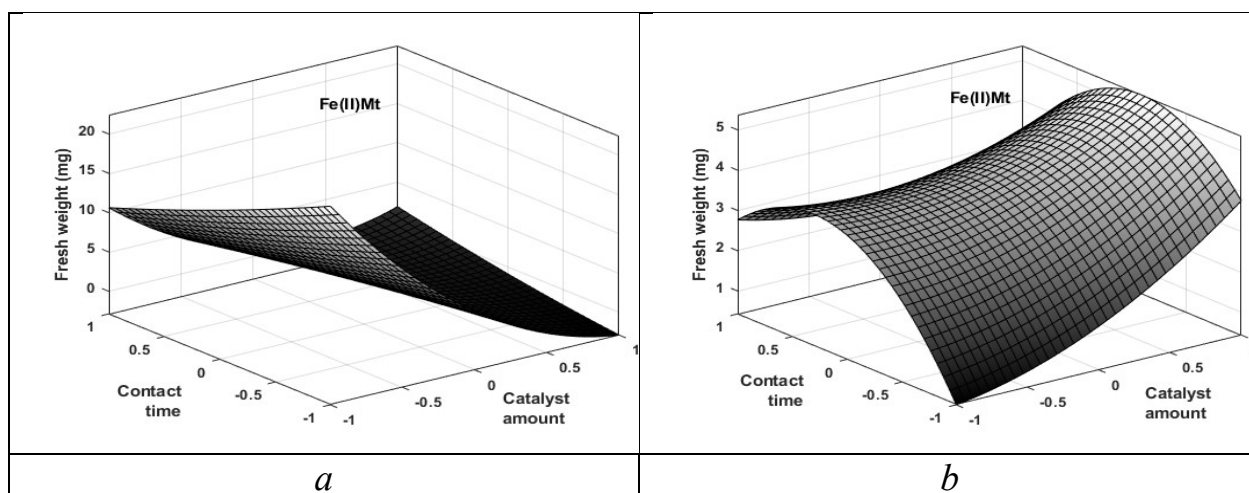


Fig. S9. Effect of DAZ (a) and ATR (b) adsorbed on Fe(II)Mt (down) on biomass fresh weight. Initial pesticide concentration = 10 mg. L⁻¹. For this test, *L. minor* was contacted for 7 days with DAZ and ATR adsorbed on NaMt previously obtained by varying the contact time and clay material amount in the range [-1,1].

ANNEXE C

SUPPORTING INFORMATION DE L'ARTICLE 3

LEMNA MINOR PLANT AS PRECISE INDICATOR FOR ACCURATE ECOTOXICITY
ASSESSMENT OF OXIDIZED DIAZINON AND ATRAZINE-CONTAINING WATERS

Amina Benghaffour, Abdelkrim Azzouz*, David Dewez*

Table S1. Swedish Standard *Lemna* growth medium (SIS).

Stock solution	Substance	Concentration (g dm ⁻³)		Composition of SIS medium	
		Stock solution	SIS medium	Chemical element	Concentration (mg dm ⁻³)
I	Na NO ₃	8.50	85	Na; N	32; 14
	KH ₂ PO ₄	1.34	13.4	K; P	6.0; 2.4
II	MgSO ₄ .7H ₂ O	15	75	Mg; S	7.4; 9.8
III	CaCl ₂ .2H ₂ O	7.2	36	Ca; Cl	9.8; 17.5
IV	Na ₂ CO ₃	4.00	20	C	2.3
V	H ₃ BO ₃	1.0	1.0	B	0.17
	MnCl ₂ .4H ₂ O	0.20	0.20	Mn	0.056
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.010	0.010	Mo	0.0040
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.050	0.050	Zn	0.011
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.0050	0.0050	Cu	0.0013
	Co(NO ₃).6H ₂ O	0.010	0.010	Co	0.0020
	VI	FeCl ₃ .6H ₂ O	0.17	0.84	Fe
VII	Na ₂ -EDTA.2H ₂ O	0.28	1.40	-	-
	MOPS (buffer)	490	490	-	-

To prepare 1 litre of SIS medium, the following volumes of the stock solutions I – VII were added to ca 900 mL of ultrapure water in a 1 L flask: 10 mL of solution I, 5 mL of solution II, 5 mL of solution III, 5 mL of solution IV, 1 mL of solution V, 5 mL of solution VI, 1 mL of solution VII. The pH was adjusted to 6.5 ± 0.2 with either 0.1 M HCl or 0.1 M NaOH. The volume was finally adjusted to 1 litre.

Analyses statistiques

Cette analyse a été conduit par le logiciel statistique GraphPad Prism (version 9.4.1). Les différences significatives entre le contrôle et les groupes traités ont été déterminées à l'aide d'une analyse de variance unidirectionnelle (ANOVA) et des tests de comparaisons multiples post hoc de Tukey. ANOVA est une méthode statistique utilisée pour comparer les moyennes entre deux ou plusieurs groupes afin de déterminer s'ils présentent des différences statistiquement significatives. Dans cette analyse, les différences étaient statistiquement significatives pour $p < 0,05$. Des triplicatas ont été réalisé pour chaque contrôle, concentration et condition de traitement.

1. ANOVA-Test of multiple comparison of *L. minor* growth inhibition for ATR exposed treatments based on frond number

ANOVA results		Multiple comparisons					
Ordinary one-way ANOVA		Multiple comparisons					
1	Number of families	1					
2	Number of comparisons per family	15					
3	Alpha	0.05					
4							
5	Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
6	Column A vs. Column B	-1.585	-30.51 to 27.34	No	ns	0.9999	A-B
7	Column A vs. Column C	-4.330	-33.25 to 24.59	No	ns	0.9874	A-C
8	Column A vs. Column D	-34.72	-63.64 to -5.793	Yes	*	0.0222	A-D
9	Column A vs. Column E	-90.17	-119.1 to -61.25	Yes	***	0.0001	A-E
10	Column A vs. Column F	-92.86	-121.8 to -63.93	Yes	***	0.0001	A-F
11	Column B vs. Column C	-2.745	-31.67 to 26.18	No	ns	0.9984	B-C
12	Column B vs. Column D	-33.13	-62.05 to -4.208	Yes	*	0.0276	B-D
13	Column B vs. Column E	-88.59	-117.5 to -59.66	Yes	***	0.0002	B-E
14	Column B vs. Column F	-91.27	-120.2 to -62.35	Yes	***	0.0001	B-F
15	Column C vs. Column D	-30.39	-59.31 to -1.463	Yes	*	0.0405	C-D
16	Column C vs. Column E	-85.84	-114.8 to -56.92	Yes	***	0.0002	C-E
17	Column C vs. Column F	-88.53	-117.4 to -59.60	Yes	***	0.0002	C-F
18	Column D vs. Column E	-55.46	-84.38 to -26.53	Yes	**	0.0021	D-E
19	Column D vs. Column F	-58.14	-87.06 to -29.22	Yes	**	0.0016	D-F
20	Column E vs. Column F	-2.685	-31.61 to 26.24	No	ns	0.9986	E-F
21							

Alphabets A, B, C, D, E and F represent control, 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 1 g. L⁻¹ respectively.

2. ANOVA-Test of multiple comparison of *L. minor* growth inhibition for DAZ exposed treatments based on frond number

ANOVA results		Multiple comparisons					
Ordinary one-way ANOVA Multiple comparisons							
1	Number of families	1					
2	Number of comparisons per family	15					
3	Alpha	0.05					
4							
5	Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
6	Column A vs. Column B	-26.28	-59.48 to 6.928	No	ns	0.1239	A-B
7	Column A vs. Column C	-30.20	-63.41 to 3.004	No	ns	0.0736	A-C
8	Column A vs. Column D	-28.36	-61.56 to 4.847	No	ns	0.0939	A-D
9	Column A vs. Column E	-33.46	-66.67 to -0.2568	Yes	*	0.0484	A-E
10	Column A vs. Column F	-41.42	-74.62 to -8.211	Yes	*	0.0186	A-F
11	Column B vs. Column C	-3.924	-37.13 to 29.28	No	ns	0.9956	B-C
12	Column B vs. Column D	-2.081	-35.29 to 31.12	No	ns	0.9998	B-D
13	Column B vs. Column E	-7.185	-40.39 to 26.02	No	ns	0.9433	B-E
14	Column B vs. Column F	-15.14	-48.34 to 18.07	No	ns	0.5191	B-F
15	Column C vs. Column D	1.843	-31.36 to 35.05	No	ns	0.9999	C-D
16	Column C vs. Column E	-3.261	-36.47 to 29.94	No	ns	0.9982	C-E
17	Column C vs. Column F	-11.21	-44.42 to 21.99	No	ns	0.7558	C-F
18	Column D vs. Column E	-5.104	-38.31 to 28.10	No	ns	0.9859	D-E
19	Column D vs. Column F	-13.06	-46.26 to 20.15	No	ns	0.6439	D-F
20	Column E vs. Column F	-7.954	-41.16 to 25.25	No	ns	0.9175	E-F
21							

Alphabets A, B, C, D, E and F represent control, 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 1 g. L⁻¹ respectively.

3. ANOVA-Test of multiple comparison of *L. minor* growth inhibition for ATR exposed treatments based on fresh weight

ANOVA results		Multiple comparisons					
Ordinary one-way ANOVA Multiple comparisons							
Number of families	1						
Number of comparisons per family	15						
Alpha	0.05						
Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value		
Column A vs. Column B	-2.811	-23.42 to 17.80	No	ns	0.9917	A-B	
Column A vs. Column C	-6.800	-27.41 to 13.81	No	ns	0.7710	A-C	
Column A vs. Column D	-49.26	-69.87 to -28.65	Yes	***	0.0006	A-D	
Column A vs. Column E	-87.16	-107.8 to -66.55	Yes	****	<0.0001	A-E	
Column A vs. Column F	-97.80	-118.4 to -77.19	Yes	****	<0.0001	A-F	
Column B vs. Column C	-3.989	-24.60 to 16.62	No	ns	0.9633	B-C	
Column B vs. Column D	-46.45	-67.06 to -25.84	Yes	***	0.0009	B-D	
Column B vs. Column E	-84.35	-105.0 to -63.74	Yes	****	<0.0001	B-E	
Column B vs. Column F	-94.99	-115.6 to -74.38	Yes	****	<0.0001	B-F	
Column C vs. Column D	-42.46	-63.07 to -21.85	Yes	**	0.0014	C-D	
Column C vs. Column E	-80.36	-101.0 to -59.75	Yes	****	<0.0001	C-E	
Column C vs. Column F	-91.00	-111.6 to -70.39	Yes	****	<0.0001	C-F	
Column D vs. Column E	-37.90	-58.51 to -17.29	Yes	**	0.0026	D-E	
Column D vs. Column F	-48.54	-69.15 to -27.93	Yes	***	0.0007	D-F	
Column E vs. Column F	-10.64	-31.25 to 9.970	No	ns	0.4110	E-F	

Alphabets A, B, C, D, E and F represent control, 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 1 g. L⁻¹ respectively.

4. ANOVA-Test of multiple comparison of *L. minor* growth inhibition for DAZ exposed treatments based on fresh weight

ANOVA results		Multiple comparisons					
Ordinary one-way ANOVA							
Multiple comparisons							
1	Number of families	1					
2	Number of comparisons per family	15					
3	Alpha	0.05					
4							
5	Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
6	Column A vs. Column B	-43.47	-87.87 to 0.9383	No	ns	0.0547	A-B
7	Column A vs. Column C	-47.92	-92.33 to -3.516	Yes	*	0.0360	A-C
8	Column A vs. Column D	-47.29	-91.70 to -2.887	Yes	*	0.0381	A-D
9	Column A vs. Column E	-52.18	-96.59 to -7.773	Yes	*	0.0245	A-E
10	Column A vs. Column F	-81.84	-126.2 to -37.43	Yes	**	0.0026	A-F
11	Column B vs. Column C	-4.455	-48.86 to 39.95	No	ns	0.9980	B-C
12	Column B vs. Column D	-3.825	-48.23 to 40.58	No	ns	0.9990	B-D
13	Column B vs. Column E	-8.711	-53.12 to 35.70	No	ns	0.9613	B-E
14	Column B vs. Column F	-38.37	-82.78 to 6.038	No	ns	0.0898	B-F
15	Column C vs. Column D	0.6294	-43.78 to 45.04	No	ns	>0.9999	C-D
16	Column C vs. Column E	-4.256	-48.66 to 40.15	No	ns	0.9984	C-E
17	Column C vs. Column F	-33.91	-78.32 to 10.49	No	ns	0.1402	C-F
18	Column D vs. Column E	-4.886	-49.29 to 39.52	No	ns	0.9969	D-E
19	Column D vs. Column F	-34.54	-78.95 to 9.863	No	ns	0.1316	D-F
20	Column E vs. Column F	-29.66	-74.06 to 14.75	No	ns	0.2150	E-F
21							

Alphabets A, B, C, D, E and F represent control, 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 1 g. L⁻¹ respectively.

5. ANOVA-Test of multiple comparison of *L. minor* Chlorophyll *a/b* for ATR exposed treatments

ANOVA results		Multiple comparisons					
Ordinary one-way ANOVA							
Multiple comparisons							
1	Number of families	1					
2	Number of comparisons per family	15					
3	Alpha	0.05					
4							
5	Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
6	Column A vs. Column B	0.2381	-0.5849 to 1.061	No	ns	0.8445	A-B
7	Column A vs. Column C	0.2413	-0.5817 to 1.064	No	ns	0.8379	A-C
8	Column A vs. Column D	0.3941	-0.4289 to 1.217	No	ns	0.4764	A-D
9	Column A vs. Column E	0.6237	-0.1993 to 1.447	No	ns	0.1440	A-E
10	Column A vs. Column F	0.7274	-0.09564 to 1.550	No	ns	0.0824	A-F
11	Column B vs. Column C	0.003207	-0.8198 to 0.8262	No	ns	>0.9999	B-C
12	Column B vs. Column D	0.1560	-0.6670 to 0.9789	No	ns	0.9663	B-D
13	Column B vs. Column E	0.3855	-0.4374 to 1.209	No	ns	0.4954	B-E
14	Column B vs. Column F	0.4893	-0.3337 to 1.312	No	ns	0.2964	B-F
15	Column C vs. Column D	0.1527	-0.6702 to 0.9757	No	ns	0.9690	C-D
16	Column C vs. Column E	0.3823	-0.4407 to 1.205	No	ns	0.5027	C-E
17	Column C vs. Column F	0.4860	-0.3369 to 1.309	No	ns	0.3014	C-F
18	Column D vs. Column E	0.2296	-0.5934 to 1.053	No	ns	0.8615	D-E
19	Column D vs. Column F	0.3333	-0.4897 to 1.156	No	ns	0.6200	D-F
20	Column E vs. Column F	0.1037	-0.7193 to 0.9267	No	ns	0.9942	E-F
21							

Alphabets A, B, C, D, E and F represent control, 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 1 g. L⁻¹ respectively.

6. ANOVA- Test of multiple comparison of *L. minor* Chlorophyll *a/b* for DAZ exposed treatments

ANOVA results		Multiple comparisons					
Ordinary one-way ANOVA Multiple comparisons							
1	Number of families	1					
2	Number of comparisons per family	15					
3	Alpha	0.05					
4							
5	Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
6	Column A vs. Column B	0.1703	-0.5014 to 0.8419	No	ns	0.8994	A-B
7	Column A vs. Column C	0.2446	-0.4271 to 0.9162	No	ns	0.7033	A-C
8	Column A vs. Column D	0.2929	-0.3787 to 0.9645	No	ns	0.5576	A-D
9	Column A vs. Column E	0.3030	-0.3687 to 0.9746	No	ns	0.5284	A-E
10	Column A vs. Column F	0.3142	-0.3575 to 0.9858	No	ns	0.4968	A-F
11	Column B vs. Column C	0.07430	-0.5973 to 0.7459	No	ns	0.9968	B-C
12	Column B vs. Column D	0.1227	-0.5490 to 0.7943	No	ns	0.9710	B-D
13	Column B vs. Column E	0.1327	-0.5389 to 0.8044	No	ns	0.9601	B-E
14	Column B vs. Column F	0.1439	-0.5277 to 0.8155	No	ns	0.9454	B-F
15	Column C vs. Column D	0.04835	-0.6233 to 0.7200	No	ns	0.9996	C-D
16	Column C vs. Column E	0.05841	-0.6132 to 0.7300	No	ns	0.9990	C-E
17	Column C vs. Column F	0.06960	-0.6020 to 0.7412	No	ns	0.9976	C-F
18	Column D vs. Column E	0.01006	-0.6616 to 0.6817	No	ns	>0.9999	D-E
19	Column D vs. Column F	0.02125	-0.6504 to 0.6929	No	ns	>0.9999	D-F
20	Column E vs. Column F	0.01120	-0.6604 to 0.6828	No	ns	>0.9999	E-F
21							

Alphabets A, B, C, D, E and F represent control, 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 1 g. L⁻¹ respectively.

7. ANOVA- Test of multiple comparison of *L. minor* ROS production for ATR exposed treatments

ANOVA results		Multiple comparisons					
Ordinary one-way ANOVA Multiple comparisons							
1	Number of families	1					
2	Number of comparisons per family	15					
3	Alpha	0.05					
4							
5	Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
6	Column A vs. Column B	-2.042	-46.66 to 42.58	No	ns	>0.9999	A-B
7	Column A vs. Column C	-18.52	-63.14 to 26.11	No	ns	0.5998	A-C
8	Column A vs. Column D	-16.97	-61.60 to 27.65	No	ns	0.6701	A-D
9	Column A vs. Column E	-13.84	-58.46 to 30.78	No	ns	0.8079	A-E
10	Column A vs. Column F	-45.92	-90.54 to -1.295	Yes	*	0.0443	A-F
11	Column B vs. Column C	-16.47	-61.10 to 28.15	No	ns	0.6929	B-C
12	Column B vs. Column D	-14.93	-59.55 to 29.69	No	ns	0.7618	B-D
13	Column B vs. Column E	-11.80	-56.42 to 32.82	No	ns	0.8838	B-E
14	Column B vs. Column F	-43.87	-88.50 to 0.7471	No	ns	0.0537	B-F
15	Column C vs. Column D	1.542	-43.08 to 46.16	No	ns	>0.9999	C-D
16	Column C vs. Column E	4.673	-39.95 to 49.29	No	ns	0.9975	C-E
17	Column C vs. Column F	-27.40	-72.02 to 17.22	No	ns	0.2723	C-F
18	Column D vs. Column E	3.132	-41.49 to 47.75	No	ns	0.9996	D-E
19	Column D vs. Column F	-28.94	-73.56 to 15.68	No	ns	0.2341	D-F
20	Column E vs. Column F	-32.07	-76.69 to 12.55	No	ns	0.1714	E-F
21							

Alphabets A, B, C, D, E and F represent control, 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 1 g. L⁻¹ respectively.

8. ANOVA- Test of multiple comparison of *L. minor* ROS production for DAZ exposed treatments

ANOVA results		Multiple comparisons					
Ordinary one-way ANOVA							
Multiple comparisons							
1	Number of families	1					
2	Number of comparisons per family	15					
3	Alpha	0.05					
4							
5	Tukey's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
6	Column A vs. Column B	-11.80	-41.90 to 18.29	No	ns	0.6460	A-B
7	Column A vs. Column C	13.17	-16.93 to 43.26	No	ns	0.5548	A-C
8	Column A vs. Column D	-13.95	-44.05 to 16.14	No	ns	0.5044	A-D
9	Column A vs. Column E	-32.35	-62.44 to -2.252	Yes	*	0.0366	A-E
10	Column A vs. Column F	-55.27	-85.37 to -25.18	Yes	**	0.0026	A-F
11	Column B vs. Column C	24.97	-5.122 to 55.06	No	ns	0.1045	B-C
12	Column B vs. Column D	-2.149	-32.24 to 27.94	No	ns	0.9996	B-D
13	Column B vs. Column E	-20.54	-50.63 to 9.552	No	ns	0.2014	B-E
14	Column B vs. Column F	-43.47	-73.56 to -13.38	Yes	**	0.0091	B-F
15	Column C vs. Column D	-27.12	-57.21 to 2.973	No	ns	0.0764	C-D
16	Column C vs. Column E	-45.51	-75.61 to -15.42	Yes	**	0.0072	C-E
17	Column C vs. Column F	-68.44	-98.53 to -38.35	Yes	***	0.0008	C-F
18	Column D vs. Column E	-18.39	-48.48 to 11.70	No	ns	0.2758	D-E
19	Column D vs. Column F	-41.32	-71.41 to -11.23	Yes	*	0.0117	D-F
20	Column E vs. Column F	-22.93	-53.02 to 7.164	No	ns	0.1413	E-F
21							

Alphabets A, B, C, D, E and F represent control, 0.001, 0.01, 0.1, 1 and 1 g. L⁻¹ respectively.

ANNEXE D

ARTICLE I PUBLIÉ DANS LE JOURNAL DALTON TRANSACTION

Dalton
Transactions



PAPER



Cite this: *Dalton Trans.*, 2022, **51**, 4366

Insight into natural medium remediation through ecotoxicity correlation with clay catalyst selectivity in organic molecule ozonation†

Amna Benghaffour,^a Eric-Noel Foka-Wembe,^a Maroua Dami,^a David Dewez^b and Abdelkrim Azzouz^b ^{✉,1,b}

The oxidative degradation of diazinon (DAZ) and diclofenac sodium (DCF) in aqueous media was comparatively investigated and correlated with the mortality of *Artemia salina* in the presence of clay catalysts. For this purpose, montmorillonites (Mt) exchanged with Na⁺ and Fe²⁺ cations (NaMt and Fe(Mt)), acid activated bentonites and hydrotalcite were used as clay catalysts. Surface interaction and adsorption on the clay surface were found to govern the catalyst dispersion in aqueous media and both activity and selectivity in ozonation. These catalysts' features were correlated with the ecotoxicity of ozonised reaction mixtures as expressed in terms of mortality rates of *Artemia salina*. DAZ and DCF display specific intrinsic ecotoxicity that evolves differently during ozonation according to the catalyst. The ecotoxicity was found to strongly depend on the distribution of the ozonation intermediates, which, in turn, was narrowly correlated with the acid–base properties of the catalyst surface. These valuable findings allow the prediction of the behaviour of the clay-containing media in natural remediation.

Received 17th December 2021,
Accepted 2nd February 2022

DOI: 10.1039/d1dt04258f

sc.li/dalton

1. Introduction

Ecotoxicity due to organic molecule release and unavoidable oxidation in waters and soils still remains a major challenge to be addressed. Unless there is total mineralization, the natural partial oxidation of organic molecules is an unavoidable process that may generate harmful and persistent intermediates.^{1,2} The concept is that clay-containing media promote oxidative processes, given that clay catalysts already turned out to be quite effective in organic pollutant removal.^{3–8} Clay type and content in soils and turbid waters are expected to induce different eco-toxicities according to the features of the organic substrates. These features are expected to strongly influence the substrate–clay and clay–clay interactions through pH, zeta potential, particle size and subsequently catalyst dispersion in aqueous media. The extent and acid–base character of the accessible clay surface should govern not only the catalytic activity but also the intermediate distribution and subsequently the eco-toxicity. That is why the present work was undertaken.

The strategy resides in using ozone for “mimicking” and accelerating natural oxidative conditions on two organic molecules. The oxidative degradation of an organophosphorus pesticide (diazinon or DAZ)⁹ and a nonsteroidal anti-inflammatory drug (Na⁺-diclofenac or DCF) was herein comparatively investigated. The special interest devoted to these two molecules is justified by their different intrinsic properties that are expected to induce opposite eco-toxicity,^{10–14} when released in nature.^{15–17} DAZ displays intrinsic toxicity to animals, humans and aquatic organisms.^{18,19} DCF derived from phenylacetic acid is supposed to be a harmless drug for humans²⁰ but was found to be toxic to fish, daphnia and green algae.²¹ So far, some attempts to eliminate these organic pollutants involved photo-degradation,^{22,23} electrochemical degradation,^{24,25} biodegradation^{26–28} and ozonation.^{29,30} Total mineralization turned out to be fairly difficult to achieve, resulting in the unavoidable formation of persistent derivatives with more or less ecotoxicity.^{31,32}

Ozone is assumed to generate at least some reactive oxidizing species (ROS) similar to those produced by oxygen under sun-exposed turbid waters and soils, and can easily be generated by convenient techniques.³³ The use of ozone is regarded as a judicious approach for achieving nearly similar but accelerated oxidation conditions for understanding the behaviour of clay-based soils towards persistent by-products and ecotoxicity.^{34,35}

Clay-catalysed ozonation was already found to contribute in overcoming the low solubility and short lifetime of ozone in

^aNanogram, Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal, QC, Canada H3C 3J9. E-mail: azzouz.aj@unqum.ca; Fax: +1 514 987 4054; Tel: +1 514 987 3000 Ext. 4119

^bÉcole de Technologie Supérieure, Montréal, Québec, H3C 1 K3, Canada

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/d1dt04258f

ANNEXE E

ARTICLE 2 PUBLIÉ DANS LE JOURNAL APPLIED CLAY SCIENCE

Applied Clay Science 241 (2023) 107001



Contents lists available at ScienceDirect

Applied Clay Science

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clay



Research Paper

Correlation of pesticide ecotoxicity with clay mineral dispersion effect on adsorption and ozonation – An approach through impact assessment on *Lemna minor*

Amina Benghaffour^a, David Dewez^{a,**}, Abdelkrim Azzouz^{a,b,*}

^a Nanoqam, Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal, QC H3C 3P8, Canada

^b École de Technologie Supérieure, Montréal, Québec H3C 1K3, Canada



ARTICLE INFO

Keywords:
Diazinon
Atrazine
Lemna minor
Adsorption
Ozonation
Montmorillonite

ABSTRACT

An unprecedented approach allowed correlating the pesticide fate in clay-containing media under air exposure with their ecotoxicity. This constitutes the novelty of this work and involves the study of the toxicity of ozonized pesticide-containing waters towards an aquatic plant, *Lemna minor*. The behavior of diazinon (DAZ) and atrazine (ATR) in natural clay-containing media was simulated in plant growth media fulfilling the Swedish Institute for Standards (SIS) containing Na⁺ and Fe²⁺-exchanged montmorillonite (Mt). The exchangeable cation was found to influence the pesticide ozonation and toxicity towards *Lemna minor*. Pesticide interactions appear to promote high catalytic surface through a compromise between low pH and high Mt dispersion. These results provide valuable findings for predicting pesticide ecotoxicity according to their natural oxidative degradation in the host clay suspension.

1. Introduction

Pesticides are used for agriculture productivity but often at the expense of food quality and environmental considerations. Pesticides negatively impact the very behavior of soils and biodiversity with unavoidable aftermaths on surface and ground waters (Colović et al., 2010; Velioğlu et al., 2018). Prolonged exposure to pesticides or their ingestion was already found to be harmful to human health. Pesticide release in nature unavoidably leads to natural oxidation processes that can generate even more hazardous derivatives inducing an additional ecotoxicity to that of the very pesticide. A comparative study of the role of the molecular structures of two widely used pesticides (Table S1), namely Diazinon (DAZ, C₁₂H₂₁N₂O₃PS) and Atrazine (ATR, C₈H₁₄ClN₅) is expected to provide valuable data in this regard.

DAZ is a non-selective organophosphorus insecticide with a molecular structure bearing a thiophosphoryl group that blocks the central nervous system of insects (Abdelhameed et al., 2022) with a toxicity dose to aquatic organisms of 350 ng/L, a lethal dose for humans of approximately 90–444 mg/kg and a maximum acceptable dose of 1 ppm (Azzouz et al., 2021). This pesticide is known to inhibit the acetylcholinesterase activity (AChE) (Fulton and Key, 2001). In spite of its low

solubility, DAZ can spread to larger aquatic areas (Phuong et al., 2019), displaying toxicities with LC-50 (96 h) of 5–90 µg/L according to the living species (Eisler, 1986). ATR, an agricultural herbicide (Palma et al., 2008), displays a relatively high stability in soils and waters that explains its persistence in surface and ground waters (Kovaios et al., 2006). ATR acts by hindering the electron transfer at the reducing site of the photosystem II in the thylakoids of chloroplasts (Cooper et al., 2007).

The pesticide impacts on aquatic biodiversity can be assessed by using adequate models of plants such as *Lemna minor* due to its sensitivity in the evaluation of potential risks of toxicity in aquatic media which are usually first contaminated by organic pollutants. This plant usually grows at water surfaces with temperatures of 6–33 °C and pH of 5.0–9.9 (Pala et al., 2019). This pH range is suitable for enhancing organic pollutant oxidation into more or less harmful derivatives, more particularly in the presence of clay suspensions, thereby inducing toxicity fluctuations in time.

As long as the use of pesticides is regarded as a necessary inconvenience, interest still remains focused on approaches targeting their elimination from aqueous effluents by different methods (Azzouz et al., 2021; Stoytcheva, 2011). The latter includes pesticide photodegradation

* Corresponding author at: Nanoqam, Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal, QC H3C 3P8, Canada.

** Corresponding author.

E-mail addresses: dewez.david@uqam.ca (D. Dewez), azzouz.a@uqam.ca (A. Azzouz).

<https://doi.org/10.1016/j.clay.2023.107001>

Received 13 March 2023; Received in revised form 18 May 2023; Accepted 19 May 2023

Available online 29 May 2023

0169-1317/© 2023 Elsevier B.V. All rights reserved.



Article

Ecotoxicity of Diazinon and Atrazine Mixtures after Ozonation Catalyzed by Na⁺ and Fe²⁺ Exchanged Montmorillonites on *Lemna minor*

Amina Benghaffour ¹, Abdelkrim Azzouz ^{1,2,*} and David Dewez ^{1,*}¹ NanoQAM, Department of Chemistry, University of Quebec at Montreal, Montreal, QC H3C 3P8, Canada² École de Technologie Supérieure, Montreal, QC H3C 1K3, Canada

* Correspondence: azzouz.a@uqam.ca (A.A.); dewez.david@uqam.ca (D.D.);

Tel.: +1-514-987-3000 (ext. 4119) (A.A.); +1-514-987-3000 (ext. 3278) (D.D.);

Fax: +1-514-987-4054 (A.A. & D.D.)

Abstract: The toxicity of two pesticides, diazinon (DAZ) and atrazine (ATR), before and after montmorillonite-catalyzed ozonation was comparatively investigated on the duckweed *Lemna minor*. The results allowed demonstrating the role of clay-containing media in the evolution in time of pesticide negative impact on *L. minor* plants. Pesticides conversion exceeded 94% after 30 min of ozonation in the presence of both Na⁺ and Fe²⁺ exchanged montmorillonites. Toxicity testing using *L. minor* permitted us to evaluate the change in pesticide ecotoxicity. The plant growth inhibition involved excessive oxidative stress depending on the pesticide concentration, molecular structure, and degradation degree. Pesticide adsorption and/or conversion by ozonation on clay surfaces significantly reduced the toxicity towards *L. minor* plants, more particularly in the presence of Fe(II)-exchanged montmorillonite. The results showed a strong correlation between the pesticide toxicity towards *L. minor* and the level of reactive oxygen species, which was found to depend on the catalytic activity of the clay minerals, pesticide exposure time to ozone, and formation of harmful derivatives. These findings open promising prospects for developing a method to monitor pesticide ecotoxicity according to clay-containing host-media and exposure time to ambient factors.

Keywords: diazinon; atrazine; adsorption; ozonation; *Lemna minor*; toxicity



Citation: Benghaffour, A.; Azzouz, A.; Dewez, D. Ecotoxicity of Diazinon and Atrazine Mixtures after Ozonation Catalyzed by Na⁺ and Fe²⁺ Exchanged Montmorillonites on *Lemna minor*. *Molecules* **2023**, *28*, 6108. <https://doi.org/10.3390/molecules28166108>

Academic Editors: Malgorzata Wiśniewska and Piotr Nowicki

Received: 9 July 2023

Revised: 15 August 2023

Accepted: 15 August 2023

Published: 17 August 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Pesticides are organic compounds used for pest control purposes and classified into several groups depending on the pest organisms targeted. Pesticides are hardly (bio)degradable, and their presence has been significantly increased in freshwater environment due to agricultural runoffs contaminated by pesticide wastes. The use of pesticides has detrimental effects on freshwater reservoirs serving as drinking water, and it has become a major environmental and public health issue. In natural ecosystems, non-target aquatic organisms can accumulate pesticide doses causing toxicity impacts on major cell physiological processes (e.g., photosynthesis, respiration, enzymatic activities, macromolecules biosynthesis), leading to growth inhibition and eventuality death [1–3].

Among extensively used pesticides contaminating surface freshwaters, diazinon (DAZ) and atrazine (ATR) are well known as being hazardous compounds acting via different toxicity mechanisms. DAZ is a neurotoxic organophosphorus insecticide inhibiting the acetylcholinesterase activity, and ATR is an herbicide hindering the photosynthetic electron transport and the growth of plants [4–6]. Any attempt to preserve the freshwater quality unavoidably would induce the degradation of these pesticides into derivatives exhibiting chemical and toxicological properties [7,8]. The latter needs to be investigated for water remediation technologies and toxicity risk assessment.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abas, K. (2021). Optimisation des marais filtrants pour l'abatement du pesticide chlorantraniliprole du ruissellement agricole.
- Abd El-Raady, A. A., Nakajima, T. et Kimchhayarasy, P. (2005). Catalytic ozonation of citric acid by metallic ions in aqueous solution. *Ozone: science and engineering*, 27(6), 495-498.
- Acerro, J. L., Stemmler, K. et Von Gunten, U. (2000). Degradation kinetics of atrazine and its degradation products with ozone and OH radicals: a predictive tool for drinking water treatment. *Environmental Science & Technology*, 34(4), 591-597.
- Acuña, V., Ginebreda, A., Mor, J., Petrovic, M., Sabater, S., Sumpter, J. et Barceló, D. (2015). Balancing the health benefits and environmental risks of pharmaceuticals: Diclofenac as an example. *Environment International*, 85, 327-333.
- Adams, C. D. et Randtke, S. J. (1992). Ozonation byproducts of atrazine in synthetic and natural waters. *Environmental Science & Technology*, 26(11), 2218-2227.
- Agency, U. E. P. (2006). *Reregistration eligibility decision (RED) diazinon* : US EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances Washington, DC.
- Aggarwal, V., Deng, X., Tuli, A. et Goh, K. S. (2013). Diazinon—chemistry and environmental fate: a California perspective. *Reviews of environmental contamination and toxicology Volume 223*, 107-140.
- Ahmad, A., Tan, L. et Shukor, S. A. (2008). Dimethoate and atrazine retention from aqueous solution by nanofiltration membranes. *Journal of Hazardous Materials*, 151(1), 71-77.
- Alharbi, O. M., Khattab, R. A. et Ali, I. (2018). Health and environmental effects of persistent organic pollutants. *Journal of Molecular Liquids*, 263, 442-453.
- Alla, M. N. et Hassan, N. (2006). Changes of antioxidants levels in two maize lines following atrazine treatments. *Plant physiology and biochemistry*, 44(4), 202-210.
- Alvares, A., Diaper, C. et Parsons, S. (2001). Partial oxidation by ozone to remove recalcitrance from wastewaters—a review. *Environmental Technology*, 22(4), 409-427.
- Ameh, E. (2019). A review of basic crystallography and x-ray diffraction applications. *The international journal of advanced manufacturing technology*, 105, 3289-3302.
- Amiruddin, A. (2013). Photodegradation Of Diazinon Pesticide In Suspension Of TiO₂. *Jurnal ILMU DASAR*, 14(1), 23-28.
- Appelgren, B. (1994). *Agricultural and environmental legislation—Lithuania*.
- Arulvasu, C., Jennifer, S. M., Prabhu, D. et Chandhirasekar, D. (2014). Toxicity effect of silver nanoparticles in brine shrimp *Artemia*. *The Scientific World Journal*, 2014.
- Arus, V. A., Nousir, S., Sennour, R., Shiao, T. C., Nistor, I. D., Roy, R. et Azzouz, A. (2018). Intrinsic affinity of acid-activated bentonite towards hydrogen and carbon dioxide. *international journal of hydrogen energy*, 43(16), 7964-7972.
- Asgari, G., Seidmohammadi, A., Esrafil, A., Faradmal, J., Noori Sepehr, M. et Jafarina, M. (2020). The catalytic ozonation of diazinon using nano-MgO@CNT@Gr as a new heterogenous catalyst: the optimization of effective factors by response surface methodology [10.1039/C9RA10095D]. *RSC Advances*, 10(13), 7718-7731. <https://doi.org/10.1039/C9RA10095D>
- Assaad, E. (2006). *Étude du processus de coagulation-floculation du système montmorillonite-chitosane dans l'élimination de métaux de transition* Université du Québec à Montréal].
- Assaad, E., Azzouz, A., Nistor, D., Ursu, A. V., Sajin, T., Miron, D. N., Monette, F., Niquette, P. et Hausler, R. (2007). Metal removal through synergic coagulation–floculation using an optimized chitosan–montmorillonite system. *Applied clay science*, 37(3-4), 258-274. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2007.02.007>

- Aydın, R. et Köprücü, K. (2005). Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Pesticide biochemistry and physiology*, 82(3), 220-225.
- Ayoubi-Feiz, B., Mashhadizadeh, M. H. et Sheydaei, M. (2019). Degradation of diazinon by new hybrid nanocomposites N-TiO₂/Graphene/Au and N-TiO₂/Graphene/Ag using visible light photo-electro catalysis and photo-electro catalytic ozonation: Optimization and comparative study by Taguchi method. *Separation and purification Technology*, 211, 704-714.
- Azzouz, A. (2012). Advances in oxidative decomposition of oxalic acid in aqueous media. *Advances in chemistry research*, 14, 1-31.
- Azzouz, A., Arus, V. A., Platon, N. et Nistor, I. D. (2016). Lactic Acid Retention by CO₃-Mg-Al Layered Double Hydroxides for Improved Milk Clotting An approach through acidity measurements. *REVISTA DE CHIMIE*, 67(7), 1348-1355.
- Azzouz, A., Hausler, R. et El-Akhrass, M. (2021). Pesticides and removal approaches. Dans *Sorbents Materials for Controlling Environmental Pollution* (p. 435-462). Elsevier.
- Azzouz, A., Kotbi, A., Niquette, P., Sajin, T., Ursu, A., Rami, A., Monette, F. et Hausler, R. (2010, 2010/04/01). Ozonation of oxalic acid catalyzed by ion-exchanged montmorillonite in moderately acidic media. *Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis*, 99(2), 289-302. <https://doi.org/10.1007/s11144-010-0147-5>
- Azzouz A., Mirilă D., Nistor I.D., Boudissa F. et Roy R. (dir.). (2019). *Chapter 1: Advances in the Oxidative Degradation of Organic Pollutants: Prospects for Catalyzed Oxidation Processes Targeting Total Mineralization* (Nova Science Publishers éd., vol. 49) [Chapter]. Nova Science Publishers. <https://novapublishers.com/shop/advances-in-chemistry-research-volume-49/>.
- Babick, F. (2020). Dynamic light scattering (DLS). Dans *Characterization of Nanoparticles* (p. 137-172). Elsevier.
- Babu, T. S., Akhtar, T. A., Lampi, M. A., Tripuranthakam, S., Dixon, D. G. et Greenberg, B. M. (2003). Similar stress responses are elicited by copper and ultraviolet radiation in the aquatic plant *Lemna gibba*: implication of reactive oxygen species as common signals. *Plant and Cell Physiology*, 44(12), 1320-1329.
- Bahranowski, K., Gašior, M., Kielski, A., Podobiński, J., Serwicka, E., Vartikian, L. et Wodnicka, K. (1999). Copper-doped alumina-pillared montmorillonites as catalysts for oxidation of toluene and xylenes with hydrogen peroxide. *Clay Minerals*, 34(1), 79-87.
- Bailey, G. W. et White, J. L. (1970). Factors influencing the adsorption, desorption, and movement of pesticides in soil. *Single Pesticide Volume: The Triazine Herbicides*, 29-92.
- Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual review of plant biology*, 59, 89.
- Banasiak, L. J., Van der Bruggen, B. et Schäfer, A. I. (2011). Sorption of pesticide endosulfan by electro dialysis membranes. *Chemical Engineering Journal*, 166(1), 233-239.
- Barbusiński, K. et Filipek, K. (2001). Use of Fenton's reagent for removal of pesticides from industrial wastewater. *Polish Journal of Environmental Studies*, 10(4), 207-212.
- Barcellos, P. S., Araújo, T. M., Gomes, G., Bila, D. M. et Canela, M. C. (2022). The fate of atrazine in tropical environments: photolysis, acute toxicity and endocrine disruptor potential. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 33, 927-937.
- Barrault, J., Bouchoule, C., Tatibouët, J.-M., Abdellaoui, M., Majesté, A., Louloudi, I., Papayannakos, N. et Gangas, N. (2000). Catalytic wet peroxide oxidation over mixed (Al-Fe) pillared clays. Dans *Studies in surface science and catalysis* (vol. 130, p. 749-754). Elsevier.
- Barriuso, E. et Calvet, R. (1992). Soil type and herbicides adsorption. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 46(1-3), 117-128.
- Barriuso, E., Laird, D., Koskinen, W. et Dowdy, R. (1994). Atrazine desorption from smectites. *Soil Science Society of America Journal*, 58(6), 1632-1638.

- Barthel, W., Murphy, R., Mitchell, W. et Corley, C. (1960). Insecticide Residue Studies, The Fate of Heptachlor in the Soil Following Granular Application to the Surface. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 8(6), 445-447.
- Bartošová, A., Sirotiak, M. et Fiala, J. (2015). Comprehensive study of duckweed cultivation and growth conditions under controlled eutrophication. *Research Papers Faculty of Materials Science and Technology Slovak University of Technology*, 23(36), 103-107.
- Beltrán, F. J., Aguinaco, A. et García-Araya, J. F. (2010). Kinetic modelling of TOC removal in the photocatalytic ozonation of diclofenac aqueous solutions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 100(1-2), 289-298.
- Beltrán, F. J., Rivas, F. J. et Montero-de-Espinosa, R. (2003). Ozone-enhanced oxidation of oxalic acid in water with cobalt catalysts. 1. Homogeneous catalytic ozonation. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 42(14), 3210-3217.
- Beltrán, F. J., Rivas, F. J. et Montero-de-Espinosa, R. (2005). Iron type catalysts for the ozonation of oxalic acid in water. *Water research*, 39(15), 3553-3564.
- Benghaffour, A., Azzouz, A. et Dewez, D. (2023). Ecotoxicity of Diazinon and Atrazine Mixtures after Ozonation Catalyzed by Na⁺ and Fe²⁺ Exchanged Montmorillonites on Lemna minor. *Molecules*, 28(16), 6108.
- Benghaffour, A., Dewez, D. et Azzouz, A. (2023). Correlation of pesticide ecotoxicity with clay mineral dispersion effect on adsorption and ozonation—An approach through impact assessment on Lemna minor. *Applied Clay Science*, 241, 107001.
- Benghaffour, A., Foka-Wembe, E.-N., Dami, M., Dewez, D. et Azzouz, A. (2022). Insight into natural medium remediation through ecotoxicity correlation with clay catalyst selectivity in organic molecule ozonation. *Dalton Transactions*, 51(11), 4366-4376.
- Benitez, F. J., Acero, J. L., Real, F. J., Roldan, G. et Rodriguez, E. (2013). Photolysis of model emerging contaminants in ultra-pure water: kinetics, by-products formation and degradation pathways. *Water research*, 47(2), 870-880.
- Bergaya, F. et Lagaly, G. (2006). General introduction: clays, clay minerals, and clay science. *Developments in clay science*, 1, 1-18.
- Berger, D. D., Sindelar Jr, C. R. et Gamble, K. (1969). The status of breeding peregrines in the eastern United States. *Peregrine Falcon Populations: Their Biology and Decline*. University of Wisconsin Press. Madison, Wisconsin, 165-173.
- Bérubé, R., Sanderson, J. T. et Langlois, V. S. (2019). Mémoire sur l'impact des pesticides dans l'environnement au Québec.
- Bianchi, C. L., Pirola, C., Ragaini, V. et Selli, E. (2006). Mechanism and efficiency of atrazine degradation under combined oxidation processes. *Applied Catalysis B: Environmental*, 64(1-2), 131-138.
- Bodo, R., Ahmanache, K., Hausler, R. et Azzouz, A. (2004). Optimized extraction of total proteic mass from water hyacinth dry leaves. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 3(6), 529-536.
- Bolaji, B. et Huan, Z. (2013). Ozone depletion and global warming: Case for the use of natural refrigerant—a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 18, 49-54.
- Boudissa, F. (2019). Acid-treated clay catalysts for organic dye ozonation—Thorough mineralization through optimum catalyst basicity and hydrophilic character. *Journal of Hazardous Materials*, 364, 356.
- Boudissa, F., Mirilà, D., Arus, A.-V., Terkmani, T., Semaan, S., Proulx, M., Nistor, I.-D., Roy, R. et Azzouz, A. (2018, 2018/10/06/). Acid-treated clay catalysts for organic dye ozonation – Thorough mineralization through optimum catalyst basicity and hydrophilic character. *Journal of Hazardous Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.09.070>
- Boudissa, F., Mirilà, D., Arus, V.-A., Terkmani, T., Semaan, S., Proulx, M., Nistor, I.-D., Roy, R. et Azzouz, A. (2019a). Acid-treated clay catalysts for organic dye ozonation—Thorough mineralization through optimum catalyst basicity and hydrophilic character. *Journal of Hazardous Materials*, 364, 356-366.

- Boudissa, F., Mirilà, D., Arus, V.-A., Terkmani, T., Semaan, S., Proulx, M., Nistor, I.-D., Roy, R. et Azzouz, A. (2019b, 2019/02/15/). Acid-treated clay catalysts for organic dye ozonation – Thorough mineralization through optimum catalyst basicity and hydrophilic character. *Journal of Hazardous Materials*, 364, 356-366. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.09.070>
- Boudissa, F., Zekkari, M., Arus, V.-A., Ouargli-Saker, R., Nabil, B., Roy, R. et Azzouz, A. (2020a). Clay-catalyzed ozonation of endocrine-disrupting compounds in solvent-free media—to better understand soil catalytic capacity. *Dalton Transactions*, 49(46), 16693-16706.
- Boudissa, F., Zekkari, M., Arus, V.-A., Ouargli-Saker, R., Nabil, B., Roy, R. et Azzouz, A. (2020b). Clay-catalyzed ozonation of endocrine-disrupting compounds in solvent-free media – to better understand soil catalytic capacity [10.1039/D0DT02776F]. *Dalton Transactions*. <https://doi.org/10.1039/D0DT02776F>
- Boudissa, F., Zekkari, M., Arus, V. A., Ouargli-Saker, R., Nabil, B., Roy, R. et Azzouz, A. (2020, Dec 8). Clay-catalyzed ozonation of endocrine-disrupting compounds in solvent-free media - to better understand soil catalytic capacity [10.1039/D0DT02776F]. *Dalton Trans*, 49(46), 16693-16706. <https://doi.org/10.1039/d0dt02776f>
- Bouhafs, L. (2018). *Impact de la toxicité prénatale de l'endosulfan sur la ratte Wistar et sa progéniture: Effet protecteur des Lactobacillus plantarum BJ0021*
- Brain, R. A., Hosmer, A. J., Desjardins, D., Kendall, T. Z., Krueger, H. O. et Wall, S. B. (2012). Recovery of duckweed from time - varying exposure to atrazine. *Environmental toxicology and chemistry*, 31(5), 1121-1128.
- Briceño, G., Palma, G. et Durán, N. (2007). Influence of organic amendment on the biodegradation and movement of pesticides. *Critical reviews in environmental science and technology*, 37(3), 233-271.
- Brillas, E., Sirés, I. et Oturan, M. A. (2009). Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. *Chemical reviews*, 109(12), 6570-6631.
- Brooke, L. (1993). *Acute and Chronic Toxicity of Several Pesticides to Five Species of Aquatic Organisms*.
- Bruggeman, E., Baeza-Mesa, M., Bossuyt, E. et Sorgeloos, P. (1979). Improvements in the decapsulation of *Artemia* cysts. *Special Publication European Mariculture Society*.
- Burrows, H. D., Santaballa, J. et Steenken, S. (2002). Reaction pathways and mechanisms of photodegradation of pesticides. *Journal of photochemistry and photobiology B: Biology*, 67(2), 71-108.
- Bustos-Obregon, E. et Vargas, Á. (2010). Chronic toxicity bioassay with populations of the crustacean *Artemia salina* exposed to the organophosphate diazinon. *Biological research*, 43(3), 357-362.
- Cáceres, T., Megharaj, M. et Naidu, R. (2008). Toxicity and transformation of fenamiphos and its metabolites by two micro algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorococcum* sp. *Science of The Total Environment*, 398(1-3), 53-59.
- Cade, T. J., Lincer, J. L., White, C. M., Roseneau, D. G. et Swartz, L. (1971). DDE residues and eggshell changes in Alaskan falcons and hawks. *Science*, 172(3986), 955-957.
- Cai, X., Ye, J., Sheng, G. et Liu, W. (2009). Time-dependent degradation and toxicity of diclofop-methyl in algal suspensions: emerging contaminants. *Environmental Science and Pollution Research*, 16, 459-465.
- Calderón-Preciado, D., Matamoros, V. et Bayona, J. M. (2011). Occurrence and potential crop uptake of emerging contaminants and related compounds in an agricultural irrigation network. *Science of The Total Environment*, 412, 14-19.
- Calza, P., Sakkas, V. A., Medana, C., Baiocchi, C., Dimou, A., Pelizzetti, E. et Albanis, T. (2006, 2006/10/05/). Photocatalytic degradation study of diclofenac over aqueous TiO₂ suspensions. *Applied Catalysis B: Environmental*, 67(3), 197-205. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2006.04.021>
- Canuel, É. (2017). Effet de la salinité et de l'EDTA sur la toxicité des nanoparticules de magnétite et d'oxyde de cuivre chez *Artemia salina*, *Chlamydomonas reinhardtii* et *Chlamydomonas euryale*.

- Caruso, F., Mantellato, S., Palacios, M. et Flatt, R. J. (2017). ICP-OES method for the characterization of cement pore solutions and their modification by polycarboxylate-based superplasticizers. *Cement and Concrete Research*, 91, 52-60.
- Cascone, A., Forni, C. et Migliore, L. (2004). Flumequine uptake and the aquatic duckweed, *Lemna minor* L. *Water, Air, and Soil Pollution*, 156(1), 241-249.
- Casida, J. E. (2009). Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. *Chemical research in toxicology*, 22(4), 609-619.
- Cea, M., Seaman, J., Jara, A. A., Fuentes, B., Mora, M. et Diez, M. (2007). Adsorption behavior of 2, 4-dichlorophenol and pentachlorophenol in an Allophanic soil. *Chemosphere*, 67(7), 1354-1360.
- Cerniglia, C. E., Sutherland, J. B. et Crow, S. A. (1992). Fungal metabolism of aromatic hydrocarbons. *Microbial degradation of natural products.*, 193-217.
- Charles, B. et Fredeen, K. J. (1997). Concepts, instrumentation and techniques in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Perkin Elmer Corp*, 3(2).
- Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodrigues, M. L., Ricardo, C. P. P., Osório, M. L., Carvalho, I., Faria, T. et Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field? Photosynthesis and growth. *Annals of botany*, 89(7), 907-916.
- Chen, D., Shen, Y., Wang, S., Chen, X., Cao, X., Wang, Z. et Li, Y. (2021). Efficient removal of various coexisting organic pollutants in water based on β -cyclodextrin polymer modified flower-like Fe₃O₄ particles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 589, 217-228.
- Coelho, A. D., Sans, C., Agüera, A., Gómez, M. J., Esplugas, S. et Dezotti, M. (2009, 2009/05/15/). Effects of ozone pre-treatment on diclofenac: Intermediates, biodegradability and toxicity assessment. *Science of The Total Environment*, 407(11), 3572-3578. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.01.013>
- Colovic, M., Krstic, D., Petrovic, S., Leskovac, A., Joksic, G., Savic, J., Franko, M., Trebse, P. et Vasic, V. (2010, Mar 1). Toxic effects of diazinon and its photodegradation products. *Toxicol Lett*, 193(1), 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2009.11.022>
- Čolović, M., Krstić, D., Petrović, S., Leskovac, A., Joksić, G., Savić, J., Franko, M., Trebše, P. et Vasić, V. (2010). Toxic effects of diazinon and its photodegradation products. *Toxicology letters*, 193(1), 9-18.
- Cooper, C. et Burch, R. (1999). An investigation of catalytic ozonation for the oxidation of halocarbons in drinking water preparation. *Water research*, 33(18), 3695-3700.
- Cooper, R. L., Laws, S. C., Das, P. C., Narotsky, M. G., Goldman, J. M., Lee Tyrey, E. et Stoker, T. E. (2007). Atrazine and reproductive function: mode and mechanism of action studies. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 80(2), 98-112.
- Cormier, G. (2015). Dégradation chimique et biologique de neuf contaminants émergents dans les eaux de surfaces et les effluents primaires d'eaux usées municipales.
- Cortes, S., Sarasa, J., Ormad, P., Gracia, R. et Ovelheiro, J. (2000). Comparative efficiency of the systems O₃/High pH And O₃/catalyst for the oxidation of chlorobenzenes in water. *Ozone: science & engineering*, 22(4), 415-426.
- Cox, C. (2000). Diazinon: toxicology. *J Pest Reform*, 20, 15-21.
- Crinnion, W. J. (2011). Polychlorinated biphenyls: persistent pollutants with immunological, neurological, and endocrinological consequences. *Alternative Medicine Review*, 16(1).
- Daneshvar, N., Aber, S., Dorraji, M. S., Khataee, A. et Rasoulifard, M. (2007). Photocatalytic degradation of the insecticide diazinon in the presence of prepared nanocrystalline ZnO powders under irradiation of UV-C light. *Separation and purification Technology*, 58(1), 91-98.
- Dasgupta, S. et Toeroek, B. (2008). Application of clay catalysts in organic synthesis. A review. *Organic Preparations and Procedures International*, 40(1), 1-65.
- Debski, B., Kania, B. F. et Kuryl, T. (2007). Transformations of diazinon, an organophosphate compound in the environment and poisoning by this compound. *ECOLOGY-BRATISLAVA-*, 26(1), 68.

- del Pilar Castillo, M., Andersson, A., Ander, P., Stenström, J. et Torstensson, L. (2001). Establishment of the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* on unsterile straw in solid substrate fermentation systems intended for degradation of pesticides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17(6), 627-633.
- Demarco, M., Gasparin, B. R., Vizzotto, A., Alves, H., Restello, R. M., Cansian, R. L. et Mielniczki-Pereira, A. A. (2022). Comparative Study of pesticides effects on *Artemia salina* (Leach, 1819) survival and morphology. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 44, e61715-e61715.
- Dere, Ş., GÜNEŞ, T. et Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric Determination of Chlorophyll-A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. *Turkish Journal of Botany*, 22(1), 13-18.
- Dewailly, E., Nantel, A., Weber, J.-P. et Meyer, F. (1989). High levels of PCBs in breast milk of Inuit women from Arctic Quebec. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology;(USA)*, 43(5).
- Dewez, D., Goltsev, V., Kalaji, H. M. et Oukarroum, A. (2018). Inhibitory effects of silver nanoparticles on photosystem II performance in *Lemna gibba* probed by chlorophyll fluorescence. *Current plant biology*, 16, 15-21.
- Dewez, D., Marchand, M., Eullaffroy, P. et Popovic, R. (2002). Evaluation of the effects of diuron and its derivatives on *Lemna gibba* using a fluorescence toxicity index. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(5), 493-501.
- Diez, M. (2010). Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10(3), 244-267.
- Djemai, I. (2021). *Elimination des polluants organiques des eaux de surfaces par adsorption* [Université de Batna 2].
- Duckworth, W. E. et Le Gall, J. B. (1973). *Méthodes statistiques de la recherche technologique*. Dunod.
- Edition, F. (2002). *Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms* : US Environmental Protection Agency US EPA: Washington, DC, USA.
- Eisler, R. (1986). *Diazinon hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review*. US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service.
- El-Raady, A. A. A. et Nakajima, T. (2005). Decomposition of carboxylic acids in water by O₃, O₃/H₂O₂, and O₃/catalyst. *Ozone: science & engineering*, 27(1), 11-18.
- El Baktaoui, M., Hadj-Abdelkader, N. E. H., Benghaffour, A., Arus, V.-A., Bennani-Daouadji, N., Belkhadem, F., Roy, R. et Azzouz, A. (2022). Clay-Catalyzed Ozonation of Hydrotalcite-Extracted Lactic Acid Potential Application for Preventing Milk Fermentation Inhibition. *Molecules*, 27(19), 6502.
- Emamverdian, A., Ding, Y., Mokhberdoran, F. et Xie, Y. (2015). Heavy metal stress and some mechanisms of plant defense response. *The Scientific World Journal*, 2015.
- Epp, J. (2016). X-ray diffraction (XRD) techniques for materials characterization. Dans *Materials characterization using nondestructive evaluation (NDE) methods* (p. 81-124). Elsevier.
- Errami, M., El Mouden, O., Salghi, R., Zougagh, M., Zarrouk, A., Hammouti, B., Chakir, A., Al-Deyab, S. et Bouri, M. (2012). Detoxification of bupirimate pesticide in aqueous solutions by electrochemical oxidation. *Der Pharm Chem*, 4, 297-310.
- Érsekóvá, A., Hilscherová, K., Klánová, J., Giesy, J. P. et Novák, J. (2014). Effect-based assessment of passive air samples from four countries in Eastern Europe. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(6), 3905-3916.
- Eyjolfsson, R. (2000, Apr). Diclofenac sodium: oxidative degradation in solution and solid state. *Drug Dev Ind Pharm*, 26(4), 451-453. <https://doi.org/10.1081/ddc-100101253>
- Fabiańska, A., Białk-Bielińska, A., Stepnowski, P., Stolte, S. et Siedlecka, E. M. (2014). Electrochemical degradation of sulfonamides at BDD electrode: kinetics, reaction pathway and eco-toxicity evaluation. *Journal of Hazardous Materials*, 280, 579-587.

- Fairchild, J., Ruessler, D., Haverland, P. et Carlson, A. (1997a). Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *32*, 353-357.
- Fairchild, J., Ruessler, D., Haverland, P. et Carlson, A. (1997b). Comparative sensitivity of *Selenastrum capricornutum* and *Lemna minor* to sixteen herbicides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, *32*(4), 353-357.
- Fan, X., Restivo, J., Órfão, J. J., Pereira, M. F. R. et Lapkin, A. A. (2014). The role of multiwalled carbon nanotubes (MWCNTs) in the catalytic ozonation of atrazine. *Chemical Engineering Journal*, *241*, 66-76.
- Faria, P., Órfão, J. et Pereira, M. (2009). Activated carbon and ceria catalysts applied to the catalytic ozonation of dyes and textile effluents. *Applied Catalysis B: Environmental*, *88*(3-4), 341-350.
- Faust, S. D. et Suffet, I. H. (1966). Recovery, separation, and identification of organic pesticides from natural and potable waters. *Residue Reviews/Rückstands-Berichte*, 44-116.
- Felsot, A. S. (1996). Options for cleanup and disposal of pesticide wastes generated on a small - scale. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, *31*(3), 365-381.
- Fernández - Casalderrey, A., Ferrando, M. et Andreu - Moliner, E. (1995). Chronic toxicity of diazinon to *Daphnia magna*: effects on survival, reproduction and growth. *Toxicological & Environmental Chemistry*, *49*(1-2), 25-32.
- Foka Wembe, E. N., Benghafour, A., Dewez, D. et Azzouz, A. (2023). Clay-Catalyzed Ozonation of Organic Pollutants in Water and Toxicity on *Lemna minor*: Effects of Molecular Structure and Interactions. *Molecules*, *28*(1), 222.
- Fontanier, V., Farines, V., Albet, J., Baig, S. et Molinier, J. (2005). Oxidation of organic pollutants of water to mineralization by catalytic ozonation. *Ozone: science and engineering*, *27*(2), 115-128.
- Forni, C., Braglia, R., Harren, F. et Cristescu, S. (2012). Stress responses of duckweed (*Lemna minor* L.) and water velvet (*Azolla filiculoides* Lam.) to anionic surfactant sodium-dodecyl-sulphate (SDS). *Aquatic Toxicology*, *110*, 107-113.
- Foyer, C. H., Lopez - Delgado, H., Dat, J. F. et Scott, I. M. (1997). Hydrogen peroxide - and glutathione - associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiologia plantarum*, *100*(2), 241-254.
- Franko, M., Sarakha, M., Čibej, A., Boškin, A., Bavcon, M. et Trebše, P. (2005). Photodegradation of pesticides and application of bioanalytical methods for their detection. *Pure and applied chemistry*, *77*(10), 1727-1736.
- Fulton, M. H. et Key, P. B. (2001). Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, *20*(1), 37-45.
- Galmier, M. J., Bouchon, B., Madelmont, J. C., Mercier, F., Pilotaz, F. et Lartigue, C. (2005, Jul 15). Identification of degradation products of diclofenac by electrospray ion trap mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal*, *38*(4), 790-796. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.02.016>
- García-Araya, J. F., Beltrán, F. J. et Aguinaco, A. (2010, 2010/06/01). Diclofenac removal from water by ozone and photolytic TiO₂ catalysed processes [<https://doi.org/10.1002/jctb.2363>]. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, *85*(6), 798-804. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jctb.2363>
- Gasperi, J., Garnaud, S., Rocher, V. et Moilleron, R. (2008). Polluants prioritaires dans les eaux usées et les rejets urbains de temps de pluie. *Techniques, sciences, méthodes*(11), 49.
- Gatidou, G., Stasinakis, A. S. et Iatrou, E. I. (2015). Assessing single and joint toxicity of three phenylurea herbicides using *Lemna minor* and *Vibrio fischeri* bioassays. *Chemosphere*, *119*, S69-S74.
- Gaur, N., Narasimhulu, K. et PydiSetty, Y. (2018). Recent advances in the bio-remediation of persistent organic pollutants and its effect on environment. *Journal of Cleaner Production*, *198*, 1602-1631.

- Ge, D., Zeng, Z., Arowo, M., Zou, H., Chen, J. et Shao, L. (2016). Degradation of methyl orange by ozone in the presence of ferrous and persulfate ions in a rotating packed bed. *Chemosphere*, 146, 413-418.
- Ghardia, U. (2021). *production de l'ozone et traitement des molécules Nox par décharge électrique pulsée. Contribution à l'étude de l'influence du chauffage du gaz* Université d'Oran].
- Giacomazzi, S. et Cochet, N. (2004). Environmental impact of diuron transformation: a review. *Chemosphere*, 56(11), 1021-1032.
- Gianfreda, L. et Rao, M. A. (2004). Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review. *Enzyme and microbial technology*, 35(4), 339-354.
- Gianfreda, L. et Rao, M. A. (2008). Interactions between xenobiotics and microbial and enzymatic soil activity. *Critical reviews in environmental science and technology*, 38(4), 269-310.
- Gille, G. et Sigler, K. (1995). Oxidative stress and living cells. *Folia Microbiologica*, 40, 131-152.
- GilPavas, E., Dobrosz-Gómez, I. et Gómez-García, M.-Á. (2020). Efficient treatment for textile wastewater through sequential electrocoagulation, electrochemical oxidation and adsorption processes: Optimization and toxicity assessment. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 878, 114578.
- Giroux, I. (2018). *État de situation sur la présence de pesticides au lac Saint-Pierre*. ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre
- Giroux, I., Hébert, S. et Berryman, D. (2016). Qualité de l'eau du Saint-Laurent de 2000 à 2014: paramètres classiques, pesticides et contaminants émergents. *Le Naturaliste Canadien*, 140(2), 26-34.
- Giroux, I., Roy, N. et Lamontagne, C. (2010). Présence de pesticides dans l'eau souterraine en milieu agricole: Étude pilote du bassin versant de la Rivière Châteauguay. *Canadian water resources journal*, 35(4), 527-542.
- Goss, M., Barry, D. et Rudolph, D. (1998). Contamination in Ontario farmstead domestic wells and its association with agriculture:: 1. Results from drinking water wells. *Journal of contaminant hydrology*, 32(3-4), 267-293.
- Gostyńska, J., Pankiewicz, R., Romanowska-Duda, Z. et Messyasz, B. (2022). Overview of Allelopathic Potential of Lemna minor L. Obtained from a Shallow Eutrophic Lake. *Molecules*, 27(11), 3428.
- Gracia, R., Aragües, J. et Ovelleiro, J. (1996). Study of the catalytic ozonation of humic substances in water and their ozonation byproducts.
- Gültekin, I. et Ince, N. H. (2007). Synthetic endocrine disruptors in the environment and water remediation by advanced oxidation processes. *Journal of Environmental Management*, 85(4), 816-832.
- Guo, Y., Liu, C., Ye, R. et Duan, Q. (2020). Advances on water quality detection by uv-vis spectroscopy. *Applied Sciences*, 10(19), 6874.
- Guo, Y., Yang, L., Cheng, X. et Wang, X. (2012, 2012). The Application and Reaction Mechanism of Catalytic Ozonation in Water Treatment. *Journal of Environmental and Analytical Toxicology* 2(150). <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000150>
- Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K. et Seydim, A. (2004). Use of ozone in the food industry. *LWT-Food Science and Technology*, 37(4), 453-460.
- Haag, W. R. et Yao, C. D. (1992). Rate constants for reaction of hydroxyl radicals with several drinking water contaminants. *Environmental Science & Technology*, 26(5), 1005-1013.
- Hájková, R., Solich, P., Pospíšilová, M. et Šícha, J. (2002, 2002/09/03/). Simultaneous determination of methylparaben, propylparaben, sodium diclofenac and its degradation product in a topical emulgel by reversed-phase liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 467(1), 91-96. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00131-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00131-9)
- Hamieh, T. (1997). Potentiel Zêta des Dispersions et Emulsions Colloïdales: application au domaine cosmétique.
- Hamm, J. et Hinton, D. (2000). The role of development and duration of exposure to the embryotoxicity of diazinon. *Aquatic Toxicology*, 48(4), 403-418.

- Hapeman, C. J., Karns, J. S. et Shelton, D. R. (1995). Total mineralization of aqueous atrazine in the presence of ammonium nitrate using ozone and *Klebsiella terrigena* (strain DRS-I): mechanistic considerations for pilot scale disposal. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(5), 1383-1391.
- Harris, C., Chapman, R., Harris, C. et Tu, C. (1984). Biodegradation of pesticides in soil: rapid induction of carbamate degrading factors after carbofuran treatment. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, 19(1), 1-11.
- Harris, C. R. et Lichtenstein, E. (1961). Factors affecting the volatilization of insecticidal residues from soils. *Journal of Economic Entomology*, 54(5), 1038-1045.
- Hasan, M. R. et Rina, C. (2009). *Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture: a review*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).
- Hayes, T. B. et Hansen, M. (2017). From silent spring to silent night: Agrochemicals and the anthropocene. *Elementa: Science of the Anthropocene*, 5.
- He, Y.-Y. et Häder, D.-P. (2002). Reactive oxygen species and UV-B: effect on cyanobacteria. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 1(10), 729-736.
- Heim, C. et Glas, K. (2011). Ozone I: Characteristics/generation/possible applications. *Brewing Science*, 64, 8-12.
- Hickey, J. J. (1969). *Peregrine falcon populations: their biology and decline*. University of Wisconsin Press.
- Hickey, J. J. et Anderson, D. W. (1968). Chlorinated hydrocarbons and eggshell changes in raptorial and fish-eating birds. *Science*, 162(3850), 271-273.
- Horton, P., Ruban, A. et Walters, R. (1996). Regulation of light harvesting in green plants. *Annual review of plant biology*, 47(1), 655-684.
- Hu, N., Xu, Y., Sun, C., Zhu, L., Sun, S., Zhao, Y. et Hu, C. (2021). Removal of atrazine in catalytic degradation solutions by microalgae *Chlorella* sp. and evaluation of toxicity of degradation products via algal growth and photosynthetic activity. *Ecotoxicology and environmental safety*, 207, 111546.
- Huang, X., Cui, H. et Duan, W. (2020). Ecotoxicity of chlorpyrifos to aquatic organisms: A review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 200, 110731.
- Hussain, S., Arshad, M., Saleem, M. et Khalid, A. (2007). Biodegradation of α - and β -endosulfan by soil bacteria. *Biodegradation*, 18(6), 731-740.
- Ikehata, K. et Gamal El-Din, M. (2005). Aqueous pesticide degradation by ozonation and ozone-based advanced oxidation processes: a review (Part I). *Ozone: science and engineering*, 27(2), 83-114.
- Inticher, J. J., Cabrera, L. C., Guimarães, R. E., Zorzo, C. F., Pellenz, L., Seibert, D. et Borba, F. H. (2021). Advanced treatment of water contaminated with Atrazine, Difenconazole and Fipronil mixture, its by-products and bio-toxicity levels. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 105883.
- Inze, D. et Van Montagu, M. (1995). Oxidative stress in plants. *Current opinion in Biotechnology*, 6(2), 153-158.
- Iovino, P., Chianese, S., Canzano, S., Prisciandaro, M. et Musmarra, D. (2017). Photodegradation of diclofenac in wastewaters. *Desalin. Water Treat*, 61, 293-297.
- Jauregui, J., Valderrama, B., Albores, A. et Vazquez-Duhalt, R. (2003). Microsomal transformation of organophosphorus pesticides by white rot fungi. *Biodegradation*, 14(6), 397-406.
- Jiang, Y.-Y., Chen, Z.-W., Li, M.-M., Xiang, Q.-H., Wang, X.-X., Miao, H.-F. et Ruan, W.-Q. (2021, 2021/06/15/). Degradation of diclofenac sodium using Fenton-like technology based on nano-calcium peroxide. *Science of The Total Environment*, 773, 144801. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144801>
- Jmii, S. et Dewez, D. (2021). Toxic Responses of Palladium Accumulation in Duckweed (*Lemna minor*): Determination of Biomarkers. *Environmental toxicology and chemistry*, 40(6), 1630-1638.

- Jović, M., Manojlović, D., Stanković, D., Dojčinović, B., Obradović, B., Gašić, U. et Roglić, G. (2013). Degradation of triketone herbicides, mesotrione and sulcotrione, using advanced oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 1092-1099.
- Kabwadza-Corner, P., Matsue, N., Johan, E. et Henmi, T. (2014). Mechanism of Diazinon adsorption on iron modified montmorillonite. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2014.
- Kafarski, P., Lejczak, B. et Forlani, G. (2001). Biodegradation of pesticides containing carbon-to-phosphorus bond. Dans. ACS Publications.
- Kahr, G. et Madsen, F. (1995). Determination of the cation exchange capacity and the surface area of bentonite, illite and kaolinite by methylene blue adsorption. *Applied clay science*, 9(5), 327-336.
- Kalivel, P., Choondal Jisson, J., Kavitha, S., Padmanabhan, D., Bhagavathsingh, J., Palanichamy, J., Stephen, A. M. M. et David, J. J. (2021). Efficiency assessment of Cu and Al electrodes in the removal of anthraquinone based disperse dye aqueous solution in electrocoagulation—an analytical approach. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 1-20.
- Kammenga, J. E., Dallinger, R., Donker, M. H., Kohler, H. R., Simonsen, V., Triebkorn, R. et Weeks, J. M. (2000). Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. *Rev Environ Contam Toxicol*, 164, 93-147. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12587835>
- Karamancheva, I., Dobrev, I., Brakalov, L. et Andreeva, A. (1998, 1998/01). Second Derivative Spectrophotometric Determination of the Degradation Products of Diclofenac Sodium in Gel-Ointment. *Analytical Letters*, 31(1), 117-129. <https://doi.org/10.1080/00032719808001837>
- Karimi, H., Rahimpour, A. et Shirzad Kebria, M. R. (2016). Pesticides removal from water using modified piperazine-based nanofiltration (NF) membranes. *Desalination and Water Treatment*, 57(52), 24844-24854.
- Karp, G., Isawa, J. et Marshall, W. (2018). *Biologie cellulaire et moléculaire*. De Boeck Superieur.
- Kaufhold, S., Kaufhold, A. et Dohrmann, R. (2018). Comparison of the critical coagulation concentrations of allophane and smectites. *Colloids and Interfaces*, 2(1), 12.
- Kaufman, D. (1974). Degradation of pesticides by soil microorganisms. *Pesticides in soil and water*, 133-202.
- Kaufman, D. et Blake, J. (1969). Atrazine degradation by soil fungi. *Weed Sci. Soc. Amer. Abstr. No. 230*, -.
- Kaur, N. et Kishore, D. (2012). Montmorillonite: An efficient, heterogeneous and green catalyst for organic synthesis. *J. Chem. Pharm. Res*, 4(2), 991-1015.
- Kearney, P., Harris, C., Kaufman, D. et Sheets, T. (1965). Behavior and fate of chlorinated aliphatic acids in soils. *Advances in Pest Control Research*, 6, 1-30.
- Kells, S. A., Mason, L. J., Maier, D. E. et Woloshuk, C. P. (2001). Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. *Journal of Stored Products Research*, 37(4), 371-382.
- Khan, K. F. (2019). Application, principle and operation of ICP-OES in pharmaceutical analysis. *The Pharmaceutical Innovation Journal*, 8(11), 281-282.
- Kim, J.-K. et Lawler, D. F. (2005). Characteristics of zeta potential distribution in silica particles. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 26(7), 1083-1089.
- Klementová, Š., Hornyčová, L., Šorf, M., Zemanová, J. et Kahoun, D. (2019a). Toxicity of atrazine and the products of its homogeneous photocatalytic degradation on the aquatic organisms Lemna minor and Daphnia magna. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 27259-27267.
- Klementová, Š., Hornyčová, L., Šorf, M., Zemanová, J. et Kahoun, D. (2019b). Toxicity of atrazine and the products of its homogeneous photocatalytic degradation on the aquatic organisms Lemna minor and Daphnia magna. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(26), 27259-27267.
- Klementova, S., Rabova-Tousova, Z., Blaha, L., Kahoun, D., Simek, P., Keltnerova, L. et Zlamal, M. (2015). Photodegradation of Atrazine on TiO₂—Products Toxicity Assessment. *Open Journal of Applied Sciences*, 5(01), 14.
- Knörzner, O. C. et Böger, P. (1999). Antagonizing peroxidizing herbicides. *Peroxidizing herbicides*, 303-327.

- Konrad, J., Armstrong, D. et Chesters, G. (1967). Soil Degradation of Diazinon, a Phosphorothioate Insecticide 1. *Agronomy Journal*, 59(6), 591-594.
- Kouloumbos, V. N., Tsiipi, D. F., Hiskia, A. E., Nikolic, D. et van Breemen, R. B. (2003). Identification of photocatalytic degradation products of diazinon in TiO₂ aqueous suspensions using GC/MS/MS and LC/MS with quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Journal of the American society for mass spectrometry*, 14(8), 803-817.
- Kovaios, I. D., Paraskeva, C. A., Koutsoukos, P. G. et Payatakes, A. C. (2006). Adsorption of atrazine on soils: model study. *Journal of Colloid and Interface Science*, 299(1), 88-94.
- Krawczyk, K., Marynowicz, W., Gogola-Mruk, J., Jakubowska, K., Tworzydło, W., Opydo-Chanek, M. et Ptak, A. (2021). A mixture of persistent organic pollutants detected in human follicular fluid increases progesterone secretion and mitochondrial activity in human granulosa HGrC1 cells. *Reproductive Toxicology*, 104, 114-124.
- Ku, Y., Chang, J.-L. et Cheng, S.-C. (1998). Effect of solution pH on the hydrolysis and photolysis of diazinon in aqueous solution. *Water, Air, and Soil Pollution*, 108, 445-456.
- Ku, Y., Chang, J.-L., Shen, Y.-S. et Lin, S.-Y. (1998). Decomposition of diazinon in aqueous solution by ozonation. *Water research*, 32(6), 1957-1963.
- Kullman, S. W. et Matsumura, F. (1996). Metabolic pathways utilized by *Phanerochaete chrysosporium* for degradation of the cyclodiene pesticide endosulfan. *Applied and environmental microbiology*, 62(2), 593-600.
- Kumar, K. S. et Han, T. (2010). Physiological response of *Lemna* species to herbicides and its probable use in toxicity testing. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2, 39-49.
- Kumar, P. et Sathyamurthy, N. (2013). An ab initio quantum chemical investigation of the structure and stability of ozone-water complexes. *Chemical Physics*, 415, 214-221.
- Kumar, S. (2004). Occupational exposure associated with reproductive dysfunction. *Journal of occupational health*, 46(1), 1-19.
- Kumaresn, K., Parthiban, D., Sivanarayan, V., Arun, N. et Kumaravel, P. (2015). Toxicity Effect of Copper oxide Nanoparticles on *Artemia salina*. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics*, 7(2), 53-60.
- Kurade, M. B., Kim, J. R., Govindwar, S. P. et Jeon, B.-H. (2016). Insights into microalgae mediated biodegradation of diazinon by *Chlorella vulgaris*: microalgal tolerance to xenobiotic pollutants and metabolism. *Algal research*, 20, 126-134.
- Labanowski, J., Pallier, V. et Feuillade-Cathalifaud, G. (2010). Study of organic matter during coagulation and electrocoagulation processes: Application to a stabilized landfill leachate. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1-3), 166-172.
- Lagaly, G. et Ziesmer, S. (2003). Colloid chemistry of clay minerals: the coagulation of montmorillonite dispersions. *Advances in colloid and interface science*, 100, 105-128.
- Landry, C. (2017). Évaluation de l'état du système rédox et des rétinoïdes comme biomarqueurs chez la perchaude (*Perca Flavescens*), en lien avec le déclin de la population du lac Saint-Pierre.
- Larkin, D. J. et Tjeerdema, R. S. (2000). Fate and effects of diazinon. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 166, 49-82.
- Larouk, S., Ouargli, R., Shahidi, D., Olhund, L., Shiao, T. C., Chergui, N., Sehili, T., Roy, R. et Azzouz, A. (2017). Catalytic ozonation of Orange-G through highly interactive contributions of hematite and SBA-16— To better understand azo-dye oxidation in nature. *Chemosphere*, 168, 1648-1657.
- Larouk, S., Ouargli, R., Shahidi, D., Olhund, L., Shiao, T. C., Chergui, N., Sehili, T., Roy, R. et Azzouz, A. (2017, Feb). Catalytic ozonation of Orange-G through highly interactive contributions of hematite and SBA-16 - To better understand azo-dye oxidation in nature. *Chemosphere*, 168, 1648-1657. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.120>

- Leatherland, J. (1992). Endocrine and reproductive function in Great Lakes salmon. *Chemically Induced Alterations in Sexual and Functional Development: The Wildlife/Human-Connection*, 129-145.
- Lee, Y., Kim, Y. J., Khan, M. S. I. et Na, Y. C. (2020). Identification and determination of by-products originating from ozonation of chlorpyrifos and diazinon in water by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 43(21), 4047-4057.
- Legube, B. et Leitner, N. K. V. (1999). Catalytic ozonation: a promising advanced oxidation technology for water treatment. *Catalysis Today*, 53(1), 61-72.
- Li, R., Luo, C., Qiu, J., Li, Y., Zhang, H. et Tan, H. (2022). Metabolomic and transcriptomic investigation of the mechanism involved in enantioselective toxicity of imazamox in *Lemna minor*. *Journal of Hazardous Materials*, 425, 127818.
- Li, X., Wu, T., Huang, H. et Zhang, S. (2012). Atrazine accumulation and toxic responses in maize *Zea mays*. *Journal of Environmental Sciences*, 24(2), 203-208.
- Liang, J., Li, Y., Xie, P., Liu, C., Yu, L. et Ma, X. (2022). Dualistic effects of bisphenol A on growth, photosynthetic and oxidative stress of duckweed (*Lemna minor*). *Environmental Science and Pollution Research*, 29(58), 87717-87729.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). [34] Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Dans *Methods in enzymology* (vol. 148, p. 350-382). Elsevier.
- Lima, A., Rocha, R., Pereira, E. et Sikora, M. d. S. (2021). Photodegradation of Ciprofloxacin antibiotic over TiO₂ grown by PEO: ecotoxicity response in *Lactuca sativa* L. and *Lemna minor*. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 1-10.
- Lima, C. P. d., Cunico, M. M., Trevisan, R. R., Philippsen, A. F., Miguel, O. G. et Miguel, M. D. (2011). Efeito alelopático e toxicidade frente à *Artemia salina* Leach dos extratos do fruto de *Euterpe edulis* Martius. *Acta Botanica Brasilica*, 25, 331-336.
- Liu, C., Qiang, Z., Tian, F. et Zhang, T. (2009). Photodegradation of etridiazole by UV radiation during drinking water treatment. *Chemosphere*, 76(5), 609-615.
- Liu, S., Cui, T., Xu, A., Han, W., Li, J., Sun, X., Shen, J. et Wang, L. (2018). Electrochemical treatment of flutriafol wastewater using a novel 3D macroporous PbO₂ filter: Operating parameters, mechanism and toxicity assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 358, 187-197.
- Ljunggren, S. A., Helmfrid, I., Salihovic, S., van Bavel, B., Wingren, G., Lindahl, M. et Karlsson, H. (2014). Persistent organic pollutants distribution in lipoprotein fractions in relation to cardiovascular disease and cancer. *Environment International*, 65, 93-99.
- Lonappan, L., Brar, S. K., Das, R. K., Verma, M. et Surampalli, R. Y. (2016). Diclofenac and its transformation products: environmental occurrence and toxicity-a review. *Environment International*, 96, 127-138.
- Lonappan, L., Rouissi, T., Laadila, M. A., Brar, S. K., Hernandez Galan, L., Verma, M. et Surampalli, R. Y. (2017). Agro-industrial-produced laccase for degradation of diclofenac and identification of transformation products. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(7), 5772-5781.
- Lopes, R. D., Macedo, A. V. S., Moll-Bernardes, R. J., Feldman, A., Arruda, G. D. A. S., de Souza, A. S., de Albuquerque, D. C., Mazza, L., Santos, M. F. et Salvador, N. Z. (2020). Continuing versus suspending angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers: Impact on adverse outcomes in hospitalized patients with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)--The BRACE CORONA Trial. *American heart journal*, 226, 49-59.
- Lowe, B. M., Sklyaris, C.-K. et Green, N. G. (2015). Acid-base dissociation mechanisms and energetics at the silica–water interface: An activationless process. *Journal of Colloid and Interface Science*, 451, 231-244.
- Mahmoodi, N. M., Arami, M., Limaee, N. Y. et Gharanjig, K. (2007). Photocatalytic degradation of agricultural N-heterocyclic organic pollutants using immobilized nanoparticles of titania. *Journal of Hazardous Materials*, 145(1-2), 65-71.

- Maier-Bode, H. (1968). Properties, effect, residues and analytics of the insecticide endosulfan. Dans *Residue Reviews/Rückstands-Berichte* (p. 1-44). Springer.
- Malhotra, N., Chen, K. H.-C., Huang, J.-C., Lai, H.-T., Uapipatanakul, B., Roldan, M. J. M., Macabeo, A. P. G., Ger, T.-R. et Hsiao, C.-D. (2021). Physiological effects of neonicotinoid insecticides on non-target aquatic animals—an updated review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(17), 9591.
- Manfra, L., Savorelli, F., Pisapia, M., Magaletti, E. et Cicero, A. M. (2012). Long-term lethal toxicity test with the crustacean *Artemia franciscana*. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(62), e3790.
- Markovic, M., Neale, P. A., Nidumolu, B. et Kumar, A. (2021). Combined toxicity of therapeutic pharmaceuticals to duckweed, *Lemna minor*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 208, 111428.
- Masten, S. J. et Davies, S. H. (1994). The use of ozonation to degrade organic contaminants in wastewaters. *Environmental Science & Technology*, 28(4), 180A-185A.
- Matheswaran, M., Balaji, S., Chung, S. J. et Moon, I. S. (2007). Studies on cerium oxidation in catalytic ozonation process: A novel approach for organic mineralization. *Catalysis Communications*, 8(10), 1497-1501.
- Matozzo, V., Fabrello, J., Masiero, L., Ferraccioli, F., Finos, L., Pastore, P., Di Gangi, I. M. et Bogialli, S. (2018). Ecotoxicological risk assessment for the herbicide glyphosate to non-target aquatic species: a case study with the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental pollution*, 233, 623-632.
- Meade, T. et D'Angelo, E. M. (2005). [14C] Pentachlorophenol mineralization in the rice rhizosphere with established oxidized and reduced soil layers. *Chemosphere*, 61(1), 48-55.
- Meçabih, Z., Kacimi, S. et Bouchikhi, B. (2006). Adsorption des matières organiques des eaux usées urbaines sur la bentonite modifiée par Fe (III), Al (III) et Cu (II). *Revue des sciences de l'eau/Journal of Water Science*, 19(1), 23-31.
- Meijers, R., Oderwald-Muller, E., Nuhn, P. et Kruithof, J. (1995). Degradation of pesticides by ozonation and advanced oxidation. *Ozone: science & engineering*, 17(6), 673-686.
- Mendez-Arriaga, F., Esplugas, S. et Gimenez, J. (2010). Degradation of the emerging contaminant ibuprofen in water by photo-Fenton. *Water research*, 44(2), 589-595.
- Méndez-Arriaga, F., Esplugas, S. et Giménez, J. (2008). Photocatalytic degradation of non-steroidal anti-inflammatory drugs with TiO₂ and simulated solar irradiation. *Water research*, 42(3), 585-594.
- Mercadier, C., Vega, D. et Bastide, J. (1997). Iprodione degradation by isolated soil microorganisms. *FEMS microbiology ecology*, 23(3), 207-215.
- Miles, J., Tu, C. et Harris, C. (1969). Metabolism of heptachlor and its degradation products by soil microorganisms. *Journal of Economic entomology*, 62(6), 1334-1338.
- Mirilă, D.-C., Boudissa, F., Beltrao-Nuñez, A.-P., Platon, N., Didi, M.-A., Nistor, I.-D., Roy, R. et Azzouz, A. (2020a, 2020/11/01). Organic Dye Ozonation Catalyzed by Chemically Modified Montmorillonite K10—Role of Surface Basicity and Hydrophilic Character. *Ozone: science & engineering*, 42(6), 517-530. <https://doi.org/10.1080/01919512.2020.1727727>
- Mirilă, D.-C., Boudissa, F., Beltrao-Nuñez, A.-P., Platon, N., Didi, M.-A., Nistor, I.-D., Roy, R. et Azzouz, A. (2020b). Organic dye ozonation catalyzed by chemically modified montmorillonite K10—Role of surface basicity and hydrophilic character. *Ozone: science & engineering*, 42(6), 517-530.
- Mishra, I. et Sabat, G. (2015). Phytotoxicity of Profenofos 50% EC (curacron 50 EC) to *Vigna radiata*, L. seedlings: II. Studies on Biochemical Parameters. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 3(1), 101-105.
- Mishra, I., Sabat, G. et Mohanty, B. (2015). Phytotoxicity of profenofos 50% EC (Curacron 50 EC) to *Vigna radiata* L. seedlings: III. Studies on secondary metabolites and enzymes. *Int J Life Sci*, 3, 351-359.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in plant science*, 7(9), 405-410.

- Miwa, D. W., Malpass, G. R., Machado, S. A. et Motheo, A. J. (2006, Oct). Electrochemical degradation of carbaryl on oxide electrodes. *Water Res*, 40(17), 3281-3289. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.033>
- Mnif, W., Hassine, A. I. H., Bouaziz, A., Bartegi, A., Thomas, O. et Roig, B. (2011). Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. *International journal of environmental research and public health*, 8(6), 2265-2303.
- Mohammad, M., Itoh, K. et Suyama, K. (2010). Effects of herbicides on *Lemna gibba* and recovery from damage after prolonged exposure. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 605-612.
- Mohan, S. V., Sirisha, K., Rao, N. C., Sarma, P. et Reddy, S. J. (2004). Degradation of chlorpyrifos contaminated soil by bioslurry reactor operated in sequencing batch mode: bioprocess monitoring. *Journal of Hazardous Materials*, 116(1-2), 39-48.
- Moldoveanu, S. et David, V. (2022). *Essentials in modern HPLC separations*. Elsevier.
- Molla Mahmoudi, M., Khaghani, R., Dargahi, A. et Monazami Tehrani, G. (2022). Electrochemical degradation of diazinon from aqueous media using graphite anode: effect of parameters, mineralisation, reaction kinetic, degradation pathway and optimisation using central composite design. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 102(8), 1709-1734.
- Moreira, A. J., Borges, A. C., Gouvea, L. F., MacLeod, T. C. et Freschi, G. P. (2017). The process of atrazine degradation, its mechanism, and the formation of metabolites using UV and UV/MW photolysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 347, 160-167.
- Moreira, I. S., Bessa, V. S., Murgolo, S., Piccirillo, C., Mascolo, G. et Castro, P. M. (2018). Biodegradation of diclofenac by the bacterial strain *Labrys portucalensis* F11. *Ecotoxicology and environmental safety*, 152, 104-113.
- Mount, M. E. et Oehme, F. W. (1981). Carbaryl: a literature review. *Residue Reviews: Residues of Pesticides and Other Contaminants in the Total Environment*, 1-64.
- Moussavi, G., Hosseini, H. et Alahabadi, A. (2013). The investigation of diazinon pesticide removal from contaminated water by adsorption onto NH₄Cl-induced activated carbon. *Chemical Engineering Journal*, 214, 172-179.
- Moussavi, G. et Mahmoudi, M. (2009). Degradation and biodegradability improvement of the reactive red 198 azo dye using catalytic ozonation with MgO nanocrystals. *Chemical Engineering Journal*, 152(1), 1-7.
- Müller, R., Berghahn, R. et Hilt, S. (2010). Herbicide effects of metazachlor on duckweed (*Lemna minor* and *Spirodela polyrhiza*) in test systems with different trophic status and complexity. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 45(2), 95-101.
- Munkegaard, M., Abbaspoor, M. et Cedergreen, N. (2008). Organophosphorous insecticides as herbicide synergists on the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and the aquatic plant *Lemna minor*. *Ecotoxicology*, 17, 29-35.
- Munteanu, C., DUMITRAȘCU, M. et SC, B. (2011). *Artemia salina*.
- Murray, H. (2007). Developments in clay science: applied clay mineralogy. *Occurrences, Processing and Application of Kaolins, Bentonites, Palygorskite-Sepiolite, and Common Clays*, 1, 1-179.
- Muruganandham, M. et Wu, J. (2008). Synthesis, characterization and catalytic activity of easily recyclable zinc oxide nanobundles. *Applied Catalysis B: Environmental*, 80(1-2), 32-41.
- Naceradska, J., Pivokonska, L. et Pivokonsky, M. (2019). On the importance of pH value in coagulation. *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua*, 68(3), 222-230.
- Nagendrappa, G. (2002a). Organic synthesis using clay catalysts. *Resonance*, 7(1), 64-77.
- Nagendrappa, G. (2002b). Organic synthesis using clay catalysts: clays for 'Green Chemistry'. *Resonance*, 7, 64-77.

- Naidu, R. et Bolan, N. (2008). Contaminant chemistry in soils: key concepts and bioavailability. *Developments in soil science*, 32, 9-37.
- Naushad, M., ALothman, Z., Khan, M., ALQahtani, N. et ALSohaimi, I. (2014). Equilibrium, kinetics and thermodynamic studies for the removal of organophosphorus pesticide using Amberlyst-15 resin: Quantitative analysis by liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(6), 4393-4400.
- Nawrocki, J. et Kasprzyk-Hordern, B. (2010). The efficiency and mechanisms of catalytic ozonation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 99(1-2), 27-42.
- Nayak, P. S. et Singh, B. (2007). Instrumental characterization of clay by XRF, XRD and FTIR. *Bulletin of Materials Science*, 30(3), 235-238.
- Neji, S. B., Trabelsi, M. et Frikha, M. H. (2009). Activation d'une argile smectite Tunisienne à l'acide sulfurique: rôle catalytique de l'acide adsorbé par l'argile. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 11, 191-203.
- No, O. T. (2006). 221: Lemna sp. *Growth Inhibition Test*, 11.
- Nunes, B. S., Carvalho, F. D., Guilhermino, L. M. et Van Stappen, G. (2006). Use of the genus Artemia in ecotoxicity testing. *Environmental pollution*, 144(2), 453-462.
- Nwani, C. D., Lakra, W. S., Nagpure, N. S., Kumar, R., Kushwaha, B. et Srivastava, S. K. (2010). Toxicity of the herbicide atrazine: effects on lipid peroxidation and activities of antioxidant enzymes in the freshwater fish Channa punctatus (Bloch). *International journal of environmental research and public health*, 7(8), 3298-3312.
- Nygård, T. (1983). Pesticide residues and shell thinning in eggs of peregrines in Norway. *Ornis Scandinavica*, 161-166.
- OCDE, L.). 221 (2006) Lemna sp. *Essais d'inhibition de la croissance*.
- OECD, O. (2006). *Guidelines for the Testing of Chemicals. Lemna Sp. Growth Inhibition Test* : Test.
- Ohashi, N., TSUCHIYA, Y., SAsANo, H. et HAMADA, A. (1994). Ozonation products of organophosphorus pesticides in water. *Eisei kagaku*, 40(2), 185-192.
- Organization, W. H. (2003). *Atrazine in drinking-water: background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality*.
- Oshina, I. et Spigulis, J. (2021). Beer–Lambert law for optical tissue diagnostics: current state of the art and the main limitations. *Journal of biomedical optics*, 26(10), 100901-100901.
- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Pirastru, L. et Dewez, D. (2013). Silver nanoparticle toxicity effect on growth and cellular viability of the aquatic plant Lemna gibba. *Environmental toxicology and chemistry*, 32(4), 902-907.
- Oukarroum, A., Barhoumi, L., Samadani, M. et Dewez, D. (2015). Toxic effects of nickel oxide bulk and nanoparticles on the aquatic plant Lemna gibba L. *BioMed research international*, 2015.
- Pala, G., Selamoglu, Z. et Caglar, M. (2019). algae of Lemna minor L. growing in natural habitat and aquarium.
- Palma, P., Palma, V., Fernandes, R., Soares, A. et Barbosa, I. (2008). Acute toxicity of atrazine, endosulfan sulphate and chlorpyrifos to *Vibrio fischeri*, *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna*, relative to their concentrations in surface waters from the Alentejo region of Portugal. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(5), 485-489.
- Pan, G. et Dutta, H. M. (1998). The Inhibition of Brain Acetylcholinesterase Activity of Juvenile Largemouth Bass *Micropterus salmoides* by Sublethal Concentrations of Diazinon. *Environmental Research*, 79(2), 133-137.
- Parent, C., Capelli, N. et Dat, J. (2008). Formes réactives de l'oxygène, stress et mort cellulaire chez les plantes. *Comptes Rendus Biologies*, 331(4), 255-261.
- Parnis, J. M. et Oldham, K. B. (2013). Beyond the Beer–Lambert law: The dependence of absorbance on time in photochemistry. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 267, 6-10.

- Parry, R. (1998). Agricultural phosphorus and water quality: A US Environmental Protection Agency perspective. *Journal of Environmental Quality*, 27(2), 258-261.
- Patočka, J., Wu, Q., França, T. C., Ramalho, T. C., Pita, R. et Kuča, K. (2016). Clinical aspects of the poisoning by the pesticide endosulfan. *Química Nova*, 39(8), 987-994.
- Paxeus, N. (2004). Removal of selected non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), gemfibrozil, carbamazepine, b-blockers, trimethoprim and triclosan in conventional wastewater treatment plants in five EU countries and their discharge to the aquatic environment. *Water science and technology*, 50(5), 253-260.
- Pecora, R. (1985). *Dynamic light scattering: applications of photon correlation spectroscopy*. Springer Science & Business Media.
- Peeraprasompong, P., Thavarungkul, P. et Kanatharana, P. (2006). Development of an In-Line System for the Analysis of 4, 4' -DDT in Water. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 41(6), 807-819.
- Percherancier, J., Chapelon, R. et Pouyet, B. (1995). Semiconductor-sensitized photodegradation of pesticides in water: the case of carbetamide. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 87(3), 261-266.
- Pérez-Estrada, L. A., Maldonado, M. I., Gernjak, W., Agüera, A., Fernández-Alba, A. R., Ballesteros, M. M. et Malato, S. (2005, 2005/04/15/). Decomposition of diclofenac by solar driven photocatalysis at pilot plant scale. *Catalysis Today*, 101(3), 219-226. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cattod.2005.03.013>
- Perreault, F., Samadani, M. et Dewez, D. (2014). Effect of soluble copper released from copper oxide nanoparticles solubilisation on growth and photosynthetic processes of Lemna gibba L. *Nanotoxicology*, 8(4), 374-382.
- Persoone, G., Van de Vel, A., Van Steertegem, M. et De Nayer, B. (1989). Predictive value of laboratory tests with aquatic invertebrates: influence of experimental conditions. *Aquatic Toxicology*, 14(2), 149-167.
- Pesce, S. F. et Wunderlin, D. A. (2004). Biodegradation of lindane by a native bacterial consortium isolated from contaminated river sediment. *International biodeterioration & biodegradation*, 54(4), 255-260.
- Phuong, N. M., Chu, N. C., Van Thuan, D., Ha, M. N., Hanh, N. T., Viet, H. D. T., Minh Thu, N. T., Van Quan, P. et Thanh Truc, N. T. (2019). Novel removal of diazinon pesticide by adsorption and photocatalytic degradation of visible light-driven Fe-TiO₂/Bent-Fe photocatalyst. *Journal of Chemistry*, 2019.
- Pi, Y., Li, X., Xia, Q., Wu, J., Li, Y., Xiao, J. et Li, Z. (2018). Adsorptive and photocatalytic removal of Persistent Organic Pollutants (POPs) in water by metal-organic frameworks (MOFs). *Chemical Engineering Journal*, 337, 351-371.
- Pikosz, M. et Messyasz, B. (2016). Characteristics of Cladophora and coexisting filamentous algae in relation to environmental factors in freshwater ecosystems in Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 45(2), 202-215.
- Pisa, L. W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J.-M., Downs, C. A., Goulson, D., Kreuzweiser, D. P., Krupke, C., Liess, M. et McField, M. (2015). Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 68-102.
- Prabha, V., Barma, R. D., Singh, R. et Madan, A. (2015). Ozone technology in food processing: A review.
- Punzi, M., Anbalagan, A., Börner, R. A., Svensson, B.-M., Jonstrup, M. et Mattiasson, B. (2015). Degradation of a textile azo dye using biological treatment followed by photo-Fenton oxidation: evaluation of toxicity and microbial community structure. *Chemical Engineering Journal*, 270, 290-299.

- Punzi, M., Nilsson, F., Anbalagan, A., Svensson, B.-M., Jönsson, K., Mattiasson, B. et Jonstrup, M. (2015). Combined anaerobic–ozonation process for treatment of textile wastewater: removal of acute toxicity and mutagenicity. *Journal of Hazardous Materials*, 292, 52-60.
- Qi, F., Xu, B., Chen, Z., Ma, J., Sun, D. et Zhang, L. (2009). Influence of aluminum oxides surface properties on catalyzed ozonation of 2, 4, 6-trichloroanisole. *Separation and purification Technology*, 66(2), 405-410.
- Qiu, M., Hu, B., Chen, Z., Yang, H., Zhuang, L. et Wang, X. (2021). Challenges of organic pollutant photocatalysis by biochar-based catalysts. *Biochar*, 3(2), 117-123.
- Qiu, Z., Sun, J., Han, D., Wei, F., Mei, Q., Wei, B., Wang, X., An, Z., Bo, X., Li, M., Xie, J. et He, M. (2020, Sep). Ozonation of diclofenac in the aqueous solution: Mechanism, kinetics and ecotoxicity assessment. *Environ Res*, 188, 109713. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109713>
- Qiu, Z., Wang, L. et Zhou, Q. (2013). Effects of bisphenol A on growth, photosynthesis and chlorophyll fluorescence in above-ground organs of soybean seedlings. *Chemosphere*, 90(3), 1274-1280.
- Qu, J., Li, H., Liu, H. et He, H. (2004). Ozonation of alachlor catalyzed by Cu/Al₂O₃ in water. *Catalysis Today*, 90(3-4), 291-296.
- Quaglia, F., Barbato, F., De Rosa, G., Granata, E., Miro, A. et La Rotonda, M. I. (2001). Reduction of the environmental impact of pesticides: waxy microspheres encapsulating the insecticide carbaryl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4808-4812.
- Ratcliffe, D. (1967). Decrease in eggshell weight in certain birds of prey. *Nature*, 215(5097), 208-210.
- Ratcliffe, D. A. (1963). The status of the Peregrine in Great Britain. *Bird Study*, 10(2), 56-90.
- Reijnders, P. et Brasseur, S. (1992). Xenobiotic induced hormonal and associated developmental disorders in marine organisms and related effects in humans: an overview. *Chemically induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/human connection*, 159-174.
- Richard, E. P., Goss, J. R., Arntzen, C. J. et Slife, F. W. (1983). Determination of herbicide inhibition of photosynthetic electron transport by fluorescence. *Weed Science*, 31(3), 361-367.
- Risebrough, R. et Jarman, W. (1985). Organochlorine contaminants in California bald eagles: Origins and potential effects on reproduction. *Rep to Pacific Gas and Electric Co, Berkeley, CA*.
- Rivas, J., Rodríguez, E., Beltrán, F. J., García-Araya, J. F. et Alvarez, P. (2001). Homogeneous catalyzed ozonation of simazine. Effect of Mn (II) and Fe (II). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 36(3), 317-330.
- Rizk, N. (2012). *Sorption vs biodégradation du diclofénac par des biofilms formés en laboratoire à partir d'eaux naturelles* Éditeur non identifié].
- Rochkind-Dubins, M. L., Sayler, G. S. et Blackburn, J. W. (2020). *Microbiological decomposition of chlorinated aromatic compounds*. CRC Press.
- Roman, M., Ström, L., Tell, H. et Josefsson, M. (2013). Liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry analysis of postmortem blood samples for targeted toxicological screening. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 405, 4107-4125.
- Rosenfeld, P. E. et Feng, L. (2011). *Risks of hazardous wastes*. William Andrew.
- Rout, G. R. et Sahoo, S. (2015). Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science*, 3, 1-24.
- Saint-Pierre, L. et Hanna, C. (2021). PERTURBATION DU CATABOLISME DE L'ACIDE RÉTINOÏQUE PAR DES PESTICIDES DANS DEUX LIGNÉES CELLULAIRES HÉPATIQUES DE POISSON: SCÉNARIO PLAUSIBLE POUR LA PERCHAUDE DU.
- Saleem, H., Mazhar, S., Syed, Q., Javed, M. Q. et Adnan, A. (2021). Bio-characterization of food grade pyocyanin bio-pigment extracted from chromogenic *Pseudomonas* species found in Pakistani native flora. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(3), 103005.

- Samet, Y., Agengui, L. et Abdelhédi, R. (2010). Electrochemical degradation of chlorpyrifos pesticide in aqueous solutions by anodic oxidation at boron-doped diamond electrodes. *Chemical Engineering Journal*, 161(1-2), 167-172.
- Sánchez-Bayo, F. (2012). Insecticides mode of action in relation to their toxicity to non-target organisms. *J. Environ. Anal. Toxicol. S*, 4, S4-002.
- Sanchez-Montes, I., Wachter, N., Silva, B. F. et Aquino, J. M. (2020). Comparison of UVC-based advanced oxidation processes in the mineralization of bisphenol A: Identification of oxidation by products and toxicity evaluation. *Chemical Engineering Journal*, 386, 123986.
- Sargent, M. (2013). Guide to achieving reliable quantitative LC-MS measurements. *RSC analytical methods committee*, 68.
- Sarkar, B., Mukhopadhyay, R., Ramanayaka, S., Bolan, N. et Ok, Y. S. (2021). The role of soils in the disposition, sequestration and decontamination of environmental contaminants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 376(1834), 20200177.
- Schmidt, W., Thomine, S. et Buckhout, T. J. (2020). *Iron nutrition and interactions in plants* (vol. 10, p. 1670) : Frontiers Media SA.
- Schrijver, A. D. et Mot, R. D. (1999). Degradation of pesticides by actinomycetes. *Critical reviews in microbiology*, 25(2), 85-119.
- Scribner, E. A., Thurman, E., Goolsby, D. A., Meyer, M. T., Battaglin, W. A. et Kolpin, D. W. (2005). *Summary of significant results from studies of triazine herbicides and their degradation products in surface water, ground water, and precipitation in the midwestern United States during the 1990 s*.
- Sein, M. M., Zedda, M., Tuerk, J., Schmidt, T. C., Golloch, A. et von Sonntag, C. (2008, 2008/09/01). Oxidation of Diclofenac with Ozone in Aqueous Solution. *Environmental Science & Technology*, 42(17), 6656-6662. <https://doi.org/10.1021/es8008612>
- Senesi, N. (1992). Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Science of The Total Environment*, 123, 63-76.
- Sethunathan, N. et MacRae, I. C. (1969). Persistence and biodegradation of diazinon in submerged soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(2), 221-225.
- Shalan, H., Ghaly, M. Y. et Farah, J. Y. (2007). Techno economic evaluation for the treatment of pesticide industry effluents using membrane schemes. *Desalination*, 204(1-3), 265-276.
- Shabalina, A., Mokrousov, G., Fakhrutdinova, E., Izaak, T. et Wu, J. (2012). Water Ozonation with Copper Catalyst for Organic Pollutants Removal. *Eurasian Chemico-Technological Journal*, 14(3), 219-226.
- Shahidi, D., Moheb, A., Abbas, R., Larouk, S., Roy, R. et Azzouz, A. (2015, Nov 15). Total mineralization of sulfamethoxazole and aromatic pollutants through Fe²⁺-montmorillonite catalyzed ozonation. *J Hazard Mater*, 298, 338-350. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.05.029>
- Shahidi, D., Moheb, A., Abbas, R., Larouk, S., Roy, R. et Azzouz, A. (2015). Total mineralization of sulfamethoxazole and aromatic pollutants through Fe²⁺-montmorillonite catalyzed ozonation. *Journal of Hazardous Materials*, 298, 338-350.
- Shahidi, D., Roy, R. et Azzouz, A. (2014). Total removal of oxalic acid via synergistic parameter interaction in montmorillonite catalyzed ozonation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2(1), 20-30.
- Shahidi, D., Roy, R. et Azzouz, A. (2015a). Advances in catalytic oxidation of organic pollutants—prospects for thorough mineralization by natural clay catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 174, 277-292.
- Shahidi, D., Roy, R. et Azzouz, A. (2015b, 2015/09/01/). Advances in catalytic oxidation of organic pollutants – Prospects for thorough mineralization by natural clay catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 174-175, 277-292. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2015.02.042>

- Sidhu, G. K., Singh, S., Kumar, V., Dhanjal, D. S., Datta, S. et Singh, J. (2019). Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: a review. *Critical reviews in environmental science and technology*, 49(13), 1135-1187.
- Sikorski, Ł., Baciak, M., Beś, A. et Adomas, B. (2019). The effects of glyphosate-based herbicide formulations on *Lemna minor*, a non-target species. *Aquatic Toxicology*, 209, 70-80.
- Singh, A. K. et Chandra, R. (2019). Pollutants released from the pulp paper industry: Aquatic toxicity and their health hazards. *Aquatic Toxicology*, 211, 202-216.
- Singh, N., Megharaj, M., Kookana, R. S., Naidu, R. et Sethunathan, N. (2004). Atrazine and simazine degradation in *Pennisetum* rhizosphere. *Chemosphere*, 56(3), 257-263.
- Singh, S. B., Lal, S. P., Pant, S. et Kulshrestha, G. (2008). Degradation of atrazine by an acclimatized soil fungal isolate. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 43(1), 27-33.
- Skoog, D. A., Holler, F. J. et Crouch, S. (2007). Principles of instrumental analysis. Thomson Brooks. *Cole, Canada*.
- So, H.-L., Lin, K.-Y., Chu, W. et Gong, H. (2020). Degradation of triclosan by recyclable MnFe₂O₄-activated PMS: process modification for reduced toxicity and enhanced performance. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 59(10), 4257-4264.
- Solomon, K. R., Baker, D. B., Richards, R. P., Dixon, K. R., Klaine, S. J., La Point, T. W., Kendall, R. J., Weisskopf, C. P., Giddings, J. M. et Giesy, J. P. (1996). Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 15(1), 31-76.
- Sorgeloos, P., Rémiche-Van Der Wielen, C. et PERsooNE, G. (1978). The use of *Artemia nauplii* for toxicity tests—a critical analysis. *Ecotoxicology and environmental safety*, 2(3-4), 249-255.
- Staehelin, J. et Hoigne, J. (1985). Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. *Environmental Science & Technology*, 19(12), 1206-1213.
- Stevens, M. M., Reinke, R. F., Coombes, N. E., Helliwell, S. et Mo, J. (2008). Influence of imidacloprid seed treatments on rice germination and early seedling growth. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 64(3), 215-222.
- Storicescu, C. et Munteanu, L. (1977). Natural curative factors of the Main balneoclimateric Resorts in Romania. *Bucharest, Editura sport-Turisin*.
- Stoytcheva, M. (2011). *Pesticides in the Modern World: Pesticides Use and Management*. BoD—Books on Demand.
- Stulten, D., Zuhlke, S., Lamshoft, M. et Spitteller, M. (2008, Nov 1). Occurrence of diclofenac and selected metabolites in sewage effluents. *Sci Total Environ*, 405(1-3), 310-316. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.05.036>
- Sui, M., Liu, J. et Sheng, L. (2011). Mesoporous material supported manganese oxides (MnOx/MCM-41) catalytic ozonation of nitrobenzene in water. *Applied Catalysis B: Environmental*, 106(1-2), 195-203.
- Sulpizi, M., Gaigeot, M.-P. et Sprik, M. (2012). The silica–water interface: how the silanols determine the surface acidity and modulate the water properties. *Journal of chemical theory and computation*, 8(3), 1037-1047.
- Talebzadeh, F. et Valeo, C. (2022). Evaluating the Effects of Environmental Stress on Leaf Chlorophyll Content as an Index for Tree Health. (p. 012007). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing.
- Tanaka, T., Morita, A., Kato, M., Hirai, T., Mizoue, T., Terauchi, Y., Watanabe, S. et Noda, M. (2011). Congener-specific polychlorinated biphenyls and the prevalence of diabetes in the Saku Control Obesity Program. *Endocrine journal*, 1104210570-1104210570.
- Tang, W. Z. et Tassos, S. (1997). Oxidation kinetics and mechanisms of trihalomethanes by Fenton's reagent. *Water research*, 31(5), 1117-1125.

- Taroco, H., Santos, J. F., Domingues, R. et Matencio, T. (2011). Ceramic materials for solid oxide fuel cells. *Advances in ceramics-Synthesis and Characterization, processing and specific applications*, 423-446.
- Tchinsa, A., Hossain, M. F., Wang, T. et Zhou, Y. (2021). Removal of organic pollutants from aqueous solution using metal organic frameworks (MOFs)-based adsorbents: A review. *Chemosphere*, 284, 131393.
- Tchounwoul, P., Wilson, B., Ishaque, A., Ransome, R., Huang, M.-J. et Leszczynski, J. (2000). Toxicity assessment of atrazine and related triazine compounds in the microtox assay, and computational modeling for their structure-activity relationship. *International Journal of Molecular Sciences*, 1(4), 63-74.
- Thakur, M. et Pathania, D. (2020). Environmental fate of organic pollutants and effect on human health. Dans *Abatement of Environmental Pollutants* (p. 245-262). Elsevier.
- Thiour-Mauprivez, C., Martin-Laurent, F., Calvayrac, C. et Barthelmebs, L. (2019). Effects of herbicide on non-target microorganisms: towards a new class of biomarkers? *Science of The Total Environment*, 684, 314-325.
- Tixier, C., Sancelme, M., Aït-Aïssa, S., Widehem, P., Bonnemoy, F., Cuer, A., Truffaut, N. et Veschambre, H. (2002). Biotransformation of phenylurea herbicides by a soil bacterial strain, *Arthrobacter* sp. N2: structure, ecotoxicity and fate of diuron metabolite with soil fungi. *Chemosphere*, 46(4), 519-526.
- Tjahjanto, R. T. et Wardhani, S. (2012). Ozone determination: A comparison of quantitative analysis methods. *The Journal of Pure and Applied Chemistry Research*, 1(1), 18-25.
- Torrents, A., Anderson, B. G., Bilboulia, S., Johnson, W. E. et Hapeman, C. J. (1997). Atrazine photolysis: mechanistic investigations of direct and nitrate-mediated hydroxy radical processes and the influence of dissolved organic carbon from the Chesapeake Bay. *Environmental Science & Technology*, 31(5), 1476-1482.
- Tran, N. (2016). *Développement d'un procédé de traitement d'oxydation sono-électrochimique de polluants organiques d'intérêt émergent de type pharmaceutique* Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique].
- Udrea, I. et Bradu, C. (2003). Ozonation of substituted phenols in aqueous solutions over CuO-Al₂O₃ catalyst. *Ozone Science & Engineering*, 25(4), 335-343.
- Üner, N., Oruç, E. Ö., Sevçiler, Y., Şahin, N., Durmaz, H. et Usta, D. (2006). Effects of diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain of *Oreochromis niloticus*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 21(3), 241-245.
- Usher, P. J. (1976). Evaluating country food in the northern native economy. *Arctic*, 105-120.
- Vangronsveld, J., Mocquot, B., Mench, M. et Clijsters, H. (1997). Biomarqueurs du stress oxydant chez les végétaux. *Biomarqueurs en écotoxicologie*/Aspects fondamentaux*. Masson Edit, Paris, 419.
- Vanhaecke, P., Tackaert, W. et Sorgeloos, P. (1987). The biogeography of *Artemia*: an updated review. *Artemia research and its applications*, 1, 129-155.
- Vel Leitner, N. K., Delouane, B., Legube, B. et Luck, F. (1999). Effects of catalysts during ozonation of salicylic acid, peptides and humic substances in aqueous solution.
- Velioglu, Y. S., Ergen, Ş. F., Pelin, A. et ALTINDAĞ, A. (2018). Effects of ozone treatment on the degradation and toxicity of several pesticides in different grou. *Journal of Agricultural Sciences*, 24(2), 245-255.
- Velki, M., Di Paolo, C., Nelles, J., Seiler, T.-B. et Hollert, H. (2017). Diuron and diazinon alter the behavior of zebrafish embryos and larvae in the absence of acute toxicity. *Chemosphere*, 180, 65-76.
- Verma, G. et Mishra, M. (2018). Development and optimization of UV-Vis spectroscopy-a review. *World J. Pharm. Res*, 7(11), 1170-1180.
- Vieno, N. et Sillanpää, M. (2014). Fate of diclofenac in municipal wastewater treatment plant—A review. *Environment International*, 69, 28-39.

- Vlyssides, A., Barampouti, E. M., Mai, S., Arapoglou, D. et Kotronarou, A. (2004, Nov 15). Degradation of methylparathion in aqueous solution by electrochemical oxidation. *Environ Sci Technol*, 38(22), 6125-6131. <https://doi.org/10.1021/es049726b>
- Vogna, D., Marotta, R., Napolitano, A., Andreozzi, R. et d'Ischia, M. (2004, 2004/01/01/). Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H₂O₂ and ozone. *Water research*, 38(2), 414-422. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.09.028>
- von Wirén-Lehr, S., Scheunert, I. et Dörfler, U. (2002). Mineralization of plant-incorporated residues of 14C-isoproturon in arable soils originating from different farming systems. *Geoderma*, 105(3-4), 351-366.
- Wait, S. et Thomas, D. (2003). The characterisation of base oil recovered from the low temperature thermal desorption of drill cuttings. SPE/EPA/DOE Exploration and Production Environmental Conference, OnePetro.
- Walker, W., Mattox, W. G. et Risebrough, R. W. (1973). Pollutant and shell thickness determinations of peregrine eggs from west Greenland. *Arctic*, 26(3), 256-258.
- Wang, J. et Chen, H. (2020). Catalytic ozonation for water and wastewater treatment: Recent advances and perspective. *Science of The Total Environment*, 704, 135249.
- Wang, J. et Wang, S. (2021). Toxicity changes of wastewater during various advanced oxidation processes treatment: An overview. *Journal of Cleaner Production*, 128202.
- Wang, W. (1990). Literature review on duckweed toxicity testing. *Environmental Research*, 52(1), 7-22.
- Ware, G. W., Albert, L. A., Bro-Rasmussen, F., Crosby, D., de Voogt, P., Frehse, H., Hutzinger, O., Mayer, F. L., Morgan, D. et Park, D. L. (2003). Disposal and degradation of pesticide waste. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews*, 123-200.
- Woldemeskel, M. (2013). Cancer: A prehistoric disease still a threat to the modern man. *J Clin Exp Pathol*, 57, 2161-0681.
- Wu, J., Lan, C. et Chan, G. Y. S. (2009). Organophosphorus pesticide ozonation and formation of oxon intermediates. *Chemosphere*, 76(9), 1308-1314.
- Wu, J., Lin, L., Luan, T., Chan Gilbert, Y. S. et Lan, C. (2007, Oct). Effects of organophosphorus pesticides and their ozonation byproducts on gap junctional intercellular communication in rat liver cell line. *Food Chem Toxicol*, 45(10), 2057-2063. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.05.006>
- Wypych, A. et Wypych, G. (2015). *Databook of biocides*. Elsevier.
- Xie, X., He, Z., Chen, N., Tang, Z., Wang, Q. et Cai, Y. (2019). The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant. *BioMed research international*, 2019.
- Yahiatene, D. (2016). *Mise au point et validation d'une méthode de dosage de la méthylprédnisolone par spectrophotométrie UV/Visible universite de bouira*].
- Yan, C., Nie, M., Yang, Y., Zhou, J., Liu, M., Baalousha, M. et Lead, J. R. (2015). Effect of colloids on the occurrence, distribution and photolysis of emerging organic contaminants in wastewaters. *Journal of Hazardous Materials*, 299, 241-248.
- Yasmine, M. D. et Belhafaoui, F.). Dégradation d'un polluant organique par la photocatalyse hétérogène.
- Yu, H., Nie, E., Xu, J., Yan, S., Cooper, W. J. et Song, W. (2013, 2013/04/01/). Degradation of Diclofenac by Advanced Oxidation and Reduction Processes: Kinetic Studies, Degradation Pathways and Toxicity Assessments. *Water research*, 47(5), 1909-1918. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.01.016>
- Yu, Y. L., Fang, H., Wang, X., Wu, X. M., Shan, M. et Yu, J. Q. (2006). Characterization of a fungal strain capable of degrading chlorpyrifos and its use in detoxification of the insecticide on vegetables. *Biodegradation*, 17(5), 487-494.
- Zadaka, D., Nir, S., Radian, A. et Mishaël, Y. G. (2009). Atrazine removal from water by polycation-clay composites: effect of dissolved organic matter and comparison to activated carbon. *Water research*, 43(3), 677-683.

- Zayed, S. et Hassan, A. (1965). METABOLISM OF ORGANOPHOSPHORUS INSECTICIDES: I. DISTRIBUTION AND METABOLISM OF DIPTEREX IN ADULT LARVA OF THE COTTON LEAF WORM (PRODENIA LITURA F.). *Canadian Journal of Biochemistry*, 43(8), 1257-1262.
- Zekkari, M., Ouargli-Saker, R., Boudissa, F., Lachachi, A. K., Sekkal, K. N. E. H., Tayeb, R., Boukoussa, B. et Azzouz, A. (2022). Silica-catalyzed ozonation of 17 α -ethinyl-estradiol in aqueous media-to better understand the role of silica in soils. *Chemosphere*, 298, 134312.
- Zeng, Y.-F., Liu, Z.-L. et Qin, Z.-Z. (2009). Decolorization of molasses fermentation wastewater by SnO₂-catalyzed ozonation. *Journal of Hazardous Materials*, 162(2-3), 682-687.
- Zhang, B., Xian, Q., Gong, T., Li, Y., Li, A. et Feng, J. (2017). DBPs formation and genotoxicity during chlorination of pyrimidines and purines bases. *Chemical Engineering Journal*, 307, 884-890.
- Zhang, Q. et Pehkonen, S. O. (1999). Oxidation of diazinon by aqueous chlorine: kinetics, mechanisms, and product studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), 1760-1766.
- Zhang, Y., Geißen, S.-U. et Gal, C. (2008). Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73(8), 1151-1161.
- Zhang, Y., Geissen, S. U. et Gal, C. (2008, Nov). Carbamazepine and diclofenac: removal in wastewater treatment plants and occurrence in water bodies. *Chemosphere*, 73(8), 1151-1161. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.086>
- Zhang, Y., Zhang, W., Liao, X., Zhang, J., Hou, Y., Xiao, Z., Chen, F. et Hu, X. (2010, 2010/04/01/). Degradation of diazinon in apple juice by ultrasonic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(4), 662-668. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2009.11.007>
- Zoubir, A. (2012). *Etude des effets toxiques d'un fongicide (Amistar Xtra) et d'un herbicide (Glyphosate) sur la biologie et le comportement de Paramecium tetraurelia* UNIVERSITE BADJI MOKHTAR ANNABA].