

Thèse de Doctorat

Maxime JULIEN

*Mémoire présenté en vue de l'obtention du
grade de Docteur de l'Université de Nantes
sous le label de L'Université Nantes Angers Le Mans*

École doctorale : 3MPL

Discipline : Chimie
Spécialité : Chimie Analytique
Unité de recherche : Laboratoire CEISAM (UMR CNRS 6230)

Soutenue le 2 Octobre 2015

Détermination des effets isotopiques position-spécifiques (PSIA) par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du carbone-13 et modélisation de la remédiation du méthyl *tert*-butyl éther (MTBE)

JURY

Rapporteurs : **Barbara SHERWOOD-LOLLAR**, Professeur, Université de Toronto
Daniel HUNKELER, Directeur de Recherche, Université de Neuchâtel

Examineurs : **Patrick HÖHENER**, Professeur, Université Aix-Marseille
Richard ROBINS, Directeur de Recherche, Université de Nantes

Directeur de Thèse : **Gérald REMAUD**, Professeur, Université de Nantes

Co-encadrant de Thèse : **Pierrick NUN**, Maître de Conférences, Université de Nantes



UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES

ECOLE DOCTORALE • 3MPL

Année 2015

Détermination des Effets Isotopiques Position-Spécifiques par
Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du carbone-13 et
modélisation de la remédiation du méthyl *tert*-butyl éther (MTBE)

THESE DE DOCTORAT

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique

Présentée

et soutenue publiquement par

Maxime JULIEN

Le 2 octobre 2015, devant le jury ci-dessous :

Président M Richard ROBINS, Directeur de Recherche, Université de Nantes
Rapporteurs Mme Barbara SHERWOOD-LOLLAR, Professeur, Université de Toronto
M Daniel HUNKELER, Directeur de Recherche, Université de Neuchâtel
Examineur M Patrick HÖHENER, Professeur, Université Aix-Marseille

Directeur de thèse M Gérald REMAUD, Professeur, Université de Nantes

Co-encadrant de thèse M Pierrick NUN, Maître de Conférences, Université de Nantes

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au sein de l'équipe EBSI (Elucidation de Biosynthèses et Spectrométries Isotopiques) du laboratoire CEISAM (Chimie et Interdisciplinarité : Synthèse, Analyse, Modélisation). Je souhaiterais remercier Monsieur Bruno Bujoli de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

Je tiens tout particulièrement à remercier Monsieur Gérald Remaud pour son encadrement, sa confiance, ses nombreux conseils et son enthousiasme.

Je remercie également Monsieur Pierrick Nun pour avoir partagé son savoir, sa disponibilité et pour les bons moments passés en congrès.

Je souhaite également remercier Madame Barbara Sherwood-Lollar et Monsieur Daniel Hunkeler pour m'avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs de cette thèse.

Je remercie également l'Agence Nationale de la Recherche (ANR) d'avoir financé ce projet de recherche.

Un grand merci également à Monsieur Patrick Höhener pour avoir partagé son savoir sur les études environnementales et sur la modélisation ainsi que pour ses encouragements tout au long de ce projet.

Je souhaite également remercier Monsieur Richard Robins pour son aide au cours de cette thèse ainsi que pour sa confiance depuis mon stage de Master.

Merci à Virginie Silvestre pour ses nombreux conseils en RMN ainsi qu'à Benoît Charrier pour les dépannages des spectromètres quand ils refusaient de fonctionner. Merci également à Monsieur Serge Akoka aux côtés de qui j'ai beaucoup appris en RMN.

Un grand merci à Anne-Marie Schiphorst, Mathilde Grand et Ingrid Antheaume pour le bon fonctionnement de la SMRI et leur bonne humeur.

Merci également à Denis Loquet pour les analyses en GC et HPLC.

Merci à mes stagiaires Léa Roch et Mathilde Liégeois pour leur participation à ce projet ainsi que pour leur bonne humeur tout au long de leur passage au laboratoire.

Je remercie également mes collègues doctorants et post-docs avec qui j'ai passé des moments inoubliables au cours de ces trois années de thèse.

Merci tout d'abord à Kevin Bayle, le voyageur, pour les nombreuses soirées passées ensemble, les déboires partagés au laboratoire ainsi que la colloc' dite « de l'échec ». Merci également à Didier Gbé Gondo Diomandé, l'homme aux « affaires » pour tous les fous rires au labo ainsi qu'en soirées africaines. Un immense merci à mon compère Nicolas Oger, dit le professeur, pour ces années passées ensemble, les soirées et autres (nombreuses) pauses cigarettes. Merci également à Yoan Brissonnet, le shérif, pour l'ambiance au sein du laboratoire et surtout en dehors. Un grand merci à Renaud Boisseau, mon coach sportif, pour tous les bons moments passés ensemble ainsi que pour notre futur prix Nobel. Merci également à Katarzyna Romek, dite Kasia ou Igor, pour les soirées passées ensemble ainsi que pour ses tentatives de me faire apprécier la vodka. Un grand merci également à Titouan Jaunet-Lahary pour cette année passée en colloc' et pour les bons moments passés durant ces dernières années. Merci aussi à Romy Vomiandry, le lapin, pour les nombreuses heures d'anti-stress en dehors du laboratoire.

Merci également aux « jeunes » de l'équipe EBSI, Laetitia « Micheline » Rouger, et Boris « de Nice » Gouilleux ainsi qu'au moins jeunes Rémi « Hellfest » Vanel, le petit Mbaye Diaw Dioum et le grand François Kouamé Prévost.

Un grand merci aux membres de l'équipe CORAIL Thibaut Chalopin, Sami Brument, Martin D'Halluin et Dimitri Alvarez-Dorta pour avoir si souvent cru que je faisais partie de leur groupe de recherche et pour tous les bons moments passés.

Merci au deuxième étage également, Yoann Farré, Florent Légalité, David Provost, Pauline Girard, Adrien Faucon, Kristen Snell et Gabriel Marchand pour les nombreux verres et la bonne ambiance partagés au cours de cette thèse.

La liste est très longue, donc merci à l'ensemble des membres du laboratoire CEISAM avec qui j'ai eu plaisir de travailler au cours de ces trois années de thèse.

Merci également à mes (anciens) collègues biologistes, David Tézé, Simon Huet, Denis Velic et Marine Goux pour les soirées passées ensemble au cours de ces trois ans.

Un très grand merci à mes « vieux potes » pour m'avoir encouragé et avoir cru en moi durant ces longues années, ils se reconnaîtront en lisant ce manuscrit.

Enfin, merci à ma famille ainsi qu'à Mélina pour leurs encouragements, leur patience et leur optimisme au cours de ces travaux de thèse.

Abréviations – Notations utilisées

^{13}C	Carbone-13
^{19}F	Fluor-19
^{15}N	Azote-15
^{18}O	Oxygène-18
^2H ou D	Deutérium
^{34}S	Soufre-34
^{37}Cl	Chlore-37
^{81}Br	Brome-81
AFE	Évaporation sous Flux d'Air
BTEX	Benzène, Toluène, Ethylbenzène et Xylènes
CCl_4	Tétrachlorométhane
ClO^-	Ion hypochlorite
$\text{Cr}(\text{Acac})_3$	Tris-acétylacétonate de chrome III
CRDS	Cavity Ring-Down Spectrometry
CSIA	Compound Specific Isotope Analysis
DE	Distillation
EA	Analyseur Élémentaire
f	Avancement de la réaction ou fraction de substrat restant
Fe^{2+}	Ion fer (II)
f_i	Fraction molaire
F_i	Fraction molaire statistique
f_i/F_i	Fraction molaire réduite
GC	Chromatographie en phase Gazeuse
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
H_2SO_4	Acide sulfurique
HPLC	Chromatographie Liquide à Haute Performance
HR-MS	Spectrométrie de Masse à Haute Résolution
ICP-MS	Spectrométrie de Masse couplée à une ionisation par torche à plasma
IR	Infrarouge
irm- ^{13}C NMR	Mesure isotopique par RMN du carbone-13

irm- ² H NMR	Mesure isotopique par RMN du deutérium
irm-EA/MS	Mesure isotopique par Spectrométrie de Masse couplée à un Analyseur Élémentaire
irm-GC/MS	Mesure isotopique par Spectrométrie de Masse couplée à la Chromatographie en phase Gazeuse
irm-MS	Mesure isotopique par Spectrométrie de Masse
k ¹² C	Constante de vitesse de réaction du carbone-12
k ¹³ C	Constante de vitesse de réaction du carbone-13
KIE	Effet Isotopique Cinétique
KMnO ₄	Permanganate de potassium
LPE	Évaporation à basse Pression
m/z	Rapport masse sur charge
MS	Spectrométrie de Masse
MTBE	Méthyl <i>tert</i> -butyl éther
N ₂	Diazote
NaOH	Soude
Na ₂ S ₂ O ₃	Thiosulfate de sodium
NAPQI	<i>N</i> -acétyl- <i>p</i> -benzoquinone imine
OH [•]	Radical hydroxyle
PE	Évaporation Passive
PSIA	Analyse Isotopique Position-Spécifique
Py-GC-irm-MS	Pyrolyse couplée à la Spectrométrie de Masse de Rapports Isotopiques
R	Rapport isotopique
RMN	Résonance Magnétique Nucléaire
RMN-FINS (SNIF-NMR)	Mesure du Fractionnement Isotopique Naturel Spécifique par Résonance Magnétique Nucléaire
S/B	Rapport signal-sur-bruit
S ₂ O ₈ ²⁻	Ion persulfate
SPME	Micro-Extraction en Phase Solide
TBA	Alcool <i>Tert</i> -Butylique
TCE	Trichloroéthène
u	Incertitude individuelle

U	Incertitude élargie
u _c	Incertitude combinée
VOCs	Composés Organiques Volatiles
δ ¹³ C	Composition isotopique en carbone-13

Introduction générale.....	1
I – Méthodes de mesure des effets isotopiques totaux et position-spécifiques.....	5
I-1 Détermination de la composition isotopique totale.....	6
I-1-1 ICP-MS.....	6
I-1-2 CRDS.....	6
I-1-3 HR-MS.....	7
I-1-4 irm-MS.....	7
I-2 Détermination de la composition isotopique position-spécifique.....	11
I-2-1 La fragmentation.....	11
I-2-2 Pyrolyse couplée à la Spectrométrie de Masse de Rapports Isotopiques (irm-Py-GC/MS).....	12
I-2-3 La RMN quantitative.....	14
I-3 La RMN isotopique du ^{13}C (irm- ^{13}C NMR).....	14
I-3-1 Historique.....	14
I-3-2 Conditions d'acquisition de l'irm- ^{13}C NMR.....	15
I-3-3 Rapport signal sur bruit (S/B) et précision.....	15
I-3-4 Délai de répétition (TR) et angle d'impulsion (β).....	17
I-3-5 Le découplage.....	19
I-3-6 Préparation d'échantillons.....	22
I-3-7 Résumé des conditions d'acquisitions.....	24
I-3-8 Traitement des spectres et détermination de la surface des pics d'intérêt.....	24
I-3-9 Calcul des compositions isotopiques position-spécifiques.....	25
I-4 Expression des résultats.....	27
I-4-1 Le fractionnement isotopique ($\Delta\delta^{13}\text{C}$).....	27
I-4-2 Le facteur de fractionnement (α).....	27
I-4-3 Les effets isotopiques cinétiques (KIE).....	28
I-4-4 Le facteur d'enrichissement (ϵ).....	29
I-4-5 Calcul de l'incertitude étendue.....	30
I-5 Références bibliographiques.....	34

II – Détermination des effets isotopiques position- spécifiques au cours de la remédiation des contaminants du sol39

II-1 Choix des polluants étudiés	39
II-2 Détermination de l'origine des polluants – étude forensique.....	41
II-1-1 Définitions et objectifs	41
II-2-2 Les additifs des carburants	43
II-2-3 Le trichloroéthène (TCE)	44
II-2-4 Le toluène et le <i>n</i> -heptane.....	44
II-2-5 L'acétone.....	44
II-2-6 Echantillons analysés.....	45
II-2-7 Résultats et discussion.....	46
II-2-7-1 Les additifs des carburants	46
II-2-7-2 Le TCE.....	49
II-2-7-3 Le <i>n</i> -heptane.....	49
II-2-7-4 Le toluène	50
II-2-7-5 L'acétone	51
II-2-8 Conclusion	51
II-3 Le changement d'état liquide-vapeur	53
II-3-1 Protocoles d'évaporation.....	54
II-3-1-1 Évaporation passive (PE).....	54
II-3-1-2 Évaporation sous flux d'air (AFE).....	54
II-3-1-3 Évaporation sous vide (LPE).....	55
II-3-1-4 Distillation (DE)	55
II-3-1-5 Étude de répétabilité	55
II-3-2 Résultats	56
II-3-2-1 Étude de répétabilité	56
II-3-2-2 Évaporation des Composés Organiques Volatiles (VOCs)	58
II-3-2-2-1 Le MTBE.....	58
II-3-2-2-2 Le TAME.....	59
II-3-2-2-3 Le toluène	60
II-3-2-2-4 Le <i>n</i> -heptane.....	61

II-3-2-2-5 Le TCE.....	62
II-3-3 Conclusions.....	63
II-4 La dégradation abiotique.....	64
II-4-1 Protocoles de dégradation abiotique.....	65
II-4-1-1 Choix des conditions opératoires.....	65
II-4-1-2 Oxydation du MTBE par le permanganate de potassium (KMnO ₄).....	67
II-4-1-3 Hydrolyse acide.....	67
II-4-2 Résultats.....	68
II-3-2-1 Calculs des facteurs de fractionnement.....	68
II-3-2-2 Oxydation au KMnO ₄	68
II-3-2-3 Hydrolyse.....	70
II-3-2-4 Interprétation des effets isotopiques induits par une rupture de liaison.....	70
II-3-3 Perspectives.....	73
II-4 Migration sur une phase solide.....	74
II-4-1 Choix du polluant.....	76
II-4-2 Protocole de migration.....	78
II-4-3 Résultats.....	80
II-4-3-1 Expression des résultats.....	80
II-4-3-2 Le gel de silice – phase normale.....	81
II-4-3-3 La cellulose.....	82
II-4-3-4 Le charbon actif.....	84
II-4-3-5 Le gel de silice – phase inverse C8.....	85
II-4-4 Conclusions.....	86
II-5 Références bibliographiques.....	87

III – Étude complémentaire et interprétation par modèle mécanistique.....93

III-1 Modélisation des effets isotopiques induits par l'évaporation.....	93
III-1-1 Le modèle de Craig-Gordon.....	93
III-1-2 Résultats des expériences d'évaporation.....	98
III-1-2-1 Évaporation passive (PE).....	98
III-1-2-2 Évaporation en présence d'un flux d'air (AFE).....	100

III-1-2-3 Évaporation à basse pression (LPE).....	102
III-1-2-4 Distillation (DE)	104
III-1-3 Détermination de $\epsilon_{\text{diff air}}$	105
III-1-3-1 $\epsilon_{\text{diff air}}$ calculé	105
III-1-3-2 $\epsilon_{\text{diff air}}$ prédit	107
III-1-3-3 Comparaison entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites d' $\epsilon_{\text{diff air}}$	109
III-1-4 Conclusions.....	115
III-2 La distillation : étude de la transformation liquide-vapeur	116
III-2-1 Protocole de distillation	116
III-2-2 Calcul du facteur de fractionnement (α)	118
III-2-3 Résultats	120
III-2-3-1 Étude de répétabilité	120
III-2-3-2 La distillation des alcools	121
III-2-3-3 La distillation des cétones	124
III-2-3-4 La distillation des composés obtenus par synthèse	126
III-2-3-5 La distillation des composés issus d'hydrocarbures fossiles.....	130
III-2-4 Bilan	132
III-2-5 Modèle mécanistique proposé	133
III-2-5-1 Mesure du pouvoir donneur de liaisons hydrogène.....	133
III-2-5-2 Mesure du pouvoir accepteur de liaisons hydrogène.....	135
III-2-5-3 Comparaison des paramètres $E_T(30)$ et β_1 avec les fractionnements isotopiques apparaissant au cours de la distillation.....	137
III-2-5-4 Bilan du lien entre la présence de liaisons hydrogène et les fractionnements isotopiques observés au cours de la distillation.....	140
III-3 Un cas particulier : l'acide acétique.....	141
III-3-1 Protocole des évaporations réalisées sur l'acide acétique	142
III-3-2 Résultats de l'étude d'évaporation de l'acide acétique.....	144
III-3-3 Modèle mécanistique proposé	146
III-3-4 Conclusion	149
III-4 Références bibliographiques.....	150
Conclusion générale	153

Annexes.....158

Liste des Figures 158

Liste des Tableaux 161

Liste des Équations 163

Conditions d'analyse et spectres RMN ¹³C 165

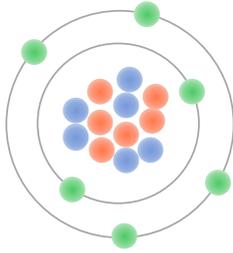
Valorisation scientifique..... 178

Articles dans des revues disposant d'un comité de lecture 178

Communications orales dans des congrès 179

Communications par affiches dans des congrès 180

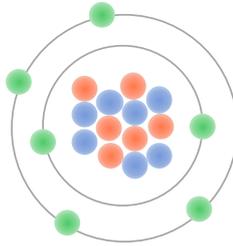
Généralités sur les isotopes stables



^{12}C (98.9%)

● 6 protons

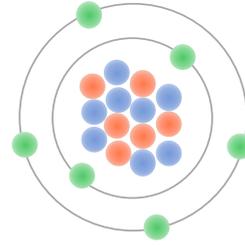
● 6 neutrons



^{13}C (1.1%)

● 6 protons

● 7 neutrons



^{14}C (trace)

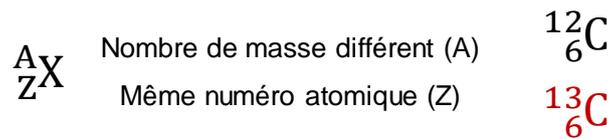
● 6 protons

● 8 neutrons

● électrons

stables

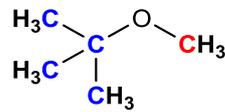
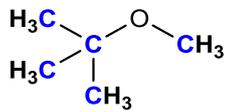
instable



Rapport isotopique :

$$R = \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}$$

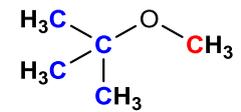
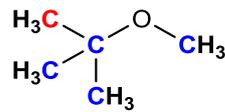
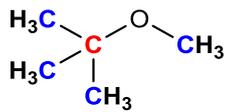
Isotopologues :



● C : ^{12}C

● C : ^{13}C

Isotopomères :



Introduction générale

Le développement de nouvelles méthodes d'analyse permettant d'optimiser la détection de l'origine des polluants ainsi que d'apporter une meilleure compréhension des phénomènes impliqués lors de leur évolution dans le sol et les eaux de surfaces et souterraines reste une nécessité. De plus, les outils qui résulteraient de telles méthodes sont indispensables pour suivre la minéralisation des contaminants au cours du traitement employé pour la remédiation et ainsi d'en vérifier l'efficacité. L'objectif du projet ANR ISOTO-POL (ANR CESA 009 01, du 1^{er} Janvier 2012 au 31 Décembre 2015) est de développer un outil associant les mesures isotopiques à la construction d'un modèle fondamental permettant de tracer les polluants dans l'environnement et de prédire leur devenir au sein du site contaminé. Afin d'illustrer ce principe, les Composés Organiques Volatiles (VOCs) ont été utilisés comme exemples de polluants de l'environnement. Le projet se focalise principalement sur l'un de ces composés : le méthyl *tert*-butyl éther (MTBE). Cet éther, utilisé dans l'essence comme antidétonant, est fréquemment détecté dans les zones aquifères, ce qui pose un problème majeur en termes de gestion environnementale. Le MTBE sera le principal contaminant étudié au cours de ce projet. Les différents procédés de remédiation étudiés concernent les transformations physiques (évaporation et migration) ainsi que la dégradation (bio)chimique (oxydation, hydrolyse et bioremédiation).

Plusieurs travaux portant sur la remédiation des contaminants de l'environnement ont été entrepris ces dernières décennies en utilisant les isotopes stables tels que le ¹³C ou le ²H. L'analyse isotopique est très majoritairement réalisée en utilisant la mesure des Rapports Isotopiques par Spectrométrie de Masse (irm-MS). Cette méthode permet de différencier deux échantillons d'un même composé en fonction de leur composition isotopique, c'est-à-dire leur abondance en isotopes lourds d'un élément donné présent dans ces molécules (le carbone dans cette étude). L'irm-MS peut également apporter des indications sur les phénomènes mis en jeu au cours de la remédiation, en identifiant les changements de composition isotopique induits par ces mécanismes. L'inconvénient majeur de cette technique est qu'elle est réduite à l'analyse totale de l'isotope lourd. En effet, la mesure réalisée ne permet d'obtenir qu'une valeur de composition isotopique moyenne des différents atomes de l'élément analysé. Au cours de cette étude, la méthode mise en avant pour permettre le

développement de ce nouvel outil de traçage et de suivi des contaminants dans le sol et les eaux est l'Analyse Isotopique Position-Spécifique (PSIA) réalisée par RMN isotopique du carbone-13 (irm- ^{13}C NMR). Cette nouvelle approche permet potentiellement d'obtenir une description plus détaillée des phénomènes qui entre en jeu au cours de l'évolution des polluants dans l'environnement.

L'objectif majeur de ce projet est d'aborder cette problématique en posant la question : **quel est l'apport de la mesure isotopique position-spécifique par irm- ^{13}C NMR dans le cadre des études environnementales?** Pour répondre à cette question, la méthode a été confrontée aux autres techniques déjà employées dans la littérature et les effets isotopiques apparaissant au cours des différents phénomènes intervenant au cours de la remédiation ont été déterminés afin d'évaluer l'intérêt de la PSIA pour la compréhension de ces mécanismes.

La première partie de ce manuscrit décrit les différentes méthodes d'analyse isotopique retrouvées dans la bibliographie, en identifiant les techniques, les applications, les résultats obtenus et leurs avantages et inconvénients. Ainsi plusieurs variantes existent autour de la détermination totale en ^{13}C . La méthode la plus utilisée est le couplage entre la Chromatographie en phase Gazeuse et la Spectrométrie de Masse (irm-GC/MS) permettant l'analyse de plusieurs composés d'une matrice CSIA (Compound Specific Isotope Analysis). L'Analyse Isotopique Position-Spécifique (PSIA) est également réalisable par Spectrométrie de Masse mais reste délicate et non généralisable. La RMN présente le double avantage d'avoir une information structurale et d'être quantitative. Le développement récent de la RMN quantitative pour la détermination de la composition isotopique position-spécifique en ^{13}C (irm- ^{13}C NMR) est une opportunité pour tester cette approche à des problématiques environnementales.

Le mode opératoire de l'irm- ^{13}C NMR est également abordé en détails dans cette première partie, afin d'exposer la manière dont les analyses isotopiques ont été réalisées tout au long de ce projet et de **définir les avantages et inconvénients de l'utilisation de l'irm- ^{13}C NMR pour ce type d'étude.** Le MTBE a été utilisé comme exemple pour décrire les protocoles d'analyse isotopique employés dans cette étude.

Dans une seconde partie, les différents phénomènes mis en jeu au cours de la remédiation des contaminants du sol ont été mimés, afin de déterminer les effets isotopiques position-spécifiques en ^{13}C induits par chacun de ces mécanismes. L'obtention d'une base de données de fractionnements isotopiques position-spécifiques devrait **permettre une meilleure compréhension fondamentale des processus qui entraînent un fractionnement**. L'ensemble des phénomènes étudiés dans la deuxième partie du manuscrit sont décrits dans la Figure 1.

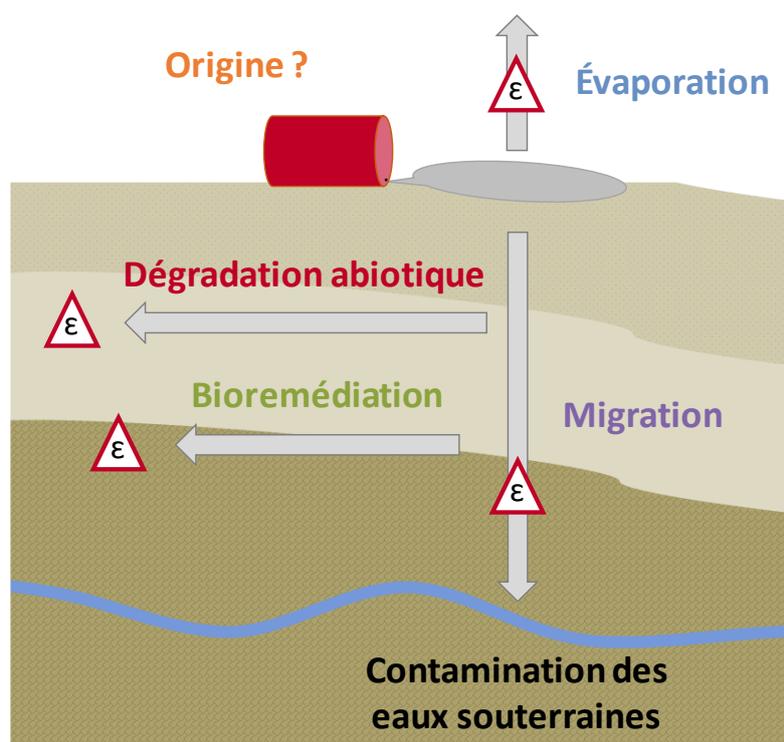


Figure 1 : Schéma général du devenir des Composés Organiques Volatiles dans le sol (le symbole ϵ représente la présence d'un effet isotopique induit par le phénomène associé).

Cette partie débutera avec une étude forensique consistant en la comparaison des profils isotopiques en ^{13}C de différents lots de VOCs, dans le but de démontrer l'apport de l'IRM- ^{13}C NMR en tant qu'outil complémentaire, pour retracer l'origine d'un contaminant dans la nature. La question est : **comment comparer l'échantillon prélevé sur le site contaminé et celui recueilli auprès de la source présumée de contamination?** La suite de ce chapitre traitera de l'influence des fractionnements en ^{13}C sur la composition isotopique position-spécifique des composés étudiés et de leurs produits suite aux transformations physiques (évaporation, migration) et

chimique (oxydation, hydrolyse). L'étude de ces phénomènes devrait permettre d'apporter de nouveaux éléments à prendre en compte lors de la détermination de l'origine d'un contaminant. En effet, si une part importante du polluant a été évaporée, a migré dans le sol et / ou a été dégradée, la composition isotopique du contaminant sera modifiée, ce qui doit faire partie de la réflexion lors de la recherche de l'origine du polluant.

Afin de **développer un modèle fondamental de suivi de la remédiation et de traçage des contaminants durant la pollution d'un sol**, une étape de modélisation des effets isotopiques position-spécifiques observés constitue la troisième partie du manuscrit. Pour cela, des modèles physiques décrits dans la littérature sont utilisés. La modélisation des effets isotopiques sera principalement réalisée sur les changements d'état liquide – vapeur.

Pour la présentation de ce rapport, j'ai fait le choix de n'utiliser que les abréviations anglaises, car pour faire le lien avec la littérature, les abréviations anglaises sont plus facilement exploitables. Pour des raisons pratiques, l'ensemble des valeurs numériques affichées dans ce rapport de thèse sont également affichées au format anglais, c'est-à-dire en utilisant des points au lieu des virgules comme symbole décimal. De plus, les références bibliographiques de chacune des parties traitées ont été regroupées à la fin de chacune des sections et ce afin de permettre une lecture isolée de chacun des chapitres.

La structuration du rapport est donc la suivante :

- Partie I : Méthodes de mesure des effets isotopiques totaux et position-spécifiques.
- Partie II : Détermination des effets isotopiques position-spécifiques au cours de la remédiation des contaminants du sol.
- Partie III : Modélisation des effets isotopiques induits par le changement d'état liquide – vapeur.

L'ensemble est encadré d'une introduction et d'une conclusion générale. Des éléments de perspectives seront aussi abordés.

I – Méthodes de mesure des effets isotopiques totaux et position-spécifiques

Plusieurs techniques permettent la détermination des compositions isotopiques. On distingue les méthodes permettant la mesure isotopique totale d'un échantillon de celles donnant accès à sa composition isotopique position-spécifique complète ou partielle.

La plupart des études environnementales utilisent la mesure isotopique totale pour décrire le devenir des polluants dans le sol ou les eaux souterraines. Différents appareillages tels que la Spectrométrie de Masse de rapport isotopique (irm-MS) sont employés pour ce type de mesures. L'inconvénient de ces techniques est qu'elles ne permettent l'accès qu'à la composition isotopique moyenne des sites carbonés du composé étudié.

Dans le cadre de ces études, la mesure isotopique position-spécifique pourrait être un outil complémentaire à la compréhension des effets isotopiques observés. Les plus anciennes tentatives de détermination de la composition isotopique position-spécifique ont été réalisées par mesure des fragments générés après dégradation chimique ou à l'aide d'un four de pyrolyse, mais ces méthodes ne sont applicables que sur un nombre limité de composés et nécessitent des conditions expérimentales plus ou moins complexes.

La mesure isotopique par RMN du ^{13}C (irm- ^{13}C NMR) permet la détermination de la composition isotopique position-spécifique d'un large panel de composés avec une préparation d'échantillon simple une fois le produit purifié, mais nécessite la mise en place de conditions d'acquisition strictes afin de réaliser les mesures isotopiques avec une précision suffisante.

L'ensemble de ces méthodes de détermination de composition isotopique totale ou position-spécifique sont décrites dans la section suivante, ainsi que la mise en place de l'irm- ^{13}C NMR. Le MTBE a été utilisé comme fil conducteur tout le long du chapitre afin de donner une meilleure description des conditions expérimentales employées.

I-1 Détermination de la composition isotopique totale

Différentes méthodes analytiques peuvent être utilisées afin de déterminer les compositions isotopiques des éléments fréquemment retrouvés dans les polluants des sols et eaux souterraines, telles qu'elles sont décrites dans la revue de Hofstetter *et al.* [1]. Parmi elles, la Spectrométrie de Masse par torche à plasma (ICP-MS) est couramment utilisée en géologie afin de doser les éléments présents dans le sol. Une autre méthode appelée « Cavity Ring-Down Spectroscopy » (CRDS) utilise la mesure d'absorption dans le proche infrarouge afin de déterminer la composition isotopique d'un échantillon en phase gaz. Certaines études utilisent également la Spectrométrie de Masse à Haute Résolution (HR-MS) pour la détermination de compositions isotopiques. Mais la Spectrométrie de Masse de rapport isotopique (irm-MS) demeure la méthode d'analyse isotopique la plus utilisée depuis la fin des années 80 [2].

I-1-1 ICP-MS

L'ICP-MS a été adaptée à l'analyse isotopique, en l'équipant d'un récepteur appelé multicollecteur (MC-ICP-MS), c'est-à-dire un détecteur composé de plusieurs coupes de Faraday capables de capter des ions de rapport masse-sur-charge (m/z) déterminé. Cet appareillage, communément utilisé pour la CSIA de métaux [3-4], a été plus récemment adaptée à l'analyse isotopique du ^{13}C [5-6] et du ^{34}S [7]. Mais les études environnementales utilisant cette technologie restent minoritaires.

I-1-2 CRDS

Cette technique de mesure de l'absorption en infrarouge est principalement utilisée en géosciences pour déterminer la nature des composés présents dans un gaz. La CRDS est aussi régulièrement employée pour la mesure isotopique en ^{13}C [8-10], ainsi qu'en ^{18}O , ^{15}N et ^2H [11]. L'utilisation de cette technique dans le domaine de l'environnement demeure rare actuellement, mais elle se développe du fait que l'instrumentation est d'un coût abordable et s'utilise en appareil de paillasse.

I-1-3 HR-MS

Quelques études utilisent également la Spectrométrie de Masse à haute résolution afin de déterminer des compositions isotopiques en ^{13}C [12] et en ^{37}Cl [13-14], ces deux éléments étant très souvent utilisés dans les études de pollutions des sols et eaux souterraines. Cette méthode de mesure de composition isotopique reste exploratoire et n'est pas utilisée en routine du fait de l'appareillage nécessaire.

I-1-4 irm-MS

Les techniques de mesure décrites précédemment restent très minoritaires dans le domaine de l'environnement et la plupart des mesures isotopiques sont réalisées par Spectrométrie de Masse de Rapports Isotopiques (irm-MS).

Le développement de l'irm-MS débuta avec les travaux réalisés par Nier en 1939 [15] et améliorée par la suite par l'équipe de Urey au cours des années 50 [16]. Mais c'est au cours des années 70 que l'irm-MS fut optimisée, en particulier avec les travaux de Hayes [17] et Galimov [18] et c'est durant les années 80 que le nombre d'études utilisant cet appareillage a pris son essor [2].

Actuellement, l'irm-MS est l'appareil le plus couramment utilisé pour la détermination de la composition isotopique [19]. Bon nombre d'études environnementales utilisent cet outil afin de réaliser des mesures en ^{13}C , ^2H , ^{18}O , ^{15}N et ^{34}S comme décrit dans les revues de Elsner *et al.* [20], Hofstetter [1] et Thullner [21], ainsi que dans le livre de Aelion *et al.* [22]. L'analyse isotopique des éléments Cl et Br est accessible par irm-MS et est également couramment utilisés dans ce type d'études, comme démontré dans la revue de Cincinelli [23].

L'irm-MS supporte plusieurs configurations. En effet, cet appareillage peut être couplé à un Analyseur Élémentaire (EA) qui permet l'analyse d'échantillons purs (liquides ou solides) préalablement conditionnés dans des capsules d'étain (ou d'argent pour les échantillons corrosifs). L'irm-MS peut également être couplée à une Chromatographie en phase Gazeuse (GC) ou encore une Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) ou ionique pour permettre l'analyse isotopique de mélanges de composés organiques volatiles ou non, respectivement.

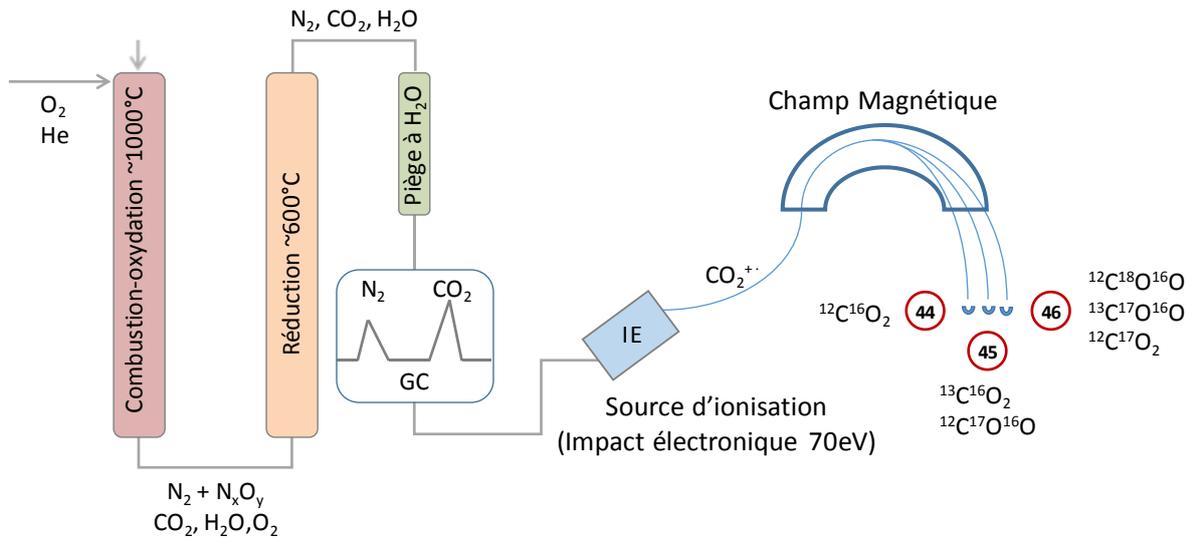


Figure 2 : Schéma de la Spectrométrie de Masse de Rapport Isotopique (irm-MS), en configuration Analyse Élémentaire.

La Figure 2 décrit le principe de l'appareil d'irm-MS en configuration Analyse Élémentaire. L'échantillon est tout d'abord transféré dans le four d'oxydation (contenant de l'oxyde de chrome et de cuivre) où il va subir une combustion (à environ 1000 °C) en présence de dioxygène. Les gaz formés sont ensuite transmis dans un second four (contenant du cuivre réduit) pour y subir une réduction (à environ 600 °C). Les composés obtenus passent ensuite dans un piège à eau. Les gaz (CO₂ et N₂) sont alors séparés grâce à une colonne de GC pour être analysés séquentiellement. Le CO₂ est introduit dans la source du spectromètre pour être ionisé par impact électronique (formant du CO₂⁺) et les différents isotopomères sont séparés par un champ magnétique puis collectés dans des coupes de Faraday pouvant capter des ions de rapports masse-sur-charge (m/z) spécifiques (soit 44, 45 et 46 dans le cas du CO₂⁺). Le calcul du rapport isotopique de l'échantillon étudié (R_{échantillon}) est réalisé en appliquant une correction permettant de s'affranchir de la présence des différents isotopes de l'oxygène (¹⁶O, ¹⁷O et ¹⁸O) [24-25] (voir l'encadré pour les détails expérimentaux).

$$R_{\text{échantillon}} = \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}$$

Équation 1 : Rapport Isotopique (R) en ¹³C.

Ce rapport isotopique (équation 1) est ensuite comparé à celui de la référence internationale : un carbonate nommé le Vienna-PeeDee Belemnite (V-PDB) dont le rapport isotopique (R_{V-PDB}) a une valeur de 0.0112372. L'équation 2 permet ainsi d'obtenir la composition isotopique totale de l'échantillon, notée $\delta^{13}C_t$ (‰).

$$\delta^{13}C_t = \frac{R_{\text{échantillon}}}{R_{V-PDB}} - 1$$

Équation 2 : Composition isotopique totale en ^{13}C .

La référence internationale étant riche en ^{13}C , la plupart des compositions isotopiques mesurées sont négatives dans le cas du carbone.

Cette technique permet de mesurer les compositions isotopiques en routine, avec la précision nécessaire pour ce type de mesure (écart-type de mesure de 0.3 ‰ pour un irm-EA/MS) et en utilisant une très faible quantité de matériel. En revanche, les échantillons analysés doivent avoir une pureté supérieure ou égale à 95% afin de s'assurer de mesurer la composition isotopique du composé et non celle d'un mélange. Comme déjà souligné, l'irm-MS ne permet d'obtenir qu'une composition isotopique totale de l'échantillon (notée $\delta^{13}C_t$), car l'intégralité du carbone de la molécule est transformé en CO_2 puis analysé, sans tenir compte de la position de chacun des carbones au sein de la molécule étudiée.

Ce type d'analyse entraîne donc la perte de l'information position-spécifique qui pourrait, dans certains cas, donner plus de détails sur les phénomènes étudiés ou encore apporter une description plus nette des mécanismes observés. C'est pourquoi, au cours de ce projet, nous avons utilisé l'Analyse Isotopique Position-Spécifique (PSIA) afin d'apporter de nouveaux éléments dans la compréhension du devenir des polluants dans l'environnement.

Application de l'IRM-MS à l'analyse en ^{13}C du MTBE :

L'appareil utilisé pour les mesures isotopiques est un spectromètre Sercon Integra2 (Sercon Instruments, Crewe, UK) couplé à un EA Sercon elemental analyser. La calibration des mesures par la référence internationale (V-PDB) a été réalisée via un standard de laboratoire : l'acide glutamique.



Cet appareil nécessite l'introduction de 0.4 mg (entre 0.2 et 0.8 mg) de carbone afin de réaliser la mesure de composition isotopique. Pour cela, 0.6 mg de MTBE ($\approx 0.8 \mu\text{L}$), pesés en utilisant une balance précise à 10^{-6} g (Ohaus Discovery DV215CD), sont conditionnés dans des capsules en étain dédiées au liquides de 2x5 mm. Pour l'analyse du standard de laboratoire (l'acide glutamique) 1 mg de ce composé sont introduits dans des capsules dédiées à l'analyse de solide de 4x6 mm. Lors de l'analyse d'échantillons corrosifs tels que l'acide acétique, des capsules en argent sont employées.

L'échantillon est transféré dans le four d'oxydation, contenant de l'oxyde de chrome et de l'oxyde de cuivre (à environ $1000 \text{ }^\circ\text{C}$) et les gaz formés sont ensuite transmis au four de réduction (à environ $600 \text{ }^\circ\text{C}$) contenant du cuivre réduit (cuivre 0). Les composés obtenus passent ensuite dans un piège à eau contenant du perchlorate de magnésium. La séparation du CO_2 et du N_2 est réalisée par GC (colonne : Spherocarb 60/80 mesh $1/4'' \times 0.5 \text{ M SS}$, $65 \text{ }^\circ\text{C}$) puis les différents isotopomères du CO_2^{+} sont collectés après ionisation pour déterminer le $\delta^{13}\text{C}_t$.

I-2 Détermination de la composition isotopique position-spécifique

La détermination de la composition isotopique totale a permis d'étudier les polluants et leur devenir en apportant beaucoup d'éléments d'information quant aux différents procédés de remédiation. Mais l'analyse position-spécifique pourrait, *a priori*, apporter plus de détails sur le mécanisme observé. En effet, il pourrait s'avérer intéressant de connaître le(s) site(s) subissant la plus importante variation de composition isotopique au sein d'une molécule, afin de donner une description plus fine du phénomène traité. De plus, lorsqu'aucun fractionnement isotopique total n'est observé, cela signifie-t-il que le mécanisme étudié n'induit aucun fractionnement isotopique ou, au contraire, que ce sont deux effets isotopiques position-spécifiques qui se compensent ? L'intérêt d'une analyse PSIA peut s'avérer déterminant. Aussi, différentes approches ont été testées afin d'accéder à la composition isotopique position-spécifique.

I-2-1 La fragmentation

Abelson et Hoering furent les premiers à décrire l'existence d'une distribution non-statistique des isotopes au sein des composés d'origine naturelle, en détectant que les groupements carboxyles (-COOH) des acides aminés sont plus riches en ^{13}C que les autres sites de ces molécules [26]. Au début des années 70, les travaux de Hayes et collaborateurs ont porté sur la dégradation de petites molécules telles que l'acide acétique [27], l'acétoïne [28] ou encore certains acides gras [29], ce qui a permis d'accéder à la composition isotopique position-spécifique totale ou partielle de ces composés et a démontré une répartition inégale des isotopes lourds au sein de ces molécules. Cette méthode est encore employée pour étudier la composition isotopique intramoléculaire de composés tels que l'acétone ou l'isopropanol [30]. Plus récemment, la dégradation chimique et l'analyse des fragments générés a permis la détermination de la composition isotopique position-spécifique de composés de taille plus importante tels que le glucose [31] ou encore la caféine [32].

On retrouve également un exemple de fragmentation d'un pesticide, l'isoproturon, qui a été analysé après fragmentation *in situ* au sein de l'injecteur d'une chromatographie en phase gazeuse couplée à l'IRM-MS, permettant ainsi une analyse position-spécifique en ^{15}N (ainsi qu'une mesure position-spécifique partielle en ^{13}C) [33].

Ce type de méthode présente plusieurs inconvénients. En effet, la fragmentation doit être réalisée dans des conditions permettant d'obtenir un rendement quantitatif, afin de ne pas introduire de fractionnement isotopique qui apporterait un biais dans les valeurs mesurées. De plus, la séparation et / ou la purification des fragments générés peut s'avérer problématique et la perte d'une partie du produit de dégradation peut potentiellement induire une modification de la composition isotopique de l'échantillon, comme lors d'une séparation utilisant la chromatographie.

C'est pour cela qu'une méthode combinant une fragmentation *in situ* directement couplée à la chromatographie et l'irm-MS a été développée.

I-2-2 Pyrolyse couplée à la Spectrométrie de Masse de Rapports Isotopiques (irm-Py-GC/MS)

Le couplage de la fragmentation par pyrolyse et de l'irm-MS a été décrit pour la première fois en 1997 par Corso et Brenna [34] et permettait de couper le méthyl palmitate en méthyl esters de différentes longueurs qui sont ensuite séparés par une GC pour être séquentiellement analysés par irm-MS. Cette méthode permet (après calculs) de déterminer la composition isotopique sur chacun des sites carbonés de la chaîne de ce composé. Pour cela, les molécules étudiées sont dégradées dans un four de pyrolyse (en quartz), ce qui permet d'obtenir plusieurs fragments qui sont ensuite séparés par GC pour être oxydés puis analysés séquentiellement.

Cette méthode fut employée en 2002 pour la PSIA des acides carboxyliques [35] et plus particulièrement de l'acide acétique [36]. La fragmentation par pyrolyse de la molécule d'acide acétique forme une molécule de CH₄ à partir du méthyle (C-2) et une molécule de CO₂ issue de la fonction acide carboxylique du composé (C-1). Cette technique a plus récemment été employée pour détecter l'origine des vinaigres [37] en réalisant la PSIA de l'acide acétique qu'ils contiennent. Cette méthode est également applicable à l'analyse isotopique position-spécifique de l'éthanol et permet ainsi de déterminer son origine [38]. De plus, l'irm-Py-GC/MS peut être couplée à une GC séparative (irm-GC-Py-GC/MS) et / ou une Micro-Extraction en Phase Solide (SPME) [39] permettant de s'affranchir de la purification (par distillation) des molécules cibles telles que l'éthanol contenu dans le vin par exemple.

Application à l'analyse en ^{13}C du MTBE :

L'irm-Py-GC/MS a également permis une détermination partielle de la composition isotopique position-spécifique du MTBE [40], avec la formation de méthanol (C-2) et d'isobutène (C-1 + C-3) lors de la pyrolyse. Ces deux composés passent ensuite dans le four de combustion, puis le CO_2 issu de chacune de ces molécules est analysé séquentiellement. Cette détection, bien que partielle, apporte une information supplémentaire sur l'origine du polluant.

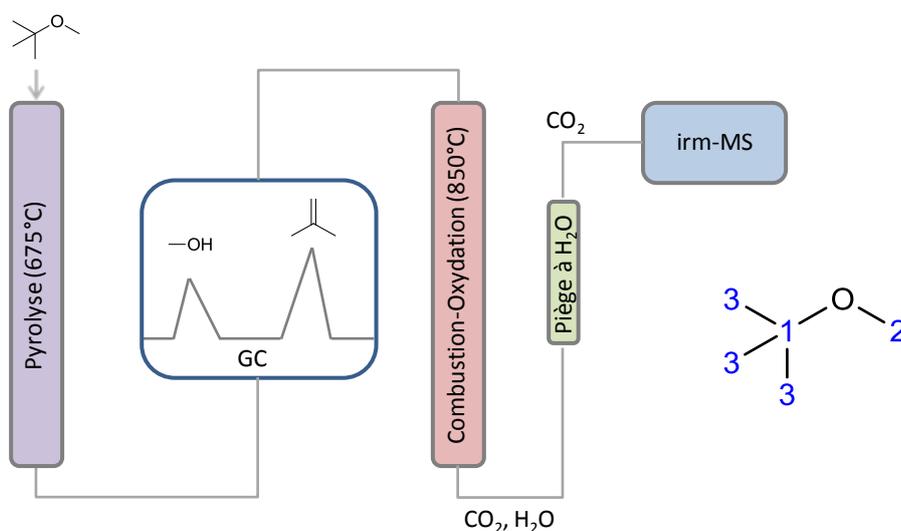


Figure 3 : Schéma de la Pyrolyse couplée à la Spectrométrie de Masse de Rapports Isotopiques (Py-GC-irm-MS), appliquée à l'analyse du MTBE, d'après Gauchotte et collaborateurs [40].

Cette méthode renseigne sur la composition isotopique intramoléculaire en une seule étape et en utilisant de faibles quantités d'échantillon. L'inconvénient est que ce système n'est actuellement applicable qu'à quelques petites molécules et ne permet pas systématiquement d'accéder à chacun des sites carbonés du composé, comme c'est le cas pour le MTBE, d'où la perte d'information d'un site carboné.

I-2-3 La RMN quantitative

La RMN utilisée dans des conditions quantitatives a récemment montré sa capacité à déterminer la composition isotopique position-spécifique d'un large panel de composés, de manière répétable et reproductible [41].

C'est cette méthode que nous avons employée afin de mesurer les effets isotopiques position-spécifiques apparaissant au cours des différents procédés de la remédiation des polluants de l'environnement. Pour une utilisation en routine, l'irm-¹³C NMR nécessite des conditions particulières afin de réaliser les mesures selon les exigences requises. C'est pourquoi les conditions d'acquisition, la préparation d'échantillon ainsi que les calculs permettant d'accéder aux compositions isotopiques position-spécifiques sont décrits dans la section suivante.

I-3 La RMN isotopique du ¹³C (irm-¹³C NMR)

La RMN quantitative est souvent employée afin de doser les différents composés d'un mélange complexe. La mesure isotopique par RMN avait initialement été développée pour le ²H, puis elle fut adaptée afin de quantifier la distribution des ¹³C sur les différents sites carbonés d'un composé. Les conditions de mesures utilisées ont donc été adaptées à cette application particulière.

I-3-1 Historique

La mesure du Fractionnement Isotopique Naturel Spécifique par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN-FINS) a été développée dans les années 80 [42] pour réaliser des mesures isotopiques site-par-site en deutérium [43-46]. Cette méthode a été initialement employée pour l'étude des vins et des vinaigres [47-49]. C'est aujourd'hui la méthode de détection officielle de l'ajout de sucre dans les jus de fruits et dans le sirop d'érable. Elle permet également de contrôler l'origine et la qualité de certains composés aromatiques tels que la vanilline [50] ou de certaines huiles essentielles [51].

Plus récemment, la RMN FINS a été adaptée à la mesure isotopique en ¹³C position-spécifique [52], ce qui implique des contraintes supplémentaires en comparaison de l'analyse en deutérium. En effet, la gamme de composition isotopique est de 500‰ dans la nature dans le cas du ²H contre seulement 50‰ pour le ¹³C [53]. Les variations

de compositions isotopiques potentiellement observables dans une étude utilisant des mesures en ^{13}C seront donc très faibles (de l'ordre de 1‰), c'est pourquoi les mesures réalisées par RMN doivent être effectuées avec une précision inférieure à 1‰. De plus, la faible abondance naturelle du ^{13}C (1.1%) implique de longues acquisitions RMN pour obtenir les conditions nécessaires à la quantification. Au cours du développement de cette technique, une étude réalisée par Singleton et collaborateurs a démontré la possibilité de contourner la difficulté de la mise en place d'une mesure des $\delta^{13}\text{C}_i$ absolus par l'irm- ^{13}C NMR par une détermination de la composition isotopique position-spécifique en relatif, en étudiant les fractionnements isotopiques générés lors de la réaction de Diels-Alder [54]. Malgré son intérêt pour les études mécanistiques, l'inconvénient de cette technique est qu'elle n'est applicable qu'à un nombre limité de réactions et ne fournit pas le profil isotopique ^{13}C intramoléculaire complet de la molécule.

Malgré tout, le développement de la RMN isotopique du ^{13}C peut s'appuyer sur quelques avantages tels que la large gamme de déplacements chimiques et la finesse des pics RMN qui rendent le recouvrement de signaux beaucoup plus rare et qui font de la RMN isotopique du ^{13}C un outil puissant capable de potentiellement donner accès à la composition isotopique position-spécifique de nombreux composés organiques.

I-3-2 Conditions d'acquisition de l'irm- ^{13}C NMR

Afin de définir les conditions nécessaires à la mesure isotopique position-spécifique en irm- ^{13}C NMR, les différents paramètres d'acquisition, le traitement du signal enregistré, l'intégration des signaux et les calculs des compositions isotopiques position-spécifiques seront décrits dans la section suivante.

I-3-3 Rapport signal sur bruit (S/B) et précision

En spectroscopie, le rapport signal-sur-bruit (S/B) indique le niveau de précision de la quantification. La précision de mesure est directement en lien avec le rapport S/B d'après l'équation 3 [55].

$$\frac{\Delta S}{S} \geq \frac{1}{2(S/B)}$$

Équation 3 : Erreur relative de la détermination de la surface des pics en fonction du rapport signal sur bruit (S/B).

S : surface des pics.

ΔS : erreur maximale commise lors de la détermination de cette surface.

Le rapport gyromagnétique du ^{13}C étant quatre fois inférieur à celui du ^1H et son abondance naturelle n'étant que de 1.1%, l'acquisition d'un spectre ^{13}C nécessite une importante accumulation du signal afin d'optimiser le rapport S/B obtenu. En effet, le signal va s'accumuler de manière cohérente au fil des scans effectués, alors que le bruit quant à lui va s'accumuler de manière aléatoire. C'est pourquoi le signal détecté est proportionnel au nombre de scans (ns) et le bruit est proportionnel à la racine carrée de ce nombre de scans (\sqrt{ns}).

Dans le cadre de la mesure isotopique par RMN, on recherche une précision de l'ordre de 1‰ et donc un rapport S/B de 500 au minimum.

Dans cette étude, les acquisitions réalisées sur des petites molécules telles que le MTBE ont été réalisées avec un rapport S/B de 1500 au minimum, ce qui correspond à un écart-type de mesure de 0.3‰, c'est-à-dire du même ordre de grandeur que l'IRM-MS [56].

I-3-4 Délai de répétition (TR) et angle d'impulsion (β)

Le délai de répétition (TR) et l'angle d'impulsion (β) sont également des paramètres (liés l'un à l'autre) à prendre en compte pour réaliser des acquisitions RMN en conditions quantitatives.

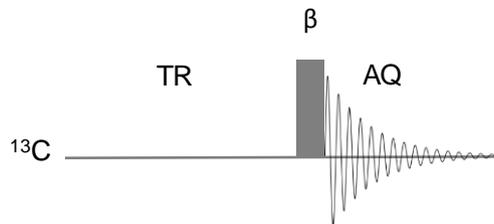


Figure 4 : Représentation d'une séquence d'acquisition en RMN à une dimension du ^{13}C .

TR : délai de répétition.

β : angle d'impulsion.

AQ : temps d'acquisition.

En effet, l'angle de basculement de l'aimantation doit être déterminé afin d'obtenir un rapport S/B maximal.

Il a été démontré qu'un angle d'impulsion optimal (β_{opt}) permettant d'obtenir un rapport S/B plus important peut être déterminé d'après l'équation 4 [57] :

$$\beta_{\text{opt}} = e^{-\text{TR}/T_1}$$

Équation 4 : Détermination de l'angle optimal d'impulsion (β_{opt}), pour un T_R/T_1 donné.

Il a ensuite été démontré que l'angle d'impulsion (permettant de réduire de manière optimum l'erreur maximale commise lors de l'acquisition) à utiliser pour réaliser des mesures quantitatives est un angle β de 90° [58]. Des impulsions de 90° seront donc appliquées successivement afin de réaliser des mesures quantitatives avec la précision requise.

Lorsqu'une impulsion est appliquée, l'aimantation a besoin d'un certain temps pour retourner à l'équilibre, c'est-à-dire selon l'axe du champ B_0 du spectromètre : c'est le temps de relaxation longitudinale, noté T_1 .

Le temps de relaxation longitudinale T_1 est variable pour chacun des noyaux étudiés en fonction de leur environnement et de la fréquence de mouvement. Le délai de répétition séparant deux acquisitions doit donc être suffisamment long pour permettre le retour à l'équilibre de l'aimantation de chacun des noyaux étudiés. Si ce n'est pas le cas, une erreur systématique relative due au phénomène de saturation partielle s'installe et l'aire mesurée après plusieurs répétitions de la séquence ne sera plus uniquement proportionnelle au nombre de noyaux résonnants et donc non-quantitative. L'erreur maximale commise lors des mesures sera donc induite sur le noyau ayant le plus long temps de relaxation T_1 . Cette erreur (Er) peut être calculée selon l'équation suivante :

$$Er = \frac{e^{-\frac{TR}{T_1}} \cdot (1 - \cos \beta)}{1 - (e^{-\frac{TR}{T_1}} \cdot \cos \beta)} ; \text{ avec } \beta = 90^\circ, Er = e^{-\frac{TR}{T_1}}$$

Équation 5 : Calcul de l'erreur maximale commise.

Ainsi, on peut estimer l'erreur commise en fonction du délai de répétition utilisé pour une valeur de T_1 donnée [59] :

Tableau 1 : Erreur maximale commise en fonction du rapport TR/T_1 .

TR/T_1	Er
3	5%
5	1%
7	1‰

Ainsi, un délai de répétition au moins égal à sept fois le T_1 maximal doit être employé pour l'ensemble des mesures réalisées, afin de minimiser l'erreur commise. Toutefois, on utilise un délai TR égal à 10 fois le T_1 maximal dans cette étude, afin d'éliminer l'Effet Overhauser Nucléaire (NOE) qui pourrait apparaître et donc l'empêcher de s'accumuler (voir I-3-5).

L'inconvénient de ces conditions de mesure demeure la durée d'expérience, car les valeurs de T_1 en ^{13}C pour des petites molécules peuvent être de l'ordre de plusieurs secondes voire plusieurs dizaines de secondes. C'est pourquoi un complexe

paramagnétique a été employé afin de diminuer les T_1 du composé analysé et donc le délai de répétition. Pour cela, l'agent de relaxation employé est le tris-acétylacétonate de chrome III ($\text{Cr}(\text{Acac})_3$) (Figure 5) [60]. Ce composé a été choisi pour sa solubilité dans les solvants organiques. Les T_1 de chacun des composés utilisés dans cette étude ont été déterminés et la préparation d'échantillon (solvant deutéré, concentration de $\text{Cr}(\text{Acac})_3$) a été adaptée de manière à obtenir des durées d'expériences acceptables.

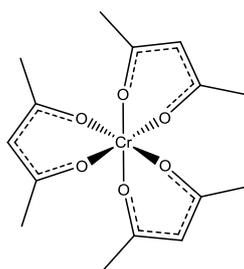


Figure 5 : Structure du tris-acétylacétonate de chrome III ($\text{Cr}(\text{Acac})_3$).

Dans le cas du MTBE, l'ajout de $\text{Cr}(\text{Acac})_3$ à la préparation d'échantillon a permis de diminuer le TR d'un facteur 32 (voir I-3-6).

I-3-5 Le découplage

Lors de l'acquisition d'un spectre en ^{13}C et en présence d'un couplage comme celui entre un noyau ^1H et un ^{13}C impliqués dans une liaison covalente C-H, les signaux RMN obtenus après transformée de Fourier apparaissent sous forme de multiplets. Cet éclatement du signal RMN est dû à l'interaction des spins des noyaux considérés à travers la liaison chimique. Afin de s'affranchir de ce phénomène de couplage scalaire et d'obtenir un spectre ^{13}C ne présentant que des singulets, une étape de découplage est nécessaire. En effet, pour réaliser la quantification du signal RMN en fonction du nombre de noyaux résonants, il est plus aisé de réaliser l'intégration de l'aire sous chacun des pics d'intérêt en présence de singulets (Figure 6). De plus, le découplage permet une augmentation du rapport signal sur bruit (S/B) et donc de la précision de la mesure.

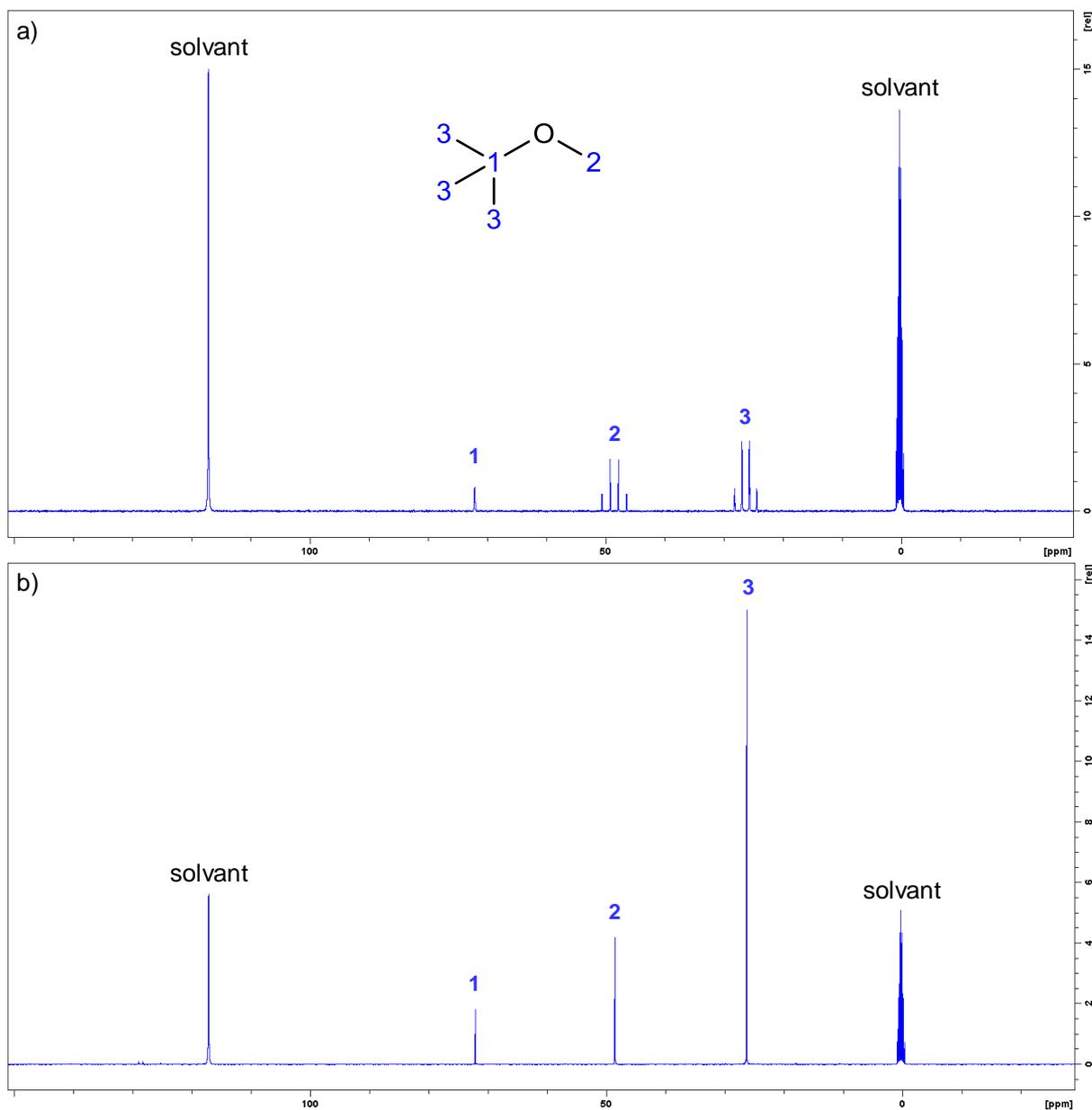


Figure 6 : Spectre ^{13}C du MTBE a) sans découplage et b) avec découplage ^1H .

L'inconvénient majeur du découplage est qu'il induit une variation de la surface des pics due à l'apparition de l'Effet Overhauser Nucléaire (NOE). Ce phénomène est provoqué par un transfert de polarisation entre deux dipôles proches dans l'espace, lorsque l'un d'eux est irradié : en l'occurrence un transfert de polarisation du ^1H au ^{13}C lors du découplage.

Afin de réaliser des acquisitions RMN en conditions quantitatives et donc que l'aire des pics mesurée soit proportionnelle au nombre de noyaux qui résonnent à cette fréquence, les mesures doivent être faites en absence de NOE (voir Figure 7). Pour cela, le découplage ^1H est réalisé uniquement durant le temps d'acquisition et pendant

une courte durée ($AQ = 1$ s). Ce type de séquence est appelé découplage « en créneaux inverses ». Dans ces conditions, le NOE n'a pas le temps de se mettre en place. De plus, le découplage étant stoppé durant le délai de répétition, le peu de NOE qui a pu s'établir va alors disparaître. On utilise ainsi un délai de répétition égal à 10 fois le T_1 maximal du composé analysé, afin de s'assurer de la disparition totale du NOE. Dans ces conditions, l'erreur commise (E_r) est de l'ordre de 0.05%.

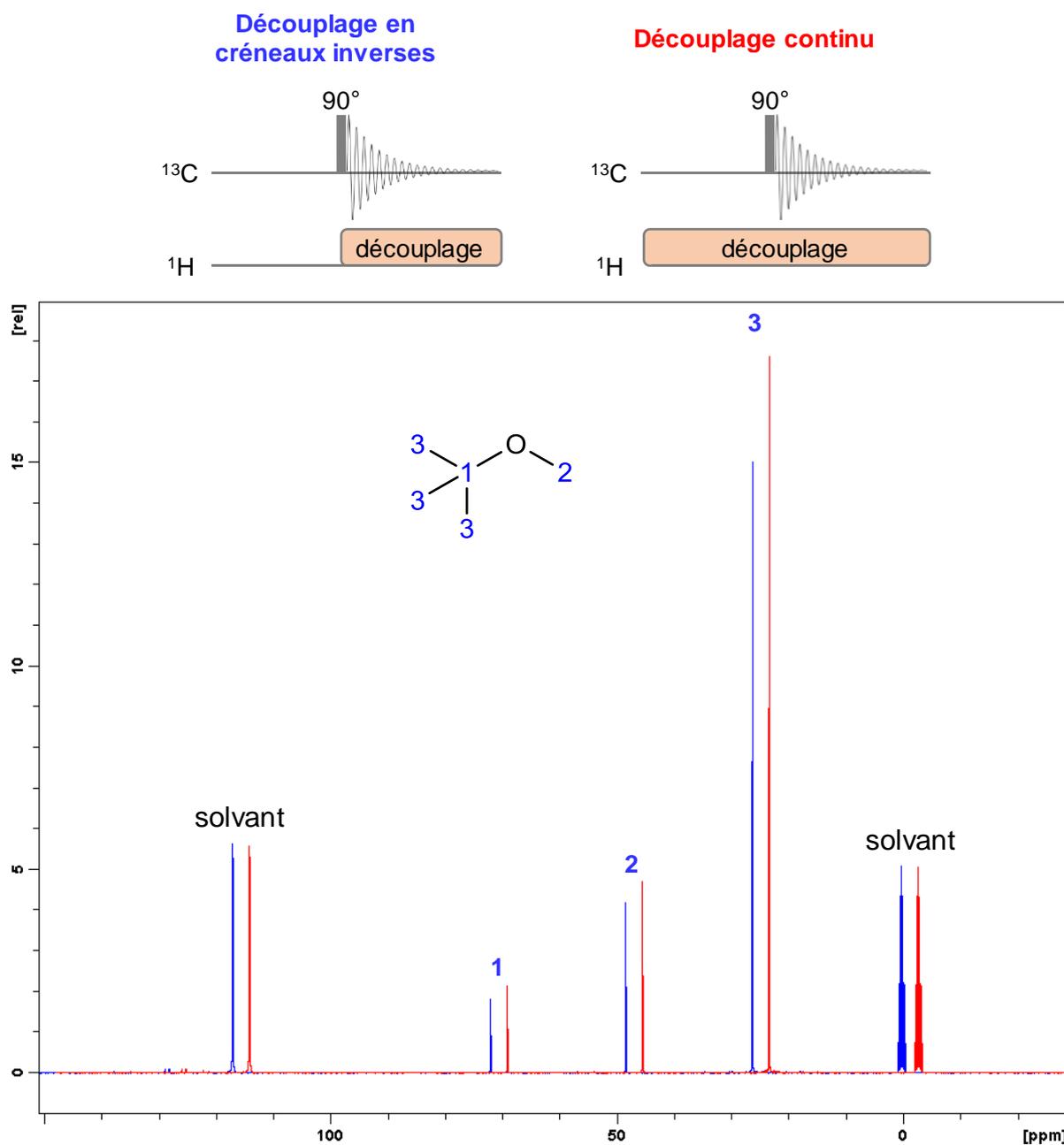


Figure 7 : Spectres ^{13}C du MTBE enregistrés avec un découplage en créneaux inverses, sans NOE (bleu) et un découplage continu, avec NOE (rouge).

Afin de réaliser un découplage homogène et efficace sur une large gamme de fréquences, une impulsion adiabatique a été utilisée [61-62]. En effet, ce type d'impulsion est idéal pour compenser les inhomogénéités de champ et les effets d'off-résonance (les ^1H ayant des déplacements chimiques éloignés de la fréquence d'impulsion peuvent ne pas être correctement découplés) tout en limitant la dissipation thermique de l'impulsion comparée à d'autres séquences telles que les impulsions composites. C'est l'élément majeur qui a permis la répétabilité des mesures avec une précision souhaitée.

I-3-6 Préparation d'échantillons

Afin de réaliser une acquisition RMN, un solvant deutéré (également appelé solvant de lock) doit être ajouté au composé à analyser afin de réaliser le « lock ». En effet, lors de l'acquisition, les fréquences des signaux sont directement proportionnelles à la force du champ B_0 , donc si cette force varie en cours d'acquisition, alors les fréquences observées varient également. Le lock, également appelé « asservissement de l'échantillon », permet de maintenir la force du champ constante dans le volume de l'échantillon analysé et d'empêcher les fluctuations dues aux perturbations extérieures. Le solvant deutéré est choisi en fonction de sa capacité à solubiliser le(s) composé(s) à analyser, ainsi que de ses déplacements chimiques afin d'éviter les recouvrements de pics. De plus, dans le cadre de la mesure isotopique par RMN, le minimum de solvant est ajouté au composé à analyser, de manière à limiter sa dilution, afin d'optimiser le S/B. La quantité minimale de solvant deutéré est également à adapter en fonction du nombre de noyaux ^2H qu'il porte. Par exemple, lors de la préparation d'un tube RMN d'un volume de 700 μL , 200 μL d'acétonitrile- d_3 sont ajoutés à 500 μL d'échantillon alors que dans le cas de l'utilisation du DMSO- d_6 , seulement 100 μL de ce solvant sont ajoutés à 600 μL d'échantillon (car le DMSO comprend 6 noyaux ^2H contre 3 dans l'acétonitrile). Un agent de relaxation est également ajouté afin de diminuer le temps d'expérience (voir I-3-4).

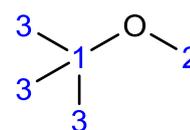
Dans le cas de l'analyse du MTBE, 200 μL d'acétonitrile- d_3 contenant 0.2 M de $\text{Cr}(\text{Acac})_3$ sont ajoutés à 500 μL de MTBE avant introduction dans un tube RMN de 5 mm. Les T_1 mesurés dans ces conditions de préparation d'échantillon sont reportés dans la ligne 4 du Tableau 2 et les T_1 observés en absence de relaxant sont dans la ligne 3.



Avec la préparation d'échantillon employée, le délai TR utilisé est de 16 s, ce qui correspond à une durée de 17 s par scan (AQ = 1 s), alors qu'en absence de relaxant la durée d'un scan aurait été de 521 s, ce qui est beaucoup trop long pour réaliser les mesures isotopiques dans un délai convenable.

Tableau 2 : Variation des T_1 ^{13}C du MTBE en présence ou non d'agent de relaxation.

	δ (ppm)	C-1	C-2	C-3
Sans $\text{Cr}(\text{Acac})_3$	T_1 (s)	71.9	48.6	26.5
Avec $\text{Cr}(\text{Acac})_3$	T_1 (s)	1.6	1.4	1.4



I-3-7 Résumé des conditions d'acquisitions

L'acquisition en ^{13}C est réalisée avec une séquence à découplage ^1H en créneaux inverses utilisant une impulsion adiabatique au cours de l'acquisition (AQ = 1 s), durant laquelle le signal de précession libre (FID) est recueilli. Des impulsions successives sont réalisées, afin d'accumuler suffisamment de signal pour atteindre un S/B de 1500 au minimum. Chaque impulsion d'un angle β égal à 90° est séparée d'un délai TR d'une durée égale à dix fois le T_1 le plus long mesuré sur la molécule étudiée, dans les conditions de préparation d'échantillon employées (Figure 8).

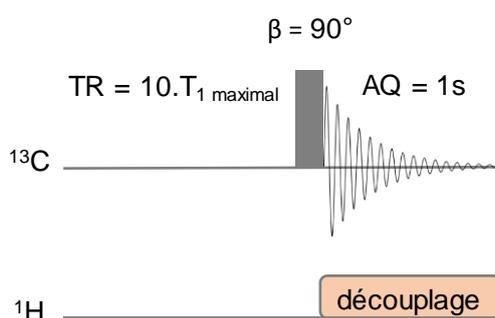


Figure 8 : Conditions générales d'acquisition nécessaires à l'irm- ^{13}C NMR.

Lorsque ces conditions sont respectées, l'irm- ^{13}C NMR est un outil robuste donnant potentiellement accès à la composition isotopique position-spécifique d'un large panel de composés, avec une excellente répétabilité comme il a déjà été démontré au cours d'un test inter-laboratoire [41].

I-3-8 Traitement des spectres et détermination de la surface des pics d'intérêt

Cinq FID sont enregistrés pour chacun des échantillons, qui sont traités par une fonction d'apodisation de type exponentielle décroissante utilisant un facteur d'élargissement des raies adapté à chaque composé analysé. Après transformée de Fourier (permettant de transformer le signal de précession libre, le FID, en spectre), une étape de phasage et de correction de la ligne de base est réalisée.

Les surfaces des pics (notées S_i , où i correspond au site carboné considéré) sont déterminées en utilisant un logiciel de lissage appelé PERCH[®] (Université de Kuopio, Finlande). Cet outil permet de déterminer les aires des pics avec une grande précision

en atténuant les irrégularités des signaux dues au bruit de mesure, aux inhomogénéités du champ et surtout à la phase du spectre. Ces défauts dans le spectre peuvent se manifester par une variation de la largeur à mi-hauteur des pics (inhomogénéité du champ), des décalages de phase (asymétrie des signaux due aux « shim ») ou encore la présence de dispersion du signal (présence d'absorption négative provoquée par un défaut de phasage du spectre). Pour cela, les pics sont corrigés en utilisant une fonction lorentzienne (forme typique des signaux du spectre RMN).

I-3-9 Calcul des compositions isotopiques position-spécifiques

Tout d'abord, les surfaces des pics (S_i) doivent être corrigées afin de compenser la perte d'intensité due à la présence des satellites (couplages ^{13}C - ^{13}C). Pour cela, chacune des aires est multipliée par $(1 + n \times 0.011)$, où n est le nombre de carbones directement liés au carbone localisé à la position i considérée et 0.011 (= 1.1%) est l'abondance naturelle du ^{13}C [62-63]. Cette étape permet la correction de la justesse sans affecter la précision.

L'étape de calcul suivante consiste à déterminer les fractions molaires (f_i) de chacune des positions selon l'équation 6 :

$$f_i = \frac{S_i}{S_{\text{tot}}} \text{ avec } S_{\text{tot}} = \sum S_i$$

Équation 6 : Calcul des fractions molaires (f_i).

Les fractions molaires statistiques (F_i), correspondant à une distribution homogène théorique des ^{13}C sur chacune des positions considérées, sont ensuite calculées. Puis les fractions molaires réduites (f_i/F_i) sont déterminées. L'abondance en ^{13}C au site i (notée A_i) est alors calculée en appliquant l'équation 7 :

$$A_i = \frac{f_i}{F_i} \times A_t, \text{ avec } A_t = \frac{R_t}{1 + R_t}$$

Équation 7 : Calcul de l'abondance isotopique position-spécifique en ^{13}C (A_i).

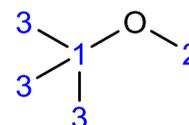
A_t : abondance isotopique totale

R_t : rapport isotopique total de l'échantillon analysé, calculé à partir de la composition isotopique totale ($\delta^{13}C_t$) déterminée par irm-MS et selon l'équation 2.

L'équation 7 permet alors de déterminer la composition isotopique position-spécifique du site carboné i considéré ($\delta^{13}C_i$). Ces calculs sont réalisés pour chacune des positions du composé étudié, sur les 5 spectres enregistrés et la valeur $\delta^{13}C_i$ correspond à la moyenne des valeurs obtenues (Tableau 3) [63-64].

Tableau 3 : Exemple de calcul des $\delta^{13}C_i$ d'un échantillon de MTBE, dont $\delta^{13}C_t = -28.9\text{‰}$, à partir des aires d'un spectre de RMN ^{13}C .

Site carboné	C-1	C-2	C-3
Aire (u-a*)	113.3	114.3	343.2
Aire corrigée des satellites	117.0	114.3	347.0
f_i	0.2024	0.1976	0.6000
F_i	1/5	1/5	3/5
f_i/F_i	1.0119	0.9882	1.0000
$\delta^{13}C_i$ (‰)	-17.3	-40.5	-29.0



* u-a : unité arbitraire

I-4 Expression des résultats

Les mesures isotopiques réalisées par irm-MS et / ou irm-¹³C NMR sont exprimées en valeur de composition isotopique ($\delta^{13}\text{C}$). Mais ces données ne peuvent directement renseigner sur les effets isotopiques impliqués dans les phénomènes étudiés. C'est pourquoi différentes manières d'exprimer les résultats sont employées dans la littérature.

I-4-1 Le fractionnement isotopique ($\Delta\delta^{13}\text{C}$)

Le fractionnement isotopique (également appelé discrimination isotopique, noté $\Delta\delta^{13}\text{C}$ [65] et exprimé en ‰) est souvent utilisé afin d'observer si le phénomène étudié génère un enrichissement ($\Delta\delta^{13}\text{C} > 0$) ou un appauvrissement ($\Delta\delta^{13}\text{C} < 0$).

$$\Delta\delta^{13}\text{C} = \delta^{13}\text{C}_x - \delta^{13}\text{C}_0$$

Équation 8 : Fractionnement isotopique en ¹³C ($\Delta\delta^{13}\text{C}$).

$\delta^{13}\text{C}_x$: composition isotopique du produit formé au cours de la réaction à l'instant x.

$\delta^{13}\text{C}_0$: composition isotopique du substrat de départ.

L'inconvénient de cette donnée est qu'elle ne tient pas compte de l'avancement du procédé étudié.

I-4-2 Le facteur de fractionnement (α)

Le facteur de fractionnement est souvent utilisé pour décrire les effets isotopiques induits par un phénomène. Lorsque α est inférieur à 1, on parle d'effet isotopique normal, c'est-à-dire que le phénomène étudié utilise préférentiellement des molécules pauvres en ¹³C, et, en corollaire, quand α est supérieur à 1, l'effet isotopique est dit inverse. L'équation 9 est généralement employée, afin de faciliter les calculs.

$$\alpha = 1 + \left(\frac{\ln \frac{\delta^{13}\text{C}_x + 1000}{\delta^{13}\text{C}_0 + 1000}}{\ln f} \right)$$

Équation 9 : Facteur de fractionnement (α).

f : rendement de la réaction étudiée ou fraction de substrat restant.

1-4-3 Les effets isotopiques cinétiques (KIE)

Dans le cas d'une réaction chimique ou enzymatique, lorsqu'on observe la coupure d'une liaison covalente permettant la formation d'un nouveau composé, les effets isotopiques observés sont dits cinétiques. Dans ce contexte, l'effet observé est dû à une différence de vitesse de réaction entre les isotopologues lourds et légers d'un composé.

L'effet isotopique cinétique (KIE) peut être calculé en fonction des constantes de vitesse des isotopologues légers ($k^{12}\text{C}$) et lourds ($k^{13}\text{C}$) [66], tel que décrit dans l'équation 10 :

$$\text{KIE} = \frac{k^{12}\text{C}}{k^{13}\text{C}}$$

Équation 10 : Calcul de l'effet isotopique cinétique en ^{13}C (KIE).

Dans le cadre de cette étude, et pour des raisons pratiques décrites en II-4, la détermination des effets isotopiques cinétiques totaux et position-spécifiques induits par la dégradation abiotique (oxydation, hydrolyse) a été réalisée par analyse du produit de dégradation formé. Dans le cas de la dégradation du MTBE, le produit de réaction analysé est l'alcool *tert*-butylique (TBA).

L'équation 9 précédemment décrite permet de déduire l'effet isotopique induit par un phénomène donné tel que l'évaporation, après analyse isotopique du substrat initial et du restant de composé à un instant t et n'est donc pas applicable dans ce cas de figure.

C'est pourquoi l'équation 11, adaptée à partir des travaux réalisés par Bigeleisen et Mayer en 1947 [67], a été employée afin de déterminer les facteurs de fractionnement totaux et position-spécifiques de chacune des réactions étudiées. Cette équation permet de calculer les facteurs de fractionnement à partir du rapport isotopique total du substrat de départ (ici le MTBE) et les rapports isotopiques totaux et position-spécifiques du produit formé au cours de la réaction (ici le TBA) [64].

Le calcul des effets isotopiques cinétiques induits par la dégradation abiotique du MTBE a été réalisé selon l'équation 11 :

$$\alpha = \frac{\ln(1 - f)}{\ln \left[1 - \frac{f \times R_{TBA t}}{R_{MTBE t0}} \right]}$$

Équation 11 : Calcul du facteur de fractionnement (α), d'après les travaux de Bigeleisen et Mayer [67].

$R_{TBA t}$: rapport isotopique (total ou position-spécifique) du TBA formé à l'instant t.

$R_{MTBE 0}$: rapport isotopique total du MTBE utilisé comme substrat à t = 0.

f : rendement de la réaction étudiée.

I-4-4 Le facteur d'enrichissement (ϵ)

De nombreuses études, en particulier dans le domaine de l'environnement, utilisent le facteur d'enrichissement pour décrire certains phénomènes (équation 12). Lorsque ϵ (exprimé en ‰) est inférieur à 0, on parle d'effet isotopique normal et quand ϵ est positif, l'effet isotopique observé est dit inverse.

$$\epsilon = (\alpha - 1) \times 1000$$

Équation 12 : Facteur d'enrichissement (ϵ).

Dans le cadre de cette étude, l'ensemble des résultats obtenus seront exprimés en termes de facteur d'enrichissement. Il faudra différencier les effets isotopiques totaux (ϵ_t) des effets isotopiques position-spécifiques (ϵ_i) où i est le numéro de la position carbonée considérée. Cette notation a été choisie pour se conformer à la littérature, ainsi que pour faciliter la lecture.

I-4-5 Calcul de l'incertitude étendue

Afin de définir le seuil de significativité des résultats obtenus au cours de ce projet, le principe de l'incertitude étendue (ou élargie) a été utilisée [68]. Ce critère a été choisi, car il permet de prendre en compte l'ensemble des paramètres pouvant affecter le résultat et non pas seulement l'écart-type de mesure associé à une expérience, comme cela est couramment fait dans la littérature. Le calcul de l'incertitude étendue a été réalisé une fois pour toute à partir des données disponibles selon les expériences.

De manière à faciliter la description de la démarche permettant de calculer l'incertitude étendue, les données issues d'une expérience de distillation dont le produit (la tête de distillation) est collecté puis analysé pour calculer l'effet isotopique induit par ce phénomène ont été utilisées. Auparavant il est utile de rappeler les symboles et définitions associés aux calculs d'incertitude selon le Tableau 4 :

Tableau 4 : Symboles et définitions des termes utilisés dans le calcul de l'incertitude étendue.

Nom	Symbole	Définition
Incertitude type	$u(y)$	Correspond à l'incertitude d'une contribution individuelle (souvent associé à un écart-type) du paramètre y .
Incertitude combinée	$u_c(y)$	Correspond à l'incertitude totale sur y obtenue en combinant les incertitudes individuelles, en suivant les lois de propagation des incertitudes.
Incertitude étendue	$U(y)$	$U = u_c \times k$, où k est le facteur d'élargissement dépendant du niveau de confiance. Par exemple $k = 2$ pour 95% de confiance.

L'expression finale du résultat sur y sera : $y \pm U$.

Le but est de déterminer U en calculant u_c à partir de chaque contribution. Les éléments qui seront utilisés pour ce calcul dépendent de l'expérience. La démarche suit le guide officiel du GUM [68]. Le plus simple est de partir de l'équation du mesurande. Dans notre cas l'expérience peut se résumer par l'équation simplifiée de ε .

$$\varepsilon = \frac{\Delta\delta^{13}\text{C}}{\ln f}$$

Équation 13 : Calcul simplifié du facteur d'enrichissement en ^{13}C (ε).

La détermination du rendement de la distillation (f) est réalisée par pesées sur une balance ayant une précision égale à 10^{-2} mg et les analyses isotopiques sont effectuées par irm-MS ou irm- ^{13}C NMR dont l'écart-type de mesure est de 0.3‰ [56]. Pour cela, deux pesées sont effectuées, la tare du ballon de récupération (pesée 1) et la pesée du distillat récolté (pesée 2). Deux analyses isotopiques sont également effectuées, celle du substrat initial ($\delta^{13}\text{C}_0$) et celle du distillat ($\delta^{13}\text{C}_t$). L'ensemble des paramètres à considérer dans le calcul de l'incertitude sont décrits dans le diagramme d'Hishikawa (Figure 9), également appelé diagramme de cause-effet ou encore diagramme « en arête de poisson » suivant :

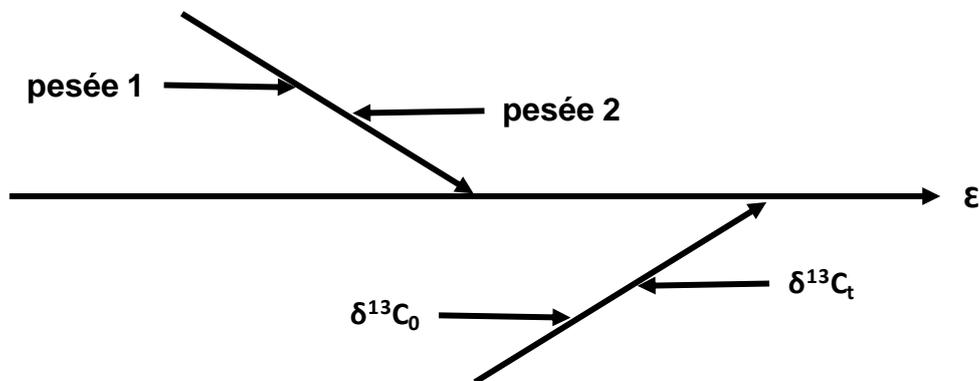


Figure 9 : Diagramme d'Hishikawa décrivant les paramètres à prendre en compte lors du calcul de l'incertitude étendue.

Dans l'exemple étudié, deux analyses isotopiques dont l'écart-type de mesure est de 0.3‰ sont réalisées. D'après la règle de propagation des incertitudes, on peut calculer l'incertitude associée aux mesures isotopiques (notée $u(m)$) telle que décrite dans l'équation 14 :

$$u(m) = \sqrt{0.3^2 + 0.3^2} = 0.42‰$$

Équation 14 : Calcul de l'incertitude ($u(m)$) pour la contribution des deux mesures isotopiques.

L'écart-type de mesure de la balance utilisée, tel qu'il est décrit par le fabricant, est de ± 0.01 mg. Pour traduire cette variation en incertitude, on utilise une distribution rectangle, c'est-à-dire qu'il y a autant de chance pour que la valeur mesurée soit surestimée de 0.01 mg ou sous-estimée de 0.01 mg ou soit la valeur médiane. L'incertitude de pesée ($u(p)$) peut donc être calculée selon l'équation 15 :

$$u(p) = \sqrt{\left(\frac{0.01}{\sqrt{3}}\right)^2 \times 2} = 8.16 \cdot 10^{-3} \text{ mg}$$

Équation 15 : Calcul de l'incertitude ($u(p)$) pour la contribution des deux pesées.

Une fois ces incertitudes individuelles calculées, l'incertitude combinée de ces deux mesures est déterminée selon l'équation 16 qui prend en compte la variation de composition isotopique observée (ici 3‰, ce qui est une valeur moyenne mesurée en distillation) et la masse pesée (2221 mg, ce qui équivaut à la masse d'un distillat correspondant à 3% de 100 mL de MTBE) ainsi que le facteur d'enrichissement (0.5‰, qui est une valeur moyenne obtenue) :

$$\frac{u_c(\varepsilon)}{\varepsilon} = \frac{\sqrt{\left(\frac{0.42}{3}\right)^2 + \left(\frac{8.16 \cdot 10^{-3}}{2221}\right)^2}}{\varepsilon} = \frac{0.14}{\varepsilon} \text{ d'où } u_c(\varepsilon) = 0.14 \times 0.5 = 0.07$$

Équation 16 : Calcul de l'incertitude combinée ($u_c(\varepsilon)$) des mesures isotopiques et des pesées effectuées (‰).

La dernière étape consiste à calculer l'incertitude étendue à partir de l'incertitude combinée et d'un facteur k correspondant au facteur d'élargissement. Ce facteur k est

égal à 2 d'après la table de Student avec un risque de 5%. Le calcul de l'incertitude étendue est décrit dans l'équation 17, en prenant $u_c(\varepsilon)$ arrondie à 0.1‰ :

$$U = u_c \times k = 0.1 \times 2 = 0.2\text{‰}$$

Équation 17 : Calcul de l'incertitude étendue (U) des mesures isotopiques et des pesées effectuées.

L'incertitude étendue obtenue pour la détermination de ε au cours de l'étude est de 0.2‰. L'ensemble des résultats obtenus en distillation ainsi que dans l'ensemble de l'étude de changement d'état liquide-vapeur seront donc considérés comme significatifs si les valeurs obtenues sont supérieures ou égales à cette incertitude étendue sur ε . Cette valeur seuil de 0.2‰ a ainsi été utilisée pour chacun des phénomènes étudiés au cours de ce projet.

I-5 Références bibliographiques

- 1 T. B. Hofstetter, and M. Berg, 'Assessing Transformation Processes of Organic Contaminants by Compound-Specific Stable Isotope Analysis', *TrAC*, **2011**, 30, 618-627.
- 2 Z. Muccio, and G. P. Jackson, 'Isotope Ratio Mass Spectrometry', *Analyst*, **2009**, 134, 213-222.
- 3 F. Vanhaecke, L. Balcaen, and D. Malinovsky, 'Use of Single-Collector and Multi-Collector ICP-Mass Spectrometry for Isotopic Analysis', *J. Anal. At. Spectrom.*, **2009**, 24, 863-886.
- 4 D. J. Weiss, M. Rehkemper, R. Schoenberg, M. McLaughlin, J. Kirby, P. G. C. Campbell, T. Arnold, J. Chapman, K. Peel, and S. Gioia, 'Application of Nontraditional Stable-Isotope Systems to the Study of Sources and Fate of Metals in the Environment', *Environ. Sci. Technol.*, **2008**, 42, 655-664.
- 5 R. Santamaria-Fernandez, D. Carter, and R. Hearn, 'Precise and Traceable $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotope Amount Ratios by Multicollector ICP-MS', *Anal. Chem.*, **2008**, 80, 5963-5969.
- 6 D. Malinovsky, P. J. H. Dunn, and H. Goenaga-Infante, 'Determination of Absolute $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotope Amount Ratios by MC-ICP-MS Using Calibration with Synthetic Isotope Mixtures', *J. Anal. At. Spectrom.*, **2013**, 28, 1760-1771.
- 7 A. Amrani, A. L. Sessions, and J. F. Adkins, 'Compound-Specific $\delta^{34}\text{S}$ Analysis of Volatile Organics by Coupled GC/Multicollector-ICP-MS', *Anal. Chem.*, **2009**, 81, 9027-9034.
- 8 E. R. Crosson, K. N. Ricci, B. A. Richman, F. C. Chilese, T. G. Owano, R. A. Provencal, M. W. Todd, J. Glasser, A. A. Kachanov, B. A. Paldus, T. G. Spence, and R. N. Zare, 'Stable Isotope Ratios Using Cavity Ring-Down Spectroscopy: Determination of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ for Carbon Dioxide in Human Breath', *Anal. Chem.*, **2002**, 74, 2003-2007.
- 9 R. N. Zare, D. S. Kuramoto, C. Haase, S. M. Tan, E. R. Crosson, and N. M. R. Saad, 'High-Precision Optical Measurements of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Isotope Ratios in Organic Compounds at Natural Abundance', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2009**, 106, 10928-10932.
- 10 F. Keppler, S. Laukenmann, J. Rinne, H. Heuwinkel, M. Greule, M. Whitticar, and J. Lelieveld, 'Measurements of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ Methane from Anaerobic Digesters: Comparison of Optical Spectrometry with Continuous-Flow Isotope Ratio Mass Spectrometry', *Environ. Sci. Technol.*, **2010**, 44, 5067-5073.
- 11 E. Kerstel, and L. Gianfrani, 'Advances in Laser-Based Isotope Ratio Measurements: Selected Applications', *Appl. Phys. B*, **2008**, 92, 439-449.
- 12 J. M. Eiler, M. Clog, P. Magyar, A. Piasecki, A. Sessions, D. Stolper, M. Deerberg, H.-J. Schlueter, and J. Schwieters, 'A High-Resolution Gas-Source Isotope Ratio Mass Spectrometer', *Int. J. Mass spectrom.*, **2013**, 335, 45-56.
- 13 K. Sakaguchi-Söder, J. Jäger, H. Grund, F. Matthäus, and C. Schüth, 'Monitoring and Evaluation of Dechlorination Processes Using Compound-Specific Chlorine Isotope Analysis', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2007**, 21, 3077-3084.
- 14 C. Aeppli, H. Holmstrand, P. Andersson, and Ö. Gustafsson, 'Direct Compound-Specific Stable Chlorine Isotope Analysis of Organic Compounds with Quadrupole GC-MS Using Standard Isotope Bracketing', *Anal. Chem.*, **2010**, 82, 420-426.

- 15 A. O. Nier, and E. A. Gulbransen, 'Variations in the Relative Abundance of the Carbon Isotopes', *J. Am. Chem. Soc.*, **1939**, 61, 697-698.
- 16 C. R. McKinney, J. M. McCrea, S. Epstein, H. A. Allen, and H. C. Urey, 'Improvements in Mass Spectrometers for the Measurement of Small Differences in Isotope Abundance Ratios', *Review of Sci. Instrum.*, **1950**, 21, 724-730.
- 17 D. E. Matthews, and J. M. Hayes, 'Isotope-Ratio-Monitoring Gas Chromatography-Mass Spectrometry', *Anal. Chem.*, **1978**, 50, 1465-1473.
- 18 E. M. Galimov, 'Isotope Organic Geochemistry', *Org. Geochem.*, **2006**, 37, 1200-1262.
- 19 W. A. Brand, 'High Precision Isotope Ratio Monitoring Techniques in Mass Spectrometry', *J. Mass Spectrom.*, **1996**, 31, 225-235.
- 20 M. Elsner, M. A. Jochmann, T. B. Hofstetter, D. Hunkeler, A. Bernstein, T. C. Schmidt, and A. Schimmelmann, 'Current Challenges in Compound-Specific Stable Isotope Analysis of Environmental Organic Contaminants', *Anal. Bioanal. Chem.*, **2012**, 403, 2471-2491.
- 21 M. Thullner, F. Centler, H.-H. Richnow, and A. Fischer, 'Quantification of Organic Pollutant Degradation in Contaminated Aquifers Using Compound Specific Stable Isotope Analysis - Review of Recent Developments', *Org. Geochem.*, **2012**, 42, 1440-1460.
- 22 M. C. Aelion, P. Höhener, D. Hunkeler, and R. Aravena, *Environmental Isotopes in Biodegradation and Bioremediation*, Taylor & Francis Group, **2010**.
- 23 A. Cincinelli, F. Pieri, Y. Zhang, M. Seed, and K. C. Jones, 'Compound Specific Isotope Analysis (CSIA) for Chlorine and Bromine: A Review of Techniques and Applications to Elucidate Environmental Sources and Processes', *Environ. Pollut.*, **2012**, 169, 112-127.
- 24 H. Craig, 'Isotopic Standards for Carbon and Oxygen and Correction Factors for Mass-Spectrometric Analysis of Carbon Dioxide', *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1957**, 12, 133-149.
- 25 J. Kaiser, 'Reformulated ¹⁷O Correction of Mass Spectrometric Stable Isotope Measurements in Carbon Dioxide and a Critical Appraisal of Historic 'Absolute' Carbon and Oxygen Isotope Ratios', *Geochim. Cosmochim. Acta*, **2008**, 72, 1312-1334.
- 26 P. H. Abelson, and T. C. Hoering, 'Carbon Isotope Fractionation in Formation of Amino Acids by Photosynthetic Organisms', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1961**, 47, 623-632.
- 27 W. G. Meinschein, G. G. L. Rinaldi, J. M. Hayes, and D. A. Schoeller, 'Intramolecular Isotopic Order in Biologically Produced Acetic Acid', *Biol. Mass Spectrom.*, **1974**, 1, 172-174.
- 28 G. Rinaldi, W. G. Meinschein, and J. M. Hayes, 'Intramolecular Carbon Isotopic Distribution in Biologically Produced Acetoin', *Biol. Mass Spectrom.*, **1974**, 1, 415-417.
- 29 K. D. Monson, and J. M. Hayes, 'Carbon Isotopic Fractionation in the Biosynthesis of Bacterial Fatty Acids. Ozonolysis of Unsaturated Fatty Acids as a Means of Determining the Intramolecular Distribution of Carbon Isotopes', *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1982**, 46, 139-149.
- 30 D.-S. Huang, S.-H. Wu, C.-Y. Huang, and C.-Y. Lin, 'An Exploration of Intramolecular Carbon Isotopic Distributions of Commercial Acetone and Isopropanol', *Org. Geochem.*, **1999**, 30, 667-674.

- 31 A. Rossmann, M. Butzenlechner, and H.-L. Schmidt, 'Evidence for a Nonstatistical Carbon Isotope Distribution in Natural Glucose', *Plant Physiol.*, **1991**, 96, 609-614.
- 32 T. Weilacher, G. Gleixner, and H.-L. Schmidt, 'Carbon Isotope Pattern in Purine Alkaloids a Key to Isotope Discriminations in C1 Compounds', *Phytochemistry*, **1996**, 41, 1073-1077.
- 33 H. Penning, and M. Elsner, 'Intramolecular Carbon and Nitrogen Isotope Analysis by Quantitative Dry Fragmentation of the Phenylurea Herbicide Isoproturon in a Combined Injector/Capillary Reactor Prior to GC Separation', *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 8399-8405.
- 34 T. N. Corso, and J. T. Brenna, 'High-Precision Position-Specific Isotope Analysis', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **1997**, 94, 1049-1053.
- 35 R. F. Dias, K. H. Freeman, and S. G. Franks, 'Gas Chromatography–Pyrolysis–Isotope Ratio Mass Spectrometry: A New Method for Investigating Intramolecular Isotopic Variation in Low Molecular Weight Organic Acids', *Org. Geochem.*, **2002**, 33, 161-168.
- 36 K. Yamada, M. Tanaka, F. Nakagawa, and N. Yoshida, 'On-Line Measurement of Intramolecular Carbon Isotope Distribution of Acetic Acid by Continuous-Flow Isotope Ratio Mass Spectrometry', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2002**, 16, 1059-1064.
- 37 R. Hattori, K. Yamada, M. Kikuchi, S. Hirano, and N. Yoshida, 'Intramolecular Carbon Isotope Distribution of Acetic Acid in Vinegar', *J. Agric. Food. Chem.*, **2011**, 59, 9049-9053.
- 38 A. Gilbert, R. Hattori, V. Silvestre, N. Wasano, S. Akoka, S. Hirano, K. Yamada, N. Yoshida, and G. S. Remaud, 'Comparison of IRMS and NMR Spectrometry for the Determination of Intramolecular ^{13}C Isotope Composition: Application to Ethanol', *Talanta*, **2012**, 99, 1035-1039.
- 39 A. Gilbert, K. Yamada, and N. Yoshida, 'Accurate Method for the Determination of Intramolecular ^{13}C Isotope Composition of Ethanol from Aqueous Solutions', *Anal. Chem.*, **2013**, 85, 6566-6570.
- 40 C. Gauchotte, G. O'Sullivan, S. Davis, and R. M. Kalin, 'Development of an Advanced on-line Position-Specific Stable Carbon Isotope System and Application to Methyl *Tert*-Butyl Ether', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2009**, 23, 3183-3193.
- 41 A. Chaintreau, W. Fieber, H. Sommer, A. Gilbert, K. Yamada, N. Yoshida, A. Pagelot, D. Moskau, A. Moreno, J. Schleucher, F. Reniero, M. Holland, C. Guillou, V. Silvestre, S. Akoka, and G. S. Remaud, 'Site-Specific ^{13}C Content by Quantitative Isotopic ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry: A Pilot Inter-Laboratory Study', *Anal. Chim. Acta*, **2013**, 788, 108-113.
- 42 G. J. Martin, and M. L. Martin, 'Deuterium Labelling at the Natural Abundance Level as Studied by High Field Quantitative ^2H NMR', *Tetrahedron Lett.*, **1981**, 22, 3525-3528.
- 43 G. Martin, S. Akoka, and M. Martin, 'SNIF-NMR - Part 1: Principles', in *Modern Magnetic Resonance*, ed. by G. A. Webb, Springer Netherlands, **2006**, pp. 1651-1658.
- 44 M. Martin, B. Zhang, and G. Martin, 'SNIF-NMR - Part 2: Isotope Ratios as Tracers of Chemical and Biochemical Mechanistic Pathways', in *Modern Magnetic Resonance*, ed. by G. A. Webb, Springer Netherlands, **2006**, pp. 1659-1667.

- 45 G. Martin, M. Martin, and G. Remaud, 'SNIF-NMR - Part 3: From Mechanistic Affiliation to Origin Inference', in *Modern Magnetic Resonance*, ed. by G. A. Webb, Springer Netherlands, **2006**, pp. 1669-1680.
- 46 E. Jamin, and G. Martin, 'SNIF-NMR - Part 4: Applications in an Economic Context: The Example of Wines, Spirits, and Juices', in *Modern Magnetic Resonance*, ed. by G. A. Webb, Springer Netherlands, **2006**, pp. 1681-1687.
- 47 G. J. Martin, C. Guillou, M. L. Martin, M. T. Cabanis, Y. Tep, and J. Aerny, 'Natural Factors of Isotope Fractionation and the Characterization of Wines', *J. Agric. Food. Chem.*, **1988**, 36, 316-322.
- 48 C. Vallet, M. Arendt, and G. Martin, 'Site-Specific Isotope Fractionation of Hydrogen in the Oxydation of Ethanol into Acetic Acid. Application to Vinegars', *Biotechnol. Tech.*, **1988**, 2, 83-88.
- 49 G. J. Martin, and M. L. Martin, 'The Site-Specific Natural Isotope Fractionation-NMR Method Applied to the Study of Wines', in *Wine Analysis*, ed. by H-F. Linskens and J. F. Jackson, Springer Berlin Heidelberg, **1988**, pp. 258-275.
- 50 G. S. Remaud, Y.-L. Martin, G. G. Martin, and G. J. Martin, 'Detection of Sophisticated Adulterations of Natural Vanilla Flavors and Extracts: Application of the SNIF-NMR Method to Vanillin and *p*-Hydroxybenzaldehyde', *J. Agric. Food. Chem.*, **1997**, 45, 859-866.
- 51 G. Remaud, A. A. Debon, Y.-I. Martin, G. G. Martin, and G. J. Martin, 'Authentication of Bitter Almond Oil and Cinnamon Oil: Application of the SNIF-NMR Method to Benzaldehyde', *J. Agric. Food. Chem.*, **1997**, 45, 4042-4048.
- 52 V. Caer, M. Trierweiler, G. J. Martin, and M. L. Martin, 'Determination of Site-Specific Carbon Isotope Ratios at Natural Abundance by Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy', *Anal. Chem.*, **1991**, 63, 2306-2313.
- 53 M. E. Wieser, and T. B. Coplen, 'Atomic Weights of the Elements 2009 (IUPAC Technical Report)', *Pure Appl. Chem.*, **2010**, 83.
- 54 D. A. Singleton, and A. A. Thomas, 'High-Precision Simultaneous Determination of Multiple Small Kinetic Isotope Effects at Natural Abundance', *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 9357-9358.
- 55 G. J. Martin, and M. L. Martin, 'Stable Isotope Analysis of Food and Beverages by Nuclear Magnetic Resonance', in *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, ed. by P. S. Belton, G. A. Webb and M. J. Mccarthy, Academic Press, **1995**, pp. 81-104.
- 56 E. Caytan, E. P. Botosoa, V. Silvestre, R. J. Robins, S. Akoka, and G. S. Remaud, 'Accurate Quantitative ¹³C NMR Spectroscopy: Repeatability over Time of Site-Specific ¹³C Isotope Ratio Determination', *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 8266-8269.
- 57 R. R. Ernst, and W. A. Anderson, 'Application of Fourier Transform Spectroscopy to Magnetic Resonance', *Review of Sci. Instrum.*, **1966**, 37, 93-102.
- 58 S. Gillet, and J. J. Delpuech, 'Optimum Conditions for Nondestructive Quantitative Analysis by Carbon-13 NMR', *J. Magn. Reson.*, **1980**, 38, 433-445.
- 59 S. Takeshi, N. Sachiko, K. Miyuki, I. Toshihide, K. Shinichi, N. Akira, and M. Tsuneaki, 'Practical Guide for Accurate Quantitative Solution State NMR Analysis', *Metrologia*, **2004**, 41, 213.
- 60 E. Caytan, Y. Cherghaoui, C. Barril, C. Jouitteau, C. Rabiller, and G. S. Remaud, 'Strategy for Specific Isotope Ratio Determination by Quantitative NMR on Symmetrical Molecules: Application to Glycerol', *Tetrahedron: Asymmetry*, **2006**, 17, 1622-1624.

- 61 E. Tenailleau, G. Remaud, and S. Akoka, 'Quantification of the ^1H -Decoupling Effects on the Accuracy of ^{13}C -NMR Measurements', *Instrum. Sci. Technol.*, **2005**, 33, 391-399.
- 62 E. Tenailleau, and S. Akoka, 'Adiabatic ^1H Decoupling Scheme for Very Accurate Intensity Measurements in ^{13}C NMR', *J. Magn. Reson.*, **2007**, 185, 50-58.
- 63 V. Silvestre, V. M. Mboula, C. Jouitteau, S. Akoka, R. J. Robins, and G. S. Remaud, 'Isotopic ^{13}C NMR Spectrometry to Assess Counterfeiting of Active Pharmaceutical Ingredients: Site-Specific ^{13}C Content of Aspirin and Paracetamol', *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2009**, 50, 336-341.
- 64 K. Bayle, S. Akoka, G. S. Remaud, and R. J. Robins, 'Non-Statistical ^{13}C Distribution During Carbon Transfer from Glucose to Ethanol During Fermentation Is Determined by the Catabolic Pathway Exploited', *J. Biol. Chem.*, **2014**, DOI: 10.1074/jbc.M114.621441.
- 65 T. B. Coplen, 'Guidelines and Recommended Terms for Expression of Stable-Isotope-Ratio and Gas-Ratio Measurement Results', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2011**, 25, 2538-2560.
- 66 W. A. Van Hook, 'Isotope Effects in Chemistry', *Nukleonika*, **2011**, 56, 217-240.
- 67 J. Bigeleisen, and M. G. Mayer, 'Calculation of Equilibrium Constants for Isotopic Exchange Reactions', *J. Chem. Phys.*, **1947**, 15, 261-267.
- 68 *JCGM/WG, 2008. Evaluation of Measurement Data- Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. Evaluation of Measurement Data- Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement 100.*

II – Détermination des effets isotopiques position-spécifiques au cours de la remédiation des contaminants du sol

II-1 Choix des polluants étudiés

Les polluants utilisés dans cette étude ont été sélectionnés en fonction de leur intérêt dans le cadre d'une étude PSIA (par exemple le benzène possède 6 carbones mais un seul déplacement chimique en RMN du ^{13}C , l'analyse irm- ^{13}C NMR est donc inutile), de leur facilité d'accès (volume et pureté disponibles, coût à l'achat) et de leur utilisation dans différents travaux dans le domaine de l'environnement.

Le projet ANR ISOTO-POL a pour principal objectif l'étude des fractionnements isotopiques position-spécifiques apparaissant au cours de la remédiation de la pollution des sols et des eaux par les éthers présents dans les carburants tels que le MTBE. Ce composé, utilisé dans le monde entier, mais surtout aux Etats Unis, à des taux élevés dans l'essence, est aujourd'hui l'un des plus retrouvés dans le sol ainsi que dans les sources d'eau potable, ce qui justifie son choix pour ce travail de thèse. Le TAME a également été retenu, car il est aussi présent en quantité non-négligeable dans les carburants raffinés en Europe. L'ETBE avait quant à lui été retenu dans le projet initial, mais il n'a été utilisé que dans l'étude d'origine des polluants, en raison de la difficulté de se procurer ce composé en quantité suffisante à un prix abordable, les fournisseurs ne voulant plus participer au projet *in fine*.

L'essence étant principalement composée de molécules issues du raffinage et du craquage du pétrole avec, entre autre, de nombreux alcanes et composés aromatiques (famille BTEX pour Benzène, Toluène, Ethylbenzène et Xylènes), le *n*-heptane et le toluène ont également été sélectionnés pour cette étude.

Bon nombre d'études de remédiation de polluants du sol portent sur les éthènes chlorés tels que le trichloroéthène (TCE) qui sert principalement au dégraissage à la vapeur de pièces métalliques dans l'industrie.

Enfin, pour des raisons pratiques dans le cadre de l'étude de la migration des polluants au-travers de différentes phases stationnaires, un contaminant solide a été ajouté à cette liste : le paracétamol. Cette prodrogue n'étant pas totalement métabolisée par l'organisme, des quantités importantes de ce médicament sont retrouvées dans les eaux potables [1].

Cette liste principale de polluants a ensuite été complétée par d'autres molécules en fonction des différentes études réalisées.

II-2 Détermination de l'origine des polluants – étude forensique

II-1-1 Définitions et objectifs

Les études forensiques (ou ingénierie forensique) représentent l'ensemble des moyens et techniques scientifiques employés dans le but d'aider la justice à déterminer les causes d'une activité hors la loi. Ce type d'étude emploie l'ensemble des disciplines scientifiques (chimie, physique, biologie moléculaire...) afin de déterminer la cause d'un incident, d'identifier le responsable d'un délit, d'un crime ou encore de retracer l'origine d'un composé.

Les études forensiques sont également utilisées afin d'identifier et poursuivre le(s) responsable(s) de la contamination d'un sol ou d'une zone aquifère. De nombreuses méthodes sont employées dans les cas d'atteinte à l'environnement, dans le but de d'identifier de manière formelle l'origine du contaminant.

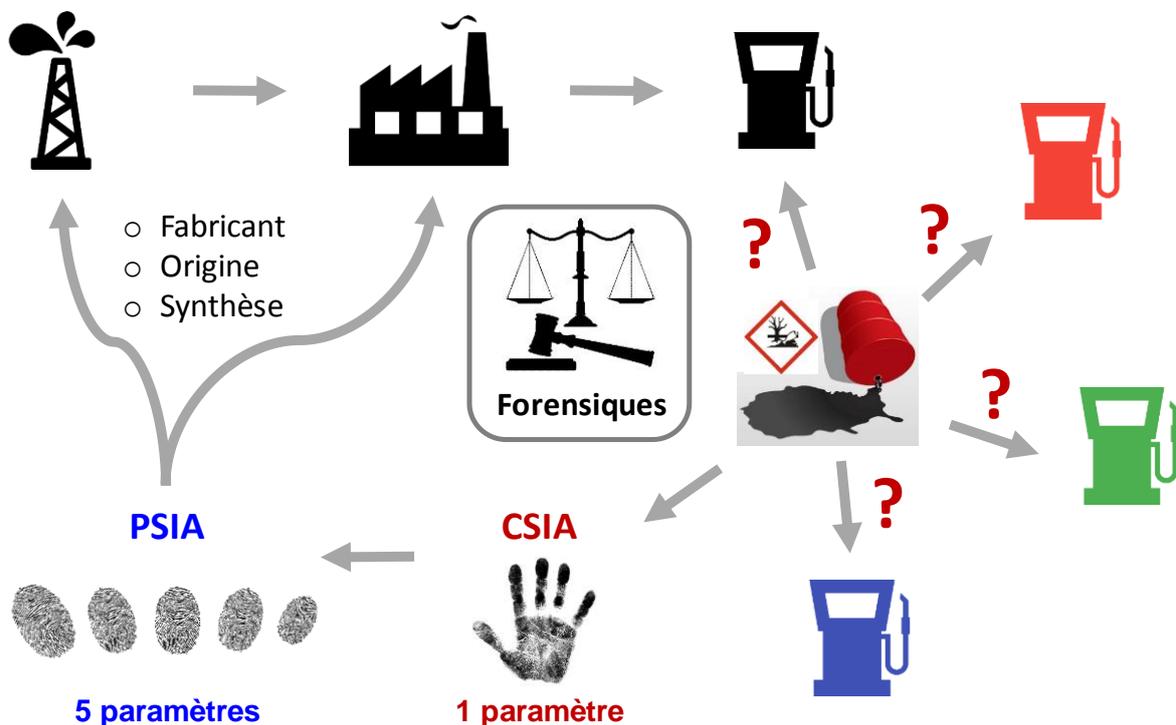


Figure 10 : Principe général des études forensiques utilisant la CSIA et la PSIA dans le cadre de la détermination de l'origine d'un contaminant du sol.

L'analyse isotopique est l'outil idéal pour ce type d'étude. En effet, la composition isotopique d'un composé donné est caractéristique de son origine naturelle et / ou de la voie de synthèse employée pour sa fabrication. Cette empreinte permet alors de retrouver le fabricant du contaminant retrouvé dans la nature et ainsi de fournir les preuves nécessaires à la justice pour entamer les poursuites.

La question posée dans cette section est la suivante : **l'utilisation de la mesure isotopique position-spécifique par irm-¹³C NMR permet-elle d'identifier plus efficacement la source d'une contamination?** Le gain d'information apporté par cette méthode pourrait en effet faciliter la détermination de l'origine d'un contaminant.

L'utilisation de l'irm-¹³C NMR a déjà démontré son intérêt dans la détermination de l'origine de composés organiques de toute sorte, comme c'est le cas par exemple de l'éthanol dans le contexte de l'analyse de l'authenticité de la téquila. En effet, la mesure de la composition isotopique totale de ce composé ne permet pas de différencier si cet éthanol est issu de la canne à sucre ou de l'agave, tandis que l'analyse position-spécifique indique nettement une différence de composition isotopique entre les éthanols de ces deux origines : le méthyle (C-2) est plus riche en ¹³C que le carbone portant la fonction alcool (C-1) dans le cas de l'éthanol issu de la canne à sucre et une tendance inverse est observée pour l'éthanol d'agave [2]. De la même manière, la PSIA réalisée par irm-GC-Py-GC-MS a permis de déterminer l'origine des vinaigres en utilisant l'acide acétique comme molécule sonde [3].

Quelques études de l'origine des polluants du sol et des eaux souterraines ont déjà été réalisées grâce aux mesures de composition isotopique. L'analyse isotopique peut potentiellement permettre de (i) déterminer l'origine naturelle (biosynthèse par exemple) ou de (ii) confirmer la provenance d'un échantillon, pour les composés issus de la distillation du pétrole comme le toluène par exemple et de (iii) déterminer son procédé de fabrication, pour les composés tels que le MTBE. Il apparaît que l'analyse isotopique totale (irm-MS, irm-MC-ICP-MS) en ¹³C est la plus fréquemment utilisée [4]. Quelques rares études utilisant l'analyse isotopique position-spécifique dans le cadre de problématiques environnementales ont été réalisées. On retrouve par exemple la détermination des fractionnements isotopiques position-spécifiques en ²H apparaissant au cours de la dégradation abiotique du MTBE [5] ou encore le

développement d'outils permettant une analyse position-spécifique partielle en ^{13}C grâce au couplage de la fragmentation par pyrolyse avec l'irm-MS afin de retracer la source d'une contamination par le MTBE [6]. Malgré tout, la PSIA demeure rarement utilisée pour ce type d'études.

II-2-2 Les additifs des carburants

Les éthers tels que le MTBE, l'ETBE et le TAME sont ajoutés aux carburants en quantités variables selon les pays et les raffineurs. Ces composés pourraient être utilisés en tant que « molécules sonde » lors de l'identification de l'origine des carburants. En effet, la composition isotopique de l'un de ces composés présent dans un carburant donné pourrait servir d'empreinte permettant d'identifier l'origine de l'essence retrouvée sur un site contaminé, par comparaison avec les compositions isotopiques de ce même produit dans les carburants issus de différents fabricants. De plus, leur analyse isotopique peut apporter deux types d'informations : l'origine des réactifs employés dans leur production et / ou la voie de synthèse employée. Les informations obtenues par la PSIA de ces additifs peuvent potentiellement être un excellent outil d'identification de l'origine de la contamination d'un sol ou d'une source d'eau par le carburant.

Le MTBE et l'ETBE sont produits par réaction de l'isobutène avec le méthanol et l'éthanol respectivement. La PSIA pourrait permettre de retracer l'origine de l'isobutène utilisé qui peut être plus ou moins riche en ^{13}C selon l'origine géographique du pétrole d'où il est issu. De plus, il pourrait être intéressant d'observer l'origine de l'éthanol utilisé dans la synthèse de l'ETBE, car il peut être d'origine synthétique (hydratation de l'éthylène par exemple) ou issu de la fermentation (bioéthanol). L'irm- ^{13}C NMR pourrait même donner une indication sur la nature des plantes utilisées pour la production du bioéthanol employé dans la synthèse de l'ETBE. Le TAME quant à lui est produit à partir du méthanol et des isoamylènes (2-méthyl-2-butène et 2-méthyl-1-butène) eux-mêmes issus du craquage du pétrole. L'information apportée par la PSIA pourrait également permettre de retracer l'origine du pétrole employé pour la fabrication des isoamylènes engagés dans la synthèse du TAME, en étudiant la composition isotopique en ^{13}C des positions correspondantes.

II-2-3 Le trichloroéthène (TCE)

Certains articles traitent de l'origine du TCE en utilisant la mesure isotopique en ^{13}C souvent accompagnée de l'analyse en ^{37}Cl [7-9]. Ces mesures ne permettent pas systématiquement de différencier les lots étudiés ou de conforter leur similitude.

Les différences de composition isotopique position-spécifique potentielles pourraient être dues à la production de ce composé. En effet, la majorité du TCE est produit par chloration de l'éthylène qui peut provenir de différents sites d'extraction dans le monde. Dans ce cas de figure, l'analyse position-spécifique pourrait apporter un complément dans la différenciation de lots de TCE.

II-2-4 Le toluène et le *n*-heptane

Quelques mesures isotopiques ont également été réalisées afin de déterminer l'origine de certains composés issus de la distillation du pétrole que l'on retrouve régulièrement dans le sol et les eaux souterraines dans les cas de pollution par les hydrocarbures [10-11].

Les composés aromatiques tels que le toluène, le benzène et les xylènes sont regroupés dans une famille appelée les BTEX. Le toluène a été choisi pour cette étude, car son analyse permet de mesurer des valeurs de compositions isotopiques pour cinq sites distincts. De la même manière, le *n*-heptane possède quatre sites analysables par irm- ^{13}C NMR. Les études réalisées par irm-MS sur ces composés n'ont pas systématiquement permis de retracer l'origine des lots étudiés en utilisant la mesure de composition isotopique totale. Le complément d'information apporté par les mesures position-spécifiques pourraient potentiellement faciliter le traçage de ces contaminants dans la nature.

II-2-5 L'acétone

Ce solvant est produit industriellement en utilisant essentiellement le procédé au cumène [12], qui permet de fabriquer conjointement l'acétone et le phénol, à partir du benzène et du propylène, en présence de dioxygène.

La détermination de la composition isotopique totale de ce composé a déjà permis de différencier des lots [13], mais la PSIA pourrait apporter de nouveaux marqueurs de

discrimination par comparaison de la composition isotopique des méthyles à celle du carbonyle.

II-2-6 Echantillons analysés

Deux ou trois lots de chacun des composés décrits ci-dessus ont été analysés par irm-MS et irm-¹³C NMR. La liste des échantillons étudiés figure dans le Tableau 5. Les différents lots ont été achetés auprès de fournisseurs de produits chimiques en France, sauf pour les lots d'acétone obtenus au Japon. Pour certains composés, deux lots différents issus du même fournisseur ont été analysés.

Tableau 5 : Liste des échantillons utilisés pour l'étude forensique.

	Fournisseur	Code échantillon
MTBE	Sigma-Aldrich	M1
	Sigma-Aldrich	M2
	Acros Organics	M3
ETBE	Sigma-Aldrich	E1
	Sigma-Aldrich	E2
	Alfa Aesar	E3
TAME	Sigma-Aldrich	TA1
	Sigma-Aldrich	TA2
TCE	Sigma-Aldrich	TC1
	Prolabo	TC2
	Acros Organics	TC3
n-Heptane	Sigma-Aldrich	H1
	Sigma-Aldrich	H2
Toluene	Sigma-Aldrich	To1
	Sigma-Aldrich	To2
	VWR	To3
Acetone	Sigma-Aldrich	A1
	Junsei Chemical	A2
	Sigma-Aldrich	A3

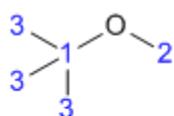
II-2-7 Résultats et discussion

Les compositions isotopiques (totales et position-spécifiques) de chacun des lots de composés analysés sont présentées sous forme de Tableaux. Les additifs des carburants (MTBE, ETBE et TAME) ont été regroupés pour leurs similarités structurales et de procédés de synthèse.

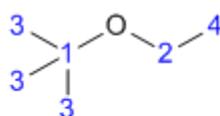
II-2-7-1 Les additifs des carburants

Tableau 6 : Compositions isotopiques totales ($\delta^{13}C_t$) et position-spécifiques ($\delta^{13}C_i$) des échantillons de MTBE, ETBE et TAME.

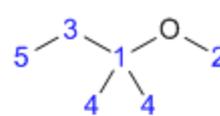
	Code échantillon	$\delta^{13}C_t$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-1}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-2}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-3}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-4}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-5}$ (‰)
MTBE	M1	-28.9	-17.1	-40.5	-29.0	-	-
	M2	-28.3	-15.6	-37.5	-29.5	-	-
	M3	-27.6	-13.4	-41.1	-27.7	-	-
ETBE	E1	-21.1	-11.6	-8.5	-31.4	-12.1	-
	E2	-21.7	-12.1	-9.2	-32.1	-12.8	-
	E3	-21.1	-10.9	-7.1	-32.2	-12.1	-
TAME	TA1	-26.3	-16.0	-41.7	-24.1	-24.5	-26.8
	TA2	-25.9	-13.4	-43.6	-22.9	-24.2	-26.9



MTBE



ETBE



TAME

Les $\delta^{13}C_t$ des différents lots de MTBE sont très similaires (Tableau 6), ce qui indiquerait que les échantillons étudiés ont des origines identiques. La certitude sur l'origine de ce composé dans un contexte d'étude forensique peut donc s'avérer difficile avec l'analyse isotopique totale seule. Par contre, à partir des valeurs de $\delta^{13}C_i$, la composition isotopique en position C-1 (le carbone quaternaire) et celle en C-2 (le carbone du groupement méthoxy) apparaissent comme des marqueurs de détection de l'origine de ce polluant. En effet, les valeurs obtenues varient sur une échelle d'environ 4‰ pour le C-1 et le C-2, ce qui est suffisant pour différencier ces trois lots

de MTBE avec certitude, car cet écart est bien supérieur à la précision de mesure en irm-¹³C NMR, dont l'écart-type de mesure est de 0.3‰ : un écart entre deux valeurs de 1.2‰ à 95% de confiance est significatif. On peut supposer que ces trois lots ont été fabriqués selon le même procédé, mais avec des matières premières présentant des profils isotopiques différents.

Il en est de même pour le TAME pour lequel les compositions isotopiques totales des deux lots étudiés sont très proches. On pourrait donc facilement conclure que ces deux échantillons ont la même origine. Les résultats obtenus grâce à l'irm-¹³C NMR montrent une distribution isotopique bien différente entre ces deux échantillons, en particulier sur le C-1, le C-2 et le C-3. Ces deux lots de TAME semblent donc avoir été fabriqués selon le même procédé de synthèse, mais avec des matières premières d'origines différentes. La PSIA montre ainsi son intérêt en tant qu'outil complémentaire de détermination de l'origine des polluants.

Dans le cas de l'ETBE, les trois échantillons analysés ont des $\delta^{13}C_t$ très proches et indiquent que les trois lots proviennent de la même source : procédé de fabrication identique et matières premières de même origine. Les $\delta^{13}C_i$ obtenues confirment cette conclusion, avec une échelle de variation ne dépassant pas 2‰ sur le C-2 et de l'ordre de 1‰ sur les autres sites carbonés. Ces résultats nous indiquent que la PSIA par irm-¹³C NMR serait un outil complémentaire utile dans le cadre d'une comparaison de deux échantillons d'un même composé. En effet, la détermination de la composition isotopique position-spécifique donne accès à un plus grand nombre de paramètres utilisables pour différencier les échantillons comparés.

De plus, le méthanol utilisé dans la synthèse du MTBE et du TAME est très pauvre en ¹³C. En effet, les valeurs de $\delta^{13}C_i$ mesurées sur le C-2 du MTBE sont comprises entre -41.1 et -37.5‰ et celles du C-2 du TAME entre -43.6 et -41.7‰. Ce résultat indiquerait que le méthanol utilisé dans la fabrication de ces lots a probablement été synthétisé à partir de méthane naturel, dont la composition isotopique est connue pour être de cet ordre de grandeur (voir Figure 11).

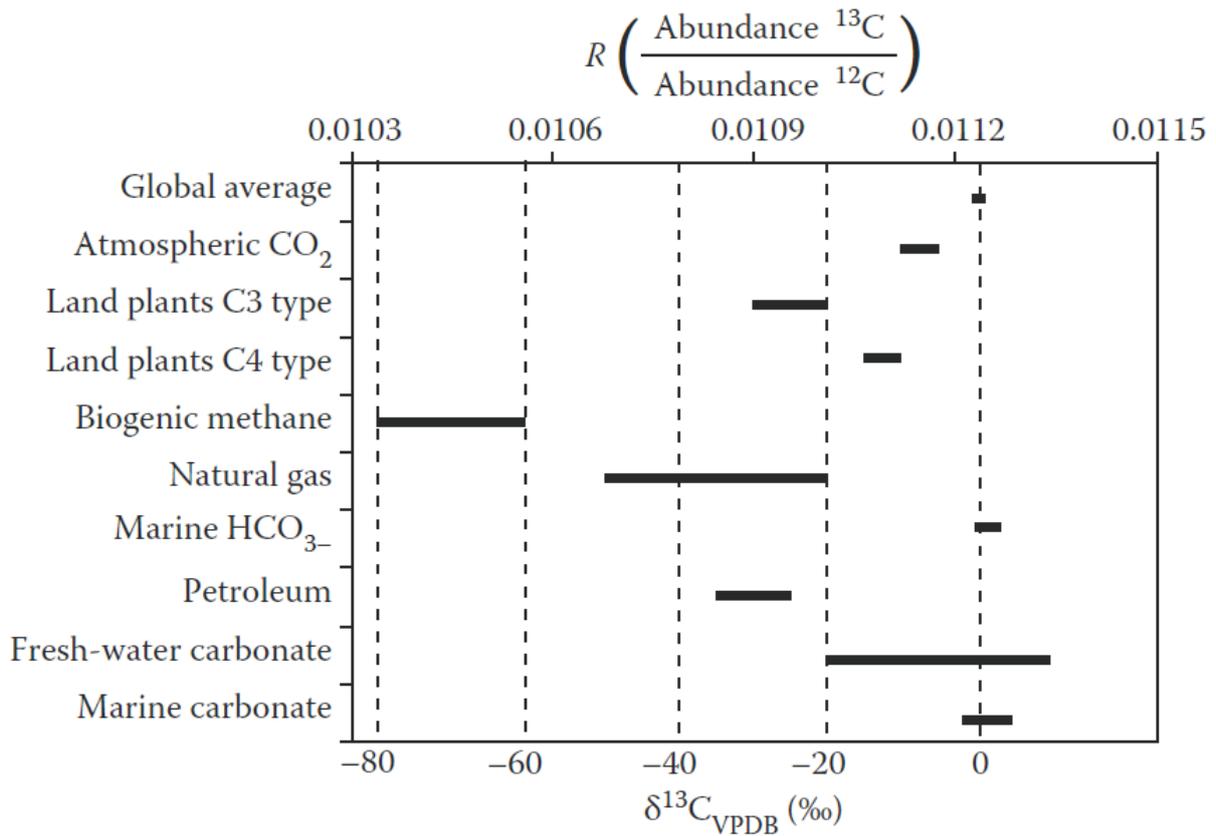


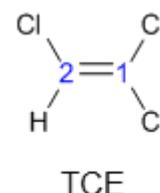
Figure 11 : Rapports Isotopiques de différents matériaux carbonés présents dans la nature [14].

Ces résultats donnent également une indication sur l'origine de l'éthanol qui a été utilisé dans la synthèse de l'ETBE (le C-2 correspondant au méthylène et le C-4 au méthyle de la molécule d'éthanol). Pour chacun des échantillons étudiés, la valeur de $\delta^{13}C_i$ mesurée pour le C-4 est de l'ordre de -12‰, ce qui est une valeur signature d'un méthyle d'éthanol issu de la fermentation d'une plante de type C₄ telle que le maïs ou la canne à sucre [2, 15-16]. La composition isotopique en position C-2 confirme cette origine de l'éthanol utilisé pour la synthèse, associé à un fractionnement isotopique probable durant la réaction avec l'isobutène.

II-2-7-2 Le TCE

Tableau 7 : Compositions isotopiques totales ($\delta^{13}C_t$) et position-spécifiques ($\delta^{13}C_i$) des échantillons de TCE.

Code échantillon	$\delta^{13}C_t$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-1}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-2}$ (‰)
TC1	-30.7	-32.6	-28.8
TC2	-35.0	-26.1	-43.9
TC3	-26.2	-25.5	-26.9

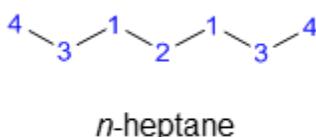


Dans le cas du TCE, les $\delta^{13}C_t$ indiquent des lots d'origine différente (Tableau 7). Néanmoins, la distribution des isotopes entre les différents sites du TCE est variable selon les lots, avec un C-1 plus pauvre en ^{13}C dans le cas de l'échantillon TC1 contre un C-2 plus pauvre pour TC2 et TC3. Il est difficile d'interpréter ces valeurs que ce soit sur l'origine des réactifs utilisés pour la synthèse ou sur les conditions réactionnelles. Une cohorte d'échantillons plus importante et plus d'indications sur les procédés de fabrication seraient nécessaires pour expliquer ces compositions isotopiques mesurées sur les différents lots. Néanmoins, le profil isotopique relatif obtenu par PSIA permet une classification plus fine des origines.

II-2-7-3 Le *n*-heptane

Tableau 8 : Compositions isotopiques totales ($\delta^{13}C_t$) et position-spécifiques ($\delta^{13}C_i$) des échantillons de *n*-heptane.

Code échantillon	$\delta^{13}C_t$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-1}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-2}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-3}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-4}$ (‰)
H1	-28.9	-26.7	-35.3	-27.6	-29.1
H2	-41.9	-41.7	-51.1	-42.7	-36.7

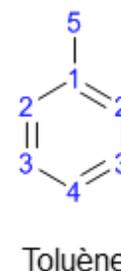


Les mesures de $\delta^{13}\text{C}_t$ réalisées sur le *n*-heptane conduisent aux mêmes conclusions que lors de l'étude des différents lots de TCE (Tableau 8). Seulement deux lots de ce composé ont été analysés ici, il est donc difficile de directement émettre une conclusion définitive sur ces résultats. Malgré tout, les résultats de $\delta^{13}\text{C}_i$ indiquent une distribution très similaire sur les C-1, C-2 et C-3 de ces deux lots avec un écart de 15-16‰. En revanche, l'écart mesuré sur le C-4 est bien inférieur, avec « seulement » -8‰. La distribution isotopique au sein des deux lots de ce composé est caractéristique des alcanes formés à partir des acides gras [17], avec une alternance de la teneur en ^{13}C plus ou moins marquée de sites carbonés. Les différences observées peuvent être dues à un effet de la purification (la distillation induit d'importants fractionnements isotopiques, voir III-2) ou alors de la maturité du pétrole utilisé.

II-2-7-4 Le toluène

Tableau 9 : Compositions isotopiques totales ($\delta^{13}\text{C}_t$) et position-spécifiques ($\delta^{13}\text{C}_i$) des échantillons de toluène.

Code échantillon	$\delta^{13}\text{C}_t$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-1}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-2}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-3}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-4}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-5}}$ (‰)
To1	-23.1	-12.6	-23.9	-25.6	-25.4	-24.7
To2	-27.3	-22.2	-26.4	-28.3	-28.2	-31.4
To3	-27.2	-22.6	-26.9	-27.3	-28.2	-30.9

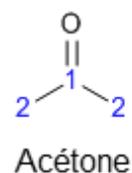


En ce qui concerne l'analyse isotopique des échantillons de toluène (Tableau 9), les lots 2 et 3 ont une valeur de $\delta^{13}\text{C}_t$ très proche, alors que ces deux échantillons proviennent de fournisseurs différents. Les $\delta^{13}\text{C}_i$ mesurées montrent des profils isotopiques très similaires entre ces deux échantillons, ce qui confirme qu'ils ont vraisemblablement la même provenance. L'échantillon To1, quant à lui, est plus riche en ^{13}C que les deux autres, tout en ayant une distribution isotopique équivalente au sein du noyau aromatique. Le C-1 et le C-5 montrent une différence plus importante de composition isotopique par rapport à To2 et To3, ce qui constitue un indice supplémentaire sur la caractérisation de l'origine de ce toluène.

II-2-7-5 L'acétone

Tableau 10 : Compositions isotopiques totales ($\delta^{13}C_t$) et position-spécifiques ($\delta^{13}C_i$) des échantillons d'acétone.

Code échantillon	$\delta^{13}C_t$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-1}$ (‰)	$\delta^{13}C_{C-2}$ (‰)
A1	-30.6	-12.8	-39.4
A2	-24.7	-7.3	-33.4
A3	-6.4	12.7	-16.0



Les trois lots d'acétone étudiés ont une composition isotopique totale bien différente (Tableau 10), ce qui permet directement de les différencier. De plus, les mesures de compositions isotopiques position-spécifiques indiquent que pour chacun des lots le carbonyle (C-1) est beaucoup plus riche en ^{13}C que les méthyles (C-2). Les profils de distribution des isotopes au sein de chacun de ces lots sont identiques, ce qui indique que ces lots d'acétone ont certainement été synthétisés selon le même procédé, mais avec des matières premières (propylène) d'origine différente.

II-2-8 Conclusion

Cette étude réalisée sur un nombre limité d'échantillons de différents polluants confirme l'intérêt des mesures isotopiques dans les études forensiques des polluants. L'analyse en irm-MS apporte une information parfois suffisante pour retrouver l'origine d'un polluant, comme c'est le cas du TCE ici. L'utilisation complémentaire de la PSIA pour ce type d'étude permet de confirmer l'origine des composés voir même parfois de retrouver la voie de synthèse employée et l'origine des matières premières engagées dans ces procédés. De manière générale, l'augmentation du nombre de paramètres rendus accessibles par l'irm- ^{13}C NMR apporte un complément d'information non-négligeable dans la détermination de l'origine des polluants et par conséquent renforce la décision finale au cours d'une enquête concernant la responsabilité d'une pollution.

A la question : est-ce que deux échantillons, l'un prélevé sur le site contaminé et l'autre saisi auprès d'une source potentielle, sont identiques ?, la réponse apportée par PSIA est ainsi plus précise et étayée par un plus grand nombre de données.

L'inconvénient majeur de l'irm-¹³C NMR pour ce type d'étude est le volume important de produit nécessaire à l'analyse. Il est généralement difficile de collecter plusieurs milligrammes de composé pur sur un site contaminé. C'est pourquoi de nouvelles séquences sont en cours de développement au laboratoire afin de permettre une analyse isotopique par RMN à partir d'un volume d'échantillon moins important. C'est le cas de la séquence INEPT qui a déjà permis de réaliser des mesures isotopiques position-spécifiques par RMN sur l'ibuprofène, en diminuant considérablement la quantité de composé utilisée en comparaison de la mesure en irm-¹³C NMR classique [18].

L'utilisation de ce type de séquence RMN permettrait (i) de réduire la quantité de matériel nécessaire à l'analyse isotopique ou (ii) de multiplier les échantillons analysés à partir d'un prélèvement réalisé sur le terrain.

Il est également possible de réaliser des profils relatifs normalisés du composé étudié. En effet, lorsque l'analyse d'un échantillon s'avère trop longue pour obtenir un rapport S/B nécessaire à la mesure isotopique (lorsque la quantité d'échantillon est trop faible par exemple), il est quand même possible de réaliser des profils de distribution des ¹³C au sein de la molécule étudiée. La comparaison des profils de différents échantillons peut, dans certains cas, être suffisante pour identifier l'origine d'un contaminant et / ou de déterminer la voie de synthèse employée pour le produire.

Dans ces contextes analytiques, il est envisageable d'analyser le MTBE avec une quantité de l'ordre de 30 mg. Ainsi l'analyse PSIA par RMN peut se réaliser à partir d'échantillons prélevés sur des sites aquifères pollués par le MTBE : théoriquement 100 mL d'eau contaminée suffisent pour l'étude.

II-3 Le changement d'état liquide-vapeur

La plupart des études décrivent les fractionnements isotopiques dans des cas de réactions (bio)chimiques impliquant des ruptures de liaisons covalentes. La différence de réactivité entre deux isotopologues (lourd et léger) engagés dans de telles réactions est une notion aujourd'hui admise par l'ensemble de la communauté scientifique et les exemples sont abondants dans la littérature.

En revanche, les fractionnements isotopiques induits par un changement d'état restent relativement méconnus et sont parfois considérés comme négligeables, bien que certains articles prouvent le contraire. En effet, un composé dit pur, c'est-à-dire ne comportant qu'une seule espèce chimique, est en réalité un mélange de plusieurs isotopologues et de plusieurs isotopomères. La CSIA (par irm-MS) permettra ainsi d'observer quel isotopologue va préférentiellement passer de l'état liquide à l'état de vapeur et l'apport de la PSIA (par irm-¹³C NMR) indiquera quel isotopomère est le plus volatil.

La section suivante pose les questions :

Le changement d'état liquide-vapeur provoque-t-il des fractionnements isotopiques totaux et / ou position-spécifiques significatifs?

Le phénomène d'évaporation est-il à prendre en compte dans le suivi de la remédiation des polluants quand le bilan isotopique le permet?

Lors de la remédiation des Composés Organiques Volatiles (VOCs) tels que le MTBE, une importante portion du polluant va naturellement être éliminée du site contaminé par évaporation [19-21]. Quelques articles ont démontré que le changement d'état liquide-vapeur est associé à d'importants fractionnements isotopiques en ¹³C, comme c'est le cas lors de la distillation de l'éthanol [22] ou de la volatilisation du méthanol [23].

Nous avons donc mimé ce phénomène sous différentes conditions explorées dans la littérature et déterminé les fractionnements isotopiques totaux et position-spécifiques associés. Les VOCs les plus couramment retrouvés dans la bibliographie ont été

sélectionnés afin de tester ces différents protocoles. Une étude de répétabilité a été réalisée sur l'éthanol, utilisé comme modèle analytique, de manière à tester la robustesse de chaque procédé utilisé.

L'objectif est ici de dissocier les différents éléments mécanistiques à prendre en compte au cours du phénomène d'évaporation et d'en tester les effets isotopiques.

II-3-1 Protocoles d'évaporation

Quatre expériences d'évaporation différentes ont été réalisées au cours de cette étude. Pour chacun des procédés employés, l'avancement de l'évaporation a été évalué par pesées sur une balance précise à 10^{-2} g, de manière à récupérer 5 à 7% de la masse de substrat utilisé au départ. Dans chacun des cas, les mesures isotopiques ont été réalisées sur le substrat de départ et sur le produit restant après évaporation afin de calculer les facteurs d'enrichissement totaux et position-spécifiques.

II-3-1-1 Évaporation passive (PE)

Quelques études de fractionnements isotopiques apparaissant lors de l'évaporation passive sous hotte des VOCs ont été réalisées telles que décrites dans les articles de Poulson et Drever traitant de la volatilisation du TCE [24], Wang et Huang qui ont étudié les alcanes [25-26] ou encore Shin et Lee sur les composés aromatiques [27].

Dans le cadre de notre étude, un volume de 20 mL de chacun des composés purs a été introduit dans un pilulier en verre fumé de 30 mL et laissé sous hotte à température ambiante (20-22 °C) jusqu'à récupération des 5-7% de substrat restant pour les analyses isotopiques.

II-3-1-2 Évaporation sous flux d'air (AFE)

On retrouve quelques expériences d'évaporation forcée du TCE sous flux d'air dans la littérature [28-29]. Ce type d'évaporation pourrait permettre d'observer l'influence du vent lors de la remédiation des polluants sur le terrain.

Pour cette expérience d'évaporation forcée, 20 mL de composé pur sont introduits dans un tricol de 250 mL dont deux cols sont ouverts et le troisième est relié à un flux

d'air comprimé avec un débit de 500 litres par heure, à température ambiante (20-22°C). La fraction de substrat restante est collectée et analysée.

II-3-1-3 Évaporation sous vide (LPE)

Peu d'articles semblent avoir été publiés sur ce type d'évaporation, mais cette expérience a été ajoutée afin d'observer les conséquences de l'évaporation forcée sur les fractionnements isotopiques position-spécifiques induits. On retrouve malgré tout une expérience d'étude du fractionnement isotopique induit par évaporation sous vide, réalisée sur l'acide acétique à l'aide d'un dessiccateur contenant des pastilles de soude (NaOH) permettant ainsi de capter l'acide acétique qui s'est évaporé [30].

Afin de réaliser l'évaporation à basse pression, 20 mL de composé introduits dans un ballon de 250 mL ont été évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif dont le bain marie était réglé à 40 °C et à une pression d'environ 10 mbar. Le restant de substrat est conservé et analysé.

II-3-1-4 Distillation (DE)

Les fractionnements isotopiques induits lors de la distillation ont été mis en évidence dès les années 50 [31]. Il apparaît en effet que ce procédé de purification induit des fractionnements isotopiques totaux en ^{13}C [32-33]. L'IRM- ^2H NMR a également permis de détecter des effets isotopiques position-spécifiques en deutérium sur un large panel de composés [34].

Afin d'observer les effets isotopiques position-spécifiques induits par la distillation, 100 mL de composé pur sont mis à distiller dans une colonne à bande tournante (colonne Cadiot) et le thermostat du chauffe-ballon est réglé de manière à maintenir l'ébullition. La queue de distillation est récupérée et soumise à l'analyse isotopique.

II-3-1-5 Étude de répétabilité

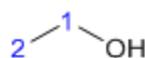
Afin de s'assurer que les procédés d'évaporation réalisés sont répétables et que les mesures associées sont robustes, chacune de ces expériences a été réalisée sur l'éthanol à trois reprises. Cette étude permet également de vérifier si la préparation d'échantillons est répétable.

II-3-2 Résultats

II-3-2-1 Étude de répétabilité

Tableau 11 : Compositions isotopiques et facteurs d'enrichissement totaux et position-spécifiques des échantillons d'éthanol obtenus lors de l'étude de répétabilité.

Procédé d'évaporation	f (%)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{total}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-1}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-2}}$ (‰)	ϵ_{total} (‰)	$\epsilon_{\text{C-1}}$ (‰)	$\epsilon_{\text{C-2}}$ (‰)	
référence	100		-25.5	-30.1	-	-	-	
			-27.8	-25.6	-30.0	-	-	-
				-25.8	-29.8	-	-	-
PE	7.1	-16.7	-18.8	-14.5	-4.3	-2.7	-6.0	
	6.8	-16.4	-18.9	-13.8	-4.3	-2.6	-6.1	
	7.2	-17.6	-19.6	-15.6	-4.0	-2.4	-5.6	
AFE	7.3	-21.4	-21.1	-21.6	-2.5	-1.8	-3.3	
	6.4	-21.1	-21.2	-21.1	-2.5	-1.7	-3.3	
	5.6	-20.6	-20.9	-20.3	-2.6	-1.7	-3.4	
LPE	4.6	-28.8	-27.8	-29.9	0.3	0.7	0.0	
	3.7	-29.1	-28.2	-30.0	0.4	0.8	0.0	
	6.0	-28.8	-27.6	-30.0	0.4	0.7	0.0	
DE	3.9	-30.0	-28.7	-31.3	0.7	1.0	0.4	
	6.9	-29.6	-28.5	-30.7	0.7	1.1	0.3	
	3.5	-29.9	-29.3	-30.7	0.7	1.1	0.2	



Éthanol

Les résultats présentés dans le Tableau 11 montrent tout d'abord une excellente répétabilité de la mesure par irm- ^{13}C NMR ainsi que de la préparation d'échantillon. En effet, trois échantillons de l'éthanol de référence, c'est-à-dire le composé de départ n'ayant pas subi de transformation, ont été préparés puis analysés et les résultats obtenus ont un écart-type inférieur à 0.2‰ ce qui permet d'observer des différences de composition isotopique de cet ordre de grandeur de manière significative. C'est la précision habituellement obtenue en irm- ^{13}C NMR pour ce type de composé.

La répétabilité des effets isotopiques totaux et position-spécifiques induits par l'évaporation sous flux d'air, à basse pression et par distillation est également très bonne, avec un écart-type de seulement 0.1‰. Ce résultat montre bien que les expériences réalisées, la préparation d'échantillon et les analyses effectuées sont

répétables et donc que les effets isotopiques qui seront mesurés lors de l'étude de l'évaporation des polluants volatiles pourront être exploités.

En ce qui concerne la répétabilité de l'évaporation passive, un écart est observé entre les deux premières expériences et la troisième. Cette variation est due à une différence de température lors de la réalisation de cette dernière. En effet, le troisième point de répétabilité de l'évaporation passive a été réalisé plus tard, au cours d'une période durant laquelle la température du laboratoire était significativement plus haute, à environ 30 °C contre 20-22 °C pour les deux autres points de répétabilité. Il semblerait que l'augmentation de la température, induisant une augmentation de la vitesse d'évaporation, provoque des fractionnements isotopiques d'une amplitude inférieure. Ce résultat coïncide avec les effets isotopiques observés en distillation, dont l'amplitude est généralement moins importante qu'en évaporation passive, probablement car cette évaporation est très accélérée par le chauffage. Malgré cette légère différence, on considère que ce protocole d'évaporation reste robuste avec un écart-type inférieur à 0.3‰. Les autres expériences de cette étude ont été réalisées dans des conditions de température identiques, sans fluctuation aussi importante que dans le cas du troisième échantillon d'éthanol obtenu en évaporation passive.

II-3-2-2 Évaporation des Composés Organiques Volatiles (VOCs)

II-3-2-2-1 Le MTBE

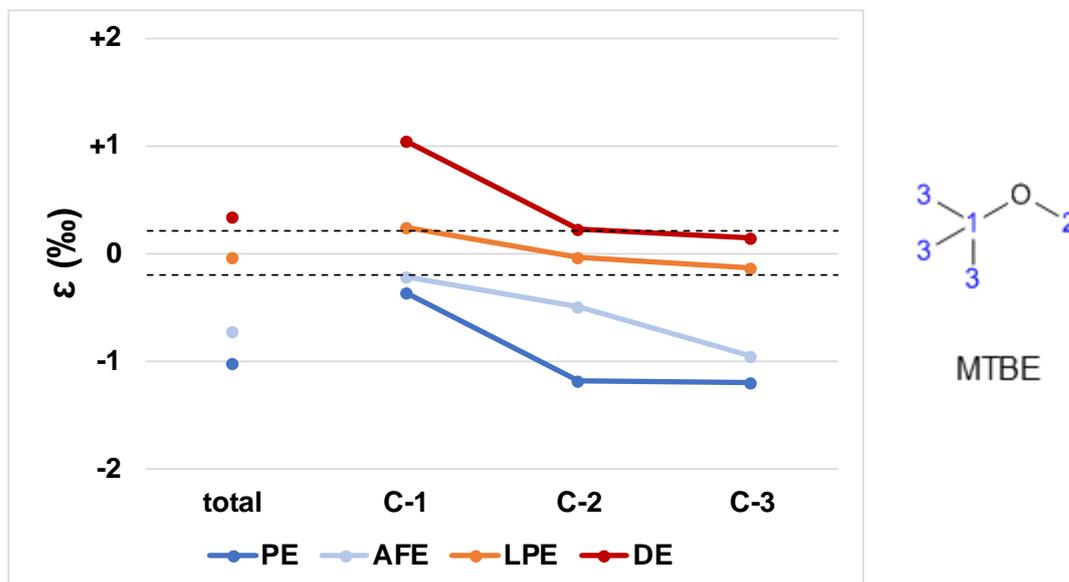


Figure 12 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de MTBE obtenus avec les différents procédés d'évaporation.

La ligne en pointillés représente le seuil pour lequel la variation de ϵ devient significative : 0.2‰. Un effet isotopique total de -1.0‰ a été décrit par Kuder et collaborateurs, dans le cadre de l'évaporation du MTBE en milieu aqueux [35], ce qui correspond au ϵ_t mesuré au cours de l'évaporation passive du composé pur. En effet, les résultats présentés dans la Figure 12 montrent que l'évaporation passive du MTBE induit un important effet isotopique normal qui est principalement localisé sur le C-2 et le C-3. Ce sont ces sites carbonés de la molécule qui subissent la majorité de l'effet isotopique observé en irm-MS. La même tendance est observée en AFE avec une amplitude moindre. Il semblerait que les conditions qui forcent l'évaporation minimisent les effets isotopiques apparaissant durant ce phénomène.

Dans le cas de la distillation, une tendance opposée est observée, avec un fort effet isotopique inverse détecté sur le C-1. Cette information n'est pas directement observable en irm-MS, car ce facteur d'enrichissement de +1.0‰ est masqué par les faibles valeurs obtenues pour les autres sites carbonés. Un profil similaire est observable dans le cas de l'évaporation à basse pression avec une amplitude trop faible pour être significative.

Ces résultats confirment que des effets isotopiques totaux proches peuvent être observés tout en présentant des distributions de cet effet très différentes, ce qui démontre l'intérêt de l'utilisation de l'irm-¹³C NMR comme outil complémentaire d'analyse.

D'après les résultats obtenus en PE et AFE, on peut penser que l'évaporation du MTBE dans la nature devrait induire un effet isotopique normal principalement localisé sur les méthyles (C-2 et C-3).

II-3-2-2-2 Le TAME

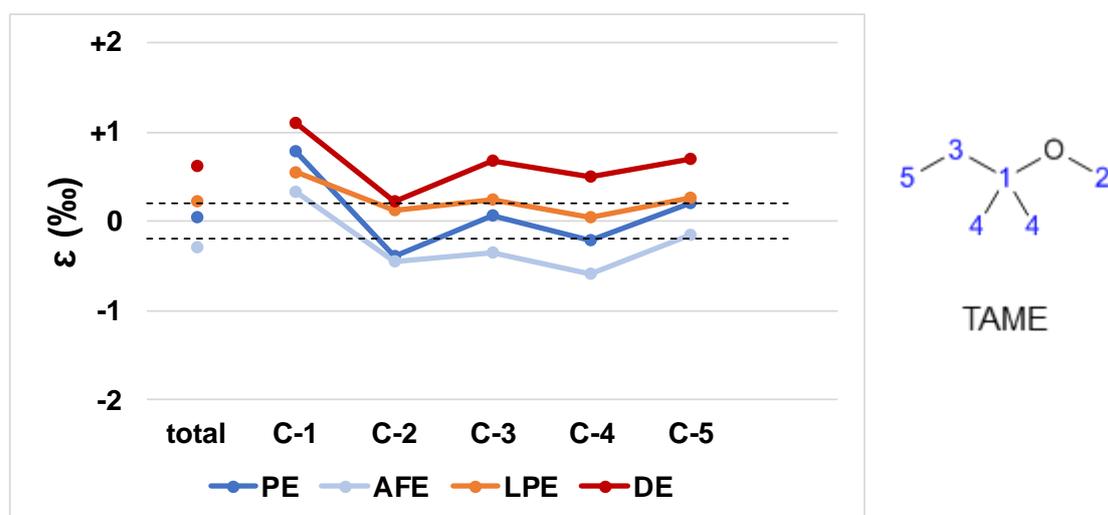


Figure 13 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de TAME obtenus avec les différents procédés d'évaporation.

Les effets isotopiques détectés dans le cas du TAME sont également de faible amplitude (Figure 13). Dans le cas de l'évaporation passive (PE), l' ϵ_t mesuré est nul, mais les résultats obtenus en irm-¹³C NMR permettent d'observer un effet isotopique inverse sur le C-1 et un effet normal sur le C-2, les autres valeurs mesurées n'étant pas significatives. Un profil un peu similaire est observable en AFE, avec un ϵ_t à la limite de significativité, un effet isotopique inverse en C-1 et des effets normaux en C-2, C-3 et C-4.

Dans le cas de l'évaporation à basse pression (LPE), seul un faible effet isotopique inverse est détecté en C-1. La distillation donne une nouvelle fois un profil de distribution des effets isotopiques similaire à celui observé en PE et AFE, mais avec un effet total inverse principalement localisé sur le C-1. Le C-2 quant à lui présente un

effet trop faible pour être significatif alors que l'effet isotopique total inverse est équitablement distribué entre les autres sites.

Pour chacun des procédés d'évaporation réalisés sur le TAME le site C-1, correspondant au carbone le plus encombré de la molécule, présente un effet inverse qui va souvent à l'encontre des autres effets position-spécifiques. Lors de l'évaporation passive et de la distillation, le carbone du groupe CH₂-O (C-2) du TAME présente un effet isotopique opposé à celui détecté en C-1. Il semble que dans le cas du TAME, les carbones C-1 et C-2 présentant des comportements opposés semblent être la raison de l'observation d'effets isotopiques totaux de faible amplitude.

II-3-2-2-3 Le toluène

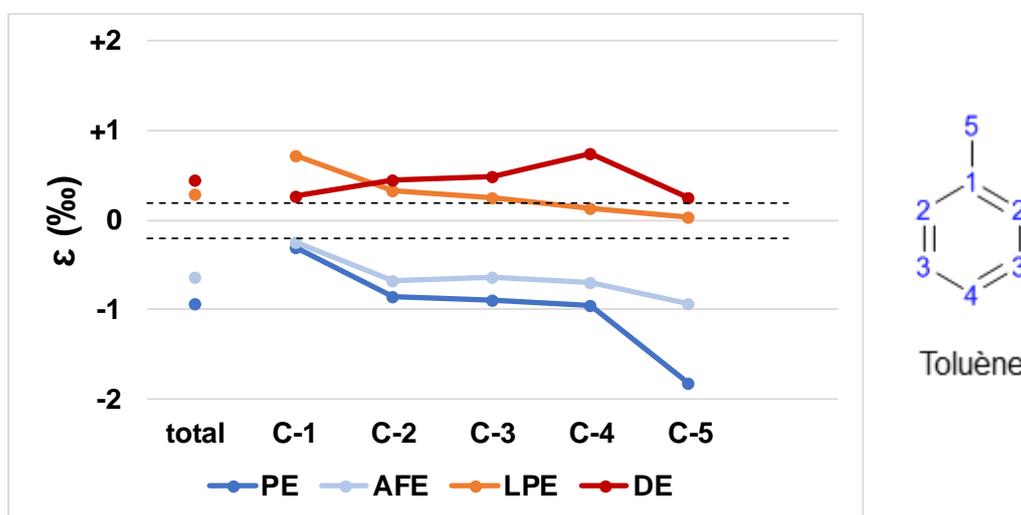


Figure 14: Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de toluène obtenus avec les différents procédés d'évaporation.

Pour l'ensemble des processus d'évaporation testés, les effets isotopiques totaux calculés sont de faible amplitude (Figure 14), comme démontré par Harrington et collaborateurs [36]. Néanmoins, les tendances observées sont les mêmes que celles du MTBE avec des effets isotopiques normaux dans le cas de l'évaporation passive sous hotte et celle sous flux d'air, contre des effets inverses pour la distillation et l'évaporation sous vide. Des effets isotopiques normaux avaient déjà été décrits dans la littérature lors de l'évaporation passive [27, 37] ainsi que des effets inverses en distillation [32]. On remarque également que les effets normaux de l'AFE et de la PE sont d'une amplitude plus importante sur le méthyle du toluène (C-5) alors que le C-1 présente l'effet isotopique position-spécifique le moins important. Il semblerait donc

que dans le cas de ces deux conditions d'évaporation, les effets isotopiques observés sont principalement localisés sur la chaîne latérale du composé et, à l'inverse, d'une amplitude minimale sur les sites les plus encombrés.

Comme dans le cas du MTBE, des effets isotopiques inverses sont mesurés en distillation et en évaporation sous vide, avec des distributions différentes. En effet, le C-1 est le site où le fractionnement est de plus grande amplitude dans le cas de la LPE tandis que c'est le C-4 qui présente le ϵ_i le plus important dans le cas de la distillation. Pour ces deux conditions de changement d'état liquide-vapeur, l'effet isotopique observé en irm-MS est principalement localisé sur des carbones encombrés, présents au sein du cycle aromatique.

II-3-2-2-4 Le *n*-heptane

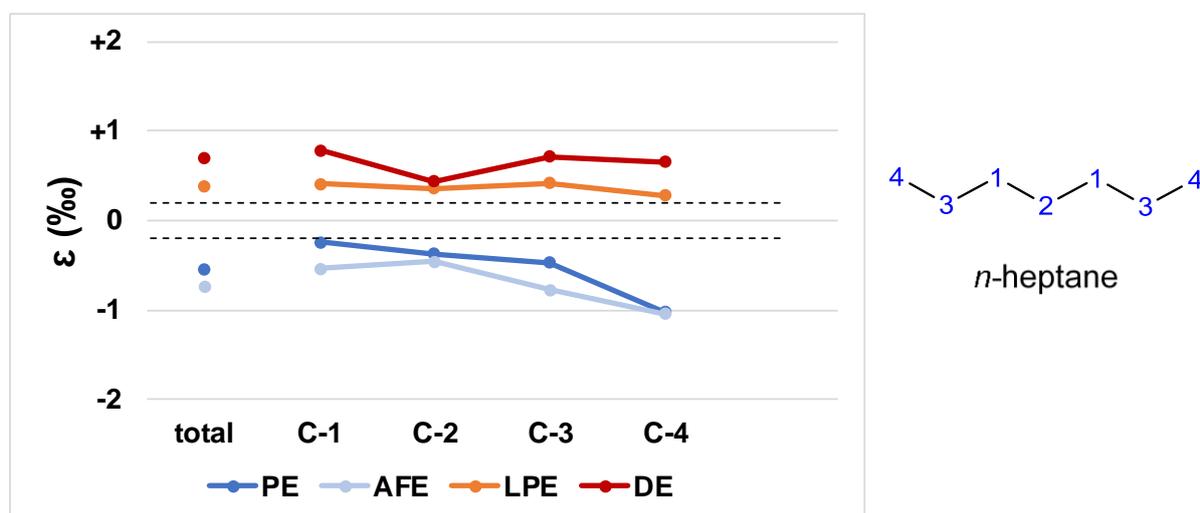


Figure 15: Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de *n*-heptane obtenus avec les différents procédés d'évaporation.

Tout comme dans le cas du toluène, les effets isotopiques totaux mesurés sur le *n*-heptane sont d'amplitudes faibles, mais observables (Figure 15). On remarque des similarités avec le MTBE et le toluène en ce qui concerne la distribution de ces effets. Ainsi, les évaporations passives et en présence d'un flux d'air induisent des effets isotopiques normaux alors que les deux autres protocoles provoquent des effets isotopiques inverses. Un effet isotopique normal avait déjà été identifié lors de l'évaporation passive du *n*-heptane par Xiao et collaborateurs [37]. De plus, les résultats obtenus en irm- ^{13}C NMR montrent que les effets isotopiques normaux observés en PE et AFE sont plus importants sur les C-3 et C-4, c'est-à-dire les

carbones localisés en périphérie de la molécule, pouvant établir des interactions intermoléculaires. De manière analogue, le fractionnement isotopique inverse induit par la distillation est moins important sur le carbone central du composé (C-2). Dans le cas de l'évaporation à basse pression, le fractionnement isotopique est plutôt équitablement distribué entre les différents sites carbonés de la molécule.

II-3-2-2-5 Le TCE

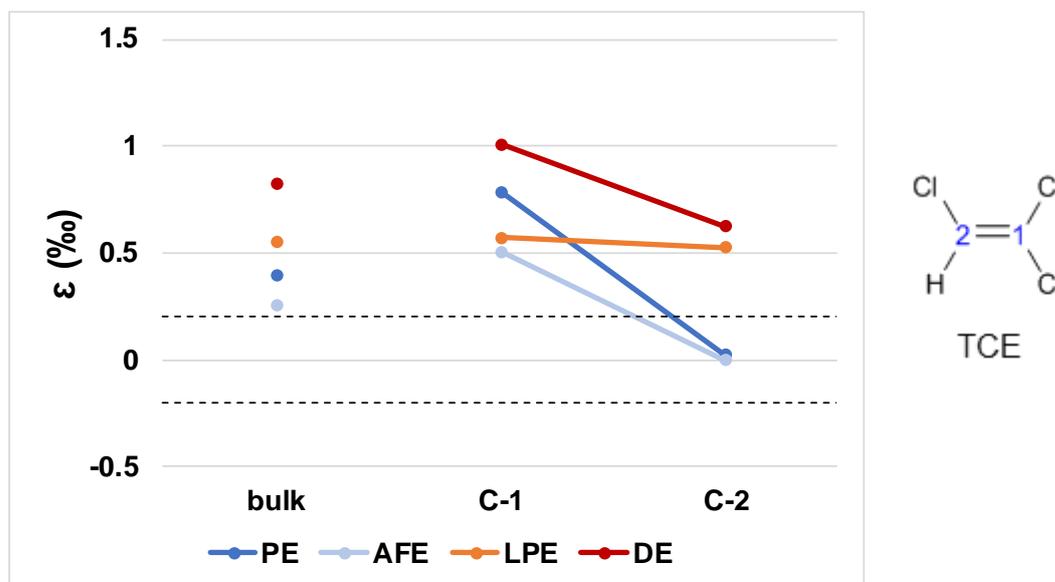


Figure 16: Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de TCE obtenus avec les différents procédés d'évaporation.

Le TCE quant à lui présente un comportement atypique vis-à-vis des expériences d'évaporation comparé aux autres composés étudiés (Figure 16). Cette singularité avait déjà été observée dans plusieurs publications en évaporation passive [24, 38] et en évaporation assistée par un flux d'air [28]. Quel que soit le protocole d'évaporation employé, un effet isotopique inverse total est observé, seule l'amplitude varie en fonction de l'expérience. On remarque toutefois une légère différence de distribution de cet effet dans les cas de la PE et de l'AFE où l'effet isotopique ne concerne que le C-1, c'est-à-dire le carbone qui porte deux atomes de chlore, alors que le fractionnement isotopique est distribué entre les deux sites de la molécule en distillation. L'effet isotopique est même équitablement distribué entre les deux sites carbonés lors de l'évaporation sous vide.

II-3-3 Conclusions

Les résultats obtenus au cours de cette étude confirment la présence d'effets isotopiques associés au changement d'état liquide-vapeur. L'évaporation passive sous hotte et l'évaporation forcée à l'aide d'un flux d'air semblent être les meilleurs modèles permettant de mimer l'évaporation des Composés Organiques Volatiles dans la nature.

L'irm-¹³C NMR a permis d'observer d'importantes différences d'effets isotopiques position-spécifiques en fonction de l'encombrement des sites carbonés. C'est le cas du carbone quaternaire du MTBE qui présente le plus important effet isotopique inverse lors de la distillation alors qu'à l'inverse ce sont les méthyles qui ont la valeur d' ϵ_i de plus grande amplitude dans le cas de l'effet isotopique normal apparaissant au cours de l'évaporation passive.

L'analyse position-spécifique a également permis dans quelques cas de montrer que certains effets isotopiques totaux de faible amplitude voire nuls sont, en réalité, le fruit de la contribution d'effets isotopiques plus ou moins forts localisés sur les différents sites carbonés de la molécule. C'est le cas, par exemple, lors de l'évaporation passive du TAME où l' ϵ_i mesuré par irm-MS est nul alors que l'irm-¹³C NMR a permis d'identifier des effets isotopiques position-spécifiques normaux et inverses qui se compensent.

Dans le cas d'une étude forensique sur la contamination d'un site par un composé organique volatile, les échantillons prélevés sur le terrain peuvent être enrichis à cause de l'évaporation, ce qui peut nuire à l'identification de la source de cette pollution. Ce phénomène est donc à prendre en considération et doit être modélisé afin de pouvoir prédire l'évolution de la composition isotopique du composé incriminé et ainsi faciliter l'identification des responsables de la contamination.

Ces résultats ont permis de modéliser l'évaporation en incluant les phénomènes de diffusion et de changement d'état liquide-vapeur, en utilisant le modèle de Craig-Gordon décrit dans la partie III-1.

Cette étude a permis la publication d'un article dans le journal *Environmental pollution* (205 (2015) 299-306) [39].

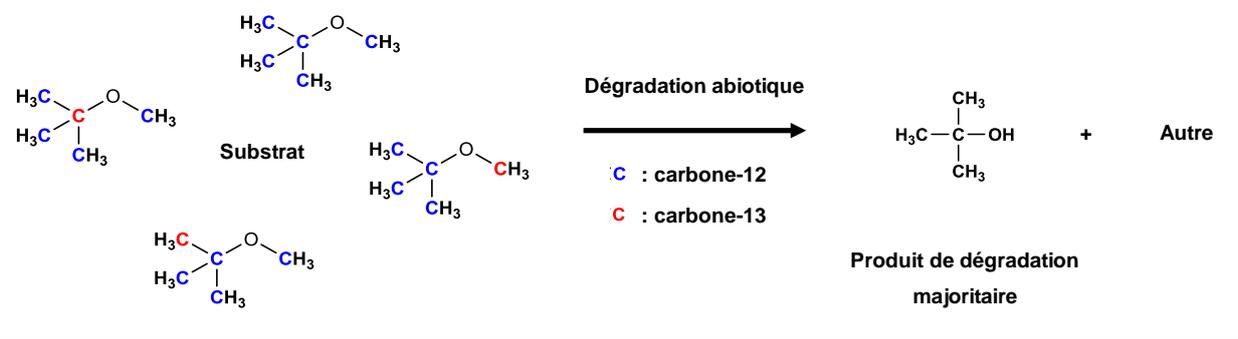
II-4 La dégradation abiotique

Lors de la contamination d'un sol, la remédiation naturelle du polluant, c'est-à-dire sa minéralisation, peut se produire au-travers de plusieurs phénomènes dont la dégradation abiotique. En effet, une part importante des composés migrant à travers un sol peuvent être dégradés via l'acidité de ce dernier (hydrolyse acide) [40] ou bien par oxydation [41]. Chacune de ces réactions peut potentiellement induire des fractionnements isotopiques [42]. L'oxydation est également l'une des méthodes employées pour la remédiation assistée par l'homme [43].

Certaines études ont déjà permis de mettre en évidence les fractionnements isotopiques induits par la dégradation abiotique des contaminants du sol et de l'eau. C'est le cas de l'oxydation des éthènes chlorés qui a été étudiée par CSIA et a permis de détecter d'importants effets isotopiques en ^{13}C et ^{37}Cl au cours de cette réaction [44-47]. La dégradation abiotique du MTBE a également été étudiée et a permis d'observer des fractionnements isotopiques position-spécifiques et totaux en ^2H , ainsi que des effets isotopiques totaux en ^{13}C [5, 48].

Dans le cadre de ce projet, les effets isotopiques position-spécifiques (et totaux) en ^{13}C liés à la dégradation chimique du MTBE ont été mis en évidence. Pour ce type d'étude, les analyses peuvent être réalisées soit sur le restant de substrat engagé dans la réaction, en l'occurrence le MTBE, soit sur le produit de dégradation formé, c'est-à-dire l'alcool *tert*-butylique (TBA) [49]. Pour des raisons pratiques, les analyses isotopiques par irm- ^{13}C NMR ont été réalisées sur le TBA généré par les réactions étudiées. En effet, le MTBE est très volatile et est difficile à isoler une fois la réaction stoppée. Des fractionnements isotopiques supplémentaires pourraient être créés par les étapes de purification ou bien simplement par évaporation de ce substrat en cours de réaction si le système n'est pas hermétiquement clos, comme démontré dans la partie II-3. Dans ce cas de figure, les effets isotopiques mesurés ne seraient donc pas provoqués uniquement par la réaction étudiée et donc inexploitable. C'est pourquoi les analyses isotopiques ont été réalisées sur le TBA issu de la dégradation du MTBE

Quel isotopomère du MTBE réagit préférentiellement au cours de la dégradation abiotique?



Plusieurs conditions de dégradation abiotique du MTBE sont retrouvées dans la littérature. Deux réactions ont été réalisées dans cette étude, l'hydrolyse acide et l'oxydation au permanganate de potassium (KMnO_4), afin de déterminer la contribution des réactions abiotiques sur les effets isotopiques en ^{13}C apparaissant au cours de la remédiation du MTBE au cours de la contamination du sol.

II-4-1 Protocoles de dégradation abiotique

II-4-1-1 Choix des conditions opératoires

Différents procédés de dégradation du MTBE par oxydation ont été identifiés dans la littérature.

Tout d'abord, un nombre important d'articles décrivent la dégradation du MTBE (et du TCE) par le réactif de Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$) [50-54], mais ce type d'oxydant est très agressif et la dégradation du MTBE ne s'arrête pas à la formation de TBA. En effet, les radicaux hydroxyles (OH^{\bullet}) vont ensuite oxyder le TBA et former d'autres composés et les effets isotopiques observés par analyse du TBA seront ainsi dus à la coupure du MTBE au niveau de son groupe méthoxy, mais aussi à l'oxydation du TBA en acétone (principalement). De plus, l'analyse isotopique par irm- ^{13}C NMR nécessite d'isoler plusieurs centaines de milligrammes de composé pur pour être réalisable et les conditions décrites ci-dessus ne permettent pas d'obtenir de tels volumes d'échantillon. La détermination des effets isotopiques position-spécifiques induits par

la dégradation du MTBE par le réactif de Fenton nécessiterait la mise en place de techniques de séparation plus élaborées pour l'étude de matrices complexes. L'oxydation du MTBE par le réactif de Fenton a donc été écartée de cette étude.

On retrouve également quelques études d'oxydation du MTBE ou d'autres polluants du sol et des eaux potables utilisant les ions persulfate ($S_2O_8^{2-}$) [55-57], mais de la même manière que le réactif de Fenton, cette oxydation provoque la formation de plusieurs produits, ce qui complique les étapes de purification. Ce mode d'oxydation n'a donc pas été retenu pour démontrer l'intérêt de la PSIA.

L'étude des fractionnements isotopiques apparaissant au cours de la dégradation abiotique du MTBE a également été réalisée à l'aide du permanganate de potassium ($KMnO_4$) [5, 48]. L'utilisation de cet oxydant induit (exclusivement) la formation de TBA et le C-2 du MTBE (méthoxy) est transformé en formaldéhyde, puis en CO_2 qui est libéré en cours de réaction. Ce procédé de dégradation a ainsi été sélectionné, car la purification du composé formé peut être réalisée par distillation et car la cinétique de cette dégradation est adaptée à l'étude [58].

Le second procédé de dégradation sélectionné est l'hydrolyse acide du MTBE. Quelques articles décrivent les fractionnements isotopiques totaux induits par cette réaction [5, 40, 48-49]. Toutefois, l'hydrolyse du MTBE est souvent réalisée avec de l'acide chlorhydrique, alors que ce dernier peut réagir avec le TBA et produire du chlorure de *tert*-butyle. L'apparition de cette réaction secondaire pourrait compliquer l'analyse en irm- ^{13}C NMR, car ce composé et le TBA ont des déplacements chimiques similaires en RMN du carbone-13, ce qui rendrait l'étape d'intégration des signaux difficile. De plus, les fractionnements isotopiques mesurés seraient induits non seulement par la dégradation du MTBE, mais aussi par la conversion du TBA en chlorure de *tert*-butyle. L'acide sulfurique (H_2SO_4) a donc été employé pour réaliser l'hydrolyse du MTBE.

II-4-1-2 Oxydation du MTBE par le permanganate de potassium (KMnO_4)

L'oxydation du MTBE par le permanganate de potassium a été réalisée dans 600 mL d'une solution de KMnO_4 à 228 mM auxquels on ajoute 20 mL de MTBE pur. Cette concentration de KMnO_4 est à la limite de saturation afin d'optimiser la vitesse de réaction. Le volume de MTBE utilisé est suffisant pour permettre l'obtention d'échantillons de TBA analysables en irm- ^{13}C NMR tout en conservant la solubilité du MTBE dans la solution aqueuse.

La réaction est stoppée par ajout de 100 mL d'une solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) à 2 M. Le mélange obtenu est alors distillé sur une colonne à bande tournante (colonne Cadiot), afin d'isoler le TBA formé au cours de l'oxydation. Le changement de température entre le mélange azéotropique MTBE / eau (96 / 4 vol) et l'azéotrope TBA / eau (65 / 35 vol) n'étant pas toujours très marqué, quelques traces de MTBE demeurent dans l'échantillon de TBA obtenu. Ces traces sont éliminées en faisant buller du diazote dans le ballon de récupération, ce qui permet l'élimination du MTBE restant. Ce procédé a d'ailleurs été testé en tant que méthode d'élimination du MTBE lors de la contamination d'eau potable [59-60]. Des essais préliminaires ont montré que le TBA n'est pas affecté par ce protocole.

Les analyses isotopiques sont réalisées sur les échantillons de TBA (contenant de l'eau à environ 35%) ainsi obtenus. L'eau résiduelle ne perturbe pas les analyses en irm-MS, ni celles en irm- ^{13}C NMR.

II-4-1-3 Hydrolyse acide

L'hydrolyse acide a été réalisée dans 500 mL d'une solution d'acide sulfurique à 1 M où 20 mL de MTBE sont introduits.

La réaction est stoppée par ajout de 100 mL d'une solution de soude à 10 M, afin de neutraliser la solution, puis le TBA formé est purifié selon le même protocole que celui employé dans le cas de l'oxydation au permanganate de potassium. L'hydrolyse acide générant du méthanol en plus du TBA, ce produit secondaire est éliminé en même temps que le MTBE grâce à la distillation et au flux de N_2 introduit dans le ballon de récupération.

II-4-2 Résultats

II-3-2-1 Calculs des facteurs de fractionnement

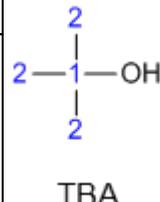
Pour les deux procédés de dégradation utilisés, cinq expériences ont été réalisées et l'avancement (f) de la réaction est déterminé par chromatographie en phase gazeuse (GC). Les facteurs d'enrichissement (α) ont été déterminés selon l'équation 11 [61], puis convertis en ϵ (équation 12).

II-3-2-2 Oxydation au KMnO_4

Les facteurs de fractionnement et d'enrichissement totaux et position-spécifiques déterminés pour chacune des réactions sont regroupés dans le Tableau 12 :

Tableau 12 : Facteurs de fractionnement (α) et d'enrichissement (ϵ) totaux et position-spécifiques des échantillons de TBA formés au cours de l'oxydation du MTBE par le KMnO_4 .

Avancement	Rendement	α			ϵ (‰)		
		total	C1	C2	total	C1	C2
3h	7%	0.9979	0.9960	0.9986	-2.1	-4.0	-1.4
6h	15%	0.9973	0.9906	0.9996	-2.7	-9.4	-0.4
24h	24%	0.9972	0.9883	1.0002	-2.8	-11.7	+0.2
48h	34%	0.9964	0.9873	0.9995	-3.6	-12.7	-0.5
288h	47%	0.9980	0.9862	1.0020	-2.0	-13.7	+1.9



TBA

Le facteur d'enrichissement total moyen observé est de -2.8‰. Un effet isotopique normal avait également été déterminé par Rosell et collaborateurs avec facteur d'enrichissement de -5.5‰ [48]. L'amplitude de l'effet isotopique observé dans ces deux cas est très différente, mais ce résultat peut s'expliquer par les différences de conditions opératoires. En effet, l'oxydation au permanganate de potassium du MTBE de Rosell *et al.* a été réalisée dans une solution de KMnO_4 à une concentration de 110 mM, contre 228 mM dans cette étude et les concentrations de substrat employées sont de 250 mg.L^{-1} et 24 mg.L^{-1} respectivement. L'excès de permanganate utilisé dans cette étude pourrait entraîner des dégradations parasites utilisant des mécanismes parallèles conduisant à l'observation de fractionnements isotopiques différents (comme dans le cas de l'oxydation par le réactif de Fenton). L'objectif était ici d'avoir une confirmation du mécanisme décrit dans la littérature et tous les produits

potentiellement formés n'ont pu être identifiés. L'écart entre les valeurs obtenues est élevé, ce confirme qu'il pourrait y avoir d'autres éléments contribuant à l'effet observé.

La présence d'un effet isotopique normal total indique que le mécanisme réactionnel de l'oxydation du MTBE par le permanganate de potassium se produit préférentiellement sur les molécules pauvres en ^{13}C .

Les résultats obtenus par irm- ^{13}C NMR indiquent que l'effet isotopique induit par cette réaction chimique est très majoritairement localisé sur le C-1 du TBA ($\epsilon_i = -11.9\%$), c'est-à-dire le carbone quaternaire localisé à côté du site de la rupture de liaison (libération du groupement méthoxy).

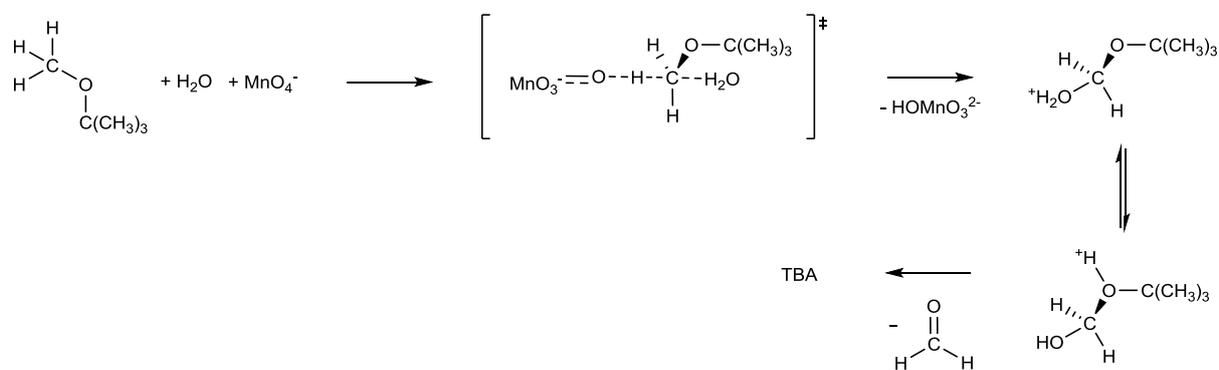


Figure 17 : Mécanisme d'oxydation du MTBE par le KMnO_4 [5].

Cet important effet isotopique normal indique bien que le mécanisme d'oxydation du MTBE par le permanganate de potassium est plus rapide en présence d'un isotopomère présentant un ^{12}C en C-1 et que la présence d'isotopes lourds ou légers au niveau des méthyles (C-3) n'influence pas la cinétique de la réaction de manière significative (Figure 17).

Toutefois, on peut imaginer que seul le premier point obtenu (rendement de 7%) est correct. Ce résultat montre que l'effet normal observé est principalement localisé sur le C-1 (carbone quaternaire) du TBA et qu'il y a un léger effet isotopique secondaire sur les C-2 (méthyles). Ces résultats peuvent remettre en question le mécanisme de l'oxydation par le KMnO_4 tel que décrite dans la littérature. En effet, cette réaction est définie comme étant une $\text{S}_{\text{N}}1$, mais les effets isotopiques mesurés indiqueraient la présence d'un mécanisme de type $\text{S}_{\text{N}}2$. De plus, on observe un effet isotopique

inverse sur les méthyles au point de plus haut rendement (47%), ce qui pourrait indiquer la présence d'une autre réaction chimique additionnelle, en l'occurrence une hydrolyse.

II-3-2-3 Hydrolyse

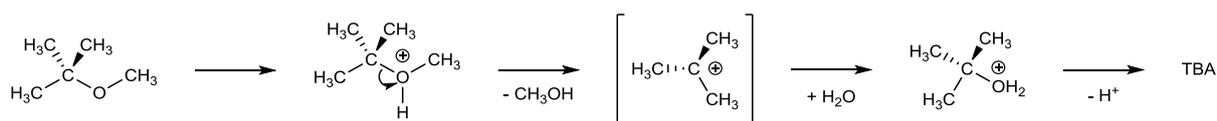


Figure 18 : Mécanisme d'hydrolyse du MTBE par l'acide sulfurique [5].

Les résultats retrouvés dans la littérature montrent que le mécanisme d'hydrolyse du MTBE provoque un effet isotopique normal total. On observe ainsi un ϵ_t de -4.9‰ dans l'article de Elsner *et al.* 2007 et de -6.1‰ dans l'étude réalisée par Rosell et collaborateurs en 2012.

Les difficultés de purification décrites pour l'oxydation au KMnO_4 sont accentuées dans le cas de l'hydrolyse avec la présence de méthanol généré par la libération du groupement méthoxy du MTBE. En effet, des traces de méthanol peuvent demeurer au sein des échantillons, ce qui peut fausser les mesures en irm-MS. C'est pourquoi les résultats obtenus dans cette étude ne sont pas présentés, car ils sont trop éloignés de ceux décrits dans la bibliographie et des travaux supplémentaires seront nécessaires afin de trouver les raisons de cette différence.

II-3-2-4 Interprétation des effets isotopiques induits par une rupture de liaison

Ces résultats peuvent être expliqués par les énergies de vibration des liaisons. En effet, les liaisons $^{12}\text{C}-^{12}\text{C}$ sont plus longues que les liaisons $^{13}\text{C}-^{12}\text{C}$. Cette différence de structure des noyaux des atomes impliqués dans une liaison est lourde de conséquence. La fréquence de vibration d'une liaison va varier en fonction de la masse des atomes impliqués d'après l'équation 18 décrite par Wiberg en 1955 [62] :

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Équation 18 : Calcul de la fréquence de vibration d'une liaison.

ν : fréquence de vibration de la liaison considérée.

c : célérité de la lumière dans le vide.

k : constante dépendante des conditions opératoires, en particulier de la température.

μ : masse réduite des atomes impliqués dans la liaison définie par l'équation 19 :

$$\mu = \frac{m_1 \times m_2}{m_1 + m_2}$$

Équation 19 : Calcul de la masse réduite (μ) des atomes impliqués dans une liaison.

où m_1 et m_2 sont les masses des noyaux impliqués dans la liaison étudiée, avec par exemple $m_1 = 13$ et $m_2 = 12$ pour un carbone 13 lié à un carbone 12.

Cette fréquence de vibration permet alors de calculer l'énergie de vibration (E_n) selon l'équation 20 :

$$E_n = (n + 1) \cdot h\nu$$

Équation 20 : Calcul de l'énergie de vibration d'une liaison.

h : constante de Planck.

n : niveau d'énergie de la liaison tel que $n = 0$ correspond au point théorique dit « d'énergie zéro », correspondant aux conditions où $T = 0K$.

Le niveau d'énergie 0 est donc directement proportionnel à la masse des noyaux impliqués dans la liaison et donc à la longueur de cette liaison.

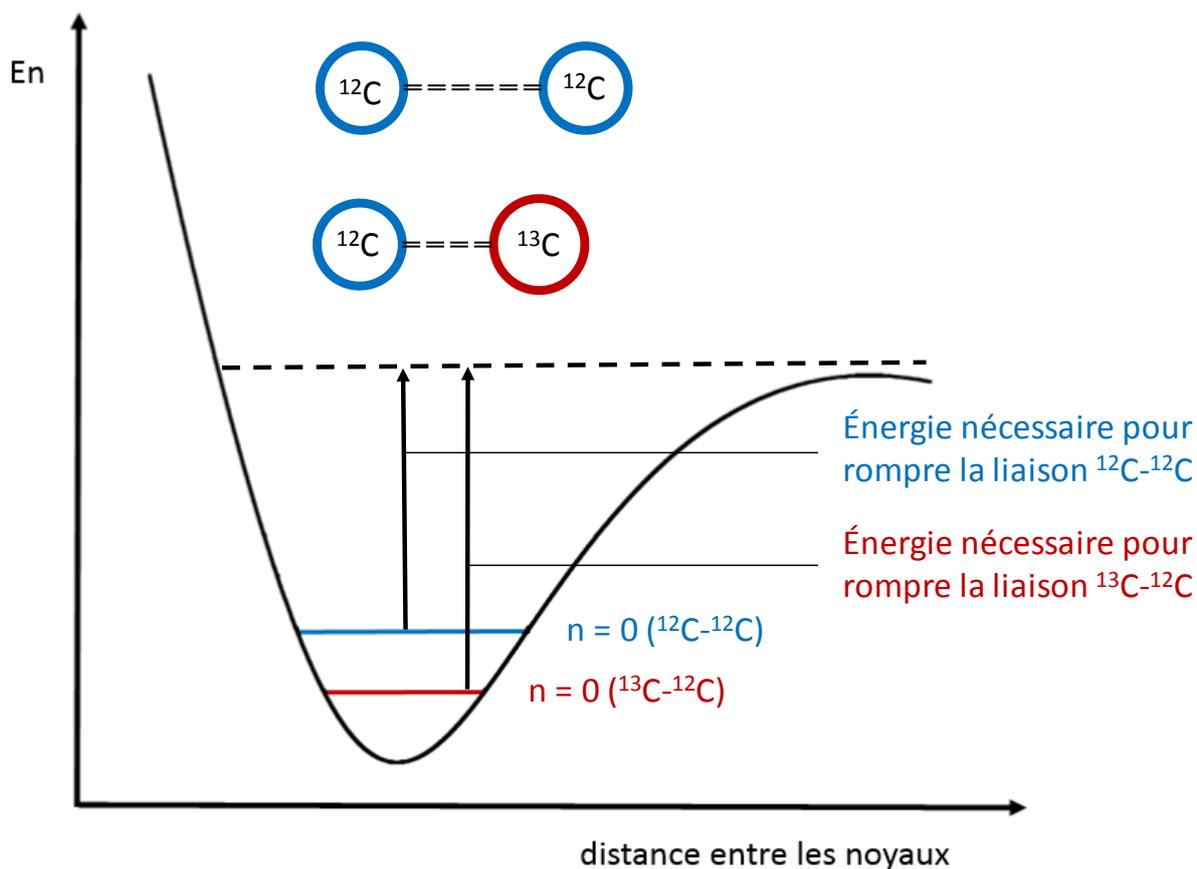


Figure 19 : Diagramme d'énergie potentielle des liaisons $^{12}\text{C}-^{12}\text{C}$ et $^{12}\text{C}-^{13}\text{C}$.

D'après la Figure 19, l'énergie nécessaire à la rupture d'une liaison impliquant un isotope lourd est plus importante que celle requise dans le cas de la coupure d'une liaison entre deux isotopes légers. C'est ce qui explique la différence de cinétique en présence d'isotopes lourds ou légers au cours de certaines réactions [63-64]. Certaines études décrivent cette différence de réactivité des composés, principalement dans le cas du deutérium [65]. L'oxydation de différents composés par le permanganate de potassium a d'ailleurs fait l'objet de ce type d'étude [66].

Les effets isotopiques sont généralement d'une plus grande amplitude en ^2H qu'en ^{13}C , car le remplacement d'un ^1H par un ^2H représente une augmentation de masse de 100%, contre seulement 8% lors du remplacement d'un ^{12}C par un ^{13}C . C'est cette détermination des effets isotopiques cinétiques en deutérium qui est souvent employée afin d'élucider les mécanismes réactionnels, en déterminant les étapes limitantes de la réaction chimique [67] ou enzymatique [68].

II-3-3 Perspectives

La problématique de la purification des molécules étudiées reste un point clé en irm-¹³C NMR et définit aussi ses limites. De nouvelles approches sont en cours au laboratoire, comme l'utilisation d'une référence interne lors de la mesure par irm-¹³C NMR. Cette nouvelle méthode, récemment développée, permettrait de s'affranchir des étapes de purification / séparation des composés d'intérêt. Elle pourrait également rendre l'analyse conjointe du (des) produit(s) formé(s) ainsi que du substrat n'ayant pas réagi possible, en absence de chevauchement de pics sur les spectres RMN ¹³C de ces composés [69]. La mise au point de cette méthode pour l'application des mesures isotopiques du mélange MTBE / TBA n'a pu être achevée au cours de ces travaux, mais les premiers résultats obtenus restent encourageants. Cependant cette approche n'est qu'au stade de concept et demande des développements plus approfondis.

L'utilisation de cette méthode permettrait également d'étudier d'autres types de réaction qui ont été testées pour éliminer le MTBE présent dans l'eau, comme par exemple la réaction de Fenton qui génère plus de produits de dégradation [51-52, 70]. Il en est de même pour la dégradation électrochimique du MTBE qui est une autre méthode envisagée pour la dépollution des zones aquifères [71].

II-4 Migration sur une phase solide

Lors de la pollution d'un sol, une part importante du contaminant peut migrer à travers ce dernier, allant même jusqu'à contaminer les réserves d'eaux souterraines. La notion de migration est complexe et souvent mal définie. En effet, ce phénomène implique plusieurs mécanismes dont l'advection, la dispersion et la sorption. Il est admis que ces différents phénomènes ne provoquent pas tous des fractionnements isotopiques.

L'advection traite du transport, du déplacement de la matière en fonction du relief ou d'un courant (d'air par exemple) présent dans l'environnement. L'advection correspond au mouvement plus ou moins rapide d'une nappe de polluant sur l'eau ou au-travers du sol dans notre cas. Ce mécanisme est indépendant de la composition chimique du milieu et n'est pas reconnu comme provoquant des fractionnements isotopiques.

Il en est de même pour la dispersion, qui définit le fait que le polluant va se répandre, se propager, partout où il le peut. Par exemple, lors de la migration d'un contaminant dans le sol, si une cavité est présente, alors la nappe de polluant va s'y propager, occuper l'espace libre, sans induire de fractionnement isotopique.

En revanche, le phénomène de sorption / désorption implique la mise en place d'interactions non-covalentes entre le polluant et le sol (soluté / phase stationnaire en chromatographie) plus ou moins fortes en fonction de la structure moléculaire du composé étudié et des isotopomères présents. Les cycles de sorption / désorption peuvent donc induire des fractionnements isotopiques.

Les questions posées dans cette étude de migration sont :

Quelle est le lien entre la composition chimique du milieu traversé et les fractionnements isotopiques position-spécifiques associés?

Quels types d'interactions non-covalentes peuvent induire des effets isotopiques lors de la migration?

Afin de répondre à cette problématique, la migration d'un contaminant de l'environnement dans plusieurs milieux solides de nature différente a été réalisée et les fractionnements isotopiques associés ont été mesurés par irm-MS et irm-¹³C NMR.

Un nombre conséquent de composés ont été décrits comme étant des polluants du sol d'origine anthropique. On retrouve les Composés Organiques Volatiles issus de l'essence tels que le MTBE ou les composés aromatiques [72], mais également certains polluants chlorés utilisés dans l'industrie [73]. L'activité humaine provoque également l'introduction de pesticides comme l'isoproturon [74] ou le *N,N*-diéthyl-3-méthylbenzamide (DEET) [75], de médicaments comme le paracétamol ou l'aspirine [76], d'hormones [77], ou d'autres composés issus des habitudes de vie tels que la caféine ou la cotinine, (principal métabolite de la nicotine) [1] ou encore d'édulcorants comme la saccharine [78].

Chacun de ces composés va migrer dans le sol, s'y répandre et potentiellement se retrouver dans l'eau potable. Des fractionnements isotopiques peuvent être induits par la migration, ce qui serait à prendre en compte dans la description d'un modèle de traçage des polluants dans le sol et l'eau.

Certaines études de ce phénomène ont montré que la contribution de la migration dans les fractionnements isotopiques apparaissant au cours de l'évolution des polluants dans le sol est négligeable. Harrington et collaborateurs ont mesuré les fractionnements isotopiques totaux au cours de la migration des BTEX dans une colonne HPLC en phase inverse et les résultats se sont montrés non-significatifs, considérant ainsi que la participation de la migration dans les fractionnements isotopiques apparaissant au cours de la pollution du sol est négligeable [36]. De la même manière, la migration des BTEX et du MTBE a été testée en HPLC, en utilisant de l'acide humique comme phase stationnaire, et les résultats ont montré des effets isotopiques très faibles pour les BTEX et non-significatifs pour le MTBE [79]. Quelques expériences de sorption ont également été testées sur les BTEX et les solvants organiques chlorés en présence de charbon actif et de graphite, mais les fractionnements isotopiques totaux en ^{13}C et ^2H obtenus se sont également montrés non-significatifs [80-81]. Les composés, les phases stationnaires et les méthodes de migration employés dans ces études n'ont pu permettre de détecter la présence d'effets isotopiques totaux.

Cependant, des expériences impliquant plusieurs cycles de sorption / désorption ont démontré l'apparition d'effets isotopiques significatifs en ^{13}C et ^2H sur les BTEX en présence de différents adsorbants [82]. Ces résultats encouragent à entreprendre des

mesures de fractionnement isotopiques par irm-¹³C NMR, car les faibles fractionnements isotopiques mesurés par irm-MS peuvent avoir été dilués par la présence d'effets isotopiques position-spécifiques d'amplitudes variées, voire d'effets normaux et inverses qui se compensent. La présence de tels effets isotopiques a déjà été observée dans le cas de la migration de la vanilline et de certains de ses dérivés sur gel de silice en phase normale [83] et inverse [84]. De plus, l'étude des fractionnements isotopiques position-spécifiques, identifiés en utilisant l'irm-¹³C NMR, au cours de la migration de la vanilline dans une colonne de phase inverse (Silica gel 60 RP-18) a permis le développement d'un modèle analytique de transport capable de prédire les facteurs de fractionnement induits par la migration [85]. Le suivi de l'évolution de la composition isotopique au cours de la sorption pourrait également être un outil utile, car la sorption est l'une des principales pistes envisagées afin d'éliminer les polluants présents dans l'eau tels que le MTBE [86-87].

II-4-1 Choix du polluant

Le projet ISOTO-POL se focalise principalement sur l'étude de la pollution du sol et de l'eau par les éthers présents dans les carburants tels que le MTBE. L'étude de la migration de ce composé a été entreprise, mais sa grande volatilité rend sa purification très difficile en sortie de colonne. C'est pourquoi l'étude des fractionnements isotopiques apparaissant chez cette molécule au cours de la migration a été abandonnée au profit d'un autre polluant très souvent retrouvé dans le sol et les eaux souterraines : le paracétamol.

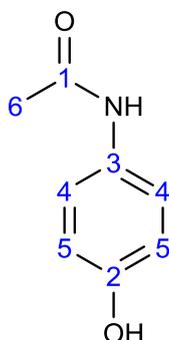


Figure 20 : Structure du paracétamol.

Le paracétamol (Figure 20), également appelé acétaminophène, est l'un des contaminants d'origine anthropique les plus fréquemment retrouvés dans les eaux usées [1]. Cet antalgique et antipyrétique est le médicament le plus prescrit en France avec près de 260 millions de doses consommées par an, présentées sous différentes formes galéniques (gélules, comprimés effervescents...). Malgré le fait que ce médicament soit une prodrogue, c'est-à-dire qu'il doit en partie être métabolisé afin d'être sous forme active, une partie importante de la dose consommée est libérée telle quelle dans l'environnement, ce qui explique sa présence dans les eaux usées en quantité importante.

La consommation directe d'eau contenant du paracétamol n'induit pas directement un problème de santé publique étant donné que la dose maximale à respecter est de 4 g par jour (1 g toutes les 6 h). Le problème environnemental causé par ce composé se produit après son passage dans les stations d'épuration. En effet, le traitement par javellisation du paracétamol provoque la formation de *N*-acétyl-*p*-benzoquinone imine (NAPQI) et de 1,4-benzoquinone, par réaction avec les ions hypochlorite (ClO^-). Ces molécules sont toxiques pour le foie et la 1,4-benzoquinone est suspectée d'être génotoxique et mutagène. Ces composés étant particulièrement dangereux pour l'homme, l'étude du transport du paracétamol présente un intérêt majeur.

II-4-2 Protocole de migration

La chromatographie liquide sur colonne a été employée afin de mimer la migration du polluant. La composition du sol pouvant être très variable, quatre phases stationnaires ont été employées afin d'analyser les effets individuels de chaque phase par PSIA (Figure 21).

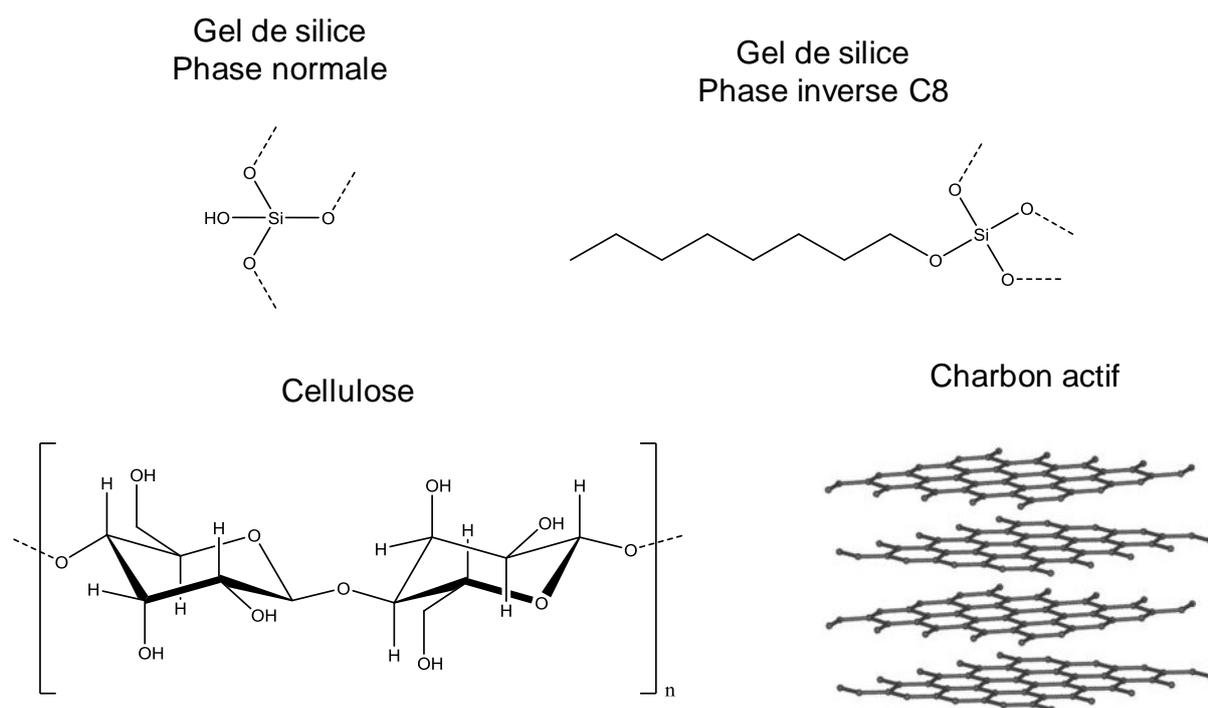


Figure 21 : Structure des phases stationnaires utilisées.

Remarque : La structure du charbon actif présentée dans la Figure 21 n'est en réalité que la structure de base, en l'occurrence des feuillets de carbone. Bien que sa structure réelle ne soit pas précisément définie, le charbon actif est un empilement de feuillets formant des cavités de taille variable.

L'utilisation de ces quatre phases stationnaires permet d'avoir une variation de polarité du milieu traversé, de tester l'influence de différents types d'interactions sur les fractionnements isotopiques mesurés et de correspondre aux phases employées dans la littérature.

En utilisant le gel de silice en phase normale (très polaire), des effets isotopiques induits par la formation de liaisons hydrogène entre les fonctions silanols (acides) de

la phase stationnaire (donneuses de liaisons hydrogène) et les hétéroatomes du paracétamol (accepteurs de liaisons hydrogène) sont attendus.

De manière analogue, l'utilisation de la cellulose comme phase stationnaire devrait provoquer des effets isotopiques impliquant la formation de liaisons hydrogène entre les fonctions alcools de la cellulose et le paracétamol. De plus, les oxygènes des hétérocycles pourraient également former des liaisons hydrogène avec la fonction alcool du paracétamol et donc potentiellement induire des fractionnements isotopiques.

La migration dans le charbon actif peut également être associée à deux types d'interactions pouvant générer des fractionnements isotopiques. En effet, les électrons π des cycles présents dans cette phase stationnaire peuvent interagir avec le paracétamol (au niveau du noyau aromatique) et provoquer un fractionnement isotopique au cours de la migration. Les effets stériques, dus à la présence de cavités au sein du charbon actif pourraient également induire une différence de vitesse de migration des molécules de paracétamol plus ou moins riches en ^{13}C .

Dans le cas de l'utilisation du gel de silice en phase inverse (apolaire), les interactions potentielles pourraient être du type Van der Waals impliquant la chaîne octane de la phase stationnaire. La migration sur cette phase permettra de confirmer si ce type d'interaction non-covalente peut provoquer des fractionnements isotopiques.

Pour chacune de ces phases, une colonne de 23 à 27 cm de long a été préparée. Un diamètre de colonne inférieur a été employé pour la phase inverse (2.5 cm contre 4 cm pour les autres phases), car la quantité de cette phase disponible était moins importante du fait de son coût élevé.

Pour chacune des colonnes, 2 à 3 g de paracétamol sont directement introduits et délicatement mélangés avec les 2-3 premiers centimètres de la phase stationnaire [84].

L'élution est réalisée avec un gradient d'éther diéthylique et d'acétone [88], afin d'obtenir 4 fractions du paracétamol introduits après évaporation du solvant.

Les analyses isotopiques en irm-MS et en irm- ^{13}C NMR sont ensuite réalisées [89] et les facteurs d'enrichissement totaux et position-spécifiques sont calculés.

II-4-3 Résultats

II-4-3-1 Expression des résultats

Les résultats obtenus au cours de cette étude ne peuvent être utilisés pour calculer des facteurs de fractionnement et d'enrichissement tels qu'ils sont décrits dans les équations 11 et 12. En effet, la détermination des facteurs d'enrichissement selon Rayleigh n'est pas adaptée à l'étude des effets isotopiques liés à la sorption, comme cela a été démontré Höhener et Yu en 2012 [90].

Les résultats de sorption / désorption obtenus au cours de ce projet devaient initialement permettre le calcul de facteurs d'enrichissements en utilisant le modèle de transport récemment développé à partir des données de fractionnements isotopiques position-spécifiques et totaux obtenus lors de la migration de la vanilline sur colonne de phase inverse [85]. Mais cette étape de calcul n'a pas encore été achevée.

C'est pourquoi les ϵ présentés dans ce manuscrit sont des approximations calculées selon l'équation 21 :

$$\epsilon = \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{fraction 4}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{fraction 1}}}{2}$$

Équation 21 : Approximation des facteurs d'enrichissement à partir des compositions isotopiques des fractions 1 et 4 collectées au cours de l'élution du paracétamol dans les différentes phases stationnaires [85].

En effet, les résultats présentés dans l'article de Höhener et collaborateurs de 2012 avaient démontré une forte similitude entre les valeurs obtenues grâce au modèle et celles calculées avec l'équation 21 [85].

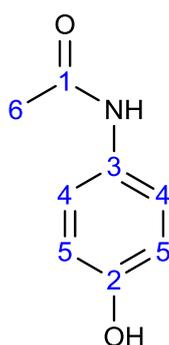
Les facteurs d'enrichissement totaux et position-spécifiques (en ^{13}C et ^{15}N) ainsi calculés à partir des résultats obtenus au cours de la migration sur les différentes phases stationnaires sont présentés ci-dessous.

Dans le cas de ces expériences, le seuil de significativité a été fixé à 0.5‰, conformément au calcul d'incertitude décrit en I-4-5, mais reste à 0.2‰ pour les mesures irm-MS.

II-4-3-2 Le gel de silice – phase normale

Tableau 13 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) et en ^{15}N détectés lors de la migration du paracétamol sur gel de silice (phase normale).

ϵ_{total}	$\epsilon_{\text{C-1}}$	$\epsilon_{\text{C-2}}$	$\epsilon_{\text{C-3}}$	$\epsilon_{\text{C-4}}$	$\epsilon_{\text{C-5}}$	$\epsilon_{\text{C-6}}$	ϵ_{N}
+1.6	+4.6	+0.2	0.0	+1.1	+0.7	+4.5	+7.9



Paracétamol

Les résultats obtenus lors du transport du paracétamol dans la phase normale indiquent la présence d'un effet isotopique inverse total (Tableau 13). Ce constat est en accord avec les résultats précédemment obtenus lors de la migration de la vanilline dans la phase normale [84]. Ce résultat montre que ce sont les molécules pauvres en ^{13}C qui sont les moins retenues sur la phase stationnaire et donc qui sont éluées en premier. La présence de ^{13}C au sein du paracétamol semble provoquer des cycles de sorption / désorption moins rapides chez les molécules comportant des isotopes lourds du carbone, mais aussi de l'azote.

Les effets isotopiques position-spécifiques mesurés par irm- ^{13}C NMR montrent que l'effet inverse total est en réalité localisé sur les carbones de la fonction acétamide de la molécule (C-1 et C-6). Ce serait donc cette région du paracétamol qui interagirait avec la phase stationnaire au cours de l'élution et que les isotopomères comportant des ^{13}C sur ces positions sont mieux retenus sur la colonne.

L'interaction de cette fonction avec la phase normale est confirmée par la présence d'un important effet isotopique inverse au niveau de l'azote qui peut être dû à la formation de liaisons hydrogène entre les fonctions OH de la phase stationnaire et le

doublet non-liant de l'atome d'azote. On pouvait s'attendre aussi à une interaction directe avec la fonction alcool du paracétamol et donc observer des effets isotopiques associés au C-2. L'absence d'effet isotopique significatif sur ce site peut être due à une délocalisation par effet mésomère du doublet d'électrons de la liaison OH, du proton de la fonction alcool vers l'oxygène de la fonction acétamide, et ainsi favoriser l'interaction de cette fonction avec la phase normale, ce qui expliquerait la forte amplitude des effets inverses observés en C-1 et C-6. De plus, cette délocalisation peut être favorisée par le caractère acide de la silice.

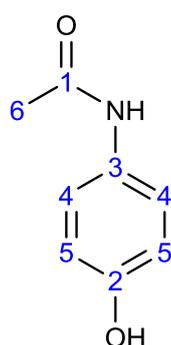
Les carbones compris dans le cycle aromatique du composé, quant à eux, ne montrent que des effets isotopiques très faibles, voire non-significatifs.

L'intérêt de la PSIA par irm-¹³C NMR est confirmé en tant qu'outil complémentaire dans ce type d'étude, car elle apporte une information plus fine sur le phénomène observé, en déterminant le type et le lieu d'interaction, par exemple.

II-4-3-3 La cellulose

ϵ_{total}	$\epsilon_{\text{C-1}}$	$\epsilon_{\text{C-2}}$	$\epsilon_{\text{C-3}}$	$\epsilon_{\text{C-4}}$	$\epsilon_{\text{C-5}}$	$\epsilon_{\text{C-6}}$	ϵ_{N}
0.0	-0.2	+0.9	0.0	-0.7	-1.1	+2.3	+0.4

Tableau 14 : Facteurs d'enrichissement en ¹³C (totaux et position-spécifiques) et en ¹⁵N détectés lors de la migration du paracétamol sur la cellulose.



Paracétamol

Dans le cas de la migration sur colonne de cellulose, l'effet isotopique total est nul (Tableau 14). Si cette étude n'était réalisée qu'avec l'irm-MS, la conclusion serait que la migration sur cellulose n'induit aucun effet isotopique, mais les mesures position-

spécifiques montrent la présence de quelques effets normaux et inverses significatifs qui se compensent au sein de la molécule.

On remarque des effets isotopiques inverses sur le C-2 et le C-6 du composé, alors que certains autres sites présentent des effets normaux (ou non-significatifs). L'effet inverse observé sur le C-2 (qui porte la fonction alcool) indiquerait que les isotopomères présentant un ^{13}C sur ce site interagiraient plus fortement avec la phase stationnaire et seraient ralentis au cours de l'élution, ce qui explique l'appauvrissement du paracétamol à cette position en début d'élution. Le même phénomène semble se produire sur le C-6 de la molécule (le méthyle de la fonction acétamide). Les effets isotopiques position-spécifiques du C-4 et du C-5 montrent une tendance opposée, avec des effets isotopiques normaux.

Les résultats obtenus sur les positions 1 et 3 ne sont pas significatifs, tout comme ceux détectés en azote. Ces valeurs non-significatives de facteur d'enrichissement indiquent que ces deux carbones encombrés ne sont pas impliqués dans des interactions non-covalentes induisant des fractionnements isotopiques au cours de la migration.

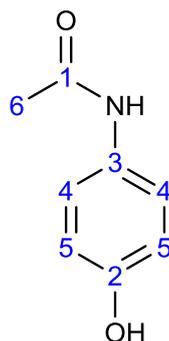
Le mécanisme d'interaction serait une formation de liaisons hydrogène entre la fonction alcool du paracétamol et celles de la cellulose.

Ici aussi l'intérêt de PSIA est de confirmer que l'absence d'effet isotopique observable en irm-MS peut être due à la présence d'effets isotopiques normaux et inverses au sein du composé étudié et que le mécanisme déduit est probablement différent.

II-4-3-4 Le charbon actif

Tableau 15 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) et en ^{15}N détectés lors de la migration du paracétamol sur le charbon actif.

ϵ_{total}	$\epsilon_{\text{C-1}}$	$\epsilon_{\text{C-2}}$	$\epsilon_{\text{C-3}}$	$\epsilon_{\text{C-4}}$	$\epsilon_{\text{C-5}}$	$\epsilon_{\text{C-6}}$	ϵ_{N}
-0.3	+0.3	-1.1	-1.9	-0.8	-0.2	+2.1	+7.9



Paracétamol

De la même manière que lors de la migration sur colonne de cellulose, l'effet isotopique total détecté en utilisant le charbon actif comme phase stationnaire est non-significatif (Tableau 15). L'utilisation de l'irm-MS seule amènerait donc à conclure que le transport du paracétamol sur le charbon actif n'induit pas d'effet isotopique significatif en ^{13}C .

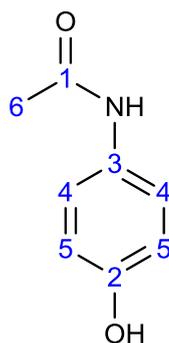
En revanche, les effets isotopiques position-spécifiques mesurés indiquent un effet inverse localisé sur le C-6 du paracétamol. Ce résultat indique que les molécules possédant un ^{13}C sur cette position présentent une élution plus lente et donc des interactions non-covalentes plus fortes avec la phase stationnaire, tout comme lors du transport sur la phase normale. On retrouve également l'effet isotopique inverse détecté sur la phase normale. L'effet inverse présent dans ces conditions sur le C-1 est quant à lui non-significatif.

Les sites carbonés en position 2, 3 et 4 présentent des effets isotopiques normaux. Il semblerait donc que ce sont les molécules de paracétamol pauvres en ^{13}C au niveau de leur cycle aromatique qui forment préférentiellement des interactions avec le charbon actif. Les électrons π du charbon actif et le cycle aromatique du paracétamol auraient ainsi tendance à former des interactions (effet de « π -stacking ») induisant des effets isotopiques.

II-4-3-5 Le gel de silice – phase inverse C8

Tableau 16 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) et en ^{15}N détectés lors de la migration du paracétamol sur gel de silice (phase inverse C8).

ϵ_{total}	$\epsilon_{\text{C-1}}$	$\epsilon_{\text{C-2}}$	$\epsilon_{\text{C-3}}$	$\epsilon_{\text{C-4}}$	$\epsilon_{\text{C-5}}$	$\epsilon_{\text{C-6}}$	ϵ_{N}
+0.3	+0.4	+0.1	+0.4	+0.7	+0.2	+0.3	+0.8



Paracétamol

L'effet isotopique total mesuré est non-significatif dans le cas de la phase inverse (Tableau 16). Les mesures réalisées sur la vanilline lors de la migration sur phase inverse RP-18 avaient permis le calcul d'un faible, mais significatif, effet isotopique de -0.8‰ grâce au modèle employé [85]. Cet écart peut s'expliquer par les différences de conditions expérimentales (dont l'éluant), la nature des composés utilisés et la méthode d'approximation employée.

Les mesures d'effets isotopiques position-spécifiques réalisées par irm- ^{13}C NMR donnent quelques informations supplémentaires sur le comportement du paracétamol au cours de sa sorption / désorption dans cette phase, malgré un ensemble de valeurs d' ϵ très faibles et souvent non-significatives. Les seules valeurs exploitables détectées sont de faibles effets isotopiques inverses localisés sur le C-4 et sur l'azote du paracétamol. Ces données sont insuffisantes pour déterminer un lien entre les interactions formées et les effets isotopiques induits.

II-4-4 Conclusions

Les fractionnements isotopiques position-spécifiques mis en évidence au cours de la migration ont permis d'identifier quels sont les isotopologues et isotopomères du paracétamol qui réalisent les interactions non-covalentes les plus fortes avec la phase stationnaire, comme c'est le cas durant la migration dans le gel de silice en phase normale.

La PSIA réalisée à l'aide de l'irm- ^{13}C NMR a également permis de mettre en évidence la présence d'effets isotopiques normaux et inverses localisés sur les différents sites carbonés de la molécule. Lorsque ces effets isotopiques position-spécifiques se compensent, l'analyse par irm-MS ne permet d'observer aucun effet isotopique total, comme ce fut par exemple le cas lors de la migration sur la cellulose au cours de cette étude. L'utilisation de l'irm- ^{13}C NMR en tant qu'outil complémentaire permet donc d'éviter ce type d'erreur d'interprétation et d'avoir une lecture plus détaillée des effets isotopiques impliqués dans ce type de phénomène.

L'analyse isotopique conjointe en ^{13}C et ^{15}N réalisée au cours de ce projet a également permis de donner plus de détails sur les interactions mises en jeu et démontrent une nouvelle fois l'intérêt de l'analyse multiélément.

La réflexion sur la modélisation de ces comportements est en cours. L'idée est de pouvoir décrire par un modèle mathématique la sorption d'une molécule organique sur différent support solide.

II-5 Références bibliographiques

- 1 D. J. Lapworth, N. Baran, M. E. Stuart, and R. S. Ward, 'Emerging Organic Contaminants in Groundwater: A Review of Sources, Fate and Occurrence', *Environ. Pollut.*, **2012**, 163, 287-303.
- 2 F. Thomas, C. Randet, A. Gilbert, V. Silvestre, E. Jamin, S. Akoka, G. Remaud, N. Segebarth, and C. Guillou, 'Improved Characterization of the Botanical Origin of Sugar by Carbon-13 SNIF-NMR Applied to Ethanol', *J. Agric. Food. Chem.*, **2010**, 58, 11580-11585.
- 3 R. Hattori, K. Yamada, M. Kikuchi, S. Hirano, and N. Yoshida, 'Intramolecular Carbon Isotope Distribution of Acetic Acid in Vinegar', *J. Agric. Food. Chem.*, **2011**, 59, 9049-9053.
- 4 P. Négrel, M. Blessing, R. Millot, E. Petelet-Giraud, and C. Innocent, 'Isotopic Methods Give Clues About the Origins of Trace Metals and Organic Pollutants in the Environment', *TrAC*, **2012**, 38, 143-153.
- 5 M. Elsner, J. McKelvie, G. Lacrampe Couloume, and B. Sherwood Lollar, 'Insight into Methyl *Tert*-Butyl Ether (MTBE) Stable Isotope Fractionation from Abiotic Reference Experiments', *Environ. Sci. Technol.*, **2007**, 41, 5693-5700.
- 6 C. Gauchotte, G. O'Sullivan, S. Davis, and R. M. Kalin, 'Development of an Advanced on-Line Position-Specific Stable Carbon Isotope System and Application to Methyl *Tert*-Butyl Ether', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2009**, 23, 3183-3193.
- 7 E. M. van Warmerdam, S. K. Frape, R. Aravena, R. J. Drimmie, H. Flatt, and J. A. Cherry, 'Stable Chlorine and Carbon Isotope Measurements of Selected Chlorinated Organic Solvents', *Appl. Geochem.*, **1995**, 10, 547-552.
- 8 K. M. Beneteau, R. Aravena, and S. K. Frape, 'Isotopic Characterization of Chlorinated Solvents - Laboratory and Field Results', *Org. Geochem.*, **1999**, 30, 739-753.
- 9 O. Shouakar-Stash, S. K. Frape, and R. J. Drimmie, 'Stable Hydrogen, Carbon and Chlorine Isotope Measurements of Selected Chlorinated Organic Solvents', *J. Contam. Hydrol.*, **2003**, 60, 211-228.
- 10 B. J. Smallwood, R. Paul Philp, and J. D. Allen, 'Stable Carbon Isotopic Composition of Gasolines Determined by Isotope Ratio Monitoring Gas Chromatography Mass Spectrometry', *Org. Geochem.*, **2002**, 33, 149-159.
- 11 G. O'Sullivan, and R. M. Kalin, 'Investigation of the Range of Carbon and Hydrogen Isotopes within a Global Set of Gasolines', *Environ. Forensics*, **2008**, 9, 166-176.
- 12 H. Hock, and S. Lang, 'Autoxydation Von Kohlenwasserstoffen, IX. Mitteil.: Über Peroxyde Von Benzol-Derivaten', *Chem. Ber.*, **1944**, 77, 257-264.
- 13 J. J. Moran, C. J. Ehrhardt, J. H. Wahl, H. W. Kreuzer, and K. L. Wahl, 'Integration of Stable Isotope and Trace Contaminant Concentration for Enhanced Forensic Acetone Discrimination', *Talanta*, **2013**, 116, 866-869.
- 14 M. C. Aelion, P. Höhener, D. Hunkeler, and R. Aravena, *Environmental Isotopes in Biodegradation and Bioremediation*, Taylor & Francis Group, **2010**.
- 15 A. Gilbert, R. J. Robins, G. S. Remaud, and G. G. Tcherkez, 'Intramolecular ¹³C Pattern in Hexoses from Autotrophic and Heterotrophic C₃ Plant Tissues', *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **2012**, 109, 18204-18209.
- 16 A. Gilbert, K. Yamada, and N. Yoshida, 'Accurate Method for the Determination of Intramolecular ¹³C Isotope Composition of Ethanol from Aqueous Solutions', *Anal. Chem.*, **2013**, 85, 6566-6570.

- 17 A. Gilbert, K. Yamada, and N. Yoshida, 'Exploration of Intramolecular ^{13}C Isotope Distribution in Long Chain n -Alkanes (C11-C31) Using Isotopic ^{13}C NMR', *Org. Geochem.*, **2013**, 62, 56-61.
- 18 C. Thibaudeau, G. Remaud, V. Silvestre, and S. Akoka, 'Performance Evaluation of Quantitative Adiabatic ^{13}C NMR Pulse Sequences for Site-Specific Isotopic Measurements', *Anal. Chem.*, **2010**, 82, 5582-5590.
- 19 J. B. Eweis, E. M. Labolle, D. A. Benson, and G. E. Fogg, 'Role of Volatilization in Changing TBA and MTBE Concentrations at MTBE-Contaminated Sites', *Environ. Sci. Technol.*, **2007**, 41, 6822-6827.
- 20 Y. Wang, and Y. Huang, 'Hydrogen Isotopic Fractionation of Petroleum Hydrocarbons During Vaporization: Implications for Assessing Artificial and Natural Remediation of Petroleum Contamination', *Appl. Geochem.*, **2003**, 18, 1641-1651.
- 21 J. A. Smith, A. K. Tisdale, and H. J. Cho, 'Quantification of Natural Vapor Fluxes of Trichloroethene in the Unsaturated Zone at Picatinny Arsenal, New Jersey', *Environ. Sci. Technol.*, **1996**, 30, 2243-2250.
- 22 I. Moussa, N. Naulet, M. L. Martin, and G. J. Martin, 'A Site-Specific and Multielement Approach to the Determination of Liquid-Vapor Isotope Fractionation Parameters: The Case of Alcohols', *J. Phys. Chem. A*, **1990**, 94, 8303-8309.
- 23 J. L. Borowitz, and F. S. Klein, 'Vapor Pressure Isotope Effects in Methanol', *J. Phys. Chem.*, **1971**, 75, 1815-1820.
- 24 S. R. Poulson, and J. I. Drever, 'Stable Isotope (C, Cl, and H) Fractionation During Vaporization of Trichloroethylene', *Environ. Sci. Technol.*, **1999**, 33, 3689-3694.
- 25 Y. Wang, and Y. Huang, 'Hydrogen Isotope Fractionation of Low Molecular Weight n -Alkanes During Progressive Vaporization', *Org. Geochem.*, **2001**, 32, 991-998.
- 26 H. Bai, L. Peng, J. Cao, X. Liu, J. Zhang, and L. Mu, 'Effects of Volatilization on the Hydrogen Isotope Composition of Selected n -Alkanes', *Atmos. Res.*, **2013**, 132-133, 164-172.
- 27 W. J. Shin, and K. S. Lee, 'Carbon Isotope Fractionation of Benzene and Toluene by Progressive Evaporation', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2010**, 24, 1636-1640.
- 28 L. Huang, N. C. Sturchio, T. Abrajano Jr, L. J. Heraty, and B. D. Holt, 'Carbon and Chlorine Isotope Fractionation of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons by Evaporation', *Org. Geochem.*, **1999**, 30, 777-785.
- 29 T. Yu, Y. Gan, A. Zhou, K. Yu, and Y. Liu, 'Investigation of Stable C and Cl Isotope Effects of Trichloroethene and Tetrachloroethylene During Evaporation at Different Temperatures', *J. Earth Sci.*, **2014**, 25, 735-740.
- 30 K. Yamada, M. Kikuchi, A. Gilbert, N. Yoshida, N. Wasano, R. Hattori, and S. Hirano, 'Evaluation of Commercially Available Reagents as a Reference Material for Intramolecular Carbon Isotopic Measurements of Acetic Acid', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2014**, 28, 1821-1828.
- 31 P. Baertschi, W. Kuhn, and H. Kuhn, 'Fractionation of Isotopes by Distillation of Some Organic Substances', *Nature*, **1953**, 171, 1018-1020.
- 32 M. Balabane, and R. Létolle, 'Inverse Overall Isotope Fractionation Effect through Distillation of Some Aromatic Molecules (Anethole, Benzene and Toluene)', *Chem. Geol. (Isot. Geosci. Sect.)*, **1985**, 52, 391-396.

- 33 R. Baudler, L. Adam, A. Rossmann, G. Versini, and K. H. Engel, 'Influence of the Distillation Step on the Ratios of Stable Isotopes of Ethanol in Cherry Brandies', *J. Agric. Food. Chem.*, **2006**, 54, 864-869.
- 34 B.-L. Zhang, C. Jouitteau, S. Pionnier, and E. Gentil, 'Determination of Multiple Equilibrium Isotopic Fractionation Factors at Natural Abundance in Liquid-Vapor Transitions of Organic Molecules', *J. Phys. Chem. B*, **2002**, 106, 2983-2988.
- 35 T. Kuder, P. Philp, and J. Allen, 'Effects of Volatilization on Carbon and Hydrogen Isotope Ratios of MTBE', *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, 43, 1763-1768.
- 36 R. R. Harrington, S. R. Poulson, J. I. Drever, P. J. S. Colberg, and E. F. Kelly, 'Carbon Isotope Systematics of Monoaromatic Hydrocarbons: Vaporization and Adsorption Experiments', *Org. Geochem.*, **1999**, 30, 765-775.
- 37 Q. Xiao, Y. Sun, Y. Zhang, and P. Chai, 'Stable Carbon Isotope Fractionation of Individual Light Hydrocarbons in the C6-C8 Range in Crude Oil as Induced by Natural Evaporation: Experimental Results and Geological Implications', *Org. Geochem.*, **2012**, 50, 44-56.
- 38 S. Jeannotat, and D. Hunkeler, 'Chlorine and Carbon Isotopes Fractionation During Volatilization and Diffusive Transport of Trichloroethene in the Unsaturated Zone', *Environ. Sci. Technol.*, **2012**, 46, 3169-3176.
- 39 M. Julien, J. Parinet, P. Nun, K. Bayle, P. Höhener, R. J. Robins, and G. S. Remaud, 'Fractionation in Position-Specific Isotope Composition During Vaporization of Environmental Pollutants Measured with Isotope Ratio Monitoring by ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry', *Environ. Pollut.*, **2015**, 205, 299-306.
- 40 K. T. O'Reilly, M. E. Moir, C. D. Taylor, C. A. Smith, and M. R. Hyman, 'Hydrolysis of *Tert*-Butyl Methyl Ether (MTBE) in Dilute Aqueous Acid', *Environ. Sci. Technol.*, **2001**, 35, 3954-3961.
- 41 S. P. Mezyk, D. Rance Hardison, W. Song, K. E. O'Shea, D. M. Bartels, and W. J. Cooper, 'Advanced Oxidation and Reduction Process Chemistry of Methyl *Tert*-Butyl Ether (MTBE) Reaction Intermediates in Aqueous Solution: 2-Methoxy-2-Methyl-Propanal, 2-Methoxy-2-Methyl-Propanol, and 2-Methoxy-2-Methyl-Propanoic Acid', *Chemosphere*, **2009**, 77, 1352-1357.
- 42 M. Thullner, F. Centler, H.-H. Richnow, and A. Fischer, 'Quantification of Organic Pollutant Degradation in Contaminated Aquifers Using Compound Specific Stable Isotope Analysis - Review of Recent Developments', *Org. Geochem.*, **2012**, 42, 1440-1460.
- 43 I. Levchuk, A. Bhatnagar, and M. Sillanpää, 'Overview of Technologies for Removal of Methyl *Tert*-Butyl Ether (MTBE) from Water', *Sci. Total Environ.*, **2014**, 476-477, 415-433.
- 44 S. R. Poulson, and H. Naraoka, 'Carbon Isotope Fractionation During Permanganate Oxidation of Chlorinated Ethylenes (cDCE, TCE, PCE)', *Environ. Sci. Technol.*, **2002**, 36, 3270-3274.
- 45 D. Hunkeler, R. Aravena, B. L. Parker, J. A. Cherry, and X. Diao, 'Monitoring Oxidation of Chlorinated Ethenes by Permanganate in Groundwater Using Stable Isotopes: Laboratory and Field Studies', *Environ. Sci. Technol.*, **2003**, 37, 798-804.
- 46 Y. Abe, R. Aravena, J. Zopfi, O. Shouakar-Stash, E. Cox, J. D. Roberts, and D. Hunkeler, 'Carbon and Chlorine Isotope Fractionation During Aerobic Oxidation and Reductive Dechlorination of Vinyl Chloride and *Cis*-1,2-Dichloroethene', *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, 43, 101-107.

- 47 C. Audí-Miró, S. Cretnik, N. Otero, J. Palau, O. Shouakar-Stash, A. Soler, and M. Elsner, 'Cl and C Isotope Analysis to Assess the Effectiveness of Chlorinated Ethene Degradation by Zero-Valent Iron: Evidence from Dual Element and Product Isotope Values', *Appl. Geochem.*, **2013**, 32, 175-183.
- 48 M. Rosell, R. Gonzalez-Olmos, T. Rohwerder, K. Rusevova, A. Georgi, F.-D. Kopinke, and H. H. Richnow, 'Critical Evaluation of the 2D-CSIA Scheme for Distinguishing Fuel Oxygenate Degradation Reaction Mechanisms', *Environ. Sci. Technol.*, **2012**, 46, 4757-4766.
- 49 A. Fischer, C. Oehm, M. Selle, and P. Werner, 'Biotic and Abiotic Transformations of Methyl *Tertiary* Butyl Ether (MTBE)', *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **2005**, 12, 381-386.
- 50 A. Khavanin, S. M. Mousavian, S. B. Mortazavi, A. Rezaee, and H. Asiliyan, 'Degradation of MTBE Using Fenton Reagent', *IJEHSE*, **2005**, 2, 195-200.
- 51 A. A. Burbano, D. D. Dionysiou, M. T. Suidan, and T. L. Richardson, 'Oxidation Kinetics and Effect of pH on the Degradation of MTBE with Fenton Reagent', *Wat. Res.*, **2005**, 39, 107-118.
- 52 A. A. Burbano, D. D. Dionysiou, and M. T. Suidan, 'Effect of Oxidant-to-Substrate Ratios on the Degradation of MTBE with Fenton Reagent', *Wat. Res.*, **2008**, 42, 3225-3239.
- 53 E. M. Siedlecka, A. Więckowska, and P. Stepnowski, 'Influence of Inorganic Ions on MTBE Degradation by Fenton's Reagent', *J. Hazard. Mater.*, **2007**, 147, 497-502.
- 54 Y. Liu, A. Zhou, Y. Gan, C. Liu, T. Yu, and X. Li, 'Stable Carbon Isotope Fractionation During Trichloroethene Degradation in Magnetite-Catalyzed Fenton-Like Reaction', *J. Contam. Hydrol.*, **2013**, 145, 37-43.
- 55 K.-C. Huang, R. A. Couttenye, and G. E. Hoag, 'Kinetics of Heat-Assisted Persulfate Oxidation of Methyl *Tert*-Butyl Ether (MTBE)', *Chemosphere*, **2002**, 49, 413-420.
- 56 S. Rodriguez, A. Santos, A. Romero, and F. Vicente, 'Kinetic of Oxidation and Mineralization of Priority and Emerging Pollutants by Activated Persulfate', *Chem. Eng. J.*, **2012**, 213, 225-234.
- 57 S. G. Huling, S. Ko, S. Park, and E. Kan, 'Persulfate Oxidation of MTBE- and Chloroform-Spent Granular Activated Carbon', *J. Hazard. Mater.*, **2011**, 192, 1484-1490.
- 58 J. H. Damm, C. Hardacre, R. M. Kalin, and K. P. Walsh, 'Kinetics of the Oxidation of Methyl *Tert*-Butyl Ether (MTBE) by Potassium Permanganate', *Wat. Res.*, **2002**, 36, 3638-3646.
- 59 J. Sutherland, C. Adams, and J. Kekobad, 'Treatment of MTBE by Air Stripping, Carbon Adsorption, and Advanced Oxidation: Technical and Economic Comparison for Five Groundwaters', *Wat. Res.*, **2004**, 38, 193-205.
- 60 B. Ramakrishnan, G. A. Sorial, T. F. Speth, P. Clark, A. Zaffiro, C. Patterson, and D. W. Hand, 'Remediation of Mtbe from Drinking Water: Air Stripping Followed by Off-Gas Adsorption', *J. Air Waste Manag. Assoc.*, **2004**, 54, 529-539.
- 61 J. Bigeleisen, and M. G. Mayer, 'Calculation of Equilibrium Constants for Isotopic Exchange Reactions', *J. Chem. Phys.*, **1947**, 15, 261-267.
- 62 K. B. Wiberg, 'The Deuterium Isotope Effect', *Chem. Rev.*, **1955**, 55, 713-743.
- 63 J. Bigeleisen, 'The Relative Reaction Velocities of Isotopic Molecules', *J. Chem. Phys.*, **1949**, 17, 675-678.

- 64 M. M. Haring, 'The Theory of Rate Processes (Glasstone, Samuel; Laidler, Keith J.; Eyring, Henry)', *J. Chem. Educ.*, **1942**, 19, 249.
- 65 F. H. Westheimer, 'The Magnitude of the Primary Kinetic Isotope Effect for Compounds of Hydrogen and Deuterium', *Chem. Rev.*, **1961**, 61, 265-273.
- 66 K. B. Wiberg, and R. Stewart, 'The Mechanisms of Permanganate Oxidation. I. The Oxidation of Some Aromatic Aldehydes', *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 1786-1795.
- 67 D. A. Singleton, and A. A. Thomas, 'High-Precision Simultaneous Determination of Multiple Small Kinetic Isotope Effects at Natural Abundance', *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, 117, 9357-9358.
- 68 N. P. Botting, 'Isotope Effects in the Elucidation of Enzyme Mechanisms', *Nat. Prod. Rep.*, **1994**, 11, 337-353.
- 69 K. Bayle, M. Grand, A. Chaintreau, R. J. Robins, W. Fieber, H. Sommer, S. Akoka, and G. S. Remaud, 'Internal Referencing for ¹³C Position-Specific Isotope Analysis Measured by NMR Spectrometry', *Anal. Chem.*, **2015**, 10.1021/acs.analchem.5b02094.
- 70 X.-R. Xu, Z.-Y. Zhao, X.-Y. Li, and J.-D. Gu, 'Chemical Oxidative Degradation of Methyl *Tert*-Butyl Ether in Aqueous Solution by Fenton's Reagent', *Chemosphere*, **2004**, 55, 73-79.
- 71 T.-N. Wu, 'Electrochemical Removal of MTBE from Water Using the Iridium Dioxide Coated Electrode', *Sep. Purif. Technol.*, **2011**, 79, 216-220.
- 72 M. Blessing, M. A. Jochmann, and T. C. Schmidt, 'Pitfalls in Compound-Specific Isotope Analysis of Environmental Samples', *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, 390, 591-603.
- 73 B. Huang, C. Lei, C. Wei, and G. Zeng, 'Chlorinated Volatile Organic Compounds (Cl-VOCS) in Environment - Sources, Potential Human Health Impacts, and Current Remediation Technologies', *Environ. Int.*, **2014**, 71, 118-138.
- 74 H. Penning, and M. Elsner, 'Intramolecular Carbon and Nitrogen Isotope Analysis by Quantitative Dry Fragmentation of the Phenylurea Herbicide Isoproturon in a Combined Injector/Capillary Reactor Prior to GC Separation', *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 8399-8405.
- 75 Q. Sui, J. Huang, S. Deng, G. Yu, and Q. Fan, 'Occurrence and Removal of Pharmaceuticals, Caffeine and Deet in Wastewater Treatment Plants of Beijing, China', *Wat. Res.*, **2010**, 44, 417-426.
- 76 A. J. Ghoshdastidar, S. Fox, and A. Z. Tong, 'The Presence of the Top Prescribed Pharmaceuticals in Treated Sewage Effluents and Receiving Waters in Southwest Nova Scotia, Canada', *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **2015**, 22, 689-700.
- 77 M. V. Salvia, J. Experton, C. Geandel, C. Cren-Olive, and E. Vulliet, 'Fate of Pharmaceutical Compounds and Steroid Hormones in Soil: Study of Transfer and Degradation in Soil Columns', *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **2014**, 21, 10525-10535.
- 78 I. J. Buerge, M. Keller, H.-R. Buser, M. D. Müller, and T. Poiger, 'Saccharin and Other Artificial Sweeteners in Soils: Estimated Inputs from Agriculture and Households, Degradation, and Leaching to Groundwater', *Environ. Sci. Technol.*, **2010**, 45, 615-621.
- 79 F.-D. Kopinke, A. Georgi, M. Voskamp, and H. H. Richnow, 'Carbon Isotope Fractionation of Organic Contaminants Due to Retardation on Humic

- Substances: Implications for Natural Attenuation Studies in Aquifers', *Environ. Sci. Technol.*, **2005**, 39, 6052-6062.
- 80 C. Schüth, H. Taubald, N. Bolaño, and K. Maciejczyk, 'Carbon and Hydrogen Isotope Effects During Sorption of Organic Contaminants on Carbonaceous Materials', *J. Contam. Hydrol.*, **2003**, 64, 269-281.
- 81 G. F. Slater, J. M. E. Ahad, B. Sherwood Lollar, R. Allen-King, and B. Sleep, 'Carbon Isotope Effects Resulting from Equilibrium Sorption of Dissolved VOCS', *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 5669-5672.
- 82 G. Imfeld, F. D. Kopinke, A. Fischer, and H. H. Richnow, 'Carbon and Hydrogen Isotope Fractionation of Benzene and Toluene During Hydrophobic Sorption in Multistep Batch Experiments', *Chemosphere*, **2014**, 107, 454-461.
- 83 E. P. Botosoa, E. Caytan, V. Silvestre, R. J. Robins, S. Akoka, and G. S. Remaud, 'Unexpected Fractionation in Site-Specific ^{13}C Isotopic Distribution Detected by Quantitative ^{13}C NMR at Natural Abundance', *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 130, 414-415.
- 84 E. P. Botosoa, V. Silvestre, R. J. Robins, J. M. M. Rojas, C. Guillou, and G. S. Remaud, 'Evidence of ^{13}C Non-Covalent Isotope Effects Obtained by Quantitative ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy at Natural Abundance During Normal Phase Liquid Chromatography', *J. Chromatogr. A*, **2009**, 1216, 7043-7048.
- 85 P. Höhener, V. Silvestre, A. Lefrançois, D. Loquet, E. P. Botosoa, R. J. Robins, and G. S. Remaud, 'Analytical Model for Site-Specific Isotope Fractionation in ^{13}C During Sorption: Determination by Isotopic ^{13}C NMR Spectrometry with Vanillin as Model Compound', *Chemosphere*, **2012**, 87, 445-452.
- 86 A. Rossner, and D. R. U. Knappe, 'MTBE Adsorption on Alternative Adsorbents and Packed Bed Adsorber Performance', *Wat. Res.*, **2008**, 42, 2287-2299.
- 87 A. Rossner, S. A. Snyder, and D. R. U. Knappe, 'Removal of Emerging Contaminants of Concern by Alternative Adsorbents', *Wat. Res.*, **2009**, 43, 3787-3796.
- 88 R. A. Granberg, and Å. C. Rasmuson, 'Solubility of Paracetamol in Pure Solvents', *J. Chem. Eng. Data*, **1999**, 44, 1391-1395.
- 89 V. Silvestre, V. M. Mboula, C. Jouitteau, S. Akoka, R. J. Robins, and G. S. Remaud, 'Isotopic ^{13}C NMR Spectrometry to Assess Counterfeiting of Active Pharmaceutical Ingredients: Site-Specific ^{13}C Content of Aspirin and Paracetamol', *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2009**, 50, 336-341.
- 90 P. Höhener, and X. Yu, 'Stable Carbon and Hydrogen Isotope Fractionation of Dissolved Organic Groundwater Pollutants by Equilibrium Sorption', *J. Contam. Hydrol.*, **2012**, 129-130, 54-61.

III – Étude complémentaire et interprétation par modèle mécanistique

III-1 Modélisation des effets isotopiques induits par l'évaporation

Nous avons démontré dans la partie II que la contribution de l'évaporation dans les fractionnements isotopiques apparaissant au cours de la remédiation des polluants est très importante dans le cas des Composés Organiques Volatiles. De plus, les effets isotopiques mesurés au cours de leur volatilisation ont montré des comportements variables en fonction de la nature du composé étudié et des conditions d'évaporation mises en œuvre. Des hypothèses sur ces différences observées sont posées pour le développement d'un outil fondamental de suivi et de traçage des polluants dans le sol. Pour cela, les expériences d'évaporation précédemment décrites ont été répétées sur quatre nouveaux composés (soit 10 produits analysés au total) : le méthanol, le *n*-propanol, l'acétone et le bromoéthane. Les résultats obtenus ont ensuite été confrontés au modèle de Craig-Gordon car c'est celui qui nous semblait le plus approprié pour comprendre les effets isotopiques observés.

III-1-1 Le modèle de Craig-Gordon

La plus ancienne et la plus complète des études du fractionnement isotopique induit par l'évaporation d'un liquide demeure celle réalisée par Craig et Gordon en 1965 [1]. Le modèle de Craig-Gordon (modèle C-G) fut initialement employé pour expliquer le cycle de l'eau et son impact sur les compositions isotopiques en ^2H et ^{18}O . Ce modèle est toujours employé afin de décrire certains processus impliquant des fractionnements isotopiques dans l'eau tels que l'évapotranspiration [2-3]. Il est également utilisé en hydrologie et géochimie [4].

Plus récemment, le modèle C-G a été adapté à l'étude de l'évaporation des Composés Organiques Volatiles par Kuder et collaborateurs [5]. Cette version remaniée du modèle décrit les différents phénomènes provoquant des fractionnements isotopiques en ^2H et ^{13}C au cours de l'évaporation de composés tels que le MTBE. L'ensemble des effets isotopiques en ^{13}C sont décrits dans la Figure 22.

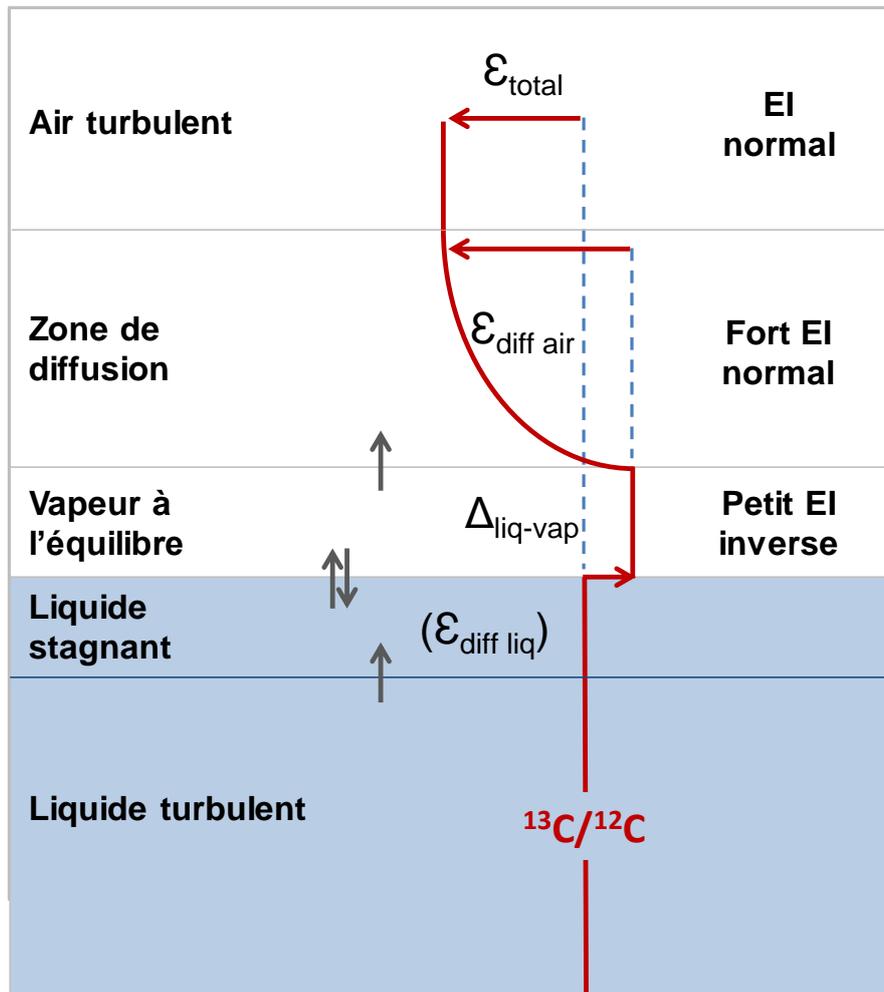


Figure 22 : Description des phénomènes intervenant au cours de l'évaporation passive d'un liquide organique, selon le modèle de Craig-Gordon adapté par Kuder et collaborateurs (en bleu la phase liquide et en blanc la phase gazeuse) [5].

Le modèle C-G montre les fractionnements isotopiques en ^{13}C apparaissant à l'interface liquide-vapeur, ce qui est l'image des phénomènes entrant en jeu dans le cas de l'évaporation passive (PE).

La phase liquide est séparée en deux parties distinctes. La première est dite turbulente, car dans cette zone les molécules sont soumises au mouvement brownien. La seconde zone est une mince couche de liquide stagnant de quelques micromètres. Le passage des molécules d'une zone à l'autre peut potentiellement induire un effet isotopique, mais cet aspect du modèle sera décrit plus précisément dans la partie III-1-3-3.

La phase gaz est composée d'un film de vapeur stagnant de quelques millimètres localisé à la surface de la phase liquide, puis d'une zone de diffusion correspondant au gaz présent transitoirement dans le récipient (ouvert). L'air turbulent correspond quant à lui aux gaz atmosphériques (sous la hotte).

Le modèle C-G indique que l'effet isotopique total généré par l'évaporation passive est normal ($\epsilon_{\text{total}} < 0$) dans le cas du ^{13}C . D'après ce modèle, cet effet normal est le résultat de la contribution de deux effets isotopiques opposés.

On retrouve ainsi un léger effet isotopique inverse induit par le changement d'état liquide-vapeur (noté $\Delta_{\text{liq-vap}}$), apparaissant lors du passage des molécules entre la zone de liquide stagnant et la mince couche de vapeur à l'équilibre (Figure 23).

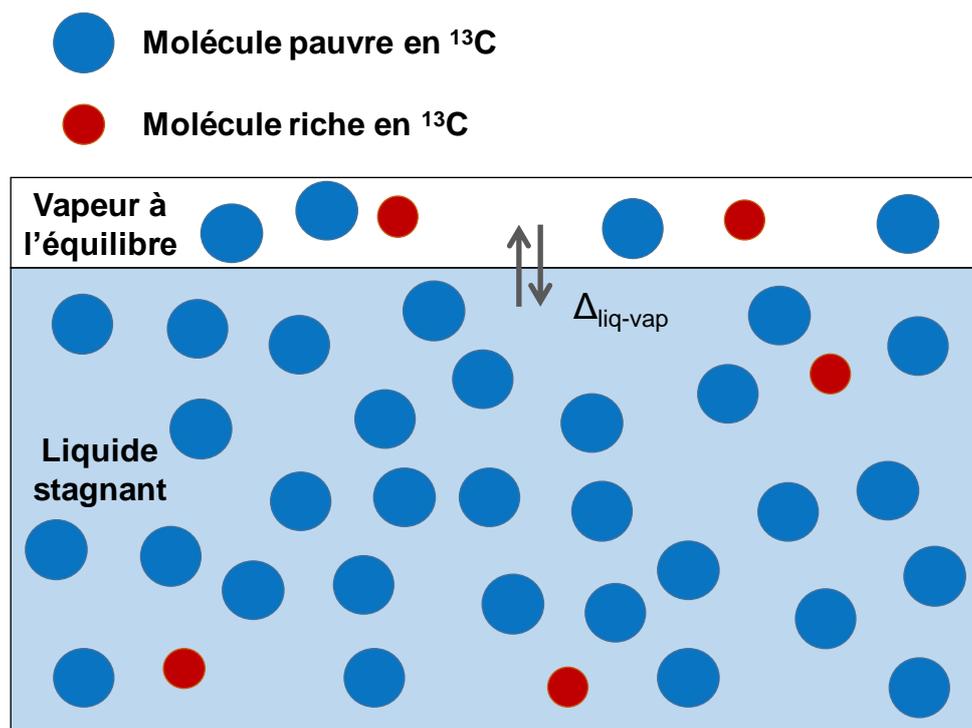


Figure 23: Représentation du fractionnement isotopique induit par le changement d'état liquide-vapeur ($\Delta_{\text{liq-vap}}$).

Cet effet isotopique est dû à la différence de longueur de liaison impliquant des ^{12}C et des ^{13}C . Cette propriété a pour conséquence que les molécules riches en ^{13}C ont un volume moléculaire moins important que les molécules pauvres [6-7]. Ainsi, les molécules présentes dans la phase liquide (soumises au mouvement brownien) vont

se rencontrer et les chocs résultants vont expulser préférentiellement les molécules riches en ^{13}C , du fait de leur volume moléculaire moins important. C'est ce phénomène qui induit un enrichissement en ^{13}C de la phase gaz dans la zone de vapeur stagnante vis-à-vis de la phase liquide et qui explique l'effet isotopique inverse accompagnant le changement d'état liquide-vapeur. Cet effet reste néanmoins de faible amplitude.

L'effet isotopique inverse provoqué par le changement d'état est ensuite compensé par un fort effet isotopique normal induit par le phénomène de diffusion dans la phase gaz (Figure 24).

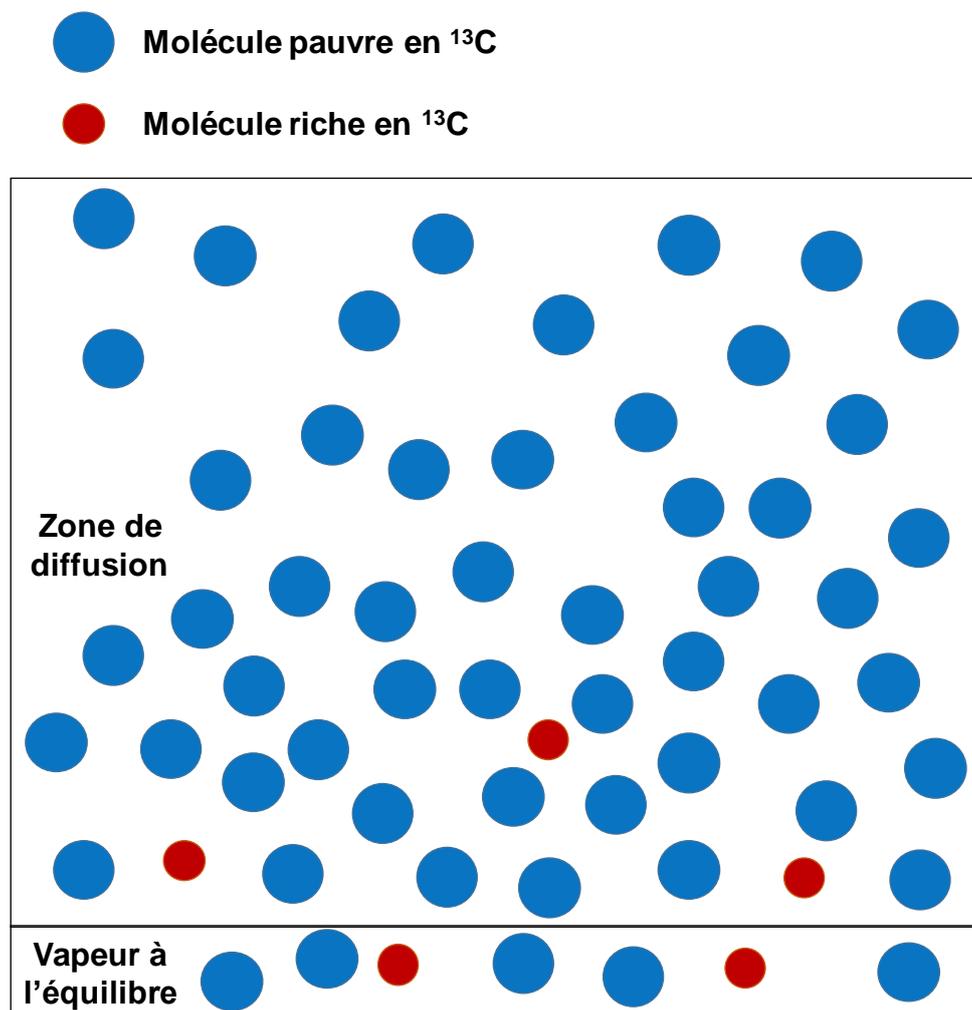


Figure 24 : Représentation du fractionnement isotopique induit par la diffusion dans la phase gazeuse.

La diffusion au sein de la phase gaz est due au déplacement des molécules en direction de l'air turbulent, sous l'effet du mouvement brownien. La vitesse de ce transport est directement liée à la masse des molécules considérées. C'est pourquoi

les molécules pauvres en ^{13}C diffusent plus rapidement et le gaz rejoignant la zone d'air turbulent est appauvri (contient essentiellement du ^{12}C) ; il s'agit donc d'un effet isotopique normal (noté $\epsilon_{\text{diff air}}$). On peut alors imaginer que plus la zone de diffusion est longue (volume de gaz présent dans le récipient ouvert), plus cet effet aura une amplitude importante (Figure 24).

Le modèle C-G nous indique ainsi que le cumul du faible effet isotopique inverse provoqué par le changement d'état liquide-vapeur ($\Delta_{\text{liq-vap}}$) et du fort effet isotopique normal dû à la diffusion dans la phase gazeuse ($\epsilon_{\text{diff air}}$) induit l'observation d'un effet isotopique total normal (ϵ_{total}) dans le cas de l'évaporation passive.

Ce modèle a été validé par de nombreux articles en observant un effet isotopique normal au cours de l'évaporation passive du MTBE [5], de certains BTEX (benzène et toluène) [8-9] ou encore des alcanes [10]. En revanche, certains composés tels que le TCE ont montré l'apparition d'un effet isotopique inverse au cours de l'évaporation passive [11-12].

Un autre modèle assez similaire à celui de Craig-Gordon a été développé par He et Smith en 1999 [13]. Ce dernier décrit les phénomènes intervenant au cours du changement d'état liquide-vapeur en utilisant la loi de Henry afin d'expliquer les fractionnements isotopiques induits par le passage des molécules de la phase liquide à la phase gazeuse et la loi de Fick pour décrire les effets isotopiques apparaissant au cours de la diffusion. L'équation ainsi obtenue est complexe et prend en compte certains paramètres difficiles à contrôler tels que l'humidité, c'est pourquoi ce modèle a été écarté au profit de celui de Craig-Gordon, bien que certaines études utilisent le modèle de He et Smith pour décrire les effets isotopiques observés lors de l'évaporation [12].

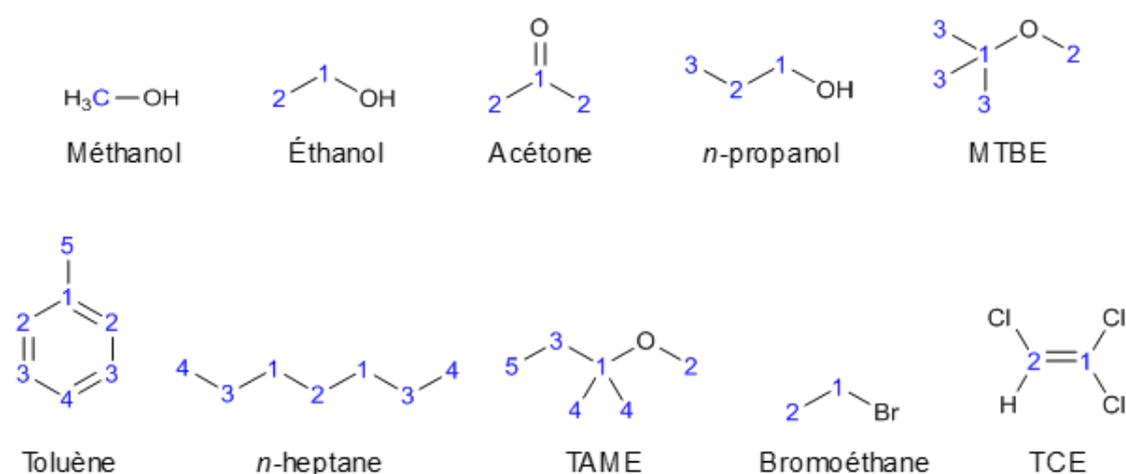
III-1-2 Résultats des expériences d'évaporation

Les résultats des quatre expériences d'évaporation réalisées sur les dix composés sélectionnés sont regroupés dans les Tableaux suivants (17 à 20). Le mode opératoire est le même que celui décrit dans le protocole de la partie II-3-1.

III-1-2-1 Évaporation passive (PE)

Tableau 17 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) détectés lors de l'évaporation passive (PE).

Composé	f (%)	ϵ_{total} (‰)	ϵ_i (‰)				
			C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Méthanol	4.8	-6.5	-	-	-	-	-
Ethanol	7.3	-4.3	-2.6	-6.1	-	-	-
Acétone	5.0	-2.5	-1.3	-3.1	-	-	-
<i>n</i> -propanol	6.4	-2.3	-1.0	-2.2	-3.5	-	-
MTBE	6.0	-1.0	-0.4	-1.2	-1.2	-	-
Toluène	4.9	-0.9	-0.3	-0.8	-0.9	-1.0	-1.8
<i>n</i> -Heptane	6.1	-0.5	-0.2	-0.4	-0.5	-1.0	-
TAME	7.0	+0.0	+0.8	-0.4	+0.1	-0.2	+0.2
Bromoéthane	6.4	+0.2	+1.0	-0.7	-	-	-
TCE	6.5	+0.4	+0.8	0.0	-	-	-



Pour la plupart des composés étudiés, l'évaporation passive induit un fractionnement isotopique total (ϵ_{total}) normal, comme prédit par le modèle C-G (Tableau 17). Toutefois, un ϵ_{total} positif est observé dans le cas du TCE et les valeurs obtenues pour

le TAME et le bromoéthane ne sont pas significatives, comme démontré dans la partie II (rappel : un changement de 0.2‰ pour ϵ est significatif, en irm-MS et irm- ^{13}C NMR).

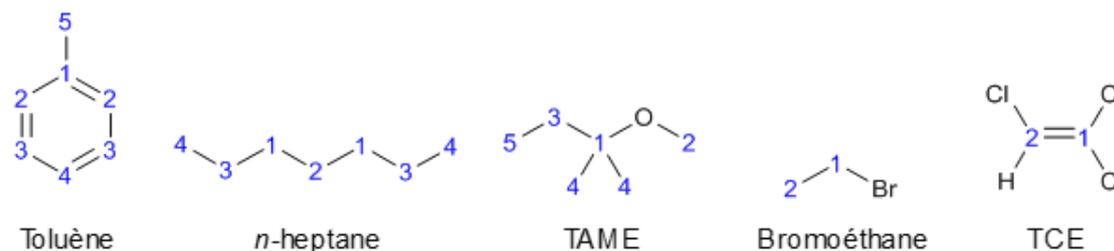
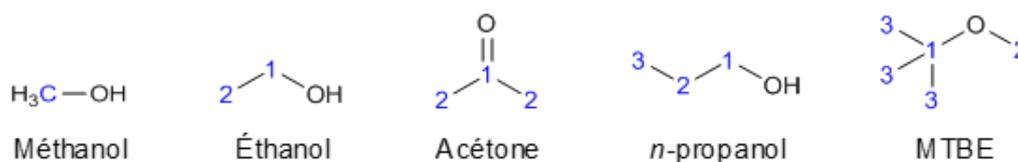
Les ϵ_i calculés à partir des résultats apportés par l'irm- ^{13}C NMR montrent que les effets normaux sont inégalement répartis sur les différents sites carbonés de chacun de ces produits. En effet, l' ϵ_i de la position C-2 (CH_3) de l'éthanol est bien plus important que celui du C-1 (CH_2) et de même pour l'acétone où l'effet semble principalement localisé sur les groupements méthyles. De manière analogue, l'effet isotopique inverse détecté sur le TCE n'est en réalité présent que sur le C-1 de ce composé. Les mesures isotopiques position-spécifiques indiquent également que l'observation d' ϵ_i non-significatifs sur le TAME et le bromoéthane sont dus à la présence d'effets isotopiques normaux et inverses localisés sur les différents sites carbonés de ces molécules.

Le modèle C-G semble donc permettre de décrire correctement les fractionnements isotopiques apparaissant au cours de l'évaporation passive pour la plupart des produits sélectionnés dans cette étude. L'analyse position-spécifique par irm- ^{13}C NMR apporte un élément novateur dans la description du modèle en démontrant la dimension position-spécifique des effets isotopiques induits par l'évaporation passive.

III-1-2-2 Évaporation en présence d'un flux d'air (AFE)

Tableau 18 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) détectés lors de l'évaporation en présence d'un flux d'air (AFE).

Composé	f (%)	ϵ_{total} (‰)	ϵ_i (‰)				
			C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Méthanol	7.3	-4.2	-	-	-	-	-
Ethanol	7.3	-2.5	-1.7	-3.3	-	-	-
Acétone	4.7	-2.3	-1.2	-2.9	-	-	-
<i>n</i> -propanol	5.2	-0.8	-0.3	-0.7	-1.2	-	-
MTBE	5.0	-0.7	-0.2	-0.5	-1.0	-	-
Toluène	3.1	-0.6	-0.2	-0.7	-0.6	-0.7	-0.9
<i>n</i> -Heptane	5.1	-0.7	-0.5	-0.5	-0.8	-1.0	-
TAME	6.2	-0.3	+0.3	-0.5	-0.4	-0.6	-0.2
Bromoéthane	5.2	-0.2	+0.1	-0.6	-	-	-
TCE	7.1	+0.2	+0.5	0.0	-	-	-



Les effets isotopiques totaux observés dans le Tableau 18 lors de l'évaporation en présence d'un flux d'air vont dans le même sens qu'en évaporation passive (normaux ou inverses). Pour la plupart de ces composés, l'amplitude des effets a diminuée lors de cette expérience d'évaporation forcée. Un effet isotopique inverse a été observé sur le TCE lors d'une expérience similaire dans la littérature [14]. D'après le modèle C-G, ce constat pourrait signifier que la présence de ce flux d'air perturbe la diffusion dans la phase gazeuse. En effet, si on prend l'exemple du MTBE, l' ϵ_t est de -1.0‰ en évaporation passive et de -0.7 ‰ en présence du flux d'air, ce qui montre que l'effet

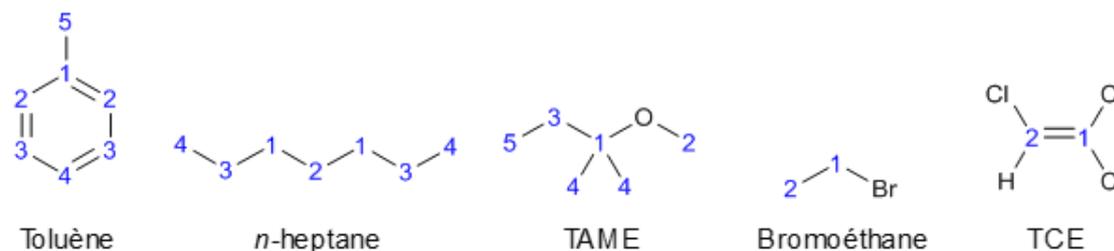
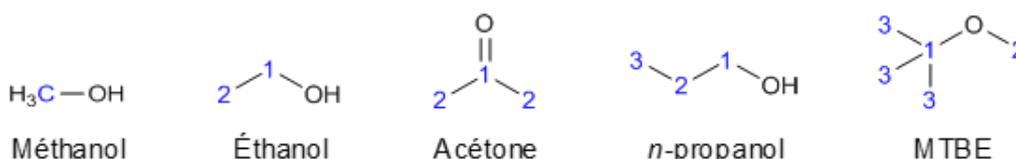
isotopique normal induit par la diffusion ($\epsilon_{\text{diff air}}$) est d'une amplitude moindre dans la seconde expérience.

On remarque également que, selon les conditions opératoires, la distribution de l'effet isotopique est perturbée sur les différents sites carbonés de certains produits, en ne modifiant l'amplitude que de certains effets position-spécifiques. C'est le cas du toluène dont l' ϵ_i présent en C-5 a diminué de 0.9‰ contre 0.1 à 0.3‰ sur les autres sites de la molécule.

III-1-2-3 Évaporation à basse pression (LPE)

Tableau 19 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) détectés lors de l'évaporation à basse pression (LPE).

Composé	f (%)	ϵ_{total} (‰)	ϵ_i (‰)				
			C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Méthanol	4.0	+0.3	-	-	-	-	-
Ethanol	4.0	+0.4	+0.7	0.0	-	-	-
Acétone	3.3	-0.3	+0.3	-0.6	-	-	-
<i>n</i> -propanol	7.0	+0.8	+1.1	+0.7	+0.6	-	-
MTBE	4.3	-0.0	+0.2	0.0	-0.1	-	-
Toluène	5.3	+0.3	+0.7	+0.3	+0.2	+0.1	0.0
<i>n</i> -Heptane	3.7	+0.4	+0.4	+0.4	+0.4	+0.3	-
TAME	5.0	+0.2	+0.6	+0.1	+0.2	+0.1	+0.3
Bromoéthane	5.6	+0.8	+1.7	-0.2	-	-	-
TCE	7.2	+0.5	+0.6	+0.5	-	-	-



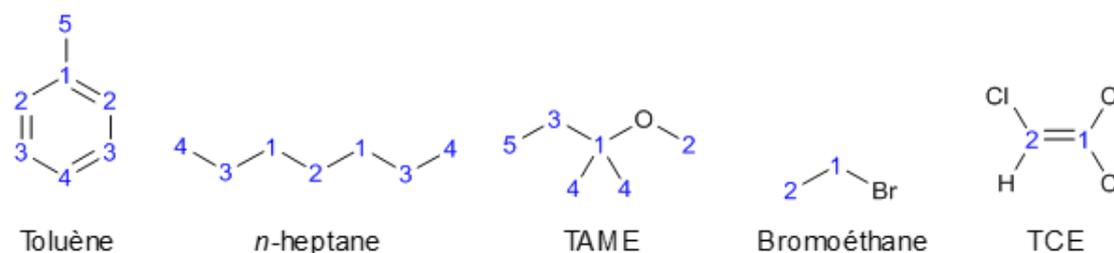
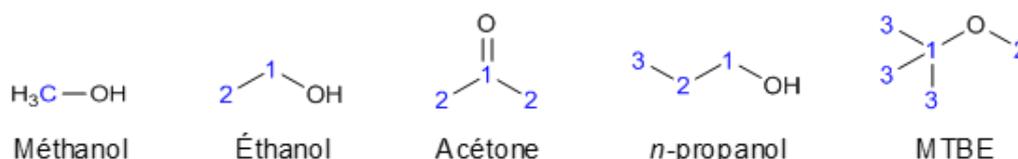
L'évaporation à basse pression semble également perturber le phénomène de diffusion (Tableau 19). En effet, l'effet isotopique total observé chez la plupart des composés étudiés sont devenus inverses (chez le *n*-propanol par exemple) ou non-significatifs (MTBE) et l'effet inverse observé sur le TCE a légèrement augmenté. On peut alors supposer que l'effet isotopique normal induit par le phénomène de diffusion a été en grande partie éliminé par le vide de l'évaporateur rotatif et que l'effet isotopique inverse provoqué par le changement d'état liquide-vapeur est devenu observable bien que décrit comme faible par le modèle C-G.

Les facteurs d'enrichissement position-spécifiques montrent des effets isotopiques inverses distribués de manière opposée aux effets normaux détectés en évaporation passive. Ce phénomène est particulièrement observable dans le cas du *n*-propanol où l'effet isotopique normal induit par l'évaporation passive est principalement localisé sur le C-3 (méthyle) et cet effet diminue le long de la chaîne carbonée. Le phénomène opposé apparaît lors de l'évaporation sous vide, où l'effet isotopique inverse est maximal sur le C-1 (carbone portant la fonction alcool) et devient de moins en moins important de carbone en carbone. Ces résultats tendent à montrer que les effets isotopiques induits par le changement d'état liquide-vapeur sont position-spécifiques alors que les effets induits par la diffusion en phase gazeuse ne seraient pas position-spécifiques. Les résultats obtenus en distillation permettront de vérifier ce constat.

III-1-2-4 Distillation (DE)

Tableau 20 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) détectés lors de la distillation (DE).

Composé	f (%)	ϵ_{total} (‰)	ϵ_i (‰)				
			C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Méthanol	1.6	+0.5	-	-	-	-	-
Ethanol	6.7	+0.7	+1.1	+0.3	-	-	-
Acétone	3.0	-0.3	+0.4	-0.7	-	-	-
<i>n</i> -propanol	3.1	+0.9	+1.1	+0.9	+0.7	-	-
MTBE	1.8	+0.3	+1.0	+0.2	+0.1	-	-
Toluène	4.9	+0.4	+0.3	+0.5	+0.5	+0.7	+0.3
<i>n</i> -Heptane	6.0	+0.7	+0.8	+0.4	+0.7	+0.7	-
TAME	5.5	+0.6	+1.1	+0.2	+0.7	+0.5	+0.7
Bromoéthane	1.9	+0.7	+1.1	+0.4	-	-	-
TCE	4.7	+0.8	+1.0	+0.6	-	-	-



L'analyse des queues de distillation a permis d'observer des effets isotopiques totaux inverses pour l'ensemble des composés étudiés (Tableau 20), sauf dans le cas de l'acétone qui présente un faible effet isotopique normal. Ce type de résultat avait déjà été observé sur le toluène [15]. Ces données montrent bien que l'utilisation de la distillation comme système d'évaporation ne permet d'observer que la contribution de l'effet isotopique de changement d'état liquide-vapeur ($\Delta_{\text{liq-vap}}$) décrit par le modèle C-G. En effet, lors de la distillation, chaque molécule qui passe en phase vapeur grâce au chauffage est directement condensée par le réfrigérant. Il ne peut donc pas y avoir de diffusion dans la phase gazeuse et ce système permet ainsi d'observer uniquement

les effets isotopiques induits par le passage des molécules de la phase liquide à la phase gazeuse. Pour l'évaporation de l'eau, il est connu que l'effet de fractionnement isotopique par diffusion disparaît quand l'humidité de l'air est grande, proche de la saturation [1].

Les résultats obtenus en utilisant l'IRM-¹³C NMR montrent une nouvelle fois une distribution inégale de l'effet isotopique entre les différents sites carbonés des molécules étudiées. De manière analogue aux valeurs obtenues dans le cas de l'évaporation sous vide, les effets isotopiques position-spécifiques inverses sont distribués d'une manière opposée aux effets normaux durant l'évaporation passive. Dans le cas du MTBE, l'évaporation passive induit un faible effet isotopique normal sur le C-1 (carbone quaternaire) et un effet de plus grande amplitude en C-2 et C-3 (respectivement le groupement méthoxy et les méthyles), alors que l'on retrouve un effet isotopique inverse maximal sur le C-1 et des effets très faibles sur les C-2 et C-3 dans le cas de la distillation.

Ces résultats montrent bien que lors de l'évaporation passive, un effet isotopique inverse position-spécifique et de faible amplitude est induit par le changement d'état liquide-vapeur ($\Delta_{\text{liq-vap}}$) et un second effet isotopique normal non position-spécifique de forte amplitude apparaît lors de la diffusion dans la phase gaz ($\epsilon_{\text{diff air}}$), ce qui entraîne l'observation d'un effet isotopique total normal et position-spécifique (ϵ_{total}) au cours de ce phénomène.

III-1-3 Détermination de $\epsilon_{\text{diff air}}$

III-1-3-1 $\epsilon_{\text{diff air}}$ calculé

Les résultats précédents ont démontré que l'utilisation de la distillation permet de mesurer le $\Delta_{\text{liq-vap}}$ (seul) et l'évaporation passive donne accès au ϵ_{total} ($= \Delta_{\text{liq-vap}} + \epsilon_{\text{diff air}}$).

On peut ainsi calculer la valeur du facteur d'enrichissement de la diffusion en phase gazeuse ($\epsilon_{\text{diff air}}$) selon l'équation 22.

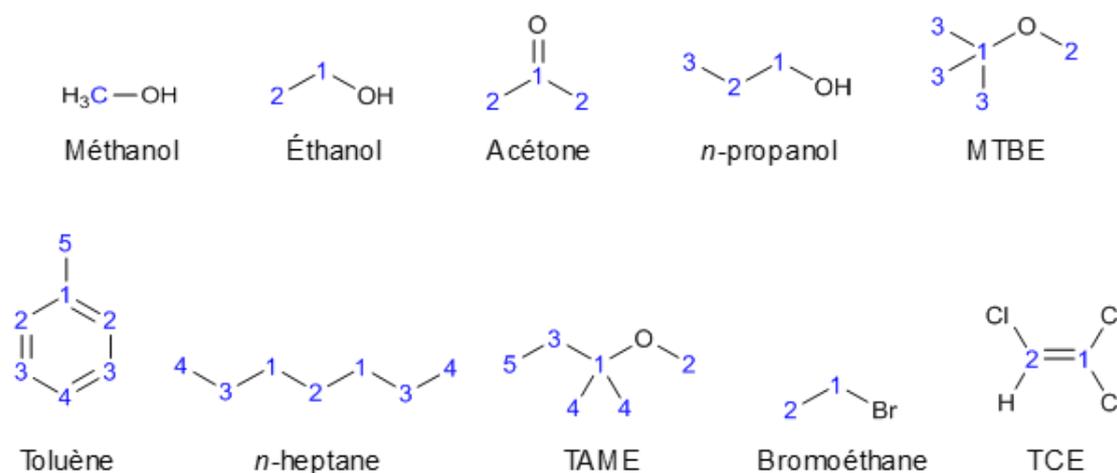
$$\epsilon_{\text{diff air}} = \epsilon_{\text{total}}(\text{PE}) - \epsilon_{\text{total}}(\text{DE})$$

Équation 22 : Calcul des $\epsilon_{\text{diff air}}$ (totaux et position-spécifiques) à l'aide des résultats expérimentaux obtenus en évaporation passive (PE) et en distillation (DE).

Les valeurs d' $\epsilon_{\text{diff air}}$ totales et position-spécifiques ainsi calculées sont regroupées dans le Tableau 21 :

Tableau 21 : $\epsilon_{\text{diff air}}$ (totaux et position-spécifiques) calculés.

Composé	$\epsilon_{\text{diff air}}$ total (‰)	$\epsilon_{\text{diff air}}$ position-spécifique (‰)				
		C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
Méthanol	-7.1	-	-	-	-	-
Ethanol	-5.0	-3.7	-6.4	-	-	-
Acétone	-2.1	-1.8	-2.3	-	-	-
<i>n</i> -propanol	-3.2	-2.1	-3.1	-4.3	-	-
MTBE	-1.4	-1.4	-1.4	-1.3	-	-
Toluène	-1.4	-0.6	-1.3	-1.4	-1.7	-2.1
<i>n</i> -Heptane	-1.2	-1.0	-0.8	-1.2	-1.7	-
TAME	-0.6	-0.3	-0.6	-0.6	-0.7	-0.5
Bromoéthane	-0.5	-0.1	-1.1	-	-	-
TCE	-0.4	-0.2	-0.6	-	-	-



Les résultats obtenus (Tableau 21) confirment que l'effet isotopique induit par la diffusion n'est pas position-spécifique pour la plupart des composés. C'est en particulier le cas du MTBE pour lequel cet effet est équitablement distribué entre ses différents sites carbonés. Certains composés ont des comportements position-

spécifiques malgré tout, mais ces données seront plus précisément décrites dans la partie III-1-3-3.

III-1-3-2 $\epsilon_{\text{diff air}}$ prédit

Le facteur d'enrichissement dû à la diffusion peut également être calculé selon l'équation 23 [16] :

$$\epsilon_{\text{diff air}} = \left(\sqrt{\frac{M_l(M_h + M_{\text{air}})}{M_h(M_l + M_{\text{air}})}} - 1 \right) \times 1000$$

Équation 23 : Prédiction de l' $\epsilon_{\text{diff air}}$ selon H. Craig.

M_l : masse molaire de l'isotopologue léger.

M_h : masse molaire de l'isotopologue lourd.

M_{air} : masse moléculaire de l'air.

Dans la plupart des études, la valeur de M_{air} utilisée est de 28.8 g.mol⁻¹, ce qui correspond à un mélange de 80% de diazote ($M(\text{N}_2) = 28 \text{ g.mol}^{-1}$) et 20% de dioxygène ($M(\text{O}_2) = 32 \text{ g.mol}^{-1}$).

Ici, la masse molaire de l'air utilisée dans les calculs prend en compte le fait que la phase gaz localisée au-dessus du liquide est composée d'air mélangé à des molécules du produit en cours d'évaporation. Les valeurs de M_{air} ont été calculées selon l'équation 24 :

$$M_{\text{air}} = \frac{P}{2P_0} \times M_c + \left(1 - \frac{P}{2P_0} \right) \times 28.8$$

Équation 24 : Calcul de la masse molaire de l'air en présence du composé en cours d'évaporation.

P : pression de vapeur saturante du composé étudié à 25 °C (Pa).

P_0 : pression atmosphérique (101325 Pa = 1 atm).

M_c : masse molaire du composé étudié (g.mol⁻¹).

Les valeurs de masse molaire et de pression de vapeur saturante utilisées ainsi que les M_{air} calculées sont regroupées dans le Tableau 22 :

Tableau 22 : Propriétés physico-chimiques des composés étudiés.

Composé	M_c (g.mol⁻¹)	P (Pa)	M_{air} (g.mol⁻¹)
Méthanol ^a	32.04	12300	29.00
Ethanol ^a	46.07	5800	29.30
Acétone ^b	58.10	32242	33.52
<i>n</i>-propanol ^b	60.10	2923	29.26
MTBE ^a	88.15	32359	38.40
Toluène ^a	92.14	3715	29.98
<i>n</i>-Heptane ^a	100.20	6166	31.00
TAME ^c	102.17	9100	33.68
Bromoéthane ^b	108.97	65042	54.87
TCE ^a	131.40	10000	33.93

^a : données extraites de Schwarzenbach *et al.* 2003 [17].

^b : Daubert & Danner 1989 [18].

^c :Arp & Schmidt 2004 [19].

Le facteur d'enrichissement induit par la diffusion dans la phase gaz a ainsi pu être calculé en utilisant l'équation 23 et les données du Tableau 23.

Tableau 23 : $\epsilon_{diff\ air}$ (totaux) prédits par le modèle de Craig-Gordon.

Composé	$\epsilon_{diff\ air}$ (‰)
Méthanol	-7.2
Ethanol	-4.1
Acétone	-3.1
<i>n</i> -propanol	-2.7
MTBE	-1.7
Toluène	-1.3
<i>n</i> -Heptane	-1.2
TAME	-1.2
Bromoéthane	-1.5
TCE	-0.8

Les valeurs d' $\epsilon_{diff\ air}$ prédites (Tableau 23) ont ensuite été comparées à celles obtenues expérimentalement, afin de vérifier si le modèle de Craig-Gordon permet effectivement de décrire les phénomènes observés au cours de l'évaporation passive.

III-1-3-3 Comparaison entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites d' $\epsilon_{diff\ air}$

Une droite de corrélation (théorique, avec $y = x$) a été tracée afin de vérifier si les prédictions réalisées par le modèle C-G correspondent aux valeurs expérimentales (Figure 25).

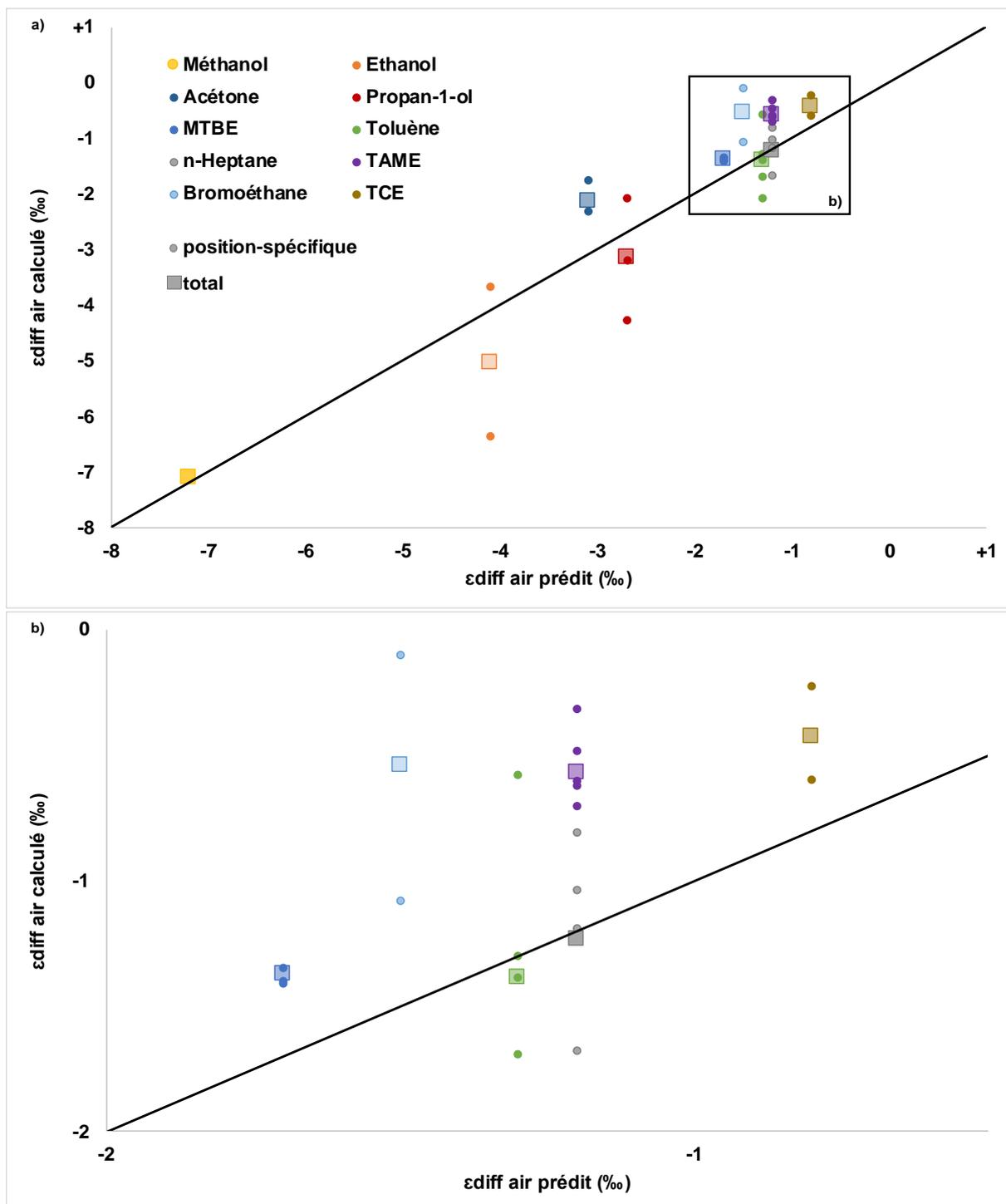


Figure 25 : Corrélation entre les $\epsilon_{diff\ air}$ calculés avec les valeurs expérimentales et ceux prédits par le modèle de Craig-Gordon, en haut sur l'ensemble de la gamme (a) et en bas sur la partie zoomée de l'encadré (b).

Les résultats obtenus dans la Figure 25 montrent un bon accord entre les valeurs d' $\epsilon_{diff\ air}$ totales prédites par le modèle C-G (en abscisse) et celles calculées à partir des facteurs d'enrichissement mesurés en évaporation passive et en distillation (en

ordonnée). Cette corrélation montre que le modèle permet de prédire les effets isotopiques induits par la diffusion au cours de l'évaporation dans le cas des Composés Organiques Volatiles. De plus, les expériences d'évaporation sélectionnées, l'évaporation passive sous hotte et la distillation, permettent respectivement d'observer les effets isotopiques induits par le changement d'état liquide-vapeur ($\Delta_{\text{liq-vap}}$) combiné à celui créé par la diffusion ($\epsilon_{\text{diff air}}$) et le $\Delta_{\text{liq-vap}}$ seul.

Cependant, certains composés tels que le bromoéthane, le MTBE, l'acétone et le TAME présentent des valeurs d' $\epsilon_{\text{diff air}}$ totales calculées moins importantes que celles prédites par le modèle. Cette légère différence de fractionnement isotopique pourrait être due à la présence d'un effet de diffusion dans la phase liquide, noté $\epsilon_{\text{diff liq}}$ dans la Figure 22.

Afin de démontrer la présence de fractionnements isotopiques induits par la diffusion en phase liquide et / ou gazeuse, nous avons tout d'abord calculé les coefficients de partition Air-Liquide de chacun des composés étudiés selon l'équation 25, décrite par Schwarzenbach et collaborateurs [17] :

$$K_{\text{ial}} = \frac{C_{\text{air}}}{C_{\text{liq}}} \text{ avec } C_{\text{air}} = \frac{P}{P_0 \cdot R \cdot T} \text{ et } C_{\text{liq}} = \frac{M_c}{\rho_c}$$

Équation 25 : Calcul du coefficient de partition Air-liquide (K_{ial}) en fonction de la concentration de composé dans l'air (C_{air}) et dans la phase liquide (C_{liq}).

P : pression de vapeur saturante (voir Tableau 23).

P_0 : pression atmosphérique (101325 Pa = 1 atm).

R : constante des gaz parfaits (0.0802 L.atm.K⁻¹.mol⁻¹).

M_c : masse molaire du composé (voir Tableau 23).

ρ_c : masse volumique du liquide (g.cm⁻³, voir Tableau 24).

Les K_{ial} ainsi calculés ont été regroupés dans le Tableau 24 :

Tableau 24: Coefficient de partition Air-liquide (K_{ial}) et masses volumiques des composés étudiés.

Composé	K_{ial}	ρ_c à 25 °C
Méthanol	$2.04 \cdot 10^{-4}$	0.791
Ethanol	$1.37 \cdot 10^{-4}$	0.789
Acétone	$9.68 \cdot 10^{-4}$	0.781
<i>n</i>-propanol	$8.86 \cdot 10^{-5}$	0.800
MTBE	$1.55 \cdot 10^{-3}$	0.741
Toluène	$1.59 \cdot 10^{-4}$	0.870
<i>n</i>-Heptane	$3.67 \cdot 10^{-4}$	0.680
TAME	$4.93 \cdot 10^{-4}$	0.771
Bromoéthane	$1.94 \cdot 10^{-3}$	1.470
TCE	$3.63 \cdot 10^{-4}$	1.460

La détermination de la phase dans laquelle la diffusion se produit peut être ainsi réalisée d'après la théorie des échanges air-eau décrite par Schwarzenbach et collaborateurs [17]. La vitesse de transfert entre les deux phases ($v_{a/l}$) peut être exprimée en fonction des vitesses de diffusion spécifiques de chacune des phases, celle du liquide organique (v_l) et celle du gaz (v_a), selon l'équation 26 :

$$\frac{1}{v_{a/l}} = \frac{1}{v_l} + \frac{1}{K_{ial} \cdot v_a}$$

Équation 26 : Calcul de la vitesse de transfert entre la phase liquide et la phase gazeuse.

La vitesse de diffusion dans chacune des phases est difficile à déterminer avec précision, car elle dépend des conditions physiques, telles que la vitesse du flux d'air présent, qui elles-mêmes sont complexes à définir avec exactitude. Cependant, il est admis que ces vitesses relatives sont reliées aux densités relatives de chacune des phases. On considère que la différence de densité entre le liquide et le gaz d'un composé donné sont différentes d'un facteur d'environ 1000. On en déduit une valeur critique de K_{ial} de $\approx 10^{-3}$ pour laquelle les vitesses de diffusion dans chacune des phases sont égales [17]. Cette limite fixée, on considère alors qu'un composé ayant une valeur de coefficient de partition liquide-vapeur inférieure à $\approx 10^{-3}$, tel que le toluène, présentera un effet isotopique de diffusion dans sa phase gaz, alors qu'un

composé comme le MTBE dont $K_{ial} = 1.55 \cdot 10^{-3}$ aura tendance à diffuser dans sa phase liquide. Le graphique de la Figure 26 présente les K_{ial} des dix composés étudiés en fonction de leur vitesse relative de transfert :

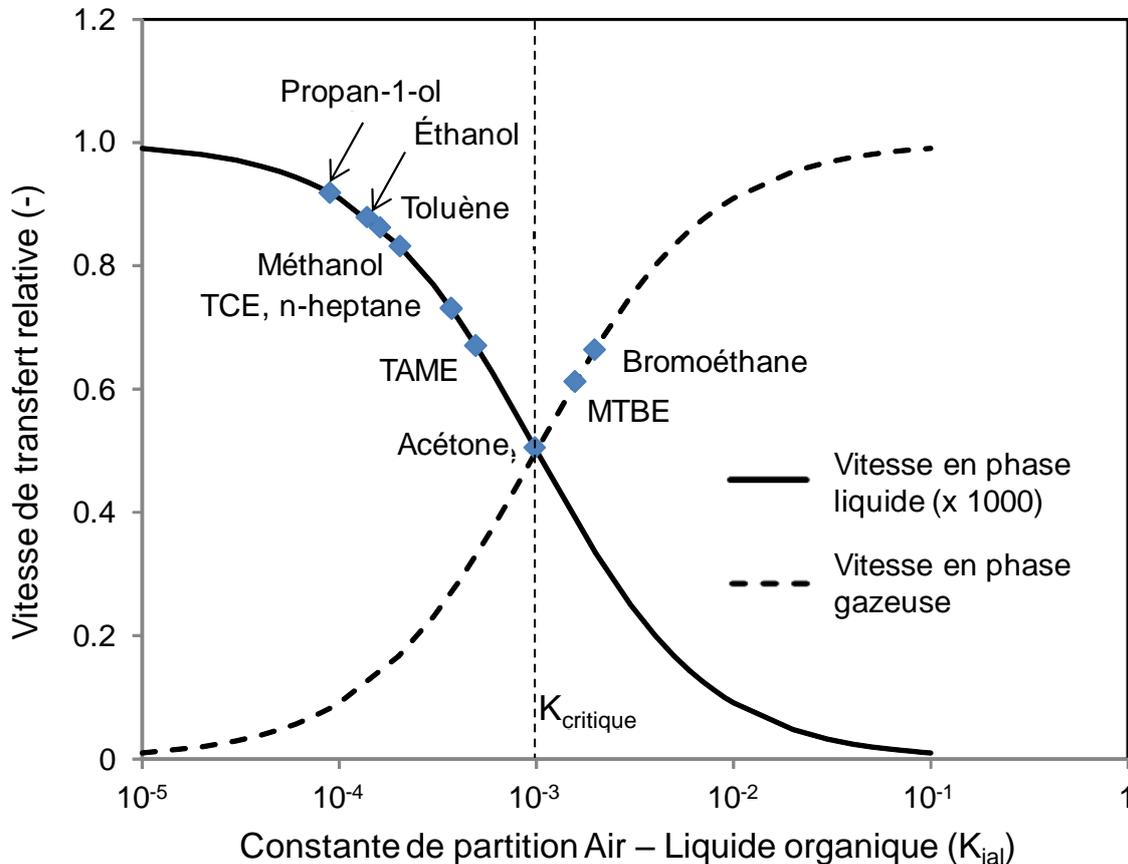


Figure 26 : Représentation schématique de la contribution relative des phases liquides et gazeuses dans la vitesse des transferts de masse en fonction du coefficient de partition liquide-vapeur (K_{ial}).

La Figure 26 montre que le bromoéthane et le MTBE présentent une limite de diffusion (vitesse de diffusion dans le liquide inférieure à celle en phase gazeuse) dans leurs phases liquides, ce qui peut expliquer l'observation d'un facteur d'enrichissement plus important obtenu avec les valeurs expérimentales que celui calculé avec le modèle. L'acétone quant à elle a un K_{ial} très proche de la valeur critique (10^{-3}). Ce composé doit donc présenter une partie de limitation de diffusion en phase liquide accompagnée d'une limitation de diffusion en phase gazeuse, ce qui peut expliquer son léger éloignement de la droite de corrélation dans la Figure 25. Le TAME présentait également une valeur d' $\mathcal{E}_{diff\ air}$ calculée légèrement sous-estimée en comparaison de

la valeur expérimentale. Le $K_{i,al}$ de ce composé étant d'environ $5 \cdot 10^{-4}$, on peut imaginer que cette différence entre la prédiction et la mesure pourrait également être due à la contribution d'un léger effet isotopique dû à la diffusion de ce composé en phase liquide.

Les mesures position-spécifiques indiquent également que l'effet isotopique de diffusion n'est pas position-spécifique. En effet, pour la plupart des composés étudiés, on observe peu de dispersion entre les valeurs d' ϵ_i , comme c'est particulièrement le cas pour le MTBE.

En revanche, les alcools (éthanol et *n*-propanol) présentent un important fractionnement intramoléculaire lors de la diffusion, ce qui démontre que l'effet isotopique de diffusion est clairement position-spécifique dans le cas de cette famille de composés. Cette différence de comportement vis-à-vis de la diffusion doit probablement être due à la présence d'un effet isotopique position-spécifique supplémentaire. L'une des explications possibles serait que la présence de liaisons hydrogène intermoléculaires formées entre les molécules présentant une fonction alcool induirait également un effet isotopique qui viendrait s'ajouter au $\epsilon_{diff\ air}$ et au $\Delta_{liq-vap}$ au cours de l'évaporation passive. Cette hypothèse a été étudiée en utilisant des expériences de distillation décrites dans la partie III-2. On retrouve également une dispersion notable des effets isotopiques position-spécifiques au sein des composés halogénés (bromoéthane et TCE) qui pourrait également être due à un effet isotopique additionnel impliquant des interactions particulières (type polaire, polaire-induit) pour cette famille de molécules.

III-1-4 Conclusions

La série d'expériences d'évaporations réalisée dans ce projet a permis d'observer individuellement le $\Delta_{\text{liq-vap}}$, en analysant la queue de distillation, et l' $\mathcal{E}_{\text{diff air}}$, par déduction en réalisant l'évaporation passive dont l' $\mathcal{E}_{\text{total}}$ mesuré correspond à la somme des contributions de ces deux effets isotopiques.

Le modèle de Craig-Gordon, qui a été choisi afin d'interpréter les résultats expérimentaux de cette étude, permet de prédire avec une bonne approximation le facteur d'enrichissement induit par la diffusion d'un composé dans sa phase gaz. Les résultats obtenus ont permis de démontrer que l' $\mathcal{E}_{\text{diff air}}$ n'est pas position-spécifique pour la majorité des composés étudiés, mais que c'est la contribution du $\Delta_{\text{liq-vap}}$ qui conduit à l'observation d'effets isotopiques position-spécifiques au cours de l'évaporation passive. Toutefois, les alcools (éthanol et *n*-propanol) semblent présenter un $\mathcal{E}_{\text{diff air}}$ position-spécifique, qui pourrait être dû à un effet isotopique additionnel probablement lié à la présence de fortes interactions dont les liaisons hydrogène entre ces molécules en solution pure. Cette hypothèse sera étudiée dans la suite du manuscrit. Il en est de même, dans une moindre mesure, pour les composés halogénés (bromoéthane et TCE).

Certains composés, tels que le MTBE, présentent un effet isotopique de diffusion au sein de leur phase liquide (non position-spécifique). Cet effet a pour conséquence l'obtention d'un $\mathcal{E}_{\text{diff air}}$ calculé légèrement supérieur à celui prédit par le modèle.

Le modèle de Craig-Gordon est donc adapté à l'étude de l'évaporation des Composés Organiques Volatiles, bien qu'il faille considérer certains paramètres additionnels dépendant du composé étudié, afin de réaliser une prédiction des fractionnements isotopiques apparaissant au cours de ce phénomène.

III-2 La distillation : étude de la transformation liquide-vapeur

Les résultats des expériences d'évaporation décrits dans la partie II montrent des effets isotopiques totaux et position-spécifiques variables en fonction du protocole employé et de la nature des composés étudiés. La variation des facteurs de fractionnements obtenus en fonction des différents modes opératoires a été expliquée grâce au modèle de Craig-Gordon au début de cette partie. Afin d'observer le lien entre la structure des composés et leur impact sur les fractionnements isotopiques position-spécifiques apparaissant au cours des changements d'état liquide-vapeur, une étude de distillation a été réalisée sur 21 composés. La question posée est :

Les interactions et donc la diffusion au sein du liquide influencent elles les compositions isotopiques position-spécifiques obtenues dans la phase vapeur?

Pour des raisons pratiques, ce sont les têtes de distillation qui ont été analysées dans cette étude. Les effets isotopiques position-spécifiques en ^{13}C mesurés pourraient apporter de nouveaux éléments de réflexion pour prédire les fractionnements isotopiques apparaissant au cours de la remédiation des contaminants du sol, en fonction de leur structure. En complément de ces résultats, les données en ^2H (position-spécifiques) et en ^{18}O ou ^{15}N (selon le composé étudié) obtenus au laboratoire par Zhang et collaborateurs en 2002 [20] seront ajoutées à ces nouvelles données position-spécifiques en ^{13}C afin d'avoir une analyse multiélément complète.

III-2-1 Protocole de distillation

L'ensemble des distillations ont été réalisées avec une colonne de distillation à bande tournante (colonne Cadiot). Cet appareillage permet de maintenir le système à l'équilibre, en réglant le taux de reflux. Pour chacune des expériences réalisées, le système est maintenu 10 min à l'équilibre, puis des prélèvements successifs sont réalisés à 1 min environ d'intervalle, jusqu'à l'obtention d'une tête de distillation correspondant à 2.5-3% de la masse de produit initial. Cet échantillon est alors analysé en irm-MS et irm- ^{13}C NMR et les facteurs de fractionnements (totaux et position-spécifiques) sont calculés comme décrit dans la partie I. Dans cette étude, c'est bien la tête de distillation qui est étudiée et non les queues comme pour la partie II.

De la même manière que pour les expériences d'évaporation présentées dans la partie II, une étude de répétabilité a été réalisée sur l'éthanol afin de vérifier la robustesse de l'approche expérimentale. Pour cela, trois distillations ont été réalisées sur le même lot d'éthanol et les mesures en irm-MS et en irm-¹³C NMR ont été effectuées dans les mêmes conditions.

Comme précisé dans l'introduction, les expériences de distillation ont été réalisées sur une sélection de 21 composés dont la liste complète est décrite dans le Tableau 25 :

Tableau 25 : Liste des composés employés au cours de l'étude des fractionnements isotopiques en ¹³C apparaissant au cours de la distillation.

Alcools	Cétones	Composés synthétiques	Composés fossiles
Méthanol ¹	Acétone	MTBE	Toluène ²
Éthanol ¹	2-Heptanone	TAME	n-Heptane
<i>n</i> -Propanol ¹	3-Heptanone	Bromoéthane	
<i>n</i> -Butanol ¹	4-Heptanone	TCE	
<i>n</i> -Pentanol		Acide acétique ²	
Isopropanol		Acétate d'éthyle	
TBA		Acétonitrile ¹	
Cyclohexanol			

¹ : Composés étudiés par Zhang *et al.* 2002.

² : Composés présentant des analogies structurales avec certains produits étudiés par Zhang *et al.* 2002 (l'acide propanoïque pour l'acide acétique et le *p*-xylène dans le cas du toluène).

Ces molécules ont été classées en différentes catégories selon leur fonction chimique (alcool et cétone) ou leur origine (synthétique ou fossile), mais aussi pour faciliter la présentation des résultats.

III-2-2 Calcul du facteur de fractionnement (α)

L'analyse des queues de distillation précédemment effectuée dans la partie II avait permis de démontrer que ce phénomène crée un effet isotopique inverse. En effet, la fraction de substrat restante dans le ballon après distillation présentait un appauvrissement en ^{13}C . Il est donc logique de penser que les têtes de distillation seront enrichies en ^{13}C , comme attendu d'après la littérature [21-22]. Mais quelle que soit la fraction sur laquelle les mesures isotopiques sont réalisées, la distillation d'un composé ne présente qu'un seul facteur d'enrichissement (ϵ), comme décrit dans la Figure 27 :

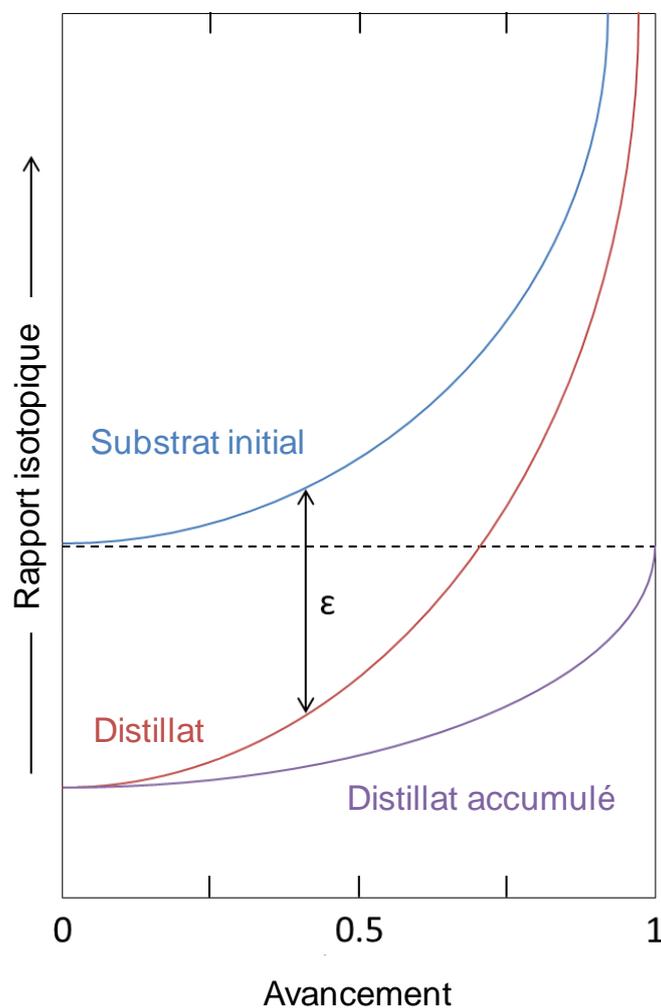


Figure 27 : Représentation de la distillation de Rayleigh.

Le calcul du facteur de fractionnement (α) ne peut donc pas être réalisé directement avec l'équation 9 décrite dans la partie I, à partir de la composition isotopique du substrat de départ et celui de la tête de distillation, car le résultat de ce calcul indiquerait la présence d'un effet isotopique normal induit par la distillation, ce qui est faux d'après les résultats observés précédemment et d'après le modèle de Craig-Gordon. C'est pourquoi le calcul de α a été réalisé selon l'équation 27 au cours de cette étude de la distillation :

$$\alpha = 1 + \left(\frac{\ln \frac{\delta^{13}\text{C}_{\text{substrat initial}} + 1000}{\delta^{13}\text{C}_{\text{tête de distillation}} + 1000}}{\ln f} \right)$$

Équation 27 : Calcul du facteur de fractionnement (α) dans le cas de l'analyse isotopique des têtes de distillation.

Les résultats obtenus sont ensuite exprimés en facteurs d'enrichissement (\mathcal{E}) en utilisant l'équation 12 présentée dans la partie I. De plus, une variation de \mathcal{E} sera considérée comme significative lorsqu'elle sera d'une amplitude supérieure ou égale à 0.2‰, d'après le calcul d'incertitude étendue présenté dans la partie I, l'écart-type de précision des mesures irm-MS et irm-¹³C NMR est de 0.3‰.

III-2-3 Résultats

III-2-3-1 Étude de répétabilité

Les résultats de l'étude de répétabilité de la distillation réalisée sur l'éthanol sont regroupés dans le Tableau 26 :

Tableau 26 : Compositions et effets isotopiques totaux et position-spécifiques des échantillons d'éthanol obtenus lors de l'étude de répétabilité de la distillation (DE).

	f (%)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{total}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-1}}$ (‰)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{C-2}}$ (‰)	ϵ_{total} (‰)	$\epsilon_{\text{C-1}}$ (‰)	$\epsilon_{\text{C-2}}$ (‰)
référence	100		-25.5	-30.1	-	-	-
		-27.8	-25.6	-30.0	-	-	-
			-25.8	-29.8	-	-	-
DE	3.0	-22.9	-18.0	-27.7	+1.5	+2.2	+0.7
	2.5	-22.4	-17.9	-27.0	+1.5	+2.2	+0.8
	2.9	-22.8	-18.0	-27.6	+1.5	+2.2	+0.7

Une excellente répétabilité des expériences de distillation et des mesures isotopiques associées est obtenue, démontrant la robustesse du protocole analytique. De plus, on observe un enrichissement en ^{13}C dans le distillat comme attendu : c'est un effet inverse.

III-2-3-2 La distillation des alcools

Les résultats obtenus sur les différents alcools distillés sont présentés dans la Figure 28 :

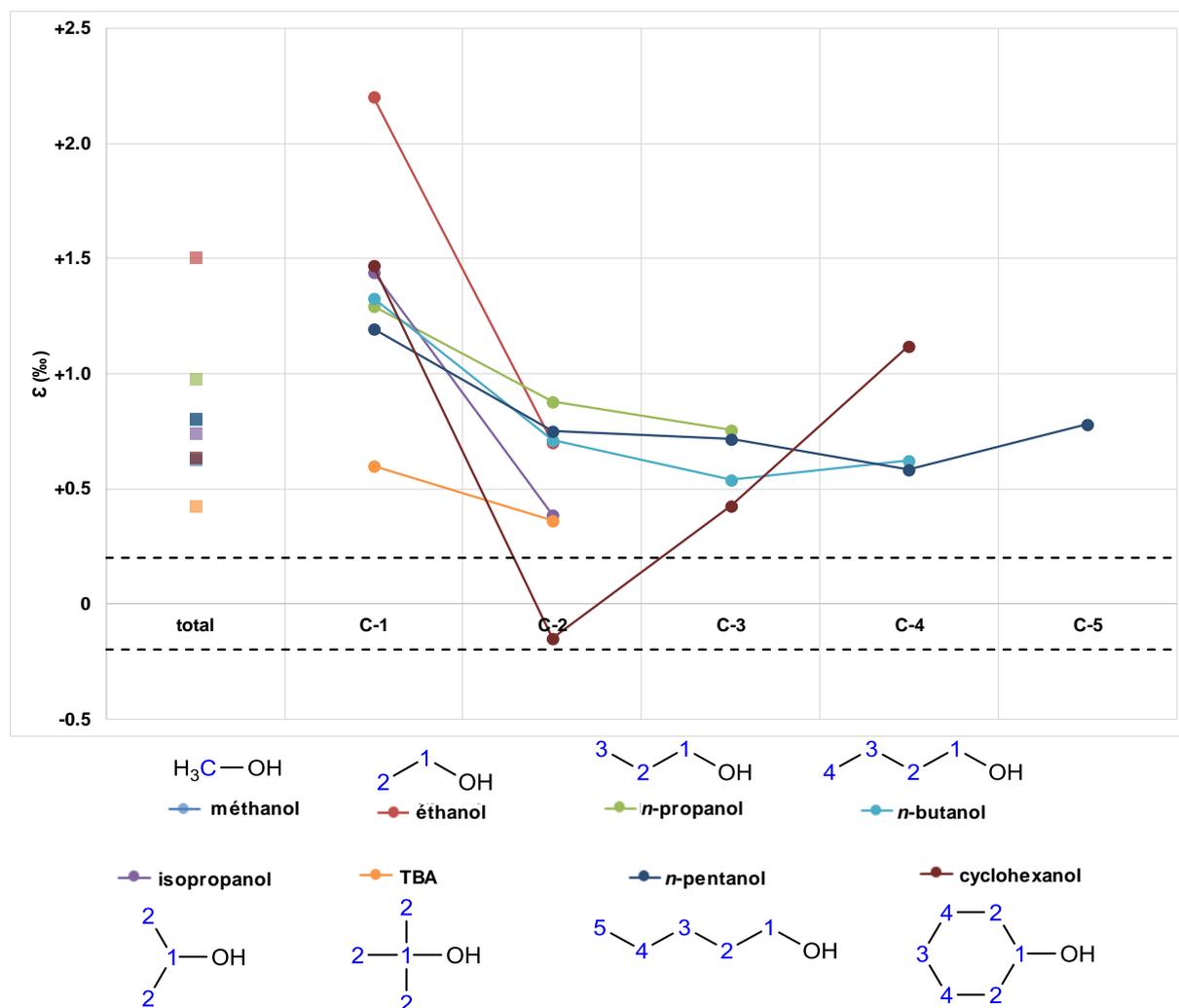


Figure 28 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons d'alcools obtenus par distillation.

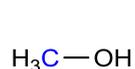
D'après l'analyse des têtes de distillation, l'effet isotopique total est inverse pour chacun des composés étudiés, ce qui est en accord avec les résultats de la partie II où l'analyse isotopique des queues de distillation avait également permis d'observer des effets isotopiques inverses (observation du changement d'état liquide-vapeur seul, $\Delta_{\text{liq-vap}}$). De plus, ce constat avait déjà été observé lors de la distillation du méthanol [20-21] et de l'éthanol [22-23] dans la littérature.

L'analyse isotopique position-spécifique montre que cet effet inverse total est en réalité majoritairement localisé sur le carbone qui porte la fonction alcool, ce qui avait également été observé dans une précédente étude réalisée au laboratoire [24]. On remarque également que l'effet isotopique inverse diminue ensuite le long de la chaîne carbonée, dans le cas des alcools linéaires, tels que le *n*-propanol. Pour les alcools ayant un squelette carboné plus long (*n*-butanol, *n*-pentanol), il semble que le groupe méthyle localisé en bout de chaîne présente un effet isotopique inverse très légèrement plus important que son voisin. Le même type de profil est observé chez les alcools ramifiés (isopropanol et TBA) pour lesquels l' ϵ_i a une amplitude plus importante au niveau du C-1 que sur les C-2 (groupes méthyles). Dans le cas du cyclohexanol, c'est également le carbone portant la fonction alcool qui présente l'effet isotopique position-spécifique inverse de plus grande amplitude.

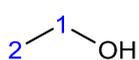
Ces résultats nous indiqueraient que la formation de liaisons hydrogène entre les molécules présentant une fonction alcool aurait une influence sur les effets isotopiques en ^{13}C induits par la distillation. Afin de vérifier cette hypothèse, les résultats présentés dans le Tableau 27 présentent les facteurs d'enrichissement position-spécifiques détectés en deutérium (^2H ou D) et en ^{18}O mesurés par Zhang et collaborateurs [20].

Tableau 27 : Facteurs d'enrichissement en deutérium (ϵ_D) et en ^{18}O (ϵ_O) détectés lors de la distillation des alcools.

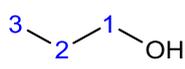
	ϵ_D					ϵ_O
	OH	C-1	C-2	C-3	C-4	OH
Méthanol	-441	+26	-	-	-	-42.4
Éthanol	-303	+28	+40	-	-	-29.8
n-Propanol	-137	+14	+22	+46	-	-23.7
n-Butanol	-127	+29	+19	+49	+68	-21.3



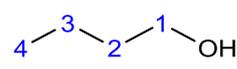
Méthanol



Éthanol



n-propanol



n-butanol

Les résultats obtenus lors de cette précédente étude montrent d'importants effets isotopiques normaux en deutérium et en ^{18}O au niveau de la fonction alcool de ces composés, ce qui renforce une nouvelle fois l'idée de la présence de liaisons hydrogène formées entre les molécules présentant une fonction alcool et induisant des

fractionnements isotopiques, bien que ces effets soient opposés à ceux observés en ^{13}C . On remarque également des effets isotopiques position-spécifiques inverses en deutérium le long de la chaîne carbonée. A l'inverse, des mesures réalisées en ^{13}C , les effets isotopiques en deutérium sont de plus en plus importants le long de la chaîne carbonée, en s'éloignant de la fonction alcool. Ce résultat indique une différence de comportement en terme de fractionnements isotopiques selon si on travaille sur le squelette du composé (^{13}C) ou sur ses atomes qui interagissent directement avec l'environnement (fonctions chimiques, hydrogènes). On note ainsi une différence de polarité entre le ^1H et le ^2H (D).

La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus en queues de distillation montrent des effets isotopiques en ^{13}C inverses, mais d'amplitude différente. En effet, si on prend l'exemple de l'éthanol, l' ϵ_t calculé à partir de l'analyse de la tête de distillation est de +1.5‰ (Tableau 27) alors que cette valeur n'est que de +0.7‰ dans le cas de l'analyse de la queue de distillation (Tableau 11). Cette différence d'amplitude de l'effet isotopique inverse détecté lors de la distillation est due au maintien à l'équilibre du système grâce à la colonne à bande tournante lors de la collecte de la tête de distillation. En effet, ce maintien à l'équilibre a pour conséquence un enrichissement en ^{13}C plus important de la tête de distillation. Plus le système est maintenu fermé longtemps, plus l'effet isotopique mesuré est important. Un effet isotopique inverse de seulement +0.3‰ a d'ailleurs été mesuré en utilisant la même colonne de distillation, mais en laissant le système ouvert lors de la collecte du distillat. Il en est de même pour l'obtention des échantillons de queue de distillation, pour lesquels le système a été maintenu ouvert tout au long de l'expérience pour des raisons évidentes de durée de manipulation

III-2-3-3 La distillation des cétones

Les résultats obtenus lors de la distillation des cétones sont présentés dans la Figure 29 :

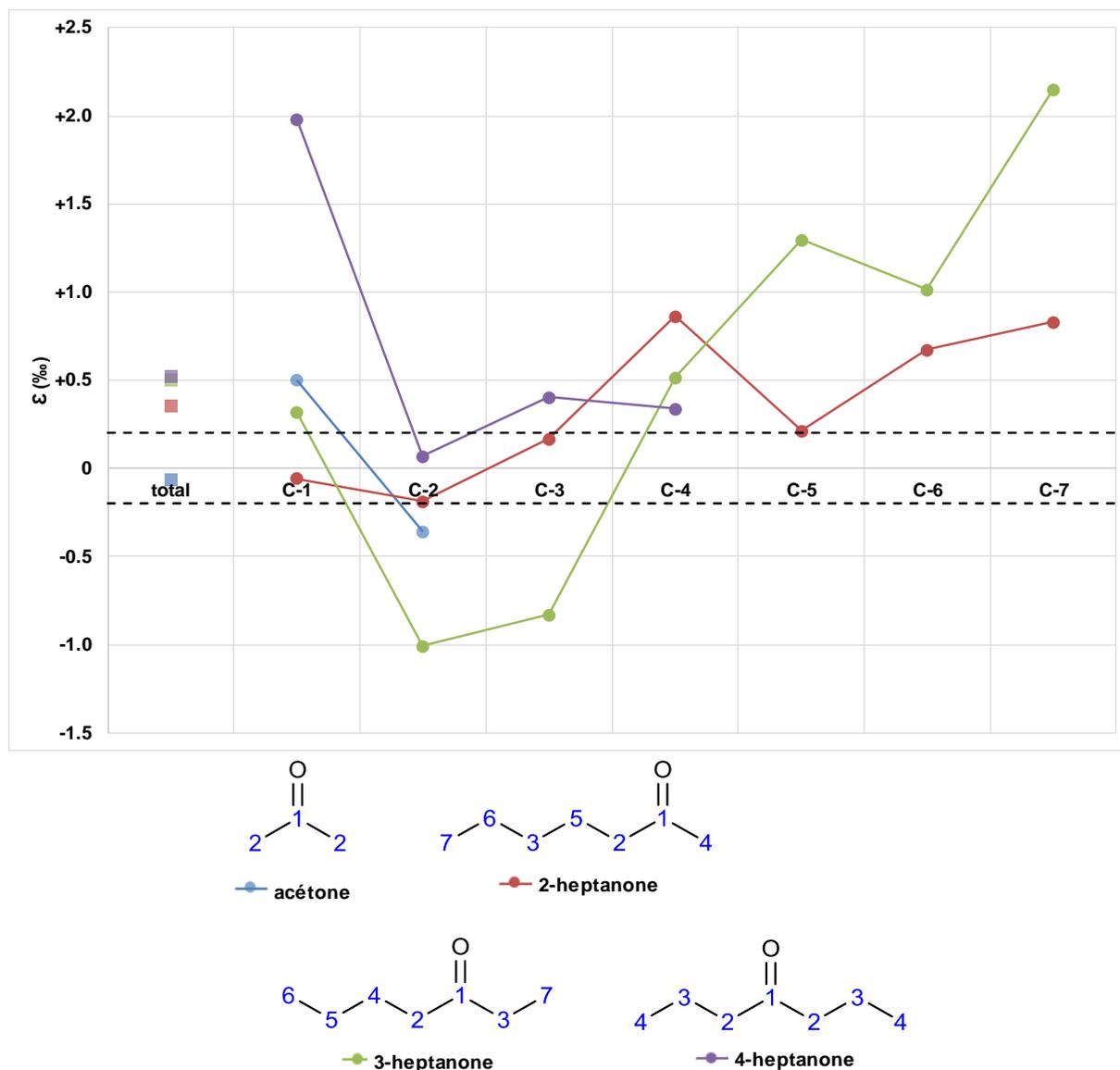


Figure 29 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_i) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de cétones obtenus par distillation.

La distillation des cétones crée un léger effet isotopique inverse total. Ce faible fractionnement est même non-significatif dans le cas de l'acétone, tout comme il l'était, en corollaire, lors de l'analyse de la queue de distillation. L'analyse par irm-MS seule

amène donc à conclure que la distillation des cétones n'induit qu'un fractionnement isotopique total négligeable.

En revanche, les résultats obtenus par irm-¹³C NMR démontrent la présence d'effets isotopiques normaux et inverses qui se compensent distribués sur les différents sites carbonés des molécules. Le meilleur exemple demeure l'acétone qui présente un ϵ_i de +0.5‰ au niveau de son carbonyle et un ϵ_i de -0.4‰ sur ses méthyles. Ces effets, faibles mais significatifs, n'auraient pas pu être détectés avec les méthodes classiques de mesure de composition isotopique totale, ce qui démontre une nouvelle fois l'intérêt de la PSIA pour ce type d'étude.

En ce qui concerne les trois isomères de l'heptanone, les effets isotopiques mesurés sont très différents. Dans le cas de la 4-heptanone, on retrouve un facteur d'enrichissement important (+2.0‰) sur le carbone portant la fonction cétone et des effets inverses très faibles (voir non-significatif pour le C-2) sur les autres sites. Il semble donc que l'encombrement d'un site carboné par ce type de fonction chimique ait une influence sur les fractionnements isotopiques position-spécifiques. Dans le cas des deux autres composés, le site carboné portant la fonction cétone ne présente pas d'effet isotopique notable. En revanche, les carbones localisés en bout de chaîne présentent des effets isotopiques inverses significatifs, comme c'est le cas des carbones 4, 6 et 7 de la 2-heptanone et des carbones 4, 5, 6 et 7 de la 3-heptanone. On remarque également des effets isotopiques normaux sur le C-2 et le C-3 de la 3-heptanone.

Ces résultats restent difficiles à interpréter et plus de données sont nécessaires afin d'émettre une hypothèse sur les propriétés physico-chimiques impliquées dans le phénomène. Malgré tout, le travail effectué montre bien que la présence d'une fonction chimique comprenant un hétéroatome (ici l'oxygène) a un impact sur les fractionnements isotopiques position-spécifiques apparaissant au cours de la distillation et que seule l'utilisation de la PSIA en tant qu'outil complémentaire d'analyse permet de détecter ce type de résultat.

III-2-3-4 La distillation des composés obtenus par synthèse

Les mesures isotopiques réalisées sur les têtes de distillation des composés obtenus par réactions chimiques sont décrits dans la Figure 30 :

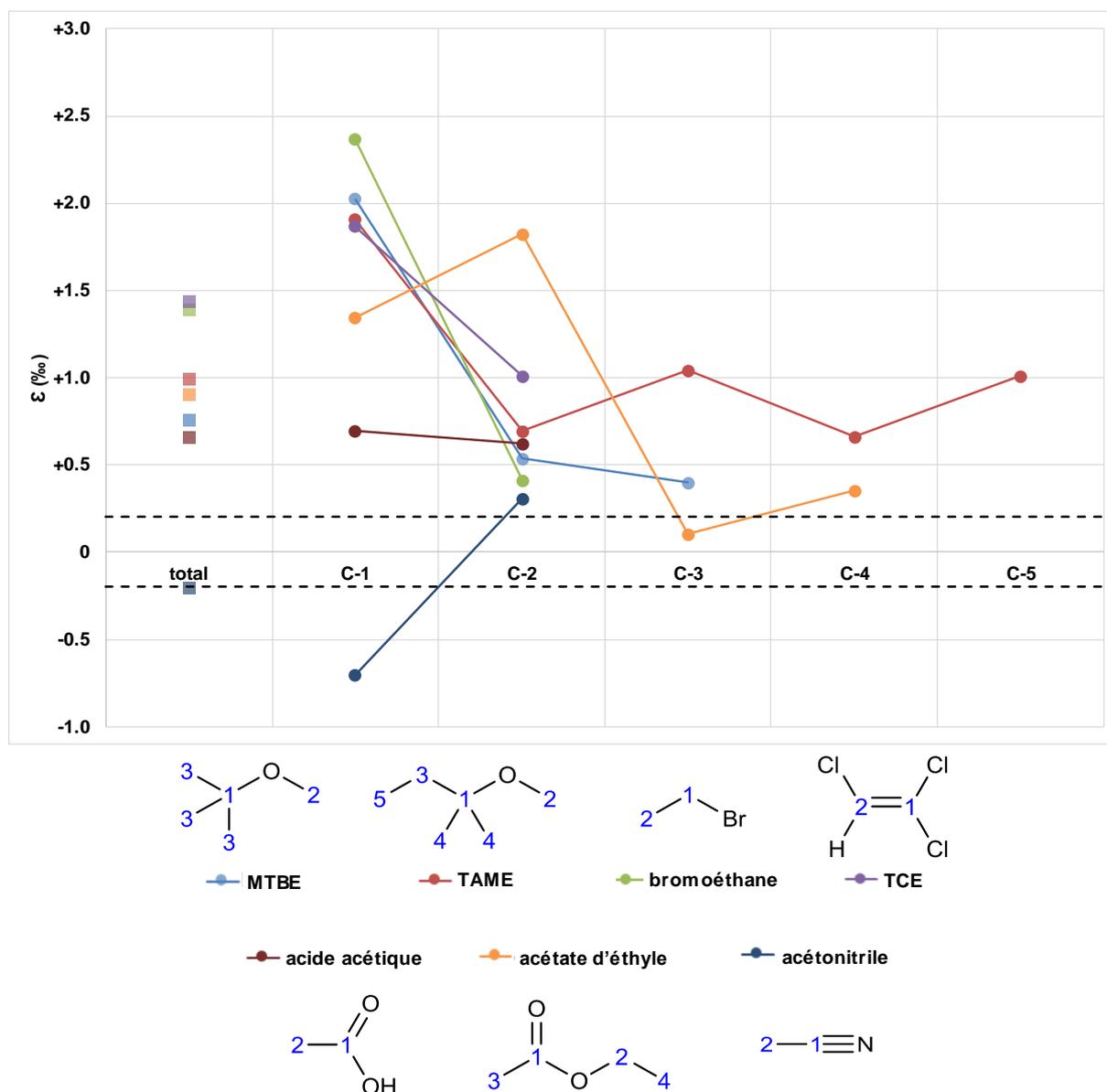


Figure 30 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de composés synthétiques obtenus par distillation.

De la même manière que les composés précédemment étudiés, la distillation induit un effet isotopique inverse total pour chacune de ces molécules, sauf dans le cas de l'acétonitrile qui montre un effet légèrement normal. Ce panel de composés est très

varié du point de vue structural, mais l'analyse isotopique par irm-MS ne permet pas de montrer une réelle différence de comportement entre ces différentes molécules au cours de la distillation.

L'analyse par irm-¹³C NMR montre en revanche que ces fractionnements isotopiques sont position-spécifiques. C'est particulièrement le cas des éthers (MTBE, TAME) pour lesquels l'effet isotopique inverse est majoritairement localisé sur leur C-1, c'est-à-dire leur carbone quaternaire lié à l'oxygène de la fonction éther. Les ϵ_i des groupes méthyles de ces deux composés sont plus faibles avec une valeur de +0.5‰ en C-2 et de +0.4‰ en C-3 pour le MTBE et de +0.7‰ pour les méthyles du TAME (C-2 et C-4). Il en est de même pour le groupement éthyle du TAME dont les deux sites carbonés (C-3 et C-5) présentent un ϵ_i de +1.0‰. La PSIA a ainsi permis de détecter la localisation principale de l'effet isotopique inverse induit par la distillation observé en irm-MS.

Le profil de l'acétate d'éthyle est assez similaire à celui des éthers, avec un fractionnement isotopique position-spécifique beaucoup plus important sur ses sites C-1 et C-2 correspondant aux carbones liés aux oxygènes de la fonction ester. Ce résultat montre bien que la présence de certaines fonctions chimiques formant potentiellement d'autres types d'interactions non-covalentes induit des effets isotopiques position-spécifiques au cours du changement d'état liquide-vapeur.

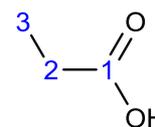
Les deux composés halogénés étudiés (TCE et bromoéthane) montrent également des facteurs d'enrichissement différents sur leurs deux sites carbonés. Dans le cas du bromoéthane, le ϵ_i mesuré est beaucoup plus important sur le C-1, c'est-à-dire le carbone portant l'atome de brome. Ce comportement est très similaire à celui qui avait été observé pour l'éthanol. Le TCE montre un effet isotopique inverse de plus grande amplitude sur son carbone portant deux atomes de chlore (C-1) que sur celui n'en portant qu'un (C-2). Dans le cas de ces deux molécules, c'est le carbone le plus encombré qui subit le plus important effet isotopique inverse. On remarque toutefois que la différence entre les sites carbonés de ces molécules est moins importante chez le TCE. En effet, le bromoéthane présente un ϵ_i de +2.4‰ en C-1 et de +0.4‰ en C-2 alors que les ϵ_i du TCE sont de +1.9 et +1.0‰ pour les positions C-1 et C-2 respectivement. Ce résultat démontre un lien entre l'encombrement d'un carbone et l'effet isotopique position-spécifique qu'il subit au cours de la distillation. Cette

distribution de l'effet isotopique peut également être liée à la polarisabilité des composés ou aux interactions intermoléculaires mises en jeu.

Le fractionnement isotopique observé chez l'acide acétique, quant à lui, n'est pas position-spécifique, car il présente un ϵ_i de +0.7‰ en C-1 (COOH) et de +0.6‰ en C-2 (CH₃). La présence de la fonction acide carboxylique ne semble donc pas induire de fractionnement isotopique position-spécifique en ¹³C. Zhang et collaborateurs avaient étudié le comportement de l'acide propanoïque en deutérium et en ¹⁸O au cours de la distillation [20]. Ce composé possède un carbone de plus que l'acide acétique, mais il est raisonnable de penser que la distillation conduit au même type de fractionnements isotopiques chez ces deux molécules.

Tableau 28 : Facteurs d'enrichissement en deutérium et en ¹⁸O détectés lors de la distillation de l'acide propanoïque [20].

	ϵ_D			ϵ_O
	COOH	CH ₂	CH ₃	COOH
Acide propanoïque	+208	+13	+5	-1.7



La distillation induit un très fort effet isotopique inverse en deutérium au niveau de la fonction acide carboxylique (Tableau 28). Les autres effets en deutérium de la chaîne carbonée sont faibles (pour des effets en deutérium) et diminuent en s'éloignant de la fonction chimique. Un effet isotopique normal est constaté en ¹⁸O, ce qui est une nouvelle fois en accord avec les résultats obtenus sur l'éthanol.

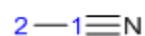
L'acide acétique semble donc être un cas particulier du fait de l'absence d'effet isotopique position-spécifique en ¹³C et de la présence potentielle d'un fort effet en deutérium sur la fonction acide carboxylique. Ces effets pourraient être dus à différents phénomènes tels que les échanges de protons ou plus encore la dimérisation de l'acide acétique [25-26]. Cette hypothèse sera traitée ultérieurement dans cette étude (voir III-3).

Le dernier composé étudié ici est l'acétonitrile. Un effet isotopique normal à la limite de l'incertitude de mesure est observé. Les résultats obtenus par irm-¹³C NMR indiquent la présence d'un effet normal sur le C-1 (lié à l'atome d'azote) et un léger effet inverse sur le C-2. Ce résultat est inattendu en comparaison de tous les autres produits testés.

L'acétonitrile avait également été étudié par Zhang et collaborateurs en deutérium et ^{15}N [20] :

Tableau 29 : Facteurs d'enrichissement en deutérium et en ^{15}N détectés lors de la distillation de l'acétonitrile.

	ϵ_{D} CH₃	ϵ_{N} CN
Acétonitrile	+70	-5.9



On observe ainsi un effet isotopique inverse en deutérium sur le groupe méthyle et un effet normal en ^{15}N , ce qui correspond aux résultats obtenus sur les autres molécules étudiées contrairement au comportement en ^{13}C qui lui demeure différent en comparaison de l'ensemble des autres molécules testées au cours de cette étude (Tableau 29).

III-2-3-5 La distillation des composés issus d'hydrocarbures fossiles

Les fractionnements isotopiques totaux et position-spécifiques mesurés lors de la distillation du toluène et du *n*-heptane sont regroupés dans la Figure 31 :

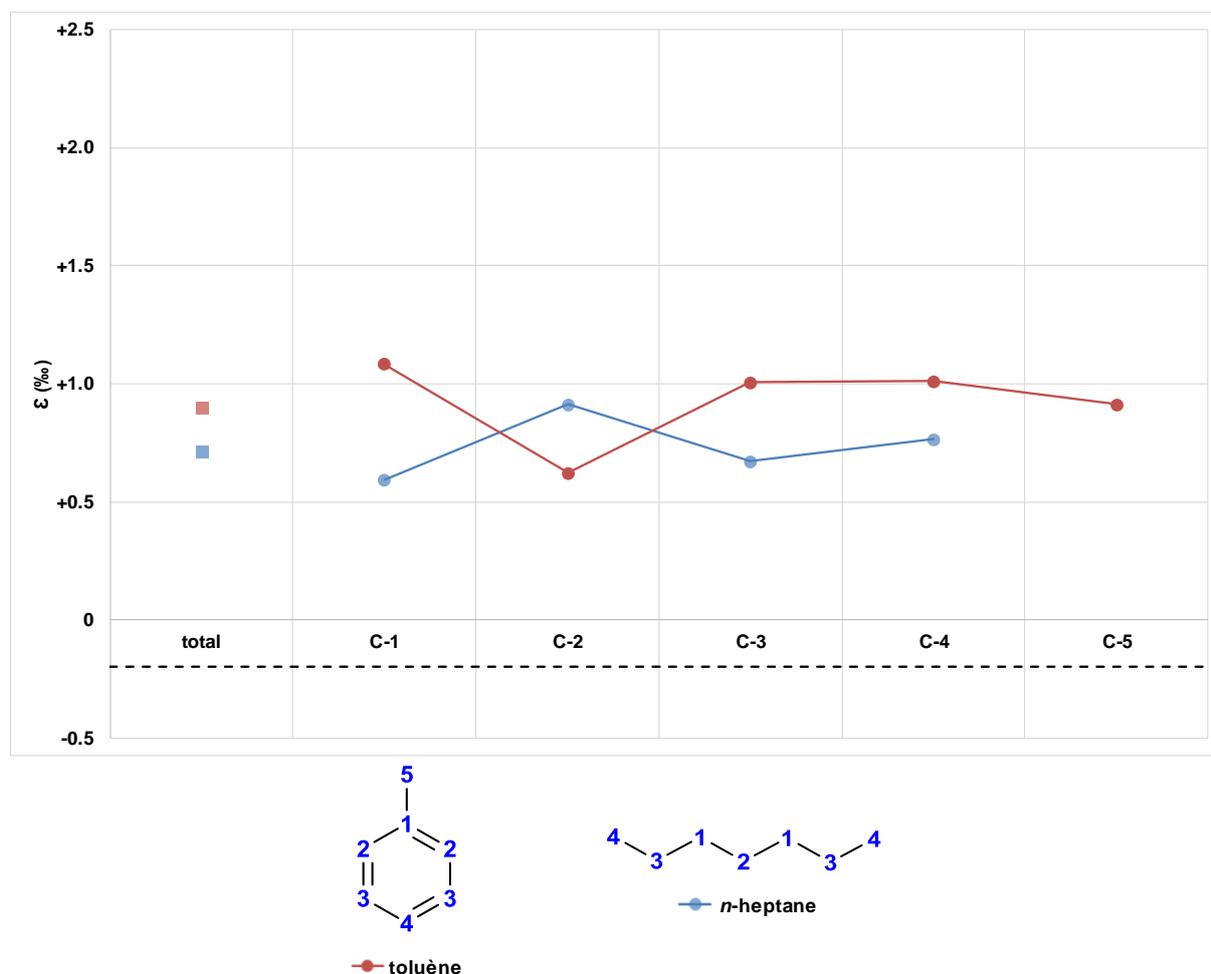


Figure 31 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_i) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de composés fossiles obtenus par distillation.

Conformément aux résultats obtenus sur l'ensemble des molécules de cette étude, l'analyse des têtes de distillation de ces deux composés par irm-MS montre un effet isotopique total inverse (Figure 31).

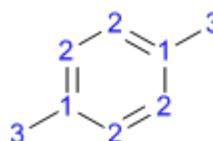
Malgré une légère variation de fractionnement isotopique au niveau du C-2 de ces deux composés, on peut observer que la distillation du toluène et du *n*-heptane n'induit pas d'effet isotopique position-spécifique : l'amplitude de l'effet global se retrouve sur

tous les carbones. En effet, les ϵ_i détectés par irm- ^{13}C NMR chez le toluène vont de +0.6 à +1.1‰ et de +0.6 à +0.9‰ dans le cas du *n*-heptane. On peut ainsi émettre l'hypothèse qu'en absence de fonction chimique du type alcool ou cétone, la distillation n'induit pas de fractionnement isotopique position-spécifique notable. Les interactions intermoléculaires du type Van der Waals rencontrées chez les composés apolaires comme le *n*-heptane ne semble pas induire de fractionnement isotopique intramoléculaire durant les changements d'état liquide-vapeur.

L'article de Zhang *et al.* [20] décrit les fractionnements isotopiques en deutérium apparaissant au cours de la distillation du *p*-xylène, qui est un analogue méthylé du toluène (Tableau 30):

Tableau 30 : Facteurs d'enrichissement en deutérium détectés lors de la distillation du *p*-xylène.

	ϵ_D	
	CH	CH ₃
<i>p</i>-Xylène	-21	+35



L'analyse par irm- ^2H NMR de la tête de distillation du *p*-xylène a permis d'observer un effet isotopique normal sur les CH (C-2) et un effet isotopique inverse sur les méthyles (C-3). Cette différence d'effet isotopique sur ces positions peut être due à la présence d'interactions intermoléculaires faisant intervenir les électrons π (interactions π). Ce type d'interaction pourrait expliquer que le fractionnement total « doit » être plus important pour le toluène que pour le *n*-heptane.

III-2-4 Bilan

Cette étude de distillation d'un large panel de composés de structures variables a permis de démontrer l'impact des interactions intermoléculaires au sein du liquide telles que les liaisons hydrogène, les interactions de Van der Waals ou encore les interactions π sur les fractionnements isotopiques position-spécifiques en ^{13}C induits par le changement d'état liquide-vapeur. Ces nouvelles données ajoutées à celles obtenues en ^2H , ^{18}O et / ou ^{15}N offrent de nouveaux éléments de réflexion permettant de mieux prédire les fractionnements isotopiques engendrés par l'évaporation des contaminants dans l'environnement.

Les interactions intermoléculaires, correspondant à des liaisons non-covalentes, dépendent des fonctions chimiques ou d'autres types de groupements (cycle aromatique, méthyles, encombrement stérique) présents au sein des molécules étudiées. La force des interactions engendrées ont un impact direct sur l'amplitude des fractionnements isotopiques position-spécifiques (en ^{13}C et ^2H) induits par la distillation. En effet, les liaisons hydrogène formées entre les molécules comportant une fonction alcool semblent créer des fractionnements isotopiques position-spécifiques marqués, d'après les résultats obtenus. A l'inverse, un composé apolaire comme le *n*-heptane ne forme que des interactions de Van der Waals plus faibles que les liaisons hydrogène, ce qui provoque une distribution de l'effet isotopique total de manière plus équitable entre les sites carbonés de la molécule. De plus, lorsqu'une fonction chimique liée de manière covalente à un des carbones du composé organique étudié rentre en interaction avec une autre fonction chimique, l'effet isotopique sera plus important sur ce site d'après les résultats de cette étude. Les interactions qui n'impliquent pas un site précis de la molécule, comme dans le cas des interactions de Van der Waals, n'induiront pas de fractionnement isotopique position-spécifique.

Cette étude utilisant la PSIA par $\text{irm-}^{13}\text{C}$ NMR ouvre de nouvelles perspectives sur la compréhension des effets isotopiques impliquant des interactions non-covalentes. Afin de poursuivre ce travail, de nouveaux composés comportant d'autres groupements fonctionnels doivent être analysés (amine, thiol, nitro...) après distillation. De plus il serait intéressant de comparer les forces des interactions en présence ou non d'un isotope lourd, en utilisant des produits marqués en ^{13}C ou ^2H , afin de mieux comprendre s'il y a une « sélectivité isotopique » engendrée par ces interactions. Les

forces de liaisons hydrogène sont d'ailleurs mesurables grâce à la spectrométrie infrarouge ou la RMN du ^{19}F , comme présenté dans la section suivante [27-29]. Ce type de résultats pourrait également apporter des éléments de réponse à l'interprétation des effets isotopiques observés lors de la migration sur colonne.

III-2-5 Modèle mécanistique proposé

Une collaboration interne au laboratoire CEISAM a été initiée avec l'équipe ModES (Modélisation Et Spectroscopie) dont l'expertise dans la mesure des forces de liaisons hydrogène par spectrométrie infrarouge (IR) et en RMN du fluor-19 devrait apporter de nouvelles données pour mieux étudier le lien entre les interactions non-covalentes et les fractionnements isotopiques position-spécifiques observés au cours des changements d'état liquide-vapeur tels que la distillation [27-29].

III-2-5-1 Mesure du pouvoir donneur de liaisons hydrogène

La mesure (relative) du pouvoir donneur de liaisons hydrogène d'un composé peut être déterminé selon le principe du solvatochromisme [30-31]. Ce phénomène est la propriété d'un composé ayant le pouvoir de changer de longueur d'onde d'absorbance en solution en fonction de la polarité du solvant. Afin de déterminer la force des liaisons hydrogène formées par le donneur testé, un composé de référence est utilisé : la bêtaïne 30 (2.6-diphényl-4.2.4.6-triphénylpyridinium-1-yl)phénolate).

Ce colorant est un excellent accepteur de liaisons hydrogène, ce qui a pour conséquence la stabilisation de ce composé. Ainsi, le niveau d'énergie de son état fondamental est plus bas et celui de son état excité est plus haut en présence d'un solvant donneur de liaisons hydrogène. Dans ces conditions, l'énergie nécessaire à l'excitation de la molécule est donc plus importante. L'énergie d'un rayonnement étant inversement proportionnelle à sa longueur d'onde (λ), la présence de liaisons hydrogène formées entre le solvant et la bêtaïne 30 provoquera ainsi une modification du spectre d'absorbance de ce composé. Ce mécanisme est décrit dans la Figure 32.

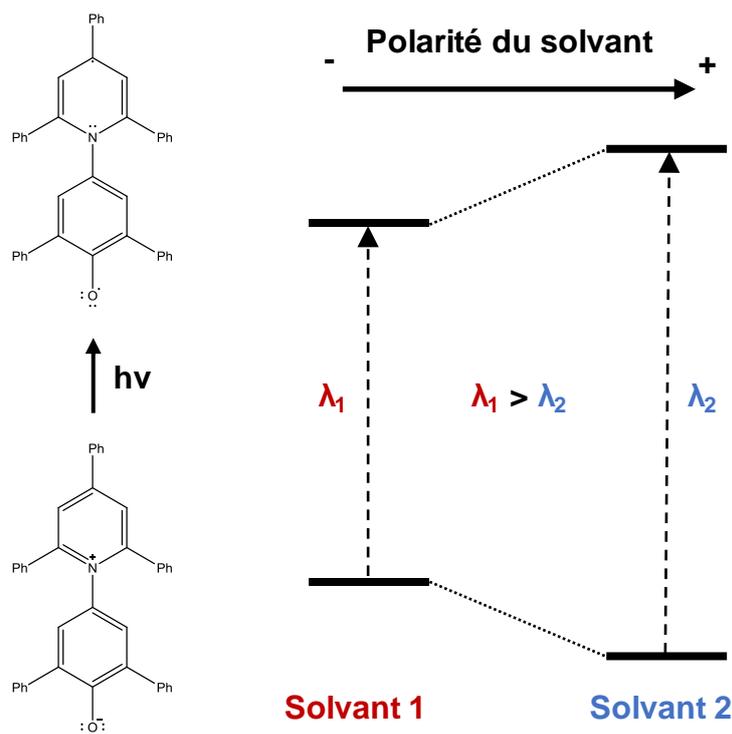


Figure 32 : Diagramme d'énergie de l'excitation de la bétaine 30 dans des solvants de polarité variable.

La méthode employée consiste à solubiliser la bétaine 30 dans le solvant dont on veut mesurer le pouvoir donneur de liaisons hydrogène et de mesurer son absorbance dans l'infrarouge proche (0.78-3.00 μm). Le nombre d'onde maximal (noté ν_{max} et exprimé en cm^{-1}) obtenu est dépendant de la polarité et donc du caractère donneur de liaisons hydrogène du solvant. On peut alors calculer le paramètre $E_T(30)$ selon l'équation 28 :

$$E_T(30) = h \cdot c \cdot N_A \cdot \nu_{\text{max}} = \frac{28591}{\lambda_{\text{max}}}$$

Équation 28 : Calcul du paramètre $E_T(30)$ à partir du nombre d'onde maximal (ν_{max}) mesuré par spectroscopie infrarouge, d'après Ceron-Carrasco et collaborateurs [27].

h : constante de Planck.

c : célérité de la lumière dans le vide.

N_A : nombre d'Avogadro.

λ_{max} : longueur d'onde maximale absorbée ($\nu_{\text{max}} = 1/\lambda_{\text{max}}$).

La valeur d' $E_T(30)$ ainsi obtenue est un indicateur du pouvoir de donneur de liaisons hydrogène du solvant testé. En effet, plus cette valeur sera élevée, plus le solvant étudié sera un bon donneur de liaisons hydrogène.

III-2-5-2 Mesure du pouvoir accepteur de liaisons hydrogène

La mesure du pouvoir accepteur de liaisons hydrogène a été déterminé grâce à une méthode de comparaison du « solvatomagnétisme » de différents composés, c'est-à-dire la variation de déplacements chimiques d'un composés en RMN (δ en ppm) en fonction de son environnement (les molécules présentes dans le tube lors de la mesure) [29]. Pour cela, la technique utilisée est la RMN du fluor-19.

Le principe de cette détermination du pouvoir accepteur de liaisons hydrogène repose sur la variation des déplacements chimiques en fluor-19 du *p*-fluorophénol et de la *p*-fluoroanisole (Figure 33), en fonction du solvant présent dans le tube RMN.

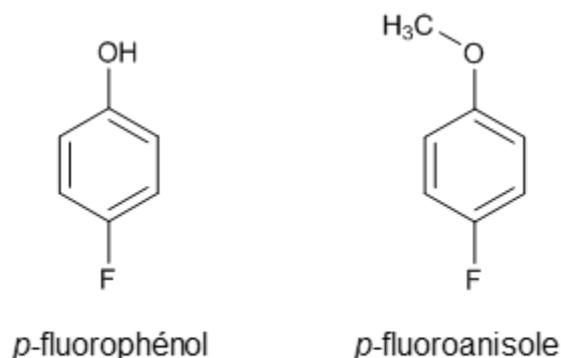


Figure 33 : Structures du *p*-fluorophénol et de la *p*-fluoroanisole.

La préparation d'échantillon consiste en l'introduction dans un tube RMN du solvant testé, du solvant de lock (ici CDCl₃) et des deux composés fluorés décrits ci-dessus (pour plus de détails voir Laurence *et al.* [29]). Les déplacements chimiques de ces deux composés sont mesurés de manière relative, vis-à-vis de celui du CFC₃, pour lequel δ est fixé à 0 ppm. Les décalages de déplacement chimiques du *p*-fluorophénol ($-\delta(^{19}\text{F})(\text{OH})$) et de la *p*-fluoroanisole ($-\delta(^{19}\text{F})(\text{OMe})$) permettent ainsi de calculer le paramètre β_1 selon l'équation 29, déduite d'après Laurence *et al.* [29].

$$\beta_1 = \frac{(-\delta(^{19}\text{F})(\text{OH})) - 1.009 \cdot (-\delta(^{19}\text{F})(\text{OMe})) + 1.257}{3.041}$$

Équation 29 : Calcul du paramètre β_1 qui permet de déterminer le pouvoir accepteur de liaison hydrogène d'un composé.

Plus le paramètre β_1 a une valeur élevée, plus le composé étudié a tendance à se comporter comme un accepteur de liaisons hydrogène.

III-2-5-3 Comparaison des paramètres $E_T(30)$ et β_1 avec les fractionnements isotopiques apparaissant au cours de la distillation

La Figure 34 présente la comparaison entre les effets isotopiques observés au cours de la distillation et le pouvoir donneur de liaison hydrogène ($E_T(30)$) des composés étudiés :

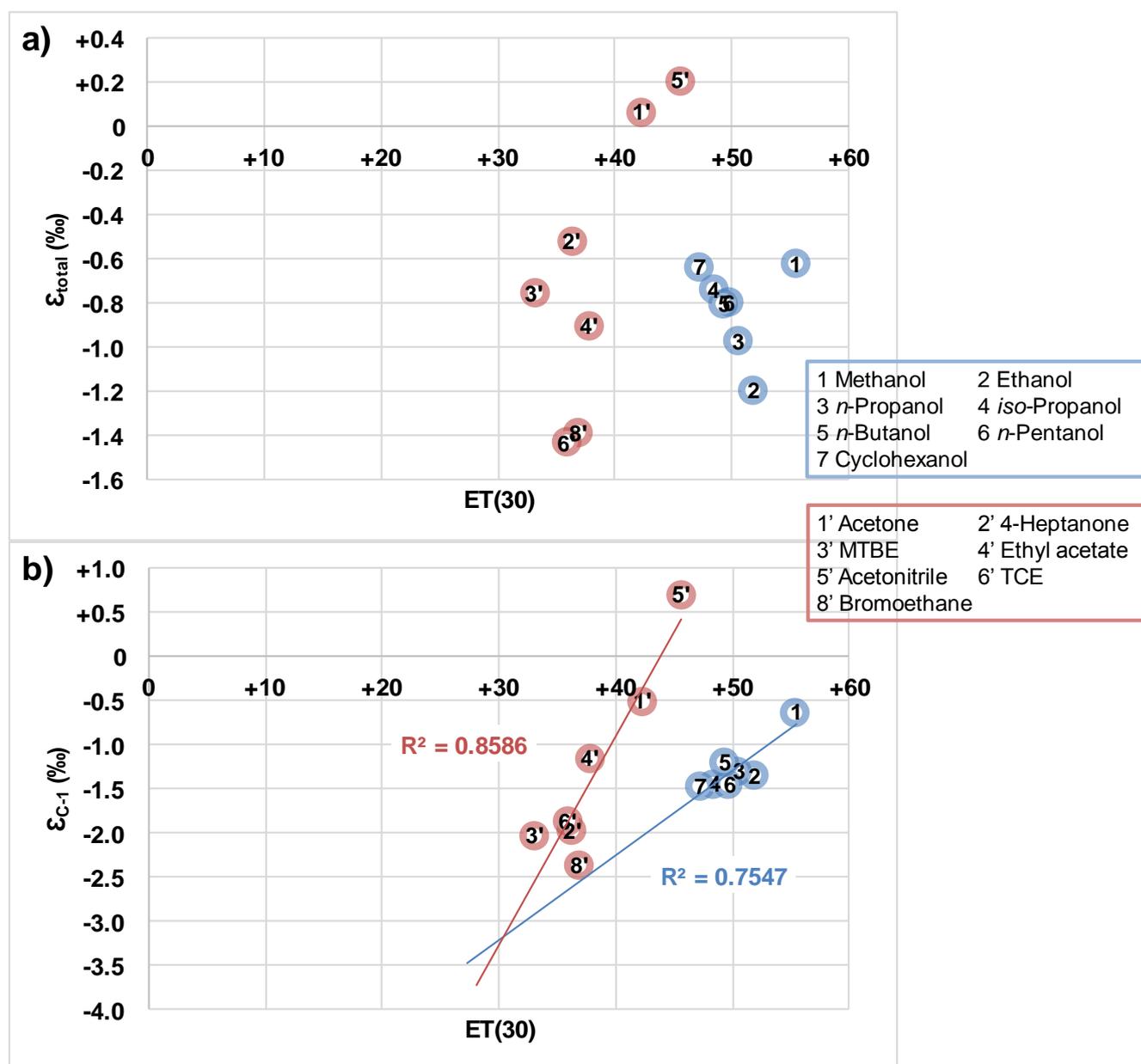


Figure 34 : Comparaison des facteurs d'enrichissement en ^{13}C totaux (ϵ) et sur le C-1 (b) et le pouvoir donneur de liaisons hydrogène des composés étudiés ($E_T(30)$).

Ces résultats montrent une légère tendance corrélative entre l' $E_T(30)$ et les facteurs de fractionnements totaux en ^{13}C pour les alcools (en bleu : méthanol, éthanol, isopropanol, *n*-propanol, *n*-butanol, *n*-pentanol et le cyclohexanol, Figure 34a). Par contre cette tendance est d'autant plus importante entre les $E_T(30)$ de ces composés et les facteurs de fractionnements position-spécifiques en C-1 de ces molécules, c'est-à-dire le carbone qui porte la fonction alcool. Ce constat confirme l'hypothèse d'interactions fortes dans le liquide et que la présence de liaisons hydrogène entre les molécules portant une fonction alcool a un impact net sur les fractionnements isotopiques position-spécifiques détectés lors du changement d'état liquide-vapeur.

On retrouve également une corrélation intéressante (qui n'est pas la même que celles observée pour les alcools) entre les $E_T(30)$ et les fractionnements isotopiques en ^{13}C totaux et sur les C-1 des autres molécules étudiées (en orange : 4-heptanone, acide acétique, MTBE, acétone, bromoéthane, TCE, acétonitrile et acétate d'éthyle). Le toluène et le *n*-heptane ne sont pas inclus car la notion de C-1 est vague pour ces structures, n'ayant pas d'hétéroatome pour le désigner. Ces composés qui semblent avoir un pouvoir de donneur de liaison hydrogène inférieur à celui des alcools semblent malgré tout présenter des fractionnements isotopiques totaux et position-spécifiques influencés par la présence de ce type de liaisons non-covalentes au cours de la distillation. Il s'avère que le paramètre $E_T(30)$ peut être considéré comme une mesure de l'acidité du produit et que par conséquent, sans proton échangeable, ce paramètre exprime les interactions possibles entre une base et un acide.

La Figure 35 présente la comparaison entre les effets isotopiques observés au cours de la distillation et le pouvoir accepteur de liaison hydrogène (β_1) des composés étudiés :

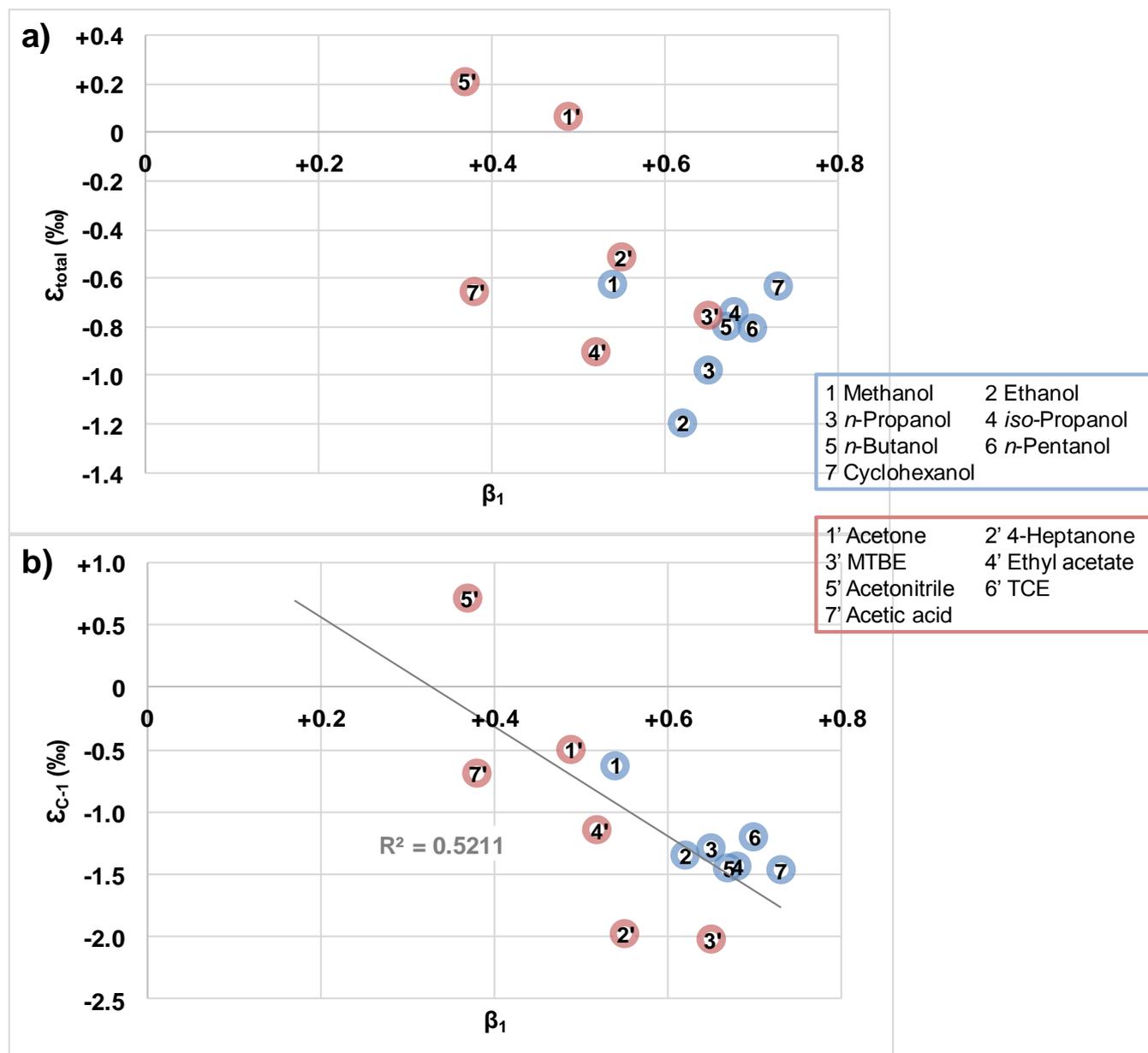


Figure 35 : Comparaison des facteurs d'enrichissement en ^{13}C totaux (ϵ) et sur le C-1 (b) et le pouvoir accepteur de liaisons hydrogène des composés étudiés (β_1).

Cette fois-ci il n'y a pas de tendance marquée entre β_1 et le fractionnement total (Figure 35a). Par contre et de manière analogue à la corrélation obtenue avec les $\epsilon_{\text{T}(30)}$, ce comparatif des fractionnements isotopiques totaux et position-spécifiques sur les C-1 de l'ensemble des molécules étudiées avec leur pouvoir accepteur de

liaisons hydrogène montre une nouvelle fois un lien entre la présence de ce type d'interactions non-covalentes et les effets isotopiques apparaissant au cours de la distillation. Cette fois-ci, la corrélation est globale, indépendamment de la nature chimique de la molécule, à l'exception du bromoéthane (non présenté) qui sort nettement de cette tendance. Ceci peut se justifier en considérant β_1 comme une mesure de la basicité du produit et donc la présence d'un hétéroatome suffit pour avoir potentiellement un caractère basique.

III-2-5-4 Bilan du lien entre la présence de liaisons hydrogène et les fractionnements isotopiques observés au cours de la distillation

Cette comparaison entre la capacité d'un composé à former des liaisons hydrogène et les fractionnements isotopiques associés à sa distillation indiquent clairement que ces liaisons non-covalentes ont un impact sur les effets isotopiques apparaissant au cours des changements d'état liquide-vapeur.

Cette observation est renforcée par les résultats obtenus en irm- ^{13}C NMR, en particulier dans le cas des alcools dont le C-1 portant la fonction alcool présente l'effet isotopique le plus important. Cette étude a ainsi permis d'identifier que les liaisons hydrogène influent sur les fractionnements isotopiques.

Il serait intéressant de tester l'influence d'autres types de liaisons non-covalentes telles que les interactions de Van der Waals ou les interactions π , afin de pouvoir mieux anticiper les fractionnements isotopiques associés à l'évaporation de certains contaminants de l'environnement.

De plus, d'autres paramètres physico-chimiques tels que la polarité, la polarisabilité ou le volume moléculaire des Composés Organiques Volatiles pourraient être étudiés, afin d'apprécier s'ils ont une influence sur le comportement de ce type de polluant au cours de leur remédiation.

III-3 Un cas particulier : l'acide acétique

Au cours des études des fractionnements isotopiques position-spécifiques induits par le changement d'état liquide-vapeur, un composé a révélé un comportement bien différent de celui des autres molécules étudiées : l'acide acétique. En effet, les fractionnements isotopiques position-spécifiques mesurés lors de l'évaporation passive de cette molécule ne peuvent être expliqués grâce au modèle de Craig-Gordon, contrairement aux autres composés étudiés pour lesquels ce modèle est adapté à la prédiction des effets isotopiques apparaissant lors du changement d'état liquide-vapeur.

Ce Composé Organique Volatile est une molécule présente dans la plupart des formes de vie et est indispensable au bon fonctionnement de certaines voies métaboliques. De plus, l'acide acétique est un polluant émergent [32], car il est utilisé en grandes quantités, entre autre, pour la génération de méthane grâce à la bactérie *Methanosarcina acetivorans* [33]. C'est la raison pour laquelle ce composé avait initialement été sélectionné pour l'étude des fractionnements isotopiques apparaissant au cours des changements d'état liquide-vapeur. L'ion acétate est également un polluant potentiel, car il est utilisé dans certains produits d'entretien, ce qui renforce l'intérêt d'examiner plus en détail le devenir de l'acide acétique dans le cadre d'une étude environnementale.

Les facteurs d'enrichissement mesurés lors de l'évaporation passive à température ambiante (20-22 °C) divergent de ceux obtenus sur des composés à deux carbones tels que l'éthanol ou encore le bromoéthane. L'hypothèse émise dans cette section est que l'acide acétique présente un effet isotopique additionnel qui a un impact sur les effets isotopiques détectés. Cet effet supplémentaire, qui n'est présent que dans le cas de ce composé, pourrait être provoqué par la dimérisation de l'acide acétique. Il a déjà été démontré que cette molécule forme des dimères au niveau de sa fonction acide carboxylique (Figure 36), en absence d'eau, à température ambiante [25-26]. Ces dimères persistent également en phase gazeuse [34-35].

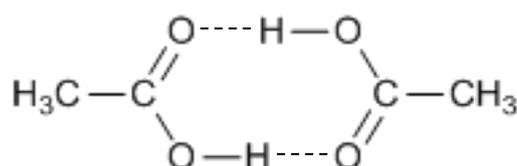


Figure 36 : Représentation d'un dimère d'acide acétique, stabilisé par liaisons hydrogène.

Il a également été démontré que le pourcentage de dimères d'acide acétique varie en fonction de la température [36]. Afin de démontrer que la dimérisation de l'acide acétique induit un effet isotopique supplémentaire qui modifie les facteurs d'enrichissement mesurés au cours de l'évaporation passive, une série d'expérience a été réalisée et les résultats obtenus sont décrits dans les paragraphes suivants.

III-3-1 Protocole des évaporations réalisées sur l'acide acétique

Afin de vérifier l'influence de la présence d'une dimérisation de l'acide acétique sur les fractionnements isotopiques totaux et position-spécifiques provoqués par la volatilisation, l'expérience d'évaporation passive décrite en II-3-1-1 a été réalisée à plusieurs températures. Pour cela, 20 mL d'acide acétique anhydre sont introduits dans un ballon de 50 mL plongé dans un bain d'huile thermostaté à la température désirée. Comme décrit par Taylor en 1951 [36], le changement de température entraîne une variation du pourcentage de dimères présents en solution. Les températures utilisées et les pourcentages de dimères correspondant sont décrits dans le Tableau 31 :

Tableau 31 : Températures d'évaporation passive utilisées et pourcentage de dimères d'acide acétique associés selon Taylor [36].

Température (°C)	Pourcentage de dimères
20	100%
40	89%
60	74%
80	58%
200	0%

L'analyse de la queue de distillation a également été réalisée sur l'acide acétique pur, telle que décrite dans la section II-3-1-4.

Les échantillons obtenus ont été analysés par irm-MS et irm-¹³C NMR de la même manière que dans les autres études, avec toutefois une petite différence dans la préparation d'échantillon RMN de cette molécule. En effet, ce phénomène d'association moléculaire existe dans la préparation RMN et pose un problème d'élargissement des pics. Cette différence n'est pas directement visible sur le spectre, mais elle provoque une erreur lors de l'intégration et donc un biais de la mesure du $\delta^{13}\text{C}_i$ du carbone portant la fonction acide carboxylique. Pour contourner ce problème, on utilise (i) le DMSO-d₆, qui ne contient pas d'eau deutérée évitant ainsi la formation d'acide acétique deutéré et (ii) 100 μL d'eau distillée sont ajoutés à la préparation d'échantillon, afin de créer des échanges rapides et de rompre la forme dimère, ce qui permettra la détection d'une seule espèce chimique lors de l'acquisition en irm-¹³C NMR et donc l'obtention de résultats corrects [37]. En effet, l'acide acétique possède un proton échangeable au niveau de sa fonction acide carboxylique. Ces échanges peuvent être réalisés avec l'eau résiduelle présente dans le solvant deutéré. Si celui-ci présente des traces d'eau (mono)deutérée, l'acide acétique peut alors capter un deutérium, ce qui crée une nouvelle espèce chimique présentant un déplacement chimique de son C-1 (COOH) légèrement différent de celui du composé possédant un hydrogène, sur le spectre ¹³C. Il y a un échange lent entre les deux espèces [38-39].

III-3-2 Résultats de l'étude d'évaporation de l'acide acétique

Les résultats d'analyses isotopiques totales et position-spécifiques des échantillons d'acide acétique obtenus après évaporation sont décrits dans la Figure 37 :

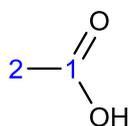
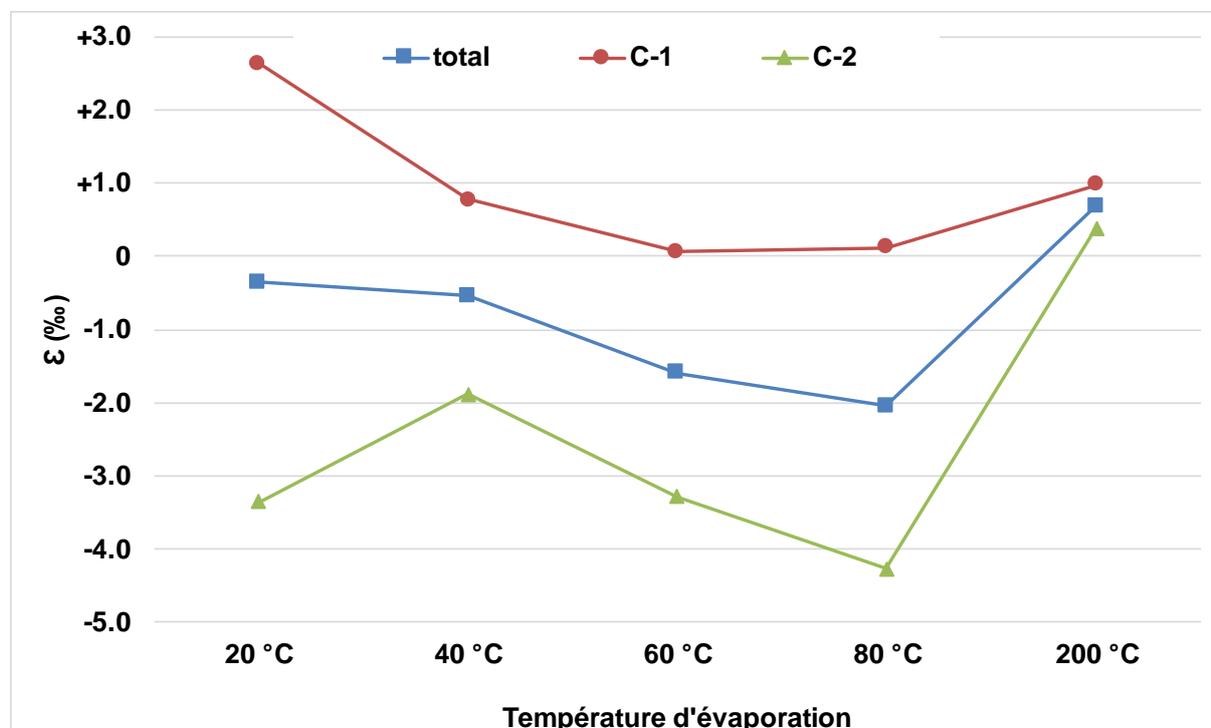


Figure 37 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons d'acide acétique obtenus après évaporation passive à différentes températures.

Le premier constat que l'on peut faire sur ces résultats est que la température a une nette influence sur les fractionnements isotopiques induits par l'évaporation passive.

L'évaporation à 20 °C, c'est-à-dire en présence de 100% de dimères d'acide acétique, montre un fort effet isotopique inverse sur le C-1 et un important effet normal sur le C-2, ce qui induit un très faible effet isotopique normal total. C'est ce résultat qui était incohérent en comparaison de ceux obtenus sur l'éthanol qui présente des effets isotopiques normaux d'amplitudes différentes sur ses deux sites carbonés.

L'augmentation de la température de 20 à 80 °C (et donc la diminution du pourcentage de dimères) semble augmenter l'amplitude de l'effet isotopique normal total, passant

ainsi de -0.4 à -2.1‰, ce qui se rapproche plus des résultats obtenus sur les autres composés. On peut donc imaginer que la dimérisation provoquerait un fractionnement isotopique inverse qui va ainsi à l'encontre de l'effet isotopique normal associé à l'évaporation passive d'après le modèle de Craig-Gordon.

C'est également ce qu'indiquent les résultats obtenus sur le C-1. L'effet isotopique position-spécifique inverse détecté sur ce site carboné diminue avec l'augmentation de la température. Ce résultat semble démontrer que la dimérisation de l'acide acétique entraîne un effet isotopique normal sur le carbone portant la fonction acide carboxylique.

Les valeurs de facteur d'enrichissement détectées sur le C-2 (groupe méthyle du composé) montrent dans chacun des cas la présence d'un effet isotopique normal localisé sur cette position carbonée. L'évaporation passive réalisée à 40 °C conduit à un effet isotopique de -1.9‰ sur le C-2, ce qui est assez différent des autres valeurs mesurées. En effet, dans le cas des évaporations réalisées à 20, 60 et 80 °C, l' ϵ mesuré varie entre -3.4 et -4.3‰, ce qui indique une influence moins importante de la température sur les fractionnements isotopiques au cours de l'évaporation passive pour cet isotopomère. On peut ainsi imaginer que l'effet isotopique normal créé par la dimérisation est moins important sur ce site carboné.

L'expérience d'évaporation passive réalisée à 200 °C, c'est-à-dire au-dessus du point d'ébullition de l'acide acétique (118 °C), génère un effet isotopique inverse majoritairement localisé sur le C-1. Ce résultat n'est pas étonnant, car la diffusion dans la phase gazeuse est très limitée à ébullition. D'après le modèle de Craig-Gordon, cette expérience ne permet d'observer que l'effet isotopique associé au changement d'état liquide-vapeur ($\Delta_{\text{liq-vap}}$) en absence de diffusion. Ce résultat se rapproche d'ailleurs de celui obtenu par analyse de la queue de distillation de l'acide acétique qui a permis d'observer un effet isotopique inverse de +1.4‰. L'analyse position-spécifique par irm-¹³C NMR a démontré un fort effet en C-1 de +3.2‰ et un léger effet inverse en C-2 de -0.4‰.

III-3-3 Modèle mécanistique proposé

Ces premiers résultats indiqueraient que l'équilibre monomère-dimère de l'acide acétique induit un effet isotopique inverse principalement localisé sur le carbone portant la fonction acide carboxylique de ce composé. Mais d'autres paramètres doivent être pris en compte dans l'analyse de ces résultats. En effet, l'acide acétique est très hygroscopique, l'eau atmosphérique va donc entrer en contact avec la molécule étudiée et ainsi supprimer une partie des monomères présents en solution, ce qui va limiter l'effet de dimérisation en modifiant l'équilibre monomère-dimère. De plus, il faut également prendre en compte le fait que l'évaporation passive concerne également les dimères formés. Cette espèce chimique de masse $M = 120 \text{ g.mol}^{-1}$, doit aussi passer en phase gaz. Il y aurait donc la présence de deux types de molécules qui s'évaporeraient conjointement et donc deux effets isotopiques ($\Delta_{\text{liq-vap}}$) seraient à prendre en compte. Il en est de même pour la diffusion dans les phases gazeuses ($\epsilon_{\text{diff air}}$) et liquide ($\epsilon_{\text{diff liq}}$) au cours de laquelle le fractionnement isotopique associé peut être différent pour les monomères ou les dimères. Enfin, les dimères passés en phase gaz pourraient repasser sous forme de monomères et inversement. On trouverait ainsi deux facteurs d'enrichissement induits par l'équilibre monomère-dimère (notés $\epsilon_{\text{dimérisation}}$), l'un en phase liquide et l'autre en phase vapeur.

La Figure 38 schématise un modèle mécanistique des effets isotopiques apparaissant au cours de l'évaporation passive de l'acide acétique :

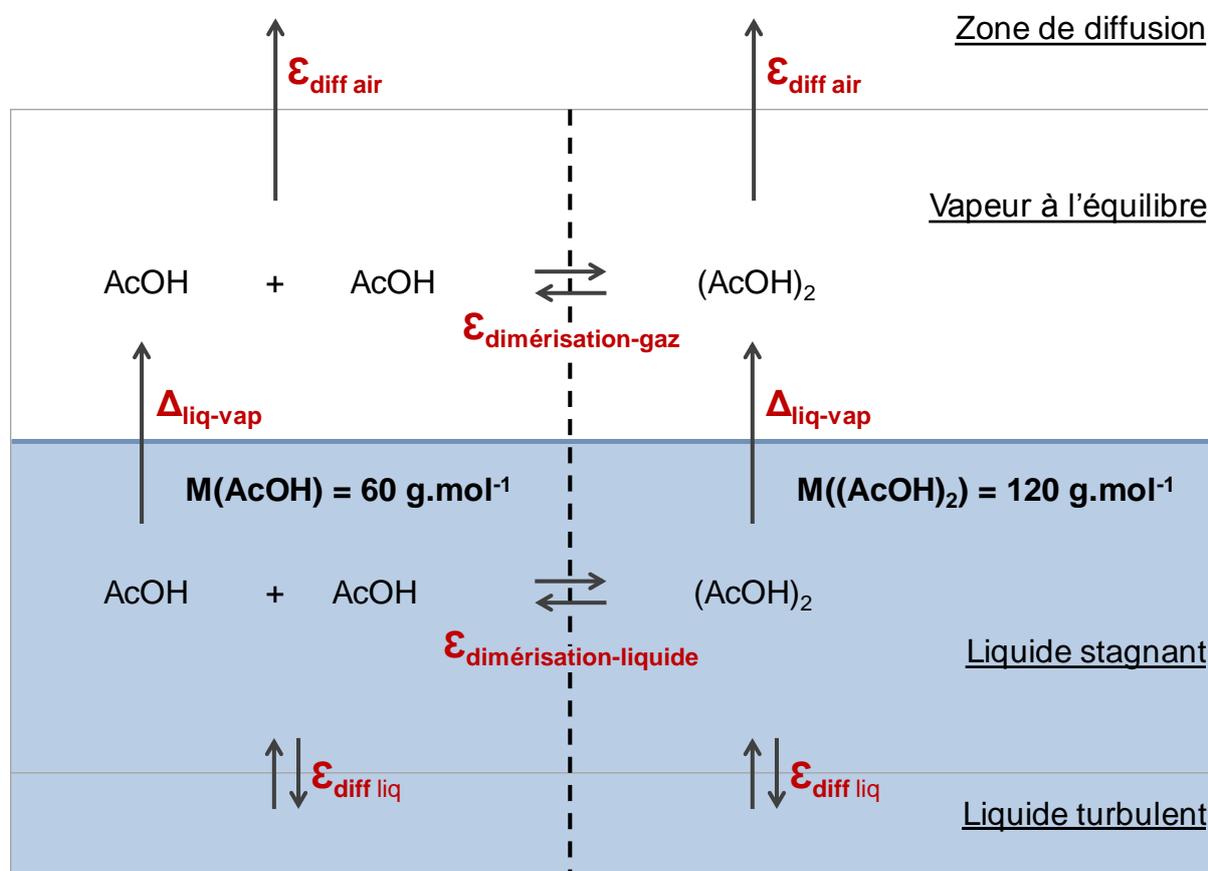


Figure 38 : Adaptation du modèle de Craig-Gordon à la description des phénomènes intervenant au cours de l'évaporation passive de l'acide acétique, avec AcOH le monomère d'acide acétique et $(AcOH)_2$ le dimère.

D'après cette adaptation du modèle de Craig-Gordon, 8 effets isotopiques doivent être considérés lors de l'évaporation de l'acide acétique, résumés en quatre étapes :

i) On retrouve l'effet isotopique de changement d'état liquide-vapeur ($\Delta_{liq-vap}$) qui doit demeurer inverse dans le cas étudié, comme cela a été démontré avec l'analyse de la queue de distillation de l'acide acétique malgré la présence d'un léger effet isotopique normal sur le C-2. Néanmoins, cet effet pourrait être d'une amplitude différente dans le cas du passage de l'état liquide à l'état gazeux d'un monomère ou d'un dimère d'acide acétique. Quel que soit l'espèce considérée, ce sont les molécules riches en ^{13}C , ayant un volume moléculaire inférieur à celui des molécules pauvres, qui vont

préférentiellement passer à l'état de vapeur, comme cela a été démontré dans la partie III-1-1.

ii) L'effet isotopique de diffusion ($\epsilon_{\text{diff air}}$) est également toujours présent dans le cas de l'acide acétique, comme le démontrent les résultats précédents. En effet, on remarque que lorsque le pourcentage de dimères diminue, l'effet inverse induit par l'évaporation passive diminue également. L'effet isotopique de diffusion pourrait également varier en amplitude selon si ce sont majoritairement des monomères ou des dimères qui diffusent en phase gazeuse [34-35].

iii) En ce qui concerne l'effet isotopique de diffusion dans la phase liquide, l'évaporation passive de l'acide acétique ne doit pas être affectée par cet effet, car le K_{al} de ce composé est de $5.12 \cdot 10^{-5}$ pour le monomère et de $1.02 \cdot 10^{-4}$ pour le dimère, ce qui indique que cette molécule ne diffuse que dans la phase gazeuse comme cela a été démontré dans la partie III-3-3.

iv) Cette étude a également permis d'identifier un effet isotopique induit par l'équilibre monomère-dimère de l'acide acétique. Cet effet inverse semble être position-spécifique en étant principalement localisé sur le carbone portant la fonction acide carboxylique du composé. C'est cet effet isotopique inverse qui semble faire de l'acide acétique un cas particulier dans ces travaux sur le changement d'état liquide-vapeur. On peut également imaginer que cet effet sera variable en fonction de la phase considérée. En effet, une dimérisation en phase liquide pourrait induire un fractionnement isotopique d'une amplitude différente de celle en phase gazeuse.

III-3-4 Conclusion

L'acide acétique avait été défini comme un cas particulier de comportement au cours de l'évaporation passive. Cette étude approfondie a permis d'identifier un effet isotopique position-spécifique inverse créé par la dimérisation de ce composé.

Les résultats obtenus par irm-¹³C NMR confortent que (a) il faut bien tenir compte de la dimérisation y compris pour la préparation d'échantillon en RMN et (b) le modèle de Craig-Gordon est robuste et reste valide, une fois les sources de fractionnements isotopiques additionnels identifiées.

D'autres études seraient nécessaires afin de mieux caractériser le phénomène de dimérisation. Pour cela, des expériences d'évaporation passive pourraient être réalisées en condition anhydre ou en milieu aprotique dilué (CCl₄) ou très protique (en présence de protons), afin de s'affranchir de la rupture de dimères induite par la présence d'eau atmosphérique qui déplace l'équilibre monomère-dimère. De plus, les expériences devraient être répétées sur d'autres composés ayant la capacité de former des dimères tels que l'acide propanoïque [40]. De la même manière, l'investigation sur l'impact de la présence de liaisons hydrogène ou d'autres interactions sur les fractionnements isotopiques position-spécifiques observés pourrait être approfondie afin de déterminer la présence d'un facteur d'enrichissement directement lié à ce phénomène.

III-4 Références bibliographiques

- 1 H. Craig, and L. I. Gordon, 'Deuterium and Oxygen 18 Variations in the Ocean and the Marine Atmosphere', in *Conference on Stable Isotopes in Oceanographic Studies and Paleotemperatures* (Spoleto, Italy, **1965**).
- 2 J. S. Roden, and J. R. Ehleringer, 'Observations of Hydrogen and Oxygen Isotopes in Leaf Water Confirm the Craig-Gordon Model under Wide-Ranging Environmental Conditions', *Plant Physiol.*, **1999**, 120, 1165-1174.
- 3 M. Dubbert, M. Cuntz, A. Piayda, C. Maguás, and C. Werner, 'Partitioning Evapotranspiration - Testing the Craig and Gordon Model with Field Measurements of Oxygen Isotope Ratios of Evaporative Fluxes', *J. Hydrol.*, **2013**, 496, 142-153.
- 4 J. Horita, K. Rozanski, and S. Cohen, 'Isotope Effects in the Evaporation of Water: A Status Report of the Craig-Gordon Model', *Isotopes Environ. Health Stud.*, **2008**, 44, 23-49.
- 5 T. Kuder, P. Philp, and J. Allen, 'Effects of Volatilization on Carbon and Hydrogen Isotope Ratios of MTBE', *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, 43, 1763-1768.
- 6 J. Bigeleisen, 'Statistical Mechanics of Isotope Effects on the Thermodynamic Properties of Condensed Systems', *J. Chem. Phys.*, **1961**, 34, 1485-1493.
- 7 L. S. Bartell, and R. R. Roskos, 'Isotope Effects on Molar Volume and Surface Tension: Simple Theoretical Model and Experimental Data for Hydrocarbons', *The Journal of Chemical Physics*, **1966**, 44, 457-463.
- 8 W. J. Shin, and K. S. Lee, 'Carbon Isotope Fractionation of Benzene and Toluene by Progressive Evaporation', *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **2010**, 24, 1636-1640.
- 9 Q. Xiao, Y. Sun, Y. Zhang, and P. Chai, 'Stable Carbon Isotope Fractionation of Individual Light Hydrocarbons in the C6-C8 Range in Crude Oil as Induced by Natural Evaporation: Experimental Results and Geological Implications', *Org. Geochem.*, **2012**, 50, 44-56.
- 10 X.-R. Xu, Z.-Y. Zhao, X.-Y. Li, and J.-D. Gu, 'Chemical Oxidative Degradation of Methyl *Tert*-Butyl Ether in Aqueous Solution by Fenton's Reagent', *Chemosphere*, **2004**, 55, 73-79.
- 11 S. R. Poulson, and J. I. Drever, 'Stable Isotope (C, Cl, and H) Fractionation During Vaporization of Trichloroethylene', *Environ. Sci. Technol.*, **1999**, 33, 3689-3694.
- 12 S. Jeannotat, and D. Hunkeler, 'Chlorine and Carbon Isotopes Fractionation During Volatilization and Diffusive Transport of Trichloroethene in the Unsaturated Zone', *Environ. Sci. Technol.*, **2012**, 46, 3169-3176.
- 13 H. He, and R. B. Smith, 'An Advective-Diffusive Isotopic Evaporation-Condensation Model', *J. Geophys. Res.*, **1999**, 104, 18619-18630.
- 14 L. Huang, N. C. Sturchio, T. Abrajano Jr, L. J. Heraty, and B. D. Holt, 'Carbon and Chlorine Isotope Fractionation of Chlorinated Aliphatic Hydrocarbons by Evaporation', *Org. Geochem.*, **1999**, 30, 777-785.
- 15 M. Balabane, and R. Létolle, 'Inverse Overall Isotope Fractionation Effect through Distillation of Some Aromatic Molecules (Anethole, Benzene and Toluene)', *Chem. Geol. (Isot. Geosci. Sect.)*, **1985**, 52, 391-396.
- 16 H. Craig, 'The Geochemistry of the Stable Carbon Isotopes', *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1953**, 3, 53-92.

- 17 R. P. Schwarzenbach, P. Gschwend, M., and D. Imboden, M., *Environmental Organic Chemistry - Second Edition*, **2003**.
- 18 T. E. Daubert, and R. P. Danner, *Physical and Thermodynamic Properties of Pure Chemicals : Data Compilation*, American Institute of Chemical Engineers, (1989).
- 19 H. P. H. Arp, and T. C. Schmidt, 'Air-Water Transfer of MTBE, Its Degradation Products, and Alternative Fuel Oxygenates: The Role of Temperature', *Environ. Sci. Technol.*, **2004**, 38, 5405-5412.
- 20 B.-L. Zhang, C. Jouitteau, S. Pionnier, and E. Gentil, 'Determination of Multiple Equilibrium Isotopic Fractionation Factors at Natural Abundance in Liquid-Vapor Transitions of Organic Molecules', *J. Phys. Chem. B*, **2002**, 106, 2983-2988.
- 21 P. Baertschi, W. Kuhn, and H. Kuhn, 'Fractionation of Isotopes by Distillation of Some Organic Substances', *Nature*, **1953**, 171, 1018-1020.
- 22 I. Moussa, N. Naulet, M. L. Martin, and G. J. Martin, 'A Site-Specific and Multielement Approach to the Determination of Liquid-Vapor Isotope Fractionation Parameters: The Case of Alcohols', *J. Phys. Chem. A*, **1990**, 94, 8303-8309.
- 23 R. Baudler, L. Adam, A. Rossmann, G. Versini, and K. H. Engel, 'Influence of the Distillation Step on the Ratios of Stable Isotopes of Ethanol in Cherry Brandies', *J. Agric. Food. Chem.*, **2006**, 54, 864-869.
- 24 E. P. Botosoa, E. Caytan, V. Silvestre, R. J. Robins, S. Akoka, and G. S. Remaud, 'Unexpected Fractionation in Site-Specific ¹³C Isotopic Distribution Detected by Quantitative ¹³C NMR at Natural Abundance', *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, 130, 414-415.
- 25 P. I. Nagy, 'The Syn–Anti Equilibrium for the Cooh Group Reinvestigated. Theoretical Conformation Analysis for Acetic Acid in the Gas Phase and in Solution', *Comp. Theor. Chem.*, **2013**, 1022, 59-69.
- 26 J. L. Derissen, 'A Reinvestigation of the Molecular Structure of Acetic Acid Monomer and Dimer by Gas Electron Diffraction', *J. Mol. Struct.*, **1971**, 7, 67-80.
- 27 J. P. Cerón-Carrasco, D. Jacquemin, C. Laurence, A. Planchat, C. Reichardt, and K. Sraïdi, 'Solvent Polarity Scales: Determination of New Et(30) Values for 84 Organic Solvents', *J. Phys. Org. Chem.*, **2014**, 27, 512-518.
- 28 J. P. Cerón-Carrasco, D. Jacquemin, C. Laurence, A. Planchat, C. Reichardt, and K. Sraïdi, 'Determination of a Solvent Hydrogen-Bond Acidity Scale by Means of the Solvatochromism of Pyridinium-N-Phenolate Betaine Dye 30 and PCM-TD-DFT Calculations', *J. Phys. Chem. B*, **2014**, 118, 4605-4614.
- 29 C. Laurence, J. Legros, P. Nicolet, D. Vuluga, A. Chantzis, and D. Jacquemin, 'Solvatomagnetic Comparison Method: A Proper Quantification of Solvent Hydrogen-Bond Basicity', *J. Phys. Chem. B*, **2014**, 118, 7594-7608.
- 30 C. Reichardt, 'Solvatochromism, Thermochromism, Piezochromism, Halochromism, and Chiro-Solvatochromism of Pyridinium N-Phenoxide Betaine Dyes', *Chem. Soc. Rev.*, **1992**, 21, 147-153.
- 31 C. Reichardt, 'Solvatochromic Dyes as Solvent Polarity Indicators', *Chem. Rev.*, **1994**, 94, 2319-2358.
- 32 L. Kos, K. Michalska, R. Zylla, and J. Perkowski, 'Effect of Acetic Acid on Pollutant Decomposition in Textile Wastewater by the Fenton Method', *Environ. Protec. Engin.*, **2012**, 38, 29-39.

- 33 M. B. Blaser, L. K. Dreisbach, and R. Conrad, 'Carbon Isotope Fractionation of 11 Acetogenic Strains Grown on H₂ and CO₂', *Appl. Environ. Microbiol.*, **2013**, 79, 1787-1794.
- 34 J. Chocholoušová, J. Vacek, and P. Hobza, 'Acetic Acid Dimer in the Gas Phase, Nonpolar Solvent, Microhydrated Environment, and Dilute and Concentrated Acetic Acid: *Ab Initio* Quantum Chemical and Molecular Dynamics Simulations', *J. Phys. Chem. A*, **2003**, 107, 3086-3092.
- 35 H. Pasalic, D. Tunega, A. J. A. Aquino, G. Haberhauer, M. H. Gerzabek, and H. Lischka, 'The Stability of the Acetic Acid Dimer in Microhydrated Environments and in Aqueous Solution', *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 14, 4162-4170.
- 36 M. D. Taylor, 'The Vapor Phase Dissociation of Some Carboxylic Acids., I-Acetic Acid', *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, 73, 315-317.
- 37 K. Bayle, A. Gilbert, M. Julien, K. Yamada, V. Silvestre, R. J. Robins, S. Akoka, N. Yoshida, and G. S. Remaud, 'Conditions to Obtain Precise and True Measurements of the Intramolecular ¹³C Distribution in Organic Molecules by Isotopic ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry', *Anal. Chim. Acta*, **2014**, 846, 1-7.
- 38 A. Gilbert, V. Silvestre, R. J. Robins, and G. S. Remaud, 'Impact of the Deuterium Isotope Effect on the Accuracy of ¹³C NMR Measurements of Site-Specific Isotope Ratios at Natural Abundance in Glucose', *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, 398, 1979-1984.
- 39 T. Dziembowska, P. E. Hansen, and Z. Rozwadowski, 'Studies Based on Deuterium Isotope Effect on ¹³C Chemical Shifts', *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, **2004**, 45, 1-29.
- 40 J. L. Derissen, 'An Investigation of the Structure of Propionic Acid Monomer and Dimer by Gas Electron Diffraction', *J. Mol. Struct.*, **1971**, 7, 81-88.

Conclusion générale

L'intérêt de l'utilisation de l'irm- ^{13}C NMR en complément de l'analyse isotopique par irm-MS dans le cadre du suivi d'un polluant au cours d'une contamination de l'environnement a pu être démontré au cours de ce projet. Dans le premier cas l'analyse conduit à la détermination de la teneur en carbone-13 de chaque carbone constituant la molécule (quantification des isotopomères ^{13}C), alors que dans le deuxième cas, c'est la teneur globale qui est obtenue (dosage des isotopologues ^{13}C). Les nouvelles données apportées par la PSIA ont permis une meilleure compréhension des phénomènes impliqués dans l'évolution des contaminants du sol et de l'eau, mais également de déterminer leur origine avec une plus grande certitude.

L'utilisation des mesures isotopiques position-spécifiques en ^{13}C apporte de nouveaux éléments permettant de retracer l'origine d'un contaminant au cours des **études forensiques**. En effet, l'augmentation du nombre de paramètres mesurés en utilisant l'irm- ^{13}C NMR permet une caractérisation plus précise de l'**origine du polluant** voire, dans certains cas, de retrouver la voie de synthèse employée et l'origine de matières premières utilisées au cours de sa fabrication.

Lors de la contamination par un polluant d'origine anthropique, ce dernier va évoluer (évaporation, migration, dégradation...), ce qui conduit à une modification de sa composition isotopique et complique ainsi la détermination de son origine. Ces fractionnements isotopiques sont donc à prendre en compte lors de la détermination de l'origine d'un polluant. C'est pour cette raison que la détermination des effets isotopiques position-spécifiques associés aux différents procédés physico-chimiques impliqués dans la remédiation des polluants a été réalisée.

L'étude de l'**évaporation** des Composés Organiques Volatiles (VOCs) a permis d'identifier des effets isotopiques position-spécifiques dépendant (i) des conditions opératoires du changement d'état liquide-gaz, (ii) de la structure des composés étudiés et (iii) des **interactions intermoléculaires** en présence. L'utilisation de l'irm- ^{13}C NMR a montré une distribution inégale des effets isotopiques associés au phénomène d'évaporation. Certains résultats ont même démontré que l'absence d'effet isotopique total mesuré en irm-MS est dans certains cas due à la présence d'effet normaux et

inverses qui se compensent au sein de la molécule étudiée, ce qui renforce l'intérêt de la mesure isotopique position-spécifique.

Les résultats obtenus au cours de l'étude de l'évaporation ont pu être expliqués en utilisant le **modèle mécanistique** développé par Craig et Gordon. Ce modèle rend compte du bilan isotopique au cours du procédé d'évaporation passive : les effets isotopiques mesurés par irm-¹³C NMR sont, en réalité, issus de la contribution de plusieurs effets associés au **changement d'état liquide-vapeur** et à la **diffusion** dans les phases gazeuse et / ou liquide selon le composé étudié. Une étude approfondie des effets isotopiques apparaissant au cours de la distillation, associée à des mesures de **forces de liaisons hydrogène** retrouvées dans la littérature, ont confirmé que les fractionnements isotopiques position-spécifiques détectés lors des changements d'état liquide-vapeur sont influencés par la présence de **liaisons non-covalentes** intermoléculaires telles que les liaisons hydrogène. Ces observations ont également permis d'identifier la présence d'un effet isotopique additionnel dû à la **dimérisation** de l'acide acétique, permettant d'expliquer le comportement atypique de ce composé au cours de l'évaporation.

La détermination des effets isotopiques position-spécifiques associés à la **dégradation abiotique** du MTBE par oxydation au permanganate de potassium a rendu possible l'observation de la distribution du fractionnement isotopique induit par la dégradation de ce contaminant. C'est au niveau des carbones portant l'oxygène que l'effet isotopique est principalement localisé.

Les effets isotopiques position-spécifiques associés à la **migration** d'un polluant dans diverses phases stationnaires ont également été déterminés. Les résultats obtenus pour le paracétamol ont permis d'identifier l'impact des interactions non-covalentes impliquées dans les phénomènes de **sorption / désorption** sur les effets isotopiques position-spécifiques apparus. Ces résultats donnent de nouveaux éléments de réflexion sur l'évolution du profil isotopique d'un polluant au cours de sa migration dans le sol. En effet, les effets isotopiques induits par le transport du composé étudié seront variables en fonction de la composition du sol, ce qui doit être pris en compte dans la détermination de son origine.

Certains aspects de la remédiation des polluants du sol et de l'eau n'ont pu être traités au cours de cette étude. C'est le cas de la **biodégradation** par certaines bactéries

telles que *Methylibium petroleiphylum*. Seuls quelques essais de culture de ce microorganisme ont été réalisés au cours de ces travaux et doivent être poursuivis afin de déterminer la contribution de la bioremédiation sur les fractionnements isotopiques apparaissant au cours du transport d'un contaminant dans l'environnement. De même, l'étude de dégradation abiotique doit également être poursuivie et complétée, en utilisant d'autres réactions chimiques telles que l'hydrolyse ou l'oxydation par le réactif de Fenton. L'obtention de données supplémentaires sur les fractionnements isotopiques position-spécifiques associés à la dégradation abiotique contribueraient également la mise en place d'un modèle de prédiction de ces effets. Concernant la détermination des effets isotopiques associés à la sorption / désorption des polluants, plusieurs phases stationnaires pourraient être employées, comme l'acide humique ou l'argile qui sont naturellement présents dans certains types de sol. Les mesures isotopiques effectuées devraient également permettre la détermination des effets isotopiques associés à la migration en utilisant le modèle de transport actif développé à partir des données obtenues lors de la migration de la vanilline en phase inverse.

Cette première utilisation de l'irm-¹³C NMR pour les études isotopiques dans le domaine de l'environnement a montré tout l'intérêt de cette approche, mais aussi certaines de ses limites. C'est le cas du volume relativement important d'échantillon nécessaire à l'analyse, plusieurs centaines de milligrammes de composé pur sont actuellement nécessaires pour une analyse RMN de routine, ce qui peut être délicat, voire impossible dans certains cas à obtenir sur le terrain. Cependant, les dernières avancées méthodologiques réalisées par des membres de l'équipe EBSI laissent entrevoir des possibilités encourageantes. Ainsi, la limite de sensibilité de l'irm-¹³C NMR, peut être contournée par l'application de nouvelles séquences impulsionnelles RMN. Ces nouvelles techniques de détermination de la composition isotopique position-spécifique en ¹³C permettraient, à terme, de réaliser des mesures avec une quantité d'échantillon moins importante, de répéter les mesures effectuées sur un échantillon donné ou encore de réaliser des profils isotopiques relatifs, ce qui faciliterait l'utilisation de la PSIA par irm-¹³C NMR sur le terrain.

La pureté des échantillons collectés sur le terrain ou obtenus après une réaction (bio)chimique au laboratoire est également un inconvénient majeur pour l'utilisation de cette technique. L'extraction, puis la purification de la molécule d'intérêt doivent être exécutées de manière à ne pas créer de fractionnements additionnels. Ces étapes

doivent être validées au cours du protocole analytique. Pour certains produits, elles requièrent même une approche et un équipement sophistiqués. C'est pour cette raison que la mise en place d'une référence interne lors des mesures isotopiques par irm-¹³C NMR a été initiée. Cette méthode permettrait la détermination des compositions isotopiques position-spécifiques de mélanges de composés en s'affranchissant des étapes de purification, en absence de recouvrement de pics sur le spectre RMN ¹³C. La preuve de concept a été réalisée, il faut maintenant l'appliquer sur des échantillons réels, comme les mélanges TBA-MTBE issus des études de dégradations biotiques et/ou abiotiques.

D'une manière générale, l'apport de nouveaux paramètres enrichit les connaissances actuelles. Tous les outils disponibles ou à venir deviennent complémentaires et permettent des approches multi-composés, multiéléments et multi-positions pour converger vers la description de plus en plus fine des phénomènes observés.

Annexes

Liste des Figures

Figure 1 : Schéma général du devenir des Composés Organiques Volatiles dans le sol (le symbole ϵ représente la présence d'un effet isotopique induit par le phénomène associé).	3
Figure 2 : Schéma de la Spectrométrie de Masse de Rapport Isotopique (irm-MS), en configuration Analyse Élémentaire.	8
Figure 3 : Schéma de la Pyrolyse couplée à la Spectrométrie de Masse de Rapports Isotopiques (Py-GC-irm-MS), appliquée à l'analyse du MTBE, d'après Gauchotte et collaborateurs [40]..	17
Figure 4 : Représentation d'une séquence d'acquisition en RMN à une dimension du ^{13}C	17
Figure 5 : Structure du tris-acétylacétonate de chrome III ($\text{Cr}(\text{Acac})_3$).	19
Figure 6 : Spectre ^{13}C du MTBE a) sans découplage et b) avec découplage ^1H	20
Figure 7 : Spectres ^{13}C du MTBE enregistrés avec un découplage en créneaux inverses, sans NOE (bleu) et un découplage continu, avec NOE (rouge).	21
Figure 8 : Conditions générales d'acquisition nécessaires à l'irm- ^{13}C NMR.	24
Figure 9 : Diagramme d'Hishikawa décrivant les paramètres à prendre en compte lors du calcul de l'incertitude étendue.....	31
Figure 10 : Principe général des études forensiques utilisant la CSIA et la PSIA dans le cadre de la détermination de l'origine d'un contaminant du sol.	41
Figure 11 : Rapports Isotopiques de différents matériaux carbonés présents dans la nature [14].	48
Figure 12 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de MTBE obtenus avec les différents procédés d'évaporation.	58
Figure 13 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de TAME obtenus avec les différents procédés d'évaporation.	59
Figure 14: Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de toluène obtenus avec les différents procédés d'évaporation.	60
Figure 15: Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de n-heptane obtenus avec les différents procédés d'évaporation.	61

Figure 16: Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de TCE obtenus avec les différents procédés d'évaporation.	62
Figure 17 : Mécanisme d'oxydation du MTBE par le KMnO_4 [5].	69
Figure 18 : Mécanisme d'hydrolyse du MTBE par l'acide sulfurique [5].	70
Figure 19 : Diagramme d'énergie potentielle des liaisons $^{12}\text{C}-^{12}\text{C}$ et $^{12}\text{C}-^{13}\text{C}$	72
Figure 20 : Structure du paracétamol.	76
Figure 21 : Structure des phases stationnaires utilisées.	78
Figure 22 : Description des phénomènes intervenant au cours de l'évaporation passive d'un liquide organique, selon le modèle de Craig-Gordon adapté par Kuder et collaborateurs (en bleu la phase liquide et en blanc la phase gazeuse) [5].	94
Figure 23: Représentation du fractionnement isotopique induit par le changement d'état liquide-vapeur ($\Delta_{\text{liq-vap}}$).	95
Figure 24 : Représentation du fractionnement isotopique induit par la diffusion dans la phase gazeuse.	96
Figure 25 : Corrélation entre les $\epsilon_{\text{diff air}}$ calculés avec les valeurs expérimentales et ceux prédits par le modèle de Craig-Gordon, en haut sur l'ensemble de la gamme (a) et en bas sur la partie zoomée de l'encadré (b).	110
Figure 26 : Représentation schématique de la contribution relative des phases liquides et gazeuses dans la vitesse des transferts de masse en fonction du coefficient de partition liquide-vapeur (K_{ial}).	113
Figure 27 : Représentation de la distillation de Rayleigh.	118
Figure 28 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons d'alcools obtenus par distillation.	121
Figure 29 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de cétones obtenus par distillation.	124
Figure 30 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de composés synthétiques obtenus par distillation.	126
Figure 31 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons de composés fossiles obtenus par distillation.	130
Tableau 30 : Facteurs d'enrichissement en deutérium détectés lors de la distillation du p-xylène.	131
Figure 32 : Diagramme d'énergie de l'excitation de la bêtaïne 30 dans des solvants de polarité variable.	134
Figure 33 : Structures du p-fluorophénol et de la p-fluoroanisole.	135

Figure 34 : Comparaison des facteurs d'enrichissement en ^{13}C totaux (ϵ) et sur le C-1 (b) et le pouvoir donneur de liaisons hydrogène des composés étudiés (E_{T30}).	137
Figure 35 : Comparaison des facteurs d'enrichissement en ^{13}C totaux (ϵ) et sur le C-1 (b) et le pouvoir accepteur de liaisons hydrogène des composés étudiés (β_1).	139
Figure 36 : Représentation d'un dimère d'acide acétique, stabilisé par liaisons hydrogène.....	142
Figure 37 : Facteurs d'enrichissement totaux (ϵ_t) et position-spécifiques (ϵ_i) des échantillons d'acide acétique obtenus après évaporation passive à différentes températures.	144
Figure 38 : Adaptation du modèle de Craig-Gordon à la description des phénomènes intervenant au cours de l'évaporation passive de l'acide acétique, avec AcOH le monomère d'acide acétique et $(\text{AcOH})_2$ le dimère.....	147

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Erreur maximale commise en fonction du rapport TR/T ₁	18
Tableau 2 : Variation des T ₁ ¹³ C du MTBE en présence ou non d'agent de relaxation..	23
Tableau 3 : Exemple de calcul des δ ¹³ C _i d'un échantillon de MTBE, dont δ ¹³ C _t = - 28.9‰, à partir des aires d'un spectre de RMN ¹³ C.....	26
Tableau 4 : Symboles et définitions des termes utilisés dans le calcul de l'incertitude étendue.....	30
Tableau 5 : Liste des échantillons utilisés pour l'étude forensique.	45
Tableau 6 : Compositions isotopiques totales (δ ¹³ C _t) et position-spécifiques (δ ¹³ C _i) des échantillons de MTBE, ETBE et TAME.....	46
Tableau 7 : Compositions isotopiques totales (δ ¹³ C _t) et position-spécifiques (δ ¹³ C _i) des échantillons de TCE.	49
Tableau 8 : Compositions isotopiques totales (δ ¹³ C _t) et position-spécifiques (δ ¹³ C _i) des échantillons de n-heptane.....	49
Tableau 9 : Compositions isotopiques totales (δ ¹³ C _t) et position-spécifiques (δ ¹³ C _i) des échantillons de toluène.	50
Tableau 10 : Compositions isotopiques totales (δ ¹³ C _t) et position-spécifiques (δ ¹³ C _i) des échantillons d'acétone.	51
Tableau 11 : Compositions isotopiques et facteurs d'enrichissement totaux et position- spécifiques des échantillons d'éthanol obtenus lors de l'étude de répétabilité.	56
Tableau 12 : Facteurs de fractionnement (α) et d'enrichissement (ε) totaux et position- spécifiques des échantillons de TBA formés au cours de l'oxydation du MTBE par le KMnO ₄	68
Tableau 13 : Facteurs d'enrichissement en ¹³ C (totaux et position-spécifiques) et en ¹⁵ N détectés lors de la migration du paracétamol sur gel de silice (phase normale). 81	81
Tableau 14 : Facteurs d'enrichissement en ¹³ C (totaux et position-spécifiques) et en ¹⁵ N détectés lors de la migration du paracétamol sur la cellulose.	82
Tableau 15 : Facteurs d'enrichissement en ¹³ C (totaux et position-spécifiques) et en ¹⁵ N détectés lors de la migration du paracétamol sur le charbon actif.....	84
Tableau 16 : Facteurs d'enrichissement en ¹³ C (totaux et position-spécifiques) et en ¹⁵ N détectés lors de la migration du paracétamol sur gel de silice (phase inverse C8).	85

Tableau 17 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) détectés lors de l'évaporation passive (PE).	98
Tableau 18 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) détectés lors de l'évaporation en présence d'un flux d'air (AFE).	100
Tableau 19 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) détectés lors de l'évaporation à basse pression (LPE).	102
Tableau 20 : Facteurs d'enrichissement en ^{13}C (totaux et position-spécifiques) détectés lors de la distillation (DE).	104
Tableau 21 : $\epsilon_{\text{diff air}}$ (totaux et position-spécifiques) calculés.	106
Tableau 22 : Propriétés physico-chimiques des composés étudiés.	108
Tableau 23 : $\epsilon_{\text{diff air}}$ (totaux) prédits par le modèle de Craig-Gordon.	109
Tableau 24: Coefficient de partition Air-liquide (K_{ial}) et masses volumiques des composés étudiés.	112
Tableau 25 : Liste des composés employés au cours de l'étude des fractionnements isotopiques en ^{13}C apparaissant au cours de la distillation.	117
Tableau 26 : Compositions et effets isotopiques totaux et position-spécifiques des échantillons d'éthanol obtenus lors de l'étude de répétabilité de la distillation (DE).	120
Tableau 27 : Facteurs d'enrichissement en deutérium (ϵ_{D}) et en ^{18}O (ϵ_{O}) détectés lors de la distillation des alcools.	122
Tableau 28 : Facteurs d'enrichissement en deutérium et en ^{18}O détectés lors de la distillation de l'acide propanoïque [20].	128
Tableau 29 : Facteurs d'enrichissement en deutérium et en ^{15}N détectés lors de la distillation de l'acétonitrile.	129
Tableau 30 : Facteurs d'enrichissement en deutérium détectés lors de la distillation du p-xylène.	131
Tableau 31 : Températures d'évaporation passive utilisées et pourcentage de dimères d'acide acétique associés selon Taylor [36].	142

Liste des Équations

Équation 1 : Rapport Isotopique (R) en ^{13}C	8
Équation 2 : Composition isotopique totale en ^{13}C	9
Équation 3 : Erreur relative de la détermination de la surface des pics en fonction du rapport signal sur bruit (S/B).	16
Équation 4 : Détermination de l'angle optimal d'impulsion (β_{opt}), pour un T_R/T_1 donné.	17
Équation 5 : Calcul de l'erreur maximale commise.	18
Équation 6 : Calcul des fractions molaires (f_i).	25
Équation 7 : Calcul de l'abondance isotopique position-spécifique en ^{13}C (A_i).	25
Équation 8 : Fractionnement isotopique en ^{13}C ($\Delta\delta^{13}\text{C}$).	27
Équation 9 : Facteur de fractionnement (α).	27
Équation 10 : Calcul de l'effet isotopique cinétique en ^{13}C (KIE).	28
Équation 11 : Calcul du facteur de fractionnement (α), d'après les travaux de Bigeleisen et Mayer [67].	29
Équation 12 : Facteur d'enrichissement (\mathcal{E}).	29
Équation 13 : Calcul simplifié du facteur d'enrichissement en ^{13}C (\mathcal{E}).	31
Équation 14 : Calcul de l'incertitude ($u(m)$) pour la contribution des deux mesures isotopiques.	32
Équation 15 : Calcul de l'incertitude ($u(p)$) pour la contribution des deux pesées. ...	32
Équation 16 : Calcul de l'incertitude combinée ($u_c(\mathcal{E})$) des mesures isotopiques et des pesées effectuées (‰).	32
Équation 17 : Calcul de l'incertitude étendue (U) des mesures isotopiques et des pesées effectuées.	33
Équation 18 : Calcul de la fréquence de vibration d'une liaison.	71
Équation 19 : Calcul de la masse réduite (μ) des atomes impliqués dans une liaison.	71
Équation 20 : Calcul de l'énergie de vibration d'une liaison.	71
Équation 21 : Approximation des facteurs d'enrichissement à partir des compositions isotopiques des fractions 1 et 4 collectées au cours de l'élution du paracétamol dans les différentes phases stationnaires [85].	80
Équation 22 : Calcul des $\mathcal{E}_{\text{diff air}}$ (totaux et position-spécifiques) à l'aide des résultats expérimentaux obtenus en évaporation passive (PE) et en distillation (DE).	106

Équation 23 : Prédiction de l' $\mathcal{E}_{\text{diff air}}$ selon H. Craig.....	107
Équation 24 : Calcul de la masse molaire de l'air en présence du composé en cours d'évaporation.	107
Équation 25 : Calcul du coefficient de partition Air-liquide (K_{ial}) en fonction de la concentration de composé dans l'air (C_{air}) et dans la phase liquide (C_{liq}).....	111
Équation 26 : Calcul de la vitesse de transfert entre la phase liquide et la phase gazeuse.	112
Équation 27 : Calcul du facteur de fractionnement (α) dans le cas de l'analyse isotopique des têtes de distillation.	119
Équation 28 : Calcul du paramètre $E_{\tau}(30)$ à partir du nombre d'onde maximal (ν_{max}) mesuré par spectroscopie infrarouge, d'après Ceron-Carrasco et collaborateurs [27].	134
Équation 29 : Calcul du paramètre β_1 qui permet de déterminer le pouvoir accepteur de liaison hydrogène d'un composé.	136

Conditions d'analyse et spectres RMN ¹³C

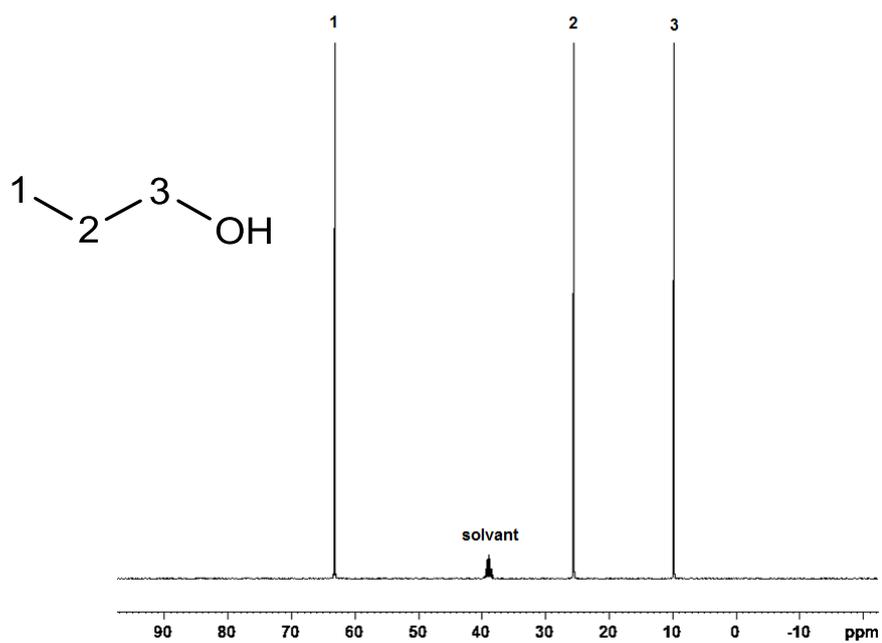
Analyse des alcools :

L'ensemble des alcools ont été analysés en utilisant les préparations d'échantillons et les conditions d'acquisition décrites dans le tableau suivant.

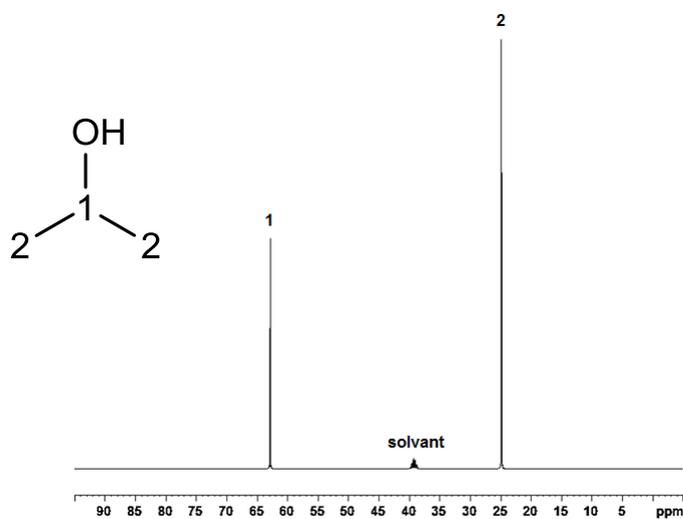
Les spectres présentés ci-après décrivent la numérotation employée dans le cas des alcools linéaires (*n*-propanol) et des alcools ramifiés (isopropanol) ainsi que dans le cas du cyclohexanol.

composé	éthanol	<i>n</i> -propanol	isopropanol	<i>n</i> -butanol	TBA
V composé (μL)	600	600	600	600	600
solvant deutéré	DMSO-d ₆				
V solvant deutéré (μL)	100	100	100	100	100
Concentration relaxant (M)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.05
SW (ppm)	80	110	100	73	100
o1p (ppm)	38	38	45	38	51
o2p (ppm)	3.8	2.8	3.5	2.8	2.8
d1 (s)	22	17	17	16	22

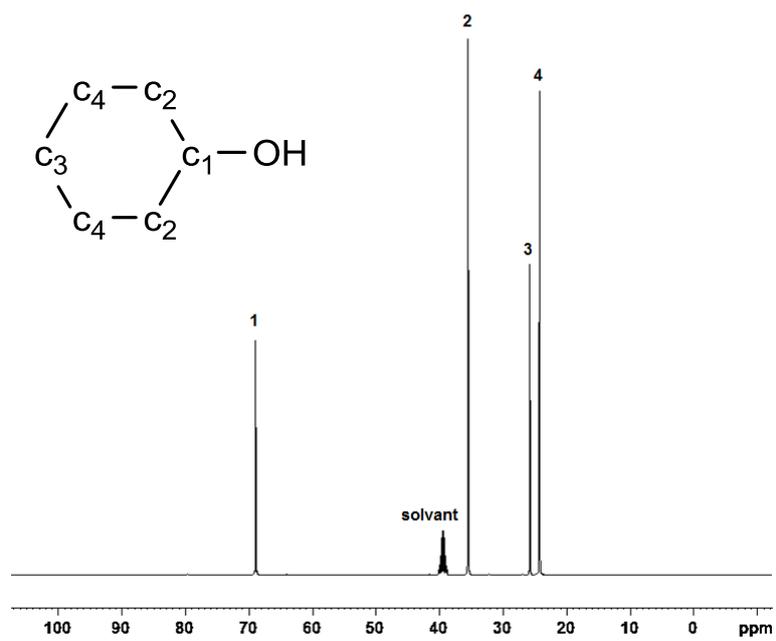
composé	<i>n</i> -pentanol	alcool isoamylique	Cis-3-hexen-1-ol	cyclohexanol
V composé (μL)	600	600	600	500
solvant deutéré	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆
V solvant deutéré (μL)	100	100	100	200
Concentration relaxant (M)	0.05	0.05	0.1	0
SW (ppm)	115	120	170	120
o1p (ppm)	38	40	74	48
o2p (ppm)	2.8	2.8	3.2	3
d1 (s)	22	22	16	30



Spectre RMN ¹³C du *n*-propanol obtenu en conditions quantitatives.



Spectre RMN ¹³C de l'isopropanol obtenu en conditions quantitatives.



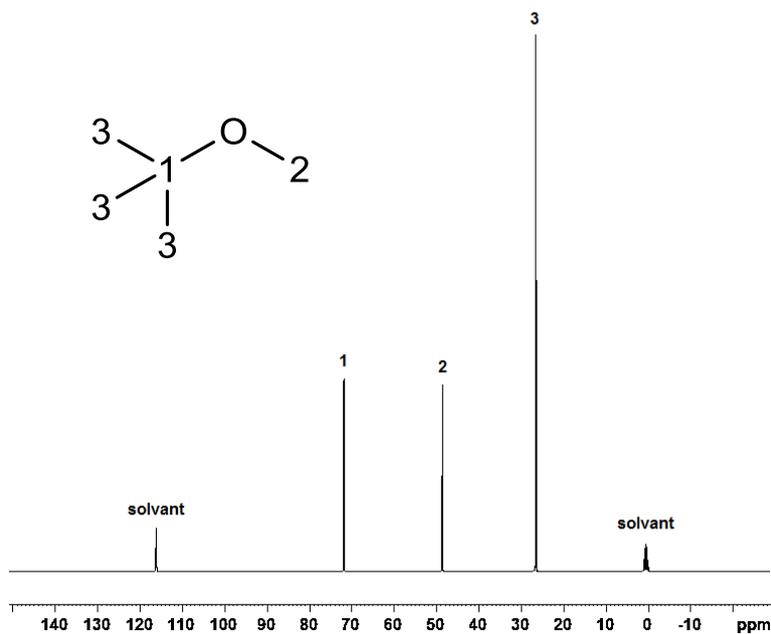
Spectre RMN ^{13}C du cyclohexanol obtenu en conditions quantitatives.

Analyse des additifs des carburants :

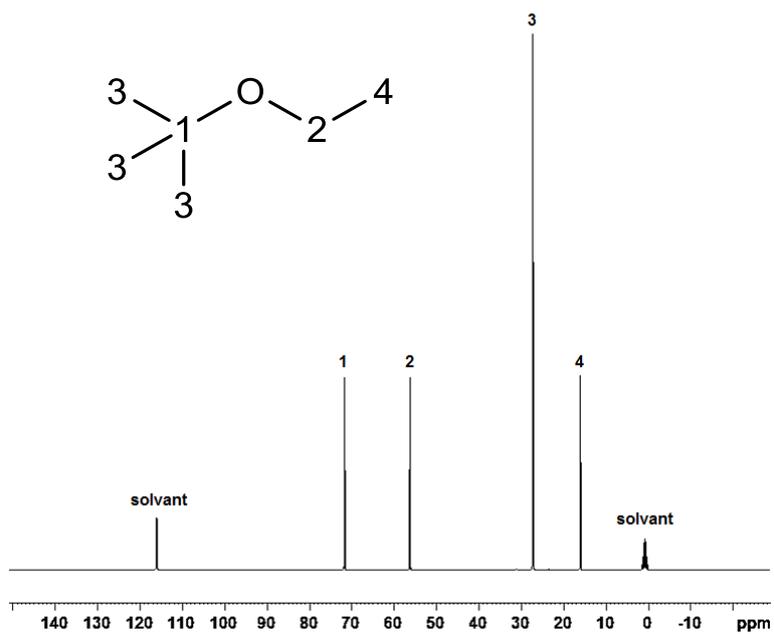
L'ensemble des additifs des carburants ont été analysés en utilisant les préparations d'échantillons et les conditions d'acquisition décrites dans le tableau suivant.

Les spectres présentés ci-après décrivent la numérotation employée dans le cas du MTBE, de l'ETBE et du TAME.

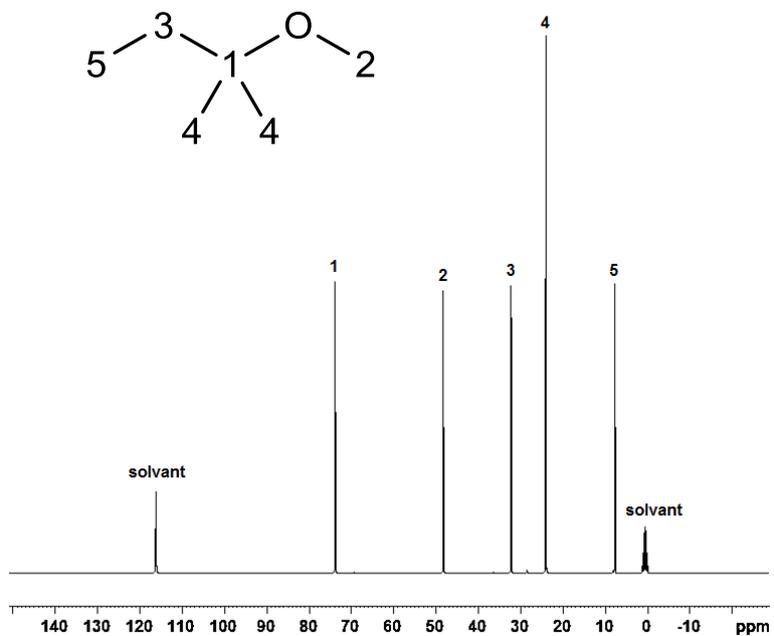
composé	MTBE	ETBE	TAME
V composé (μL)	500	500	500
solvant deutéré	acétonitrile-d ₃	acétonitrile-d ₃	acétonitrile-d ₃
V solvant deutéré (μL)	200	200	200
Concentration relaxant (M)	0.2	0.2	0.2
SW (ppm)	180	180	180
o1p (ppm)	61	61	61
o2p (ppm)	2.2	2.2	2.0
d1 (s)	16	16	14



Spectre RMN ¹³C du MTBE obtenu en conditions quantitatives.



Spectre RMN ¹³C de l'ETBE obtenu en conditions quantitatives.



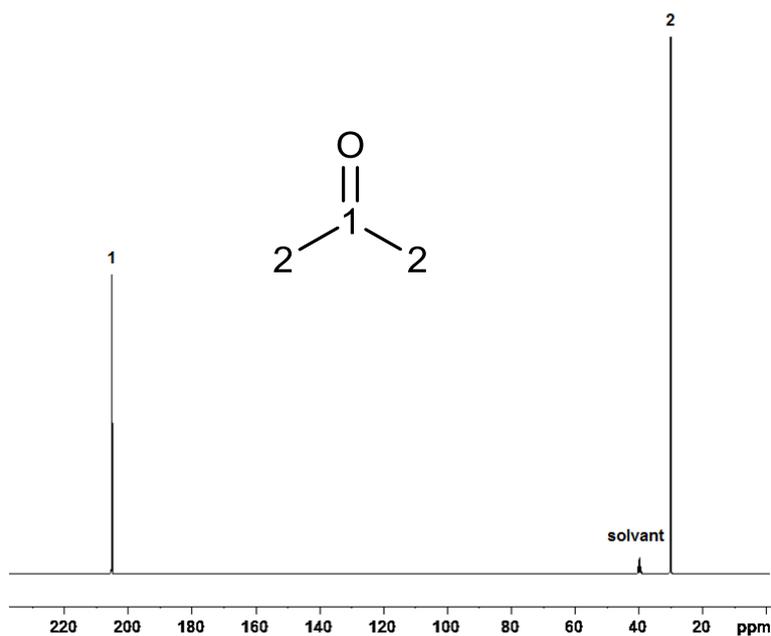
Spectre RMN ¹³C du TAME obtenu en conditions quantitatives.

Analyse des cétones :

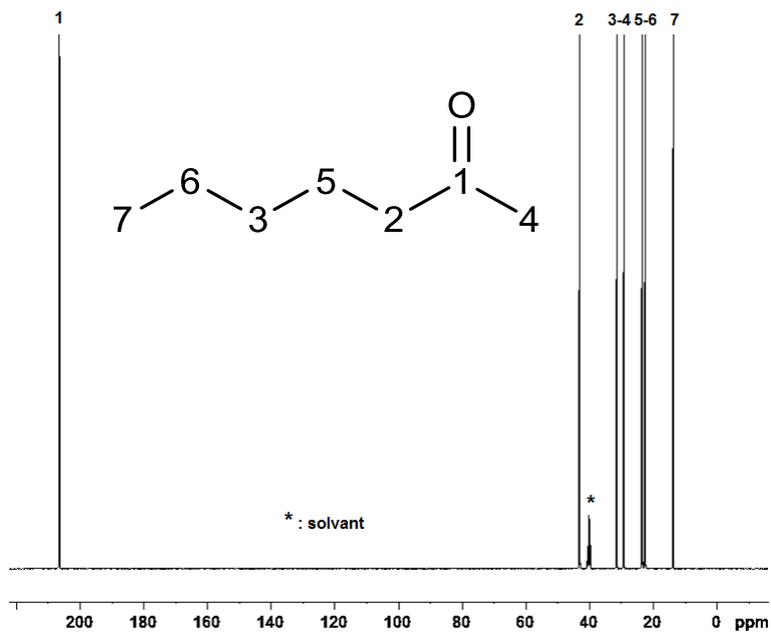
L'ensemble des cétones ont été analysées en utilisant les préparations d'échantillons et les conditions d'acquisition décrites dans le tableau suivant.

Les spectres présentés ci-après décrivent la numérotation employée dans le cas de l'acétone et des isomères de l'heptanone.

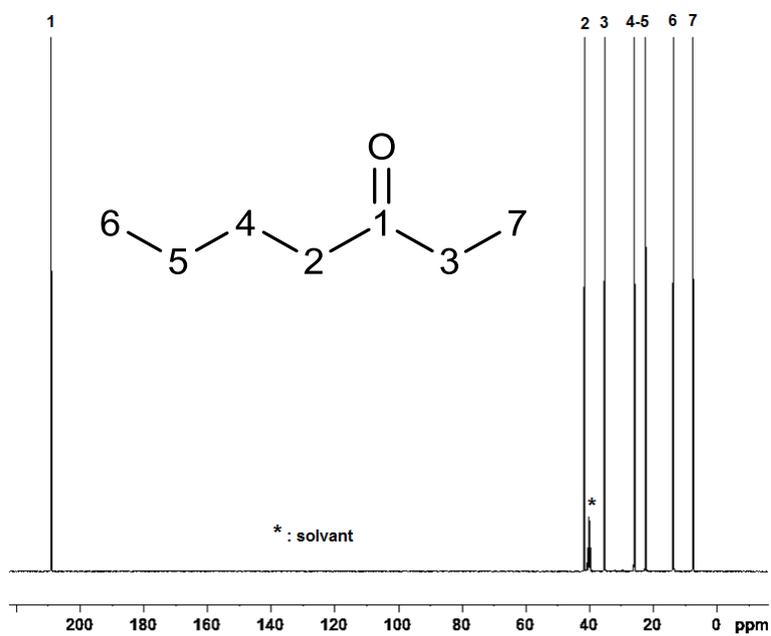
composé	acétone	2-heptanone	3-heptanone	4-heptanone
V composé (μL)	600	600	600	600
solvant deutéré	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆
V solvant deutéré (μL)	100	100	100	100
Concentration relaxant (M)	0.1	0.1	0.1	0.1
SW (ppm)	250	254	261	256
o1p (ppm)	118	110	109	111
o2p (ppm)	2.2	1.5	1.5	1.5
d1 (s)	32	15	15	15



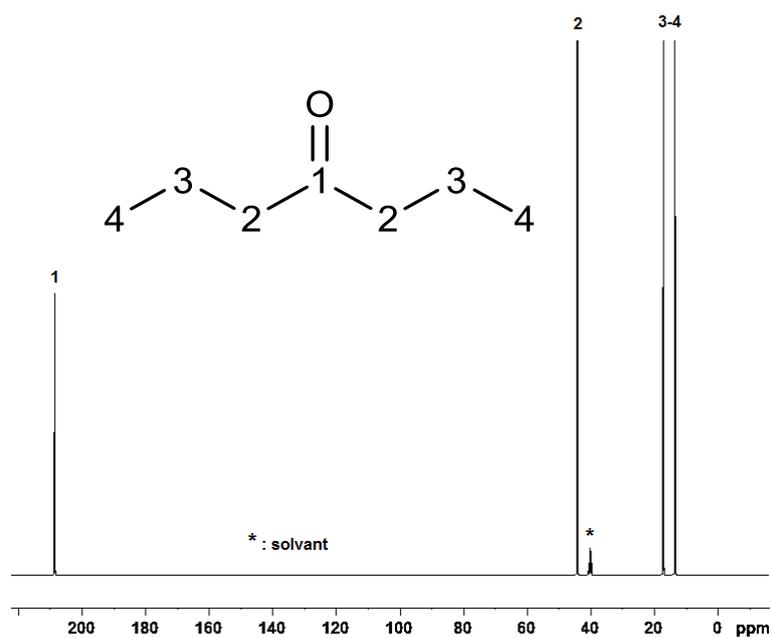
Spectre RMN ¹³C de l'acétone obtenu en conditions quantitatives.



Spectre RMN ^{13}C de la 2-heptanone obtenu en conditions quantitatives.



Spectre RMN ^{13}C de la 3-heptanone obtenu en conditions quantitatives.



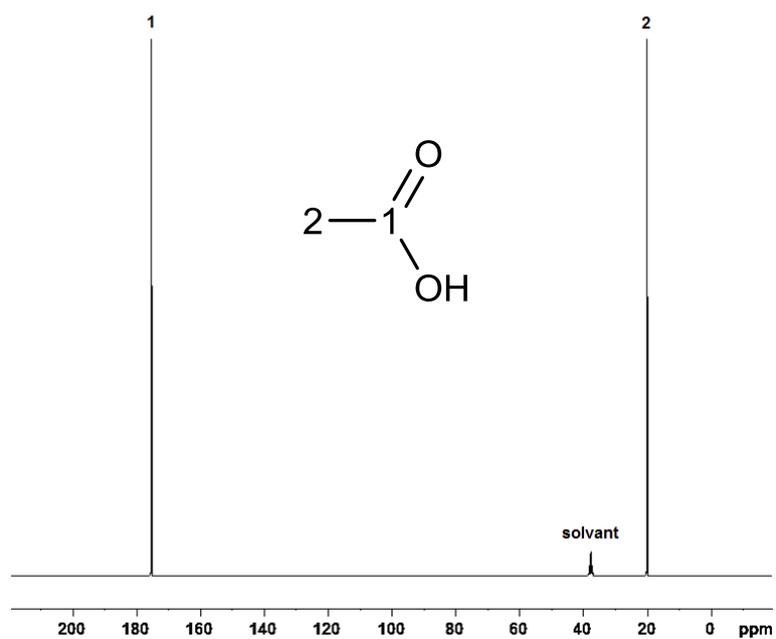
Spectre RMN ^{13}C de la 4-heptanone obtenu en conditions quantitatives.

Analyse des autres Composés Organiques Volatiles (VOCs) :

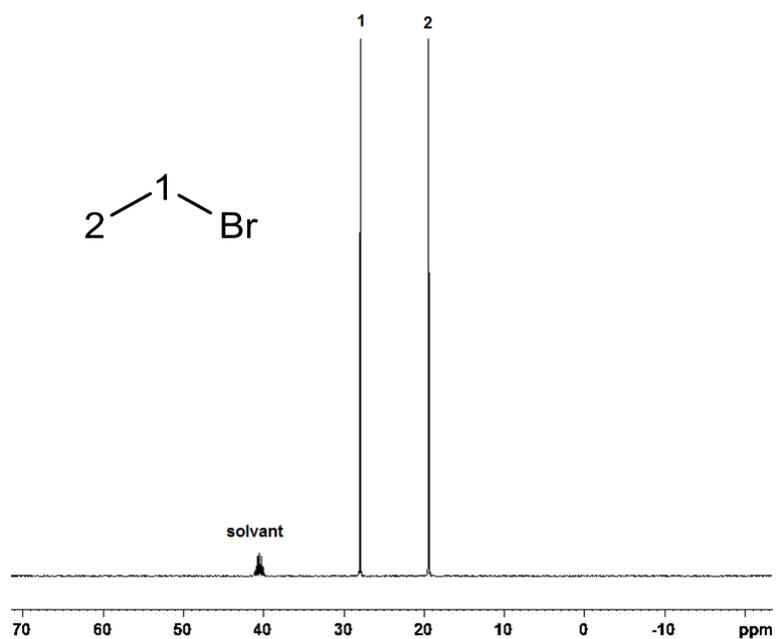
L'ensemble des autres VOCs utilisés dans cette étude ont été analysés en utilisant les préparations d'échantillons et les conditions d'acquisition décrites dans le tableau suivant.

Les spectres de présentés ci-après décrivent la numérotation employée pour chacun de ces composés.

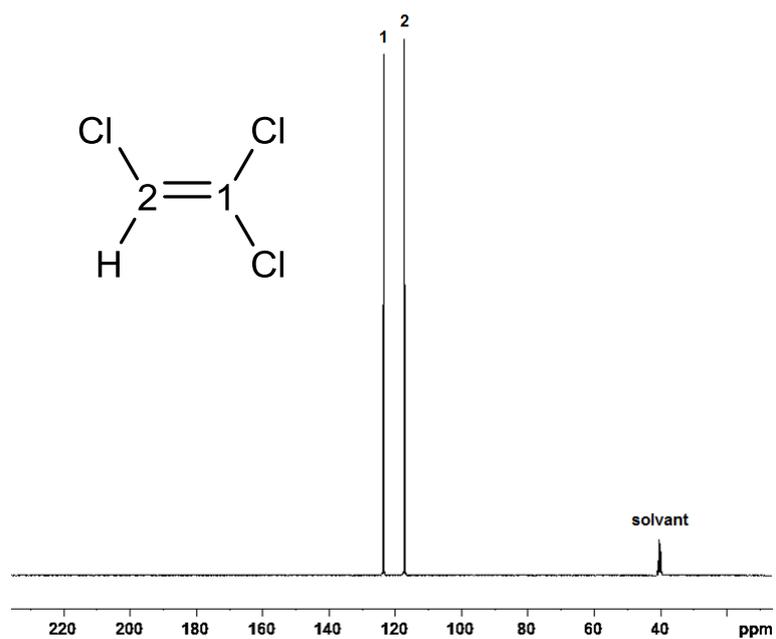
composé	acide acétique	bromoéthane	TCE	acetonitrile
V composé (μL)	480 + 120 μL eau	600	600	600
solvant deutéré	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆	DMSO-d ₆
V solvant deutéré (μL)	100	100	100	100
Concentration relaxant (M)	0.1	0.1	0.2	0.2
SW (ppm)	238	95	160	200
o1p (ppm)	100	24	83	60
o2p (ppm)	7	2.6	6.5	2.1
d1 (s)	20	33	16	28
composé	acétate d'éthyle	toluène	heptane	
V composé (μL)	600	500	500	
solvant deutéré	DMSO-d ₆	acétonitrile-d ₃	dioxane-d ₈	
V solvant deutéré (μL)	100	200	200	
Concentration relaxant (M)	0.2	0.2	0.1	
SW (ppm)	220	220	160	
o1p (ppm)	93	69	23	
o2p (ppm)	2.7	5.7	1.2	
d1 (s)	24	13	22	



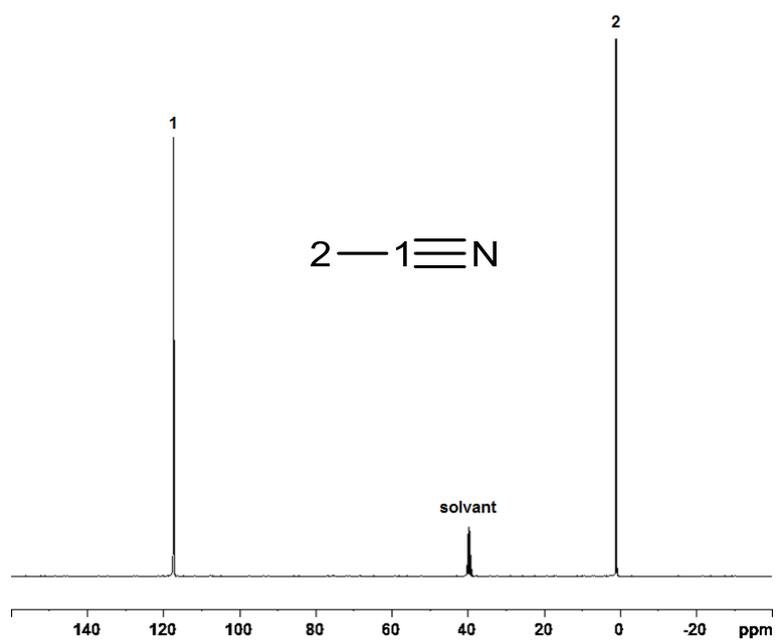
Spectre RMN ^{13}C de l'acide acétique obtenu en conditions quantitatives.



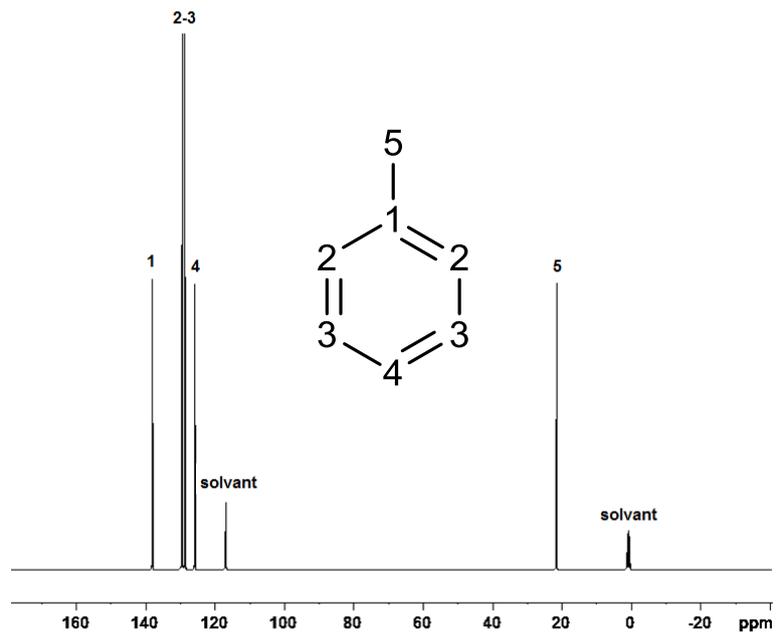
Spectre RMN ^{13}C du bromoéthane obtenu en conditions quantitatives.



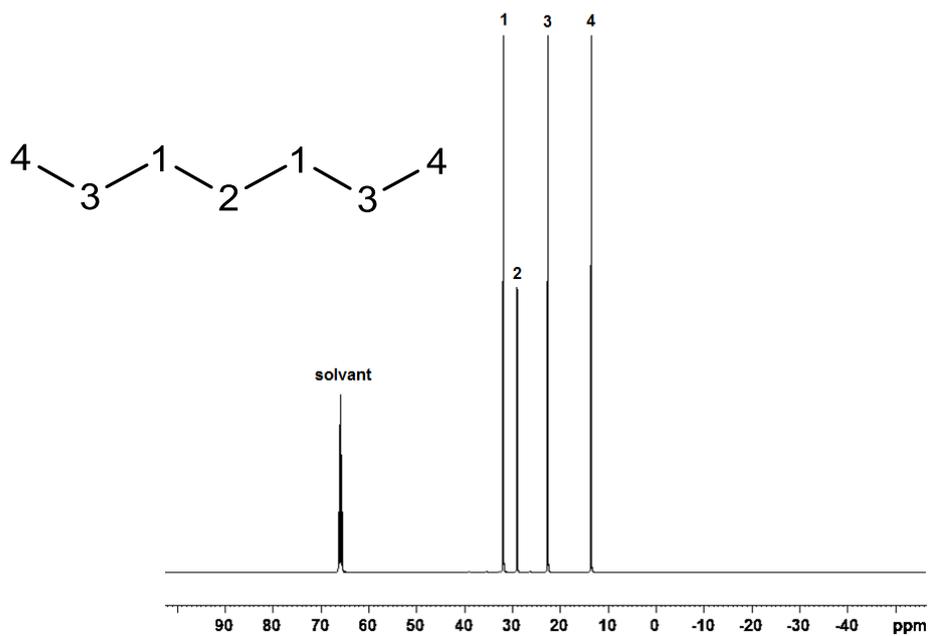
Spectre RMN ^{13}C du TCE obtenu en conditions quantitatives.



Spectre RMN ^{13}C de l'acétonitrile obtenu en conditions quantitatives.



Spectre RMN ^{13}C du toluène obtenu en conditions quantitatives.



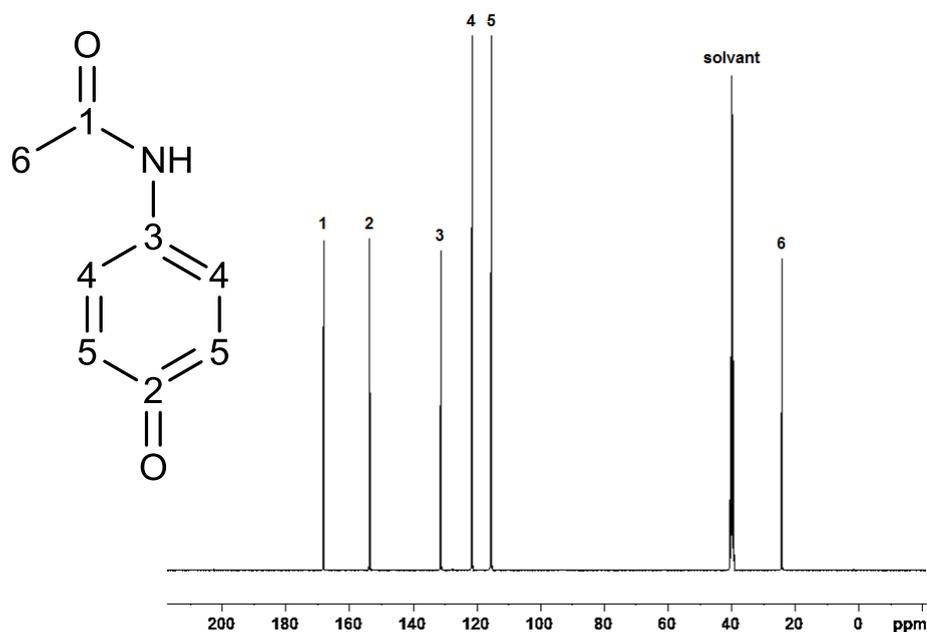
Spectre RMN ^{13}C du *n*-heptane obtenu en conditions quantitatives.

Analyse du paracétamol :

Le paracétamol a été analysé en utilisant la préparation d'échantillons et les conditions d'acquisition décrites dans le tableau suivant.

Le spectre de présenté ci-après décrit la numérotation.

composé	paracétamol
m composé (mg)	250
solvant deutéré	DMSO-d ₆
V solvant deutéré (μL)	600
SW (ppm)	238
o1p (ppm)	98
o2p (ppm)	6
d1 (s)	32



Spectre RMN ¹³C du paracétamol obtenu en conditions quantitatives.

Valorisation scientifique

Articles dans des revues disposant d'un comité de lecture

1- Enhanced forensic discrimination of pollutants by position-specific isotope analysis using isotope ratio monitoring by ^{13}C nuclear magnetic resonance spectrometry

Maxime Julien, Pierrick Nun, Patrick Höhener, Julien Parinet, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud, *Talanta*, **2016**, 147, 383-389.

2- Suppression of radiation damping for high precision quantitative NMR

Kevin Bayle, Maxime Julien, Gérald S. Remaud, Serge Akoka, *J. Magn. Res.*, **2015**, 259, 121-125.

3- Position-specific carbon isotope fractionation gives insights into mechanistic models for evaporation of organic liquids in the environment.

Maxime Julien, Pierrick Nun, Kevin Bayle, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud, Julien Parinet, Patrick Höhener, *Environ. Sci. Technol.*, **2015**, accepté, DOI: 10.1021/acs.est.5b03280.

4- Fractionation in position-specific isotope composition during vaporization of environmental pollutants measured with isotope ratio monitoring by ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance spectrometry

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Kevin Bayle, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud, *Environ. Pollut.*, **2015**, 205, 299-306.

5- Conditions to obtain precise and true measurements of the intramolecular ^{13}C distribution in organic molecules by isotopic ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance spectrometry

Kevin Bayle, Alexis Gilbert, Maxime Julien, Keita Yamada, Virginie Silvestre, Richard J. Robins, Serge Akoka, Naohiro Yoshida, and Gérald S. Remaud, *Anal. Chim. Acta.*, **2014**, 846, 1-7.

6- Predicting equilibrium vapour pressure Isotope Effects by using artificial neural networks or multi-linear regression - a quantitative structure property relationship approach

Julien Parinet, Maxime Julien, Pierrick Nun, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud, and Patrick Höhener, *Chemosphere*, **2015**,134, 521-527.

Communications orales dans des congrès

1- What is the contribution of Position-Specific Isotope Analysis (PSIA) in environmental studies?

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

Workshop 'INTRA III', October 5-6, 2015, Aix en Provence, France.

2- Modelling of position-specific isotope effects measured by isotopic quantitative ^{13}C NMR occurring during volatilization of environmental pollutants

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

Isotopes 2015, June 21-26, 2015, Jerusalem, Israël.

3- New insights on the vaporization phenomenon and its implications in pollution remediation from intramolecular ^{13}C compositions measured by isotopic ^{13}C NMR spectrometry

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Kevin Bayle, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

7th International Symposium on Isotopomers (ISI 2014), July 1-4, 2014, Yokohama, Japan.

4- Intramolecular ^{13}C isotopic fractionation measured by quantitative NMR: Application to liquid-vapour transformations of soil pollutants

Maxime Julien, Pierrick Nun, Gérald S. Remaud

Journée de l'Ecole Doctorale 3MPL, June 16-17, 2014, Nantes, France.

5- Best model for volatilization process using NMR measurement?

Maxime Julien, Pierrick Nun, Gérald S. Remaud

Workshop 'INTRA I', October 21-23, 2013, Nantes, France.

Communications par affiches dans des congrès

1- Position-Specific Isotope Effects associated with liquid-vapour transformations

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Kevin Bayle, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

Workshop 'INTRA III', October 5-6, 2015, Aix en Provence, France.

2- Does the use of PSIA make it possible to identify more efficiently the source of an environmental contamination?

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Kevin Bayle, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

Workshop 'INTRA III', October 5-6, 2015, Aix en Provence, France.

3- Determination of position-specific isotope effects during sorption of paracetamol measured by isotopic ^{13}C NMR spectrometry

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Kevin Bayle, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

Isotopes 2015, June 21-26, 2015, Jerusalem, Israël.

4- New insights on the vaporization phenomenon and its implications in pollution remediation from intramolecular ^{13}C compositions measured by isotopic ^{13}C NMR spectrometry

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Kevin Bayle, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

7th International Symposium on Isotopomers, July 1-4, 2014, Yokohama, Japan.

5- Intra-molecular ^{13}C fractionation patterns during liquid – vapour transformations

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

10th Applied Isotopes Geochemistry conference, September 22-27, 2013, Budapest, Hungary.

6- Site-specific ^{13}C fractionation due to distillation: influence of molecular structure of alcohols.

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

10th Applied Isotopes Geochemistry conference, September 22-27, 2013, Budapest, Hungary.

7- Challenges in isotopic ^{13}C NMR spectrometry for modelling isotope effects in soil contamination

Pierrick Nun, Maxime Julien, Julien Parinet, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

10th Applied Isotopes Geochemistry conference, September 22-27, 2013, Budapest, Hungary.

8- Intramolecular ^{13}C fractionation measured by isotopic NMR: Application to liquid – vapour transitions

Maxime Julien, Julien Parinet, Pierrick Nun, Patrick Höhener, Richard J. Robins, Gérald S. Remaud

Journée de l'Ecole Doctorale 3MPL, June 17-18, 2013, Angers, France.

Position-Specific Isotope Effects associated with liquid-vapour transformations

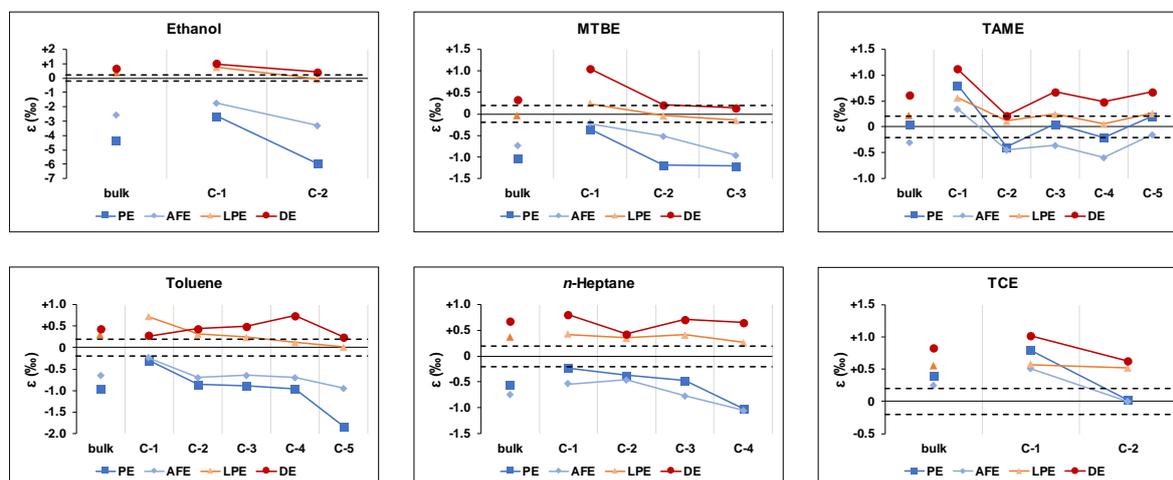
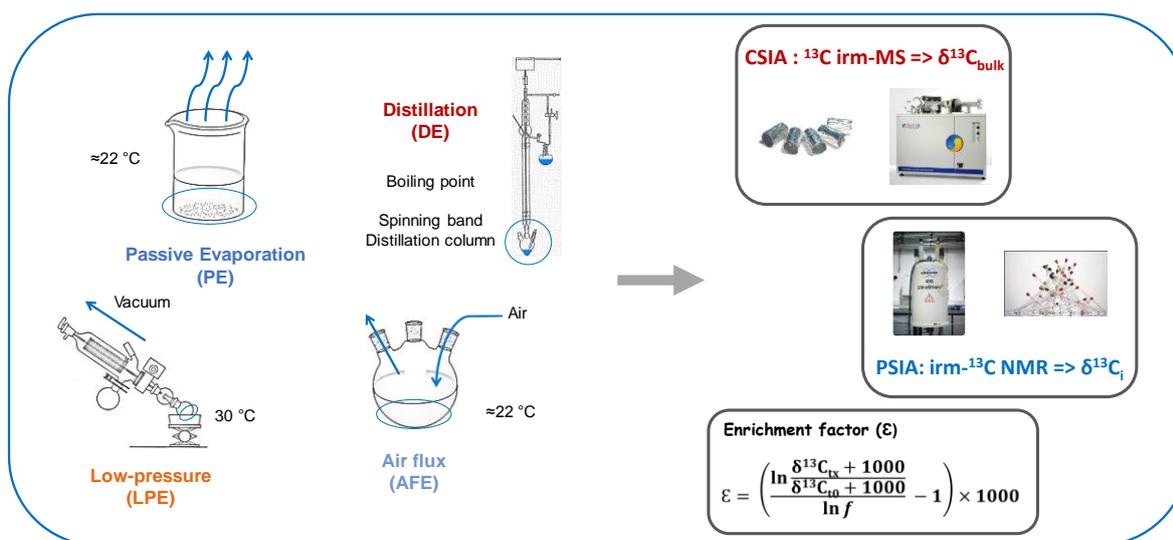
Maxime Julien^a – Julien Parinet^b – Pierrick Nun^a – Patrick Höhener^b – Richard J. Robins^a – Gérard S. Remaud^a

^a EBSI team, CEISAM UMR 6230, University of Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France

^b Laboratoire Chimie Provence UMR 6264, Campus de Saint Jérôme, avenue Escadrille-Normandie-Niemen, F-13397 Marseille, France

E-mail: maxime.julien@univ-nantes.fr

Volatilization is one of the most important ways that Volatile Organic Compounds (VOCs) are eliminated from contaminated soil or water. Natural evaporation has already been studied using many different protocols to simulate this phenomenon and irm-MS is commonly used to analyze the associated isotopic fractionation¹. **But, do these experiments really reproduce the isotopic fractionation observed with natural volatilization?** In this study, the behaviour of six different molecules (ethanol, MTBE, TAME, toluene, *n*-heptane and TCE) have been compared in four different volatilization tests. It has already been observed that volatilization induces a bulk ¹³C enrichment of the remaining substrate, **but is this enrichment equivalent on each carbon of the studied molecules?** Position-specific ¹³C enrichment factors (E) have been determined using isotope ratio monitoring by ¹³C NMR spectrometry (irm-¹³C NMR)².



The Position-Specific Isotope Analysis (PSIA) performed using irm-¹³C NMR demonstrates how a deeper understanding of liquid/vapour transformations can be obtained compared with measurement by irm-MS³. These results confirm that isotopic enrichment (or depletion) is not equally distributed between the different atoms of a molecule. This study shows the influence of the nature of chemical functions and structures on Position-Specific ¹³C Isotope Effects (PSIEs). Volatilization conditions are also seen to influence the nature of the fractionation: note, for example, with opposite ¹³C isotope effects between passive volatilization and equilibrium distillation.

References:

1. Elsner M., et al., *J. Environ. Monit.*, **2010**, *12*, 2005-2031.
2. Julien M., et al., *Environ. Pollut.*, **2015**, *205*, 299-306
3. Gilbert A., et al., *Talanta*, **2012**, *99*, 1035-1039.

Does the use of PSIA make it possible to identify more efficiently the source of an environmental contamination?

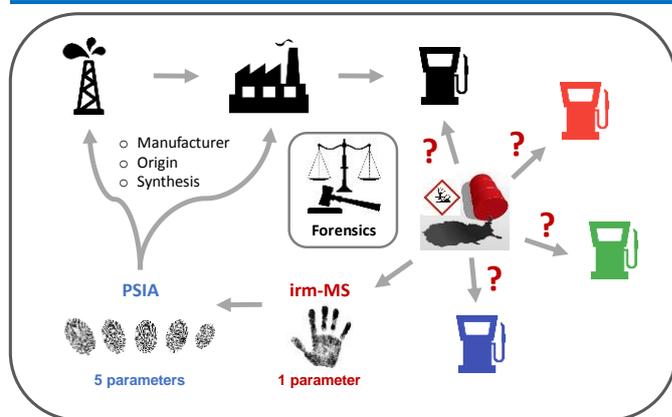
Maxime Julien^a – Julien Parinet^b – Pierrick Nun^a – Patrick Höhener^b – Richard J. Robins^a – Gérald S. Remaud^a

^a EBSI team, CEISAM UMR 6230, University of Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France

^b Laboratoire Chimie Provence UMR 6264, Campus de Saint Jérôme, avenue Escadrille-Normandie-Niemen, F-13397 Marseille, France

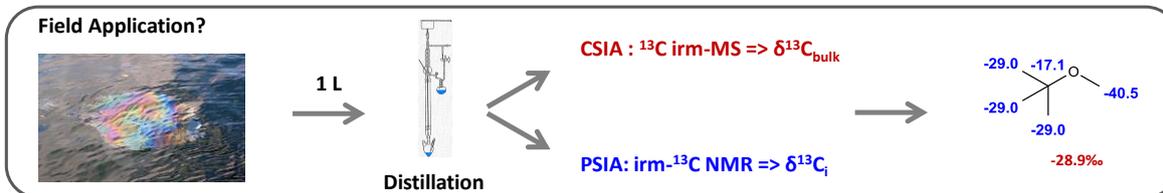
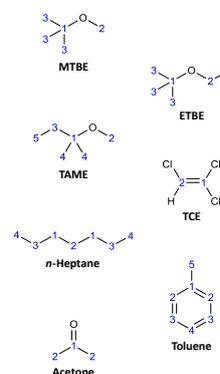
E-mail: maxime.julien@univ-nantes.fr

In forensic environmental investigations the main issue concerns the inference of the source for determining the liable party. Isotope measurements in geochemistry, combined with complimentary techniques for contaminant identification, have contributed significantly to source determination at polluted sites. In this work we have determined the intramolecular ¹³C profiles of several molecules well-known as pollutants. By giving additional analytical parameters, Position-Specific Isotope Analysis performed with isotope ratio monitoring by ¹³C Nuclear Magnetic Resonance (irm-¹³C NMR) spectrometry¹ gives new information to help in answering the major question: what is the origin of the detected contaminant? We have shown that isotope profiling of the core of a molecule reveals both the raw materials and the process used. Thus, irm-¹³C NMR is shown to be a very good complement to Compound-Specific Isotope Analysis (CSIA) currently performed by mass spectrometry (irm-MS) for assessing polluted sites involving substantial spills of pollutant^{2,3}.



	irm- ¹³ C NMR	irm-MS
amount of sample	500-600 µg	1 mg
settings	depend on the molecule	routine
purity	≥95% or no signal overlap	≥95% or GC coupling
Derivatization	Yes, if signal overlap	Possibly, if performing CSIA

		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)					
		bulk	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5
MTBE	M1	-28.9	-17.1	-40.5	-29.0	-	-
	M2	-28.3	-15.6	-37.5	-29.5	-	-
	M3	-27.6	-13.4	-41.1	-27.7	-	-
ETBE	E1	-21.1	-11.6	-8.5	-31.4	-12.1	-
	E2	-21.7	-12.1	-9.2	-32.1	-12.8	-
	E3	-21.1	-10.9	-7.1	-32.2	-12.1	-
TAME	TA1	-26.3	-16.0	-41.7	-24.1	-24.5	-26.8
	TA2	-25.9	-13.4	-43.6	-22.9	-24.2	-26.9
TCE	TC1	-30.7	-32.6	-28.8	-	-	-
	TC2	-35.0	-26.1	-43.9	-	-	-
	TC3	-26.2	-25.5	-26.9	-	-	-
n-Heptane	H1	-28.9	-26.7	-35.3	-27.6	-29.1	-
	H2	-41.9	-41.7	-51.1	-42.7	-36.7	-
Toluene	To1	-23.1	-12.6	-23.9	-25.6	-25.4	-24.7
	To2	-27.3	-22.2	-26.4	-28.3	-28.2	-31.4
	To3	-27.2	-22.6	-26.9	-27.3	-28.2	-30.9
Acetone	A1	-30.6	-12.8	-39.4	-	-	-
	A2	-24.7	-7.3	-33.4	-	-	-
	A3	-6.4	12.7	-16.0	-	-	-



The additional parameters retrieved from PSIA using irm-¹³C NMR are potentially of considerable benefit for environmental forensic investigations in which the characterization of the source of pollution is of primary importance. The isotopic profiling of the core of a molecule reveals both the raw materials and the process used⁴. The main constraint of this method is its low sensitivity/long acquisition time for small samples. This is the reason why new NMR sequences are currently being developed to use smaller amount of sample. Nevertheless, even in its current configuration irm-¹³C NMR can be seen to provide a good complement to existing isotope measurement techniques in environmental sciences.

References:

1. Caytan E., *et al.*, *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 8266-8269.
2. Négrel P., *et al.*, *TrAC*, **2012**, 38, 143-153.
3. Philip R. P., *et al.*, *Environ. Chem. Lett.*, **2007**, 5, 57-66.
4. Julien M., *Talanta*, **2015**, article under review.

Determination of Position-Specific Isotope Effects measured by isotopic ^{13}C NMR spectrometry during sorption of Paracetamol

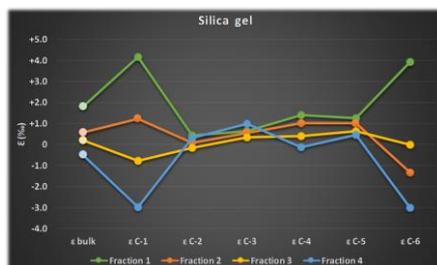
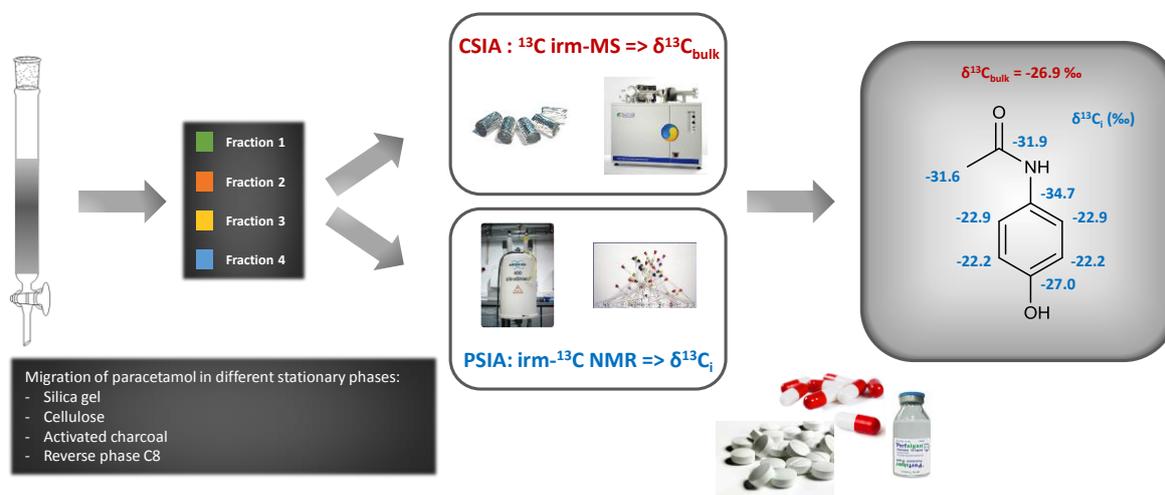
Maxime Julien^a - Mathilde Liégeois^a - Julien Parinet^b - Pierrick Nun^a - Patrick Höhener^b - Richard J. Robins^a - Gérald S. Remaud^a

^a EBSI team, CEISAM UMR CNRS 6230, University of Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France

^b Aix-Marseille Université-CNRS, Laboratoire Chimie Environnement FRE 3416, Campus St.Charles, place Victor Hugo 3, F-13331 Marseille, France

e-mail: maxime.julien@univ-nantes.fr

Paracetamol (acetaminophen) is one of the most widely used analgesics and is often found in groundwater at high concentrations¹. This contamination is a huge problem because paracetamol can be transformed into N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) and 1,4-benzoquinone during wastewater treatment by sodium hypochlorite² which are toxic at low concentrations. Therefore, it is of great interest to understand better the behaviour of paracetamol during its migration in soil before contamination of groundwater. Compound-Specific Isotope Analysis (CSIA) using ^{13}C isotope ratio monitoring by Mass Spectrometry (^{13}C irm-MS) has already been used to identify isotopic fractionation during sorption of organic pollutants. But this technic only allows to obtain a bulk isotopic composition which is a mean of the different carbon sites of the molecule. In this study, Position-Specific Isotope Analysis (PSIA) has been performed using isotopic quantitative ^{13}C NMR spectrometry (irm- ^{13}C NMR)³, which has already proved to be an efficient method to determine non-covalent position-specific isotope effects^{4,5}. The technic has been applied to study the migration of paracetamol using liquid chromatography. Four different stationary phases, with variable polarity, have been used to give a better description of the link between isotope effects and interactions involved during migration in soil.



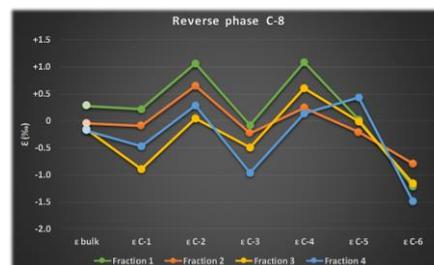
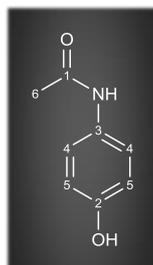
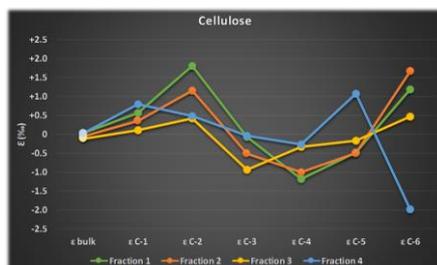
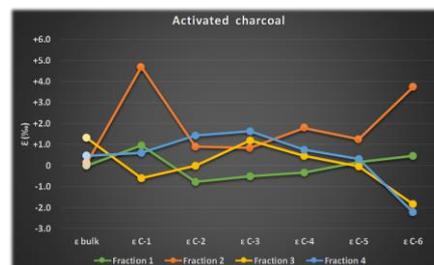
α : fractionation factor

$$\alpha = 1 + \left(\frac{\ln \frac{\delta^{13}\text{C}_x + 1000}{\delta^{13}\text{C}_0 + 1000}}{\ln f} \right)$$

ϵ : enrichment factor

$$\epsilon = (\alpha - 1) \times 1000$$

Expanded uncertainty of ϵ : $\pm 1.1\%$



Comments:

CSIA of paracetamol using ^{13}C irm-MS shows small or insignificant bulk isotopic fractionation during paracetamol migration, depending on the stationary phase used. The use of PSIA with irm- ^{13}C NMR gives an access to more detailed information about the observed phenomena. As an example, a small bulk normal isotope effect is observed in the first fraction of migration in silica gel and irm- ^{13}C NMR analysis demonstrates that this effect stems from significant interactions at C-1 and C-6 of the molecule, but the bulk effect is diluted by non-significant effects at all positions. Moreover, when no isotope effect is measured with irm-MS, for example during migration in cellulose, PSIA can detect that this result is due to a counteractive contribution of normal and inverse isotope effects located on the different carbon sites of the molecule. These results clearly demonstrate that irm- ^{13}C NMR can be an excellent complementary tool to study pollutants removal.

References:

- Lapworth D. J. et al. (2012) *Environ. Pollut.*, **163**, 287-303.
- Bedner M. et al. (2006) *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 516-522.
- Silvestre V. et al. (2009) *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **50**, 336-341.
- Botosoa E. P. et al. (2009) *Anal. Biochem.*, **393**, 182-188.
- Höhener P. et al. (2012) *Chemosphere*, **87**, 445-452.

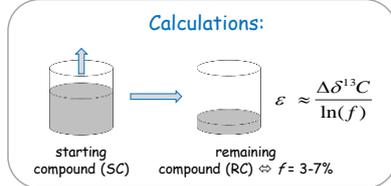
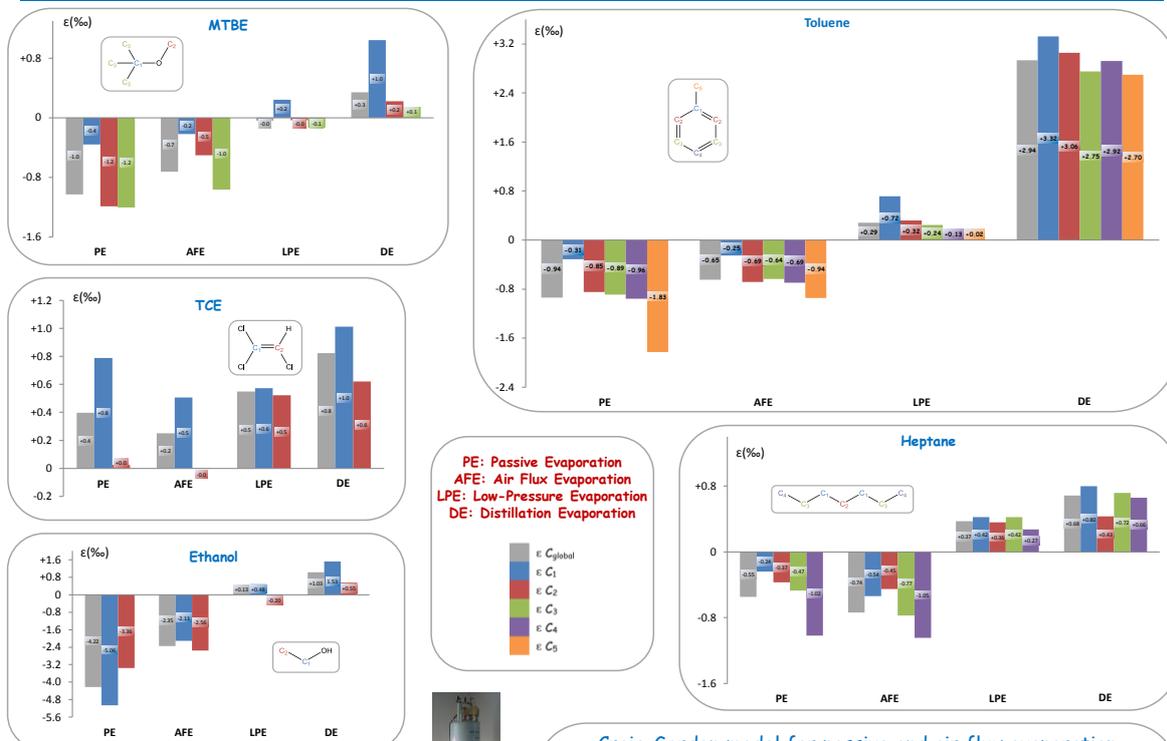
funded by the project ANR ISOTO-POL (CESA 009001)

New insights on the vaporization phenomenon and its implications in pollution remediation from ^{13}C Position Specific Isotope Analysis (PSIA) by isotopic ^{13}C NMR spectrometry

Maxime Julien ^a - Julien Parinet ^b - Pierrick Nun ^a - Kevin Bayle ^a - Patrick Höhener ^b - Richard J. Robins ^a - Gérald S. Remaud ^a
^a EBSI team, CEISAM UMR CNRS 6230, University of Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France
^b Laboratoire Chimie Provence UMR 6264, Campus de Saint Jérôme, avenue Escadrille-Normandie-Niemen, F-13397 Marseille, France
 E-mail: maxime.julien@univ-nantes.fr

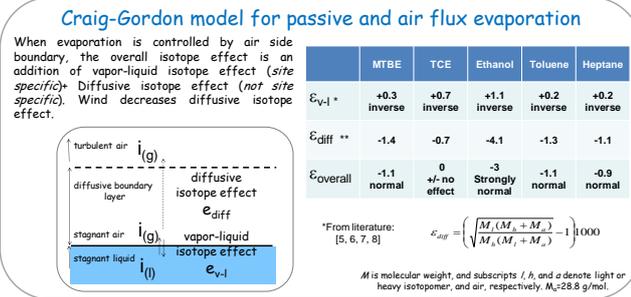
Objectives:

The abiotic and biotic evolution of a contaminant is usually studied using measurements of ^{13}C isotopic fractionation by mass spectrometry (irm-MS) [1]. Recently the interest of the measurements of ^{13}C intramolecular composition by quantitative isotopic NMR (iq-NMR) has been demonstrated in several domains [2, 3, 4]. The present work aims to show the contribution of Position-Specific Isotope Analysis (PSIA) to modelling the isotope fractionations during pollution remediation. Thus, molecules considered as pollutant (MTBE, toluene, trichloroethene (TCE) and heptane), as well as ethanol for NMR model have been studied by iq-NMR and irm-MS, after application of four volatilization experimental protocols: passive evaporation (PE), air flux evaporation (AFE), low-pressure evaporation (LPE) and volatilization upon distillation (DE). As a result, the answer to the question "What is the best model to describe the evaporation of the pollutant in the field?" could collect new arguments from the new isotope profiles built up from isotopic ^{13}C NMR spectrometry. In a first approach, the Craig-Gordon model can be applied by separating the vapor-liquid isotope effects and the diffusive isotope effect in the gas phase.



Experimental:

Bruker 400 MHz NMR spectrometer, S/N > 1700 ⇒ S-D = 0.3‰
 Carbon atoms are numbered as ^{13}C decreasing chemical shift



Comments:

LPE and DE experiments reveal the vapor-liquid isotope effect at low and high temperature, respectively. This vapor-liquid effect is clearly position-specific and mostly inverse. Under passive evaporation, the diffusion effect shifts the effects to normal overall effects, except for TCE where diffusion effect is small. The position-specific pattern from vapor-liquid effect is mostly preserved (except for TCE and heptane), suggesting that the diffusion effect is not position-specific. The diffusion effect is lower under vented (Air Flux) evaporation.

PSIA by iq-NMR reveals more information than the bulk (global) isotope measurement: for $\Delta\delta^{13}\text{C}_3 \approx 0$, $\Delta\delta^{13}\text{C}_5$ may be very significant; and for a similar $\Delta\delta^{13}\text{C}_5$ between experiments, $\Delta\delta^{13}\text{C}_3$ may differ (+) and (-). The present study shows that the simulation of evaporation for understanding physical degradations of a pollutant requires new models including site-specific isotope fractionation.

References:

- Elsner M. (2010) *J. Environ. Monit.* **12**, 2005-2031
- Gilbert A. et al. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 18204-18209
- Remaud G.S. et al. (2013) *Eur. J. Pharma. Sci.*, **48**, 464-473
- Höhener P. et al. (2013) *Chemosphere*
- Kuder T. et al. (2009) *Environ. Sci. Technol.*, **43**, 1763-1768
- Jeannotat S. et al. (2012) *Environ. Sci. Technol.*, **46**, 3169-3176
- Botsios EP. et al. (2007). *JACS*, **130**, 414-415
- Harrington RR. et al. (1999) *Organic Geochemistry*, **30**, 765-775

Intramolecular ¹³C fractionation patterns during liquid/vapor transformations

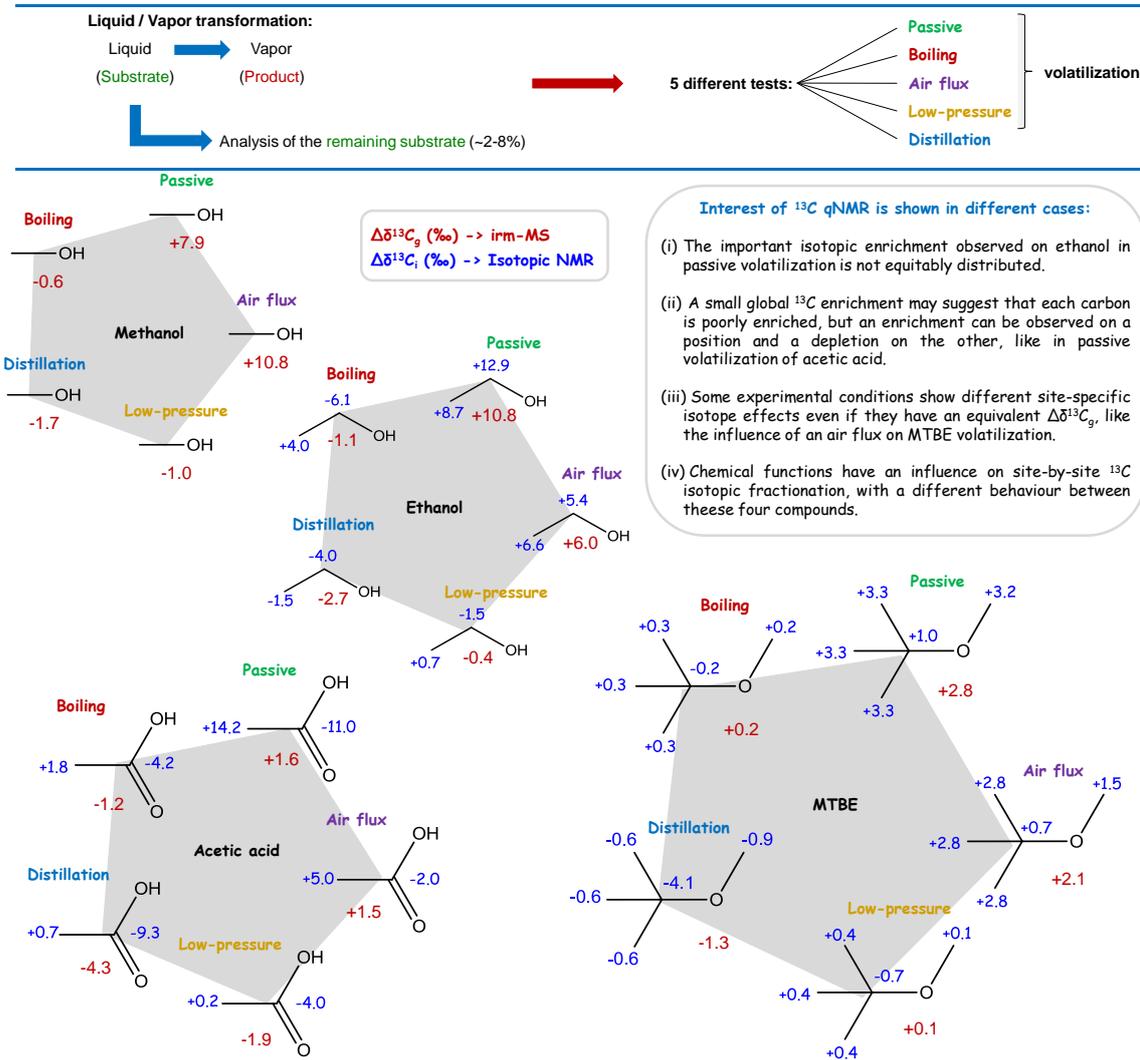
Maxime Julien ^a - Julien Parinet ^b - Pierrick Nun ^a - Patrick Höhener ^b - Richard J. Robins ^a - Gérald S. Remaud ^a

^a EBSI team, CEISAM UMR 6230, University of Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France

^b Laboratoire Chimie Provence UMR 6264, Campus de Saint Jérôme, avenue Escadrille-Normandie-Niemen, F-13397 Marseille, France

E-mail: maxime.julien@univ-nantes.fr

Volatilization is one of the most important ways that volatile pollutants are eliminated from contaminated soil or water. Natural volatilization has already been studied using many different protocols to simulate this phenomenon and irm-MS is commonly used to analyze the associated isotopic fractionation¹. **But, do these experiments really reproduce the isotopic fractionation observed with natural volatilization?** In this study, the behavior of four different molecules (methanol, ethanol, acetic acid and methyl *tert*-butyl ether) have been compared in five different volatilization tests. It has already been observed that volatilization induces a global ¹³C enrichment of the remaining substrate, but is this enrichment equivalent on each carbon of the studied molecules? Site-specific ¹³C compositions have been determined using isotopic ¹³C NMR spectroscopy².



The site-by-site analysis performed using ¹³C isotopic qNMR demonstrates how a deeper understanding of liquid/vapor transformations can be obtained compared with irm-MS measurements³. This results confirm that isotopic enrichment (or depletion) is not equally distributed between the different atoms of a molecule. This study shows the influence of the nature of chemical functions and structures on site-specific ¹³C isotopic fractionation. Volatilization conditions are also seen to influence the fractionation: note, for example, with opposite ¹³C isotope effects between passive volatilization and equilibrium distillation.

References:

1. Elsner M., *et al.*, J. Environ. Monit., 2010, 12, 2005-2031.
2. Botsooa E. P., *et al.*, J. Chromatogr., 2009, 1216, 7043-7048.
3. Gilbert A., *et al.*, Talanta, 2012, 99, 1035-1039.

Site-specific ^{13}C fractionation during distillation: Influence of the molecular structure of alcohols

Maxime Julien^a - Julien Parinet^b - Pierrick Nun^a - Patrick Höhener^b - Richard J. Robins^a - Gérard S. Remaud^a

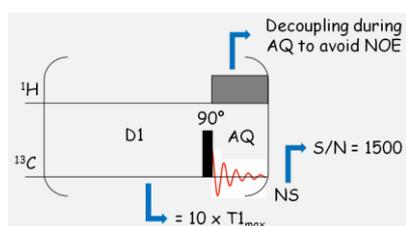
^a EBSI team, CEISAM UMR 6230, University of Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes, France

^b Laboratoire Chimie Provence UMR 6264, Campus de Saint Jérôme, avenue Escadrille-Normandie-Niemen, F-13397 Marseille, France

e-mail: maxime.julien@univ-nantes.fr

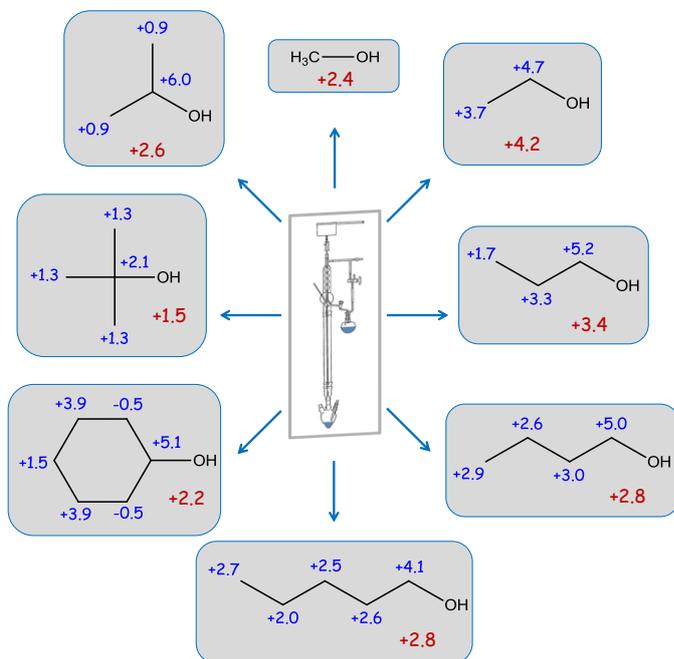
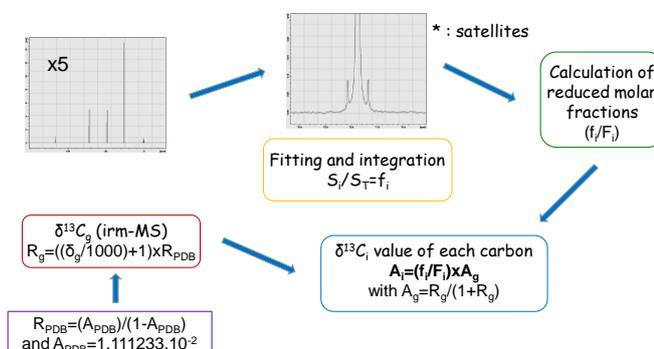
Isotopic fractionation analysis has proved to be an efficient method to study physical phenomena like sorption¹. In this study, isotopic measurements are used to understand how the chemical structure of molecules bearing an alcohol function (-OH) influences their behavior during distillation. According to data obtained with irm-MS, distillation induces a global ^{13}C isotopic enrichment in the distillate. But, is this enrichment equally distributed between the different carbons of the studied molecules? By isotopic NMR, the site-specific isotopic composition is readily measured².

NMR Protocol



Pulse sequence used to perform isotopic NMR.
Challenge: to be able to detect a change of the peak area by only 0.05%!

Calculations



Equilibrium Distillation

Analysis of the first 3% of the distillation product (head), obtained using a spinning band distillation column.

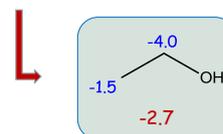
$\Delta\delta^{13}\text{C}_g$ (‰) -> irm-MS

$\Delta\delta^{13}\text{C}_i$ (‰) -> Isotopic NMR

It is shown that:

- the ^{13}C isotopic enrichment is mainly located on the carbon bearing the alcohol function.
- the magnitude of the isotopic fractionation diminishes as the carbon becomes more and more distal to the alcohol function.
- the last carbon of long chain alcohols ($\geq 3\text{C}$) is more enriched than others atoms which are far from the alcohol function.

An important ^{13}C depletion is observed in the remaining 7% of substrate confirming the previous observations.



Isotopic NMR is an excellent tool to obtain site-specific $\delta^{13}\text{C}$ values with a precision of 1‰. A major highlight of what can be learned from these investigations is illustrated by the very new information obtained on ^{13}C fractionation, not revealed by irm-MS. Only knowing the average $\delta^{13}\text{C}_g$ value can be misleading when interpreting isotope effects. If this is equal to 0, does it mean that there is no fractionation or, rather, that there is a counteractive contributions of normal and inverse isotope effects from different carbon sites? For example in liquid/vapor transitions, $\delta^{13}\text{C}_g$ does not show the site-specific isotopic fractionation amplitude³.

References:

- Höhener P., *et al.*, Chemosphere, 2012, 87, 445-452.
- Caytan E., *et al.*, Anal. Chem., 2007, 79, 8266-8269.
- Botosoa E. P., *et al.*, J. Am. Chem. Soc., 2008, 130, 414-415.

Détermination des Effets Isotopiques Position-Spécifiques par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) du carbone-13 et modélisation de la remédiation du méthyl *tert*-butyl éther (MTBE).

Des méthodologies innovantes semblent être nécessaires pour mieux détecter l'origine des polluants, et pour la compréhension des processus physiques impliqués dans leur évolution dans le milieu. En outre, il est indispensable de vérifier si le traitement conduit à une minéralisation complète (efficacité du nettoyage). La mesure isotopique est un outil fondamental pouvant être utilisé dans la gestion d'une pollution : confinement, propagation et possibilités de bioremédiation est proposée dans le projet ISOTO-POL. En illustration de ce principe, le MTBE, fréquemment détecté dans les zones aquifères, est donné comme exemple.

Les isotopes stables ont été utilisés avec succès pour démontrer la biodégradation naturelle ou améliorée des hydrocarbures pétroliers et additifs dans le sol et les eaux souterraines. Jusqu'à présent, seul le fractionnement isotopique total en ^{13}C a été exploité, en utilisant la teneur en isotope mesurée par spectrométrie de masse de rapport isotopique (irm-MS). Mais cela conduit à une perte d'information importante concernant le site de la molécule concerné par la transformation. En revanche, la spectrométrie RMN offre la capacité de mesurer, site par site les rapports $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, donnant accès à de nouvelles informations.

La méthodologie RMN isotopique permettra de déterminer les effets isotopiques position-spécifiques impliqués dans les transformations physiques (volatilisation et migration), chimiques (hydrolyse et oxydation) ainsi que la dégradation par les microorganismes. La construction d'un modèle fournira un moyen unique permettant la détection et le traçage détaillé d'un polluant donné, mais également la détermination de son origine.

RMN ^{13}C isotopique – Analyse Isotopique Position-Spécifique – effet isotopique – MTBE – remédiation – modélisation – RMN quantitative – SMRI

Determination of position-specific isotope effects using ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectrometry and modeling of methyl *tert*-butyl ether (MTBE) remediation.

Better methodologies appear to be necessary for detecting the origins of given pollutants, and for understanding the natural processes involved in their migration routes, biodegradation and eventual disappearance. In addition, it is essential to check whether treatment leads to complete mineralization or if cleaning of the polluted area is effective. Isotopic measurement is a fundamental tool that can be used in the management of a pollution to provide indicators as to containment, spread and bioremediation possibilities is proposed in the ISOTO-POL project. As a complete illustration of this principle, MTBE, which is frequently detected in surface and ground water, is given as an example.

Stable isotopes have been used successfully to demonstrate the natural or enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons, solvents, and gasoline additives in soil and groundwater. So far, overall isotopic fractionation in ^{13}C has been exploited, the isotope content being measured by isotope ratio mass spectrometry (irm-MS), but this leads to the loss of valuable position-related information. In contrast, NMR spectrometry offers the capability to measure position-specific $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios, giving new information.

Isotopic NMR methodology will allow to determine position-specific isotope effects involved in physical transformations (volatilization and migration), chemical (hydrolysis and oxidation) as well as degradation by microorganisms. The construction of a model will provide a unique means to allow detailed detection and tracing of a given pollutant and the determination of its origin as well.

^{13}C isotopic NMR – Position-Specific Isotope Analysis – MTBE – remediation – modeling – quantitative NMR – irm-MS

Thèse de Doctorat

Maxime JULIEN

Détermination des effets isotopiques position-spécifiques (PSIA) par RMN quantitative isotopique du carbone-13 et modélisation de la remédiation du méthyl tert-butyl éther (MTBE).

Determination of position-specific isotope effects using ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectrometry and modeling of methyl *tert*-butyl ether (MTBE) remediation.

Résumé

Des méthodologies innovantes semblent être nécessaires pour mieux détecter l'origine des polluants, et pour la compréhension des processus physiques impliqués dans leur évolution dans le milieu. En outre, il est indispensable de vérifier si le traitement conduit à une minéralisation complète (efficacité du nettoyage). La mesure isotopique est un outil fondamental pouvant être utilisé dans la gestion d'une pollution : confinement, propagation et possibilités de bioremédiation est proposée dans le projet ISOTO-POL. En illustration de ce principe, le MTBE, fréquemment détecté dans les zones aquifères, est donné comme exemple.

Les isotopes stables ont été utilisés avec succès pour démontrer la biodégradation naturelle ou améliorée des hydrocarbures pétroliers et additifs dans le sol et les eaux souterraines. Jusqu'à présent, seul le fractionnement isotopique total en ^{13}C a été exploité, en utilisant la teneur en isotope mesurée par spectrométrie de masse de rapport isotopique (irm-MS). Mais cela conduit à une perte d'information importante concernant le site de la molécule concerné par la transformation. En revanche, la spectrométrie RMN offre la capacité de mesurer, site par site les rapports $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, donnant accès à de nouvelles informations.

La méthodologie RMN isotopique permettra de déterminer les effets isotopiques position-spécifiques impliqués dans les transformations physiques (volatilisation et migration), chimiques (hydrolyse et oxydation) ainsi que la dégradation par les microorganismes. La construction d'un modèle fournira un moyen unique permettant la détection et le traçage détaillé d'un polluant donné, mais également la détermination de son origine.

Mots clés

RMN ^{13}C isotopique – analyse isotopique position-spécifique – effet isotopique – MTBE – remédiation – modélisation – RMN quantitative – SMRI

Abstract

Better methodologies appear to be necessary for detecting the origins of given pollutants, and for understanding the natural processes involved in their migration routes, biodegradation and eventual disappearance. In addition, it is essential to check whether treatment leads to complete mineralization or if cleaning of the polluted area is effective. Isotopic measurement is a fundamental tool that can be used in the management of a pollution to provide indicators as to containment, spread and bioremediation possibilities is proposed in the ISOTO-POL project. As a complete illustration of this principle, MTBE, which is frequently detected in surface and ground water, is given as an example.

Stable isotopes have been used successfully to demonstrate the natural or enhanced biodegradation of petroleum hydrocarbons, solvents, and gasoline additives in soil and groundwater. So far, overall isotopic fractionation in ^{13}C has been exploited, the isotope content being measured by isotope ratio mass spectrometry (irm-MS), but this leads to the loss of valuable position-related information. In contrast, NMR spectrometry offers the capability to measure position-specific $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios, giving new information.

Isotopic NMR methodology will allow to determine position-specific isotope effects involved in physical transformations (volatilization and migration), chemical (hydrolysis and oxidation) as well as degradation by microorganisms. The construction of a model will provide a unique means to allow detailed detection and tracing of a given pollutant and the determination of its origin as well.

Key Words

Isotopic ^{13}C NMR – position-specific isotope analysis – isotope effect – MTBE – remediation – modelling – quantitative NMR – irm-MS