



HAL
open science

Analyse des actinides dans les urines en situation de crise par couplage entre les colonnes calix[6]arènes et un spectromètre de masse à plasma induit

Sarah Baghdadi

► **To cite this version:**

Sarah Baghdadi. Analyse des actinides dans les urines en situation de crise par couplage entre les colonnes calix[6]arènes et un spectromètre de masse à plasma induit. Radiochimie. Université Paris Sud - Paris XI, 2015. Français. NNT: 2015PA112081 . tel-01179457

HAL Id: tel-01179457

<https://theses.hal.science/tel-01179457>

Submitted on 22 Jul 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE 534 :
MODÉLISATION ET INSTRUMENTATION EN PHYSIQUE, ÉNERGIES, GÉOSCIENCES
ET ENVIRONNEMENT

Laboratoire : *Laboratoire de Radiochimie*

THÈSE DE DOCTORAT

CHIMIE

par

Sarah BAGHDADI

Analyse des actinides dans les urines en situation
de crise par couplage entre les colonnes
calix[6]arènes et un spectromètre de masse à
plasma induit

Date de soutenance : 27/05/2015

Composition du jury :

Directeur de thèse :

Rapporteurs :

Examineurs :

Membre invitée (encadrante) : Dr Céline BOUVIER-CAPELY

Pr. Gérard COTE

Pr. Micheline DRAYE

Dr. Clarisse MARIET

Pr. Éric SIMONI

Dr. Jean AUPIAIS

Dr. Philippe CORREZE

Professeur (ENSCP, Paris)

Université de Chambéry

CEA, DPC, Saclay

Université Paris-Sud, Orsay

CEA, DAM, Bruyère Le Châtel

Areva, La Hague

IRSN, Fontenay-aux-Roses

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Mme Michelle Agarande et Mme Valérie Renaud-Salis, chef de service et adjointe au chef de Service de Dosimétrie Interne, ainsi que Mr François Rebière, chef du Laboratoire de RadioChimie, de m'avoir accueillie au sein de leur service et de leur laboratoire respectivement. Je voudrais également les remercier pour leurs conseils et leur suivi tout au long de mon travail de thèse.

Je tiens également à remercier Mr Philippe Barboux, chef de l'équipe RM'D de l'Institut de Recherche de Chimie Paristech, de m'avoir accueillie au sein de son équipe ainsi que pour son intérêt pour mes travaux malgré une présence quelque peu erratique au laboratoire.

Je remercie Mme Clarisse Mariet et Mme Micheline Draye d'avoir accepté d'être rapporteur de mon travail et pour leurs précieux conseils.

Je remercie également Mr Eric Simoni et Mr Jean Aupiais d'avoir accepté de juger mon travail de thèse mais aussi pour leur suivi et leurs conseils grâce au comité de thèse.

Merci également à Mr Philippe Corrèze pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et pour ses commentaires.

Je voudrais remercier Mr Gérard Cote pour avoir dirigé mes travaux. Je vous remercie d'avoir toujours répondu à mes questions et d'avoir recadré mes idées éparpillées quand il le fallait. Je vous remercie également pour les discussions toujours fructueuses que nous avons eues.

Je tenais tout particulièrement à remercier Mme Céline Bouvier-Capely d'avoir encadré ma thèse avec autant de patience. Merci pour toutes les conversations passionnantes et d'avoir laissé débordé mon imagination tout en étant là pour rattraper les dégâts (et on ne parlera pas du manuscrit). Merci également pour tes encouragements, tes toujours excellents conseils (scientifiques ou non) et ta gentillesse. Il ne faut pas non plus que j'oublie ton sens de l'humour. Si quelqu'un lit ceci : ne laissez pas trainer vos chaussures ! ;-). J'ai vraiment passé trois années de thèse fantastiques (Heureusement que je n'ai pas écrit les remerciements en janvier).

Mes remerciements vont également à Mr Alexandre Legrand. Tu m'as appris à démonter un ICP-MS, tous tes trucs et astuces mais aussi qu'il fallait garder son calme en toutes circonstances ;-). Merci pour ta gentillesse, les débats passionnés et ma nouvelle culture musicale.

Je voulais aussi remercier Mme Annabelle Manoury. Merci pour ton coup de pouce sur la dernière ligne droite mais aussi pour ta gentillesse et tes bons conseils ((je t'envoie un message si j'achète une maison ☺)).

Comment commencer le paragraphe suivant (j'ai épuisé toutes mes accroches et puis ça commence à en faire des répétitions...). Mais pour une fois j'ai une excuse : la thèse c'est loin d'être un travail solitaire et il y'a beaucoup de personnes sans qui ça n'aurait pas été pareil.

Merci à Mr Grégory Lefèvre pour ses conseils. Je vous remercie de m'avoir laissé m'amuser avec l'Infra Rouge (surtout pour mes expériences bizarres avec l'autorisation d'Athénaïs ;-)) et pour toutes les discussions que nous avons eues. Merci d'avoir toujours répondu à mes questions avec gentillesse.

Je voulais également remercier Mme Céline Fosse. Merci pour toutes mes manip' qui ne marchaient pas toujours. Je te remercie également de ta gentillesse et pour toutes les discussions que nous avons pu avoir sur plein de sujets.

En parlant d'expériences qui sortent de l'ordinaire, je voulais remercier Mr Sylvain Bassot, Mme Evelyne Barker et Mme Aurélie Ritt pour leur aide et leur gentillesse tout au long de cette étude (satanés phosphates). Merci Sylvain d'avoir accepté que je réalise les analyses au sein du L...T2S (ouf c'est la bonne). Merci Evelyne pour toutes les mesures sur la résine et pour avoir toujours accepté de toujours tester des choses dessus. Aurélie, je te remercie d'avoir toujours pris le temps de réaliser mes analyses d'urines ☺ et d'avoir toujours cherché à m'arranger avec le sourire. Les phosphates et moi se souviendront de vous ;-).

Merci à Mme Laureline Février pour nos échanges fructueux. J'espère que nous aurons l'occasion de nous rencontrer.

Je tenais à remercier Mme Aurélie Sylvain, Mr Clément Beyaert et Mr Aymeric Peroux, Mme Binta Mane sans qui cette thèse aurait été tout autre. Merci beaucoup pour votre aide, votre bonne humeur et votre gentillesse. Promis, j'ai fait des progrès en rangement de paille.

Je tenais tout particulièrement à remercier Mme Sophie Grivès, ma co thésarde, sans qui ces trois années auraient été bien plus dures. Merci d'avoir été là dans les bons et les mauvais moments. Malgré nos caractères diamétralement opposés, je n'aurai pas souhaité partager mon bureau avec quelqu'un d'autre. Merci de ton soutien sans failles.

Merci à Mme Christelle Elie. Bon je commence par quoi, parce que je dois me faire pardonner de la soutenance :-s... Merci pour les franches parties de rigolades de bonne heure devant l'ICP et au labo. Je te remercie pour toujours être de bonne humeur et terre à terre. Merci également de ton soutien.

Je remercie particulièrement Mme Géraldine Landon. Merci de ta gentillesse, de tes toujours bons conseils et de ton soutien.

Merci également à Mr Guillaume Phan. Merci de ta gentillesse, ta bonne humeur et ton bon gout en matière de chocolat.

Je remercie sincèrement, Mme Floriane Carpentier, merci de ton soutien de ton sourire et pour les bonbons qui furent particulièrement appréciés.

Je souhaite également remercier Mme Estelle Dasvenne, Mme Cécile Chailleton de Vathaire et Mr Eric Blanchardon pour leur gentillesse et leurs conseils notamment sur la partie dose.

Merci également à Mme Aurélie Desbrée, Mme Alice Petitguillaume, Mme Alexandra Moignier et Mme Laura Fabianno pour les discussions toujours plus au moins au détour d'un couloir. Merci pour vos sourires et votre bonne humeur.

Merci à Mme Athénaïs Davantès et Mme Réka Toth. Merci pour votre gentillesse, votre bonne humeur votre aide et pour m'avoir laissé emprunter votre directeur de thèse de temps en temps ;-). Merci à Mr Gauthier Deblonde pour avoir fait de la biblio dans le rer (ou pas).

Merci à Marianna, Gauthier, Denis, Guilherme, Kévin, Céline, Jacinthe, Guillaume, Pauline, Thing Nun, Domitille, Laurène, Guillaume M. , Domitille pour votre gentillesse et nos discussions pas toujours scientifiques mais toujours très sympathiques.

Merci à Mme Juliette Ambroise pour son habilité à naviguer les méandres administratifs et avec un toujours grand sourire.

Je remercie également Mr David Suhard pour les images de microscopie optique.

Plus personnellement, je tenais à remercier mes parents pour leur soutien tout au long de mes études. Merci maman pour la relecture ☺.

Merci à mes sœurs. Heureusement Yasmine que tu étais là pour gérer à la soutenance. Ca ne se serait pas passé aussi bien si tu n'avais pas été là.

Je tenais également à remercier Cyrielle. Merci pour m'avoir laissé déblatérer pendant toutes ces années de mes mésaventures de thésarde et pas seulement... mais aussi pour avoir corrigé mon manuscrit.

Merci également à Antoine pour m'avoir empêché de trop ruminer et pour les soirées jeux endiablées.

Merci Alexandre pour tes astuces biblio et ton soutien promis je t'écouterai la prochaine fois ;-)

Merci à Carine pour les week-end décompression, ton soutien et les machines ;-)

Merci aux plus ou moins anciens de l'IPN : Aurélie, Olivia, les Sébastiens, Samir pour votre amitiés et nos organisations de restau. Je tiens cependant à vous rappeler que j'ai enfin rejoint le club (oui je sais on s'en moque ;-))

Merci à Elodie pour nos séances jogging papotage qui nous ont bien permis de nous défouler. Merci également aux thésards de l'IRSN : Azza, Simon, Zack, Clélia, Stephania, Marie pour les bonnes soirées passées ensemble.

Finalement, je tenais à remercier tous ceux sans qui cette thèse n'aurait pas pu se dérouler comme il le fallait : Laurent, Quentin, Sébastien, Antoine, Adrien, Emilie,... Merci pour vos dons non contraints ☺

J'espère n'avoir oublié personne. Si c'était le cas je m'en excuse...

TABLE DES MATIERES

<i>Liste des figures</i>	4
<i>Liste des tableaux</i>	7
<i>Liste des abréviations et des symboles</i>	8
<i>Introduction générale</i>	9
<i>Chapitre I : Etat de l'art</i>	13
I. Rayonnements et Radioprotection	14
I.1. La radioactivité	14
I.2. Les rayonnements	15
I.3. Les différents types d'exposition	15
I.4. La mesure des radionucléides en cas de contamination	16
I.5. La dose	17
I.6. La radioprotection.....	19
II. La chimie des actinides	22
II.1. Généralités.....	22
II.2. L'uranium.....	22
II.3. Le plutonium	28
II.4. L'américium	32
II.5. Conclusion.....	35
III. Les urines	35
IV. La spéciation	36
IV.1. Généralités.....	36
IV.2. Force ionique.....	36
IV.3. Thermodynamique.....	36
IV.4. Logiciel de spéciation.....	37
IV.5. La spéciation des actinides en milieux biologiques.....	39
V. La chromatographie en phase liquide (CPL)	39
V.1. Principes et généralités	39
V.2. Les grandeurs chromatographiques	40
V.3. Les phases solides	42
V.4. Les phases mobiles.....	48
VI. Analyses radiotoxicologiques pour les émetteurs alpha	49
VI.1. Analyses de routine	49
VI.2. Analyses en situation de crise.....	53
VII. La spectrométrie de masse à plasma induit (ICP-MS)	60
VII.3. Généralités.....	60
VII.4. Principe	60
VII.5. L'ICP-MS pour l'analyse des actinides en radiotoxicologie	65

VII.6. Conclusion.....	70
VIII. Le couplage.....	70
VIII.1. Généralités	70
VIII.2. Chromatographie liquide et ICP-MS.....	70
VIII.3. Couplage pour les analyses radiotoxicologiques	71
VIII.4. Conclusion	75
IX. Conclusion.....	78
Chapitre II : Matériels et méthodes.....	80
I. Solutions	81
I.1. Urines.....	81
I.2. Solutions de contamination synthétiques	81
II. Imprégnation des calix[6]arènes sur la résine de polystyrène divinylbenzène	81
III. Utilisation des résines	82
III.1. Préparation et utilisation.....	82
III.2. Calculs des rendements.....	84
IV. Techniques d'analyses utilisées	85
IV.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	85
IV.2. Spectroscopie Infra-Rouge par Réflexion Totale Atténuée (IR-ATR).....	86
IV.3. Microscopie Electronique à Balayage	86
IV.4. Granulométrie Laser	87
IV.5. Minéralisation au four à micro-ondes	87
IV.6. Mesures ioniques dans les urines.....	87
IV.7. Pycnométrie : mesure de densité.....	88
IV.8. Mesures de carbone organique total.....	90
Chapitre III : Stratégie d'extraction.....	92
I. Introduction.....	93
II. Caractérisation de la résine.....	94
II.1. Etude structurale	94
II.2. Etude de la déformulation du support chromatographique.....	100
II.3. Conclusion.....	107
III. Stratégie d'extraction des actinides par les colonnes calix[6]arènes.....	108
III.1. Mise en place du protocole de minéralisation.....	108
III.2. Reprise du précipité et minéralisation au four à micro-ondes (Etapes 3 et 4)	117
III.3. Choix de la résine d'extraction et des conditions opératoires (Etape 5 Figure 38).....	119
III.4. Composition ionique et interférences.....	120
III.5. Optimisation du protocole de minéralisation	128
IV. Conclusion.....	130
Chapitre IV : Couplage	132
I. Introduction.....	133

II. Optimisations « hors-ligne »	134
II.1. Présentation du système.....	134
II.2. Débits d'extraction	134
II.3. Stratégie d'éluion	135
III. Couplage "semi automatisé" à l'aide du système ISIS (Integrated Sample Injection System).....	143
III.1. Présentation du système.....	143
III.2. Optimisation des paramètres chromatographiques	145
III.3. Choix de la méthode d'étalonnage	151
III.4. Limite de détection instrumentales en ²³⁸ U	154
III.5. Conclusion.....	155
IV. Application aux analyses radiotoxicologiques	156
IV.1. Limites de détection de la méthode	156
IV.2. Détermination de la dose associée aux limites de détection	158
IV.3. Conclusion.....	159
V. Développement du système automatisé	161
V.4. Mise en place et présentation du système.....	161
V.5. Etudes préliminaires	162
VI. Conclusion	164
<i>Conclusion générale et perspectives</i>	<i>166</i>
<i>Bibliographie.....</i>	<i>172</i>
<i>Annexes</i>	<i>182</i>
I. Composition partielle des urines	183
II. Exemples d'abaques du rapport TIARA (Ménétrier et al., 2007).....	184
III. Thermodynamique.....	187
III.1. Modélisation des coefficients d'activité	187
III.2. Constantes thermodynamiques et extrapolation.....	188
III.3. Constantes thermodynamiques.....	189
IV. Les méthodes d'étalonnage	190
V. Protocole de minéralisation optimisé.....	192
VI. Fonctionnement d'un spectromètre de masse à plasma induit.....	193
VI.1. Introduction de l'échantillon	194
VI.2. Ionisation et plasma	195
VI.3. L'optique ionique	196
VI.4. Filtres de masses ou analyseurs	196
VI.5. Détection.....	197
VII. Liste de potentiels redox	198

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Ecrantage des différents rayonnements.....	15
Figure 2 : (a) Ion uranyle et (b) sphère de solvation (Roques <i>et al.</i> , 2009)	25
Figure 3 : Diagramme de Pourbaix de l'uranium (Vitorge, 1999)	26
Figure 4 : Hydrolyse de l'ion uranyle dans l'eau en l'absence de complexants	26
Figure 5 : Diagramme de Pourbaix du plutonium (Vitorge, 1999).....	30
Figure 6 : Hydrolyse du plutonium (IV) en l'absence de précipitation dans l'eau	30
Figure 7 : Diagramme de Pourbaix de l'américium (Vitorge, 1999).....	34
Figure 8 : Hydrolyse de l'américium III en milieu non complexant	34
Figure 9 : Représentation des plateaux théoriques.....	41
Figure 10 : Représentation d'un pic chromatographique (ici gaussien) et de ses principales caractéristiques	41
Figure 11 : Protocole de séparation des actinides précédant une mesure par spectrométrie alpha en radiotoxicologie (HARDUIN <i>et al.</i> , 1996).....	43
Figure 12 : Formule générale des calix[n]arènes.....	44
Figure 13 : Représentation d'un p-terbutyl calix[4]arène(Bassez, 1998).....	44
Figure 14 : (a) 1,3,5-OCH ₃ -2,4,6-OCH ₂ COOH- <i>p-tert</i> -butylcalix[6]arène et (b) 1,3,5-OCH ₃ -2,4,6-OCH ₂ CO-NHOH- <i>p-tert</i> -butylcalix[6]arène.....	45
Figure 15 : Extraction de U, Pu, Am par le calix[6]arène hydroxamique ou carboxylique en système liquide-liquide en fonction du pH à partir de solutions de contamination synthétiques de nitrate de sodium	46
Figure 16 : Protocole de séparation de U, Pu, Am contenus dans une urine minéralisée (Bouvier-Capely <i>et al.</i> , 2009)	47
Figure 17 : Minimum d'activité détectable (limites de détection) pour ²¹⁰ Po, ²²⁶ Ra, ²⁴¹ Am (A) pour Fe ₃ O ₄ (B) pour Fe-Mn-O (O'Hara <i>et al.</i> , 2011)	57
Figure 18 : Représentation du biais en masse.....	61
Figure 19 : ICP-MS 7700x du Laboratoire de RadioChimie.....	62
Figure 20 : Classification des actinides en fonction de leurs périodes et des limites de détection obtenues par la spectrométrie alpha et l'ICP-MS (Bouvier-Capely <i>et al.</i> , 2004)	67
Figure 21 : Comparaison entre l'analyse par ICP-MS de la fraction d'élution hors couplage et son analyse en ligne.....	71
Figure 22 : Exemples de schémas de couplage issus de la littérature. (a) : Larivière et coll. (Larivière <i>et al.</i> , 2008) (b) Benkhedda et coll. (Benkhedda <i>et al.</i> , 2005)	72
Figure 23 : Résumé des différentes étapes d'utilisation de la colonne.....	84
Figure 24 : Schéma de principe de la spectroscopie IR-ATR.....	86
Figure 25 : Spectromètre IR monté avec la platine ATR munie d'une presse.....	86
Figure 26 : Schéma de principe du pycnomètre © LT2S.....	89
Figure 27 : Pycnomètre AccuPyc 1340 MICROMETRICS © LAME.....	89
Figure 28: Spectre en absorbance Infra-Rouge ATR et attribution des bandes d'absorption associées dans le cas du 1,3,5-OCH ₃ -2,4,6-OCH ₂ COOH- <i>p-tert</i> -butylcalix[6]arène	95
Figure 29: Spectre en absorbance Infra-Rouge ATR et attribution des bandes d'absorption associées dans le cas du 1,3,5-OCH ₃ -2,4,6-OCH ₂ CONHOH- <i>p-tert</i> -butylcalix[6]arène.....	96
Figure 30 : Spectre Infrarouge en absorbance par ATR du polystyrène divinylbenzène (CG3000), des calix[6]arènes carboxyliques et hydroxamiques, et des résines imprégnées CH et CC.....	98
Figure 31 : Grossissement de la Figure 30 de 2000 à 500 cm ⁻¹	98
Figure 32 : Représentation d'un spectre de résine obtenu par granulométrie laser	99
Figure 33 : Exemple de chromatogramme obtenu sur la colonne CP Sil 8.* temps de rétention	102
Figure 34 : Extractions successives de l'heptanol dissous dans l'eau par du dodécane.....	102
Figure 35 : Analyses par ajouts dosés de l'heptanol contenu dans les solutions de mouillage en contact avec les résines CC (a) et CC (b)	103
Figure 36 : Clichés obtenus par microscopie optique sur une résine imprégnée CC	106
Figure 37 : Images MEB de la résine CH après avoir été soumise à une pression de 20 bars	107
Figure 38 : Protocole de minéralisation.....	109
Figure 39 : Spéciation dans les urines en utilisant les constantes de Bernhard et coll. A I = 0 mol.L ⁻¹ . 111	111

Figure 40 : Spéciation dans les urines en utilisant les constantes de Bernhard et coll. A I = 0,47 mol.L ⁻¹	111
Figure 41 : Spéciation dans les urines en utilisant les constantes de Dong et Brooks. A I = 0,47 mol.L ⁻¹	112
Figure 42 : Spéciation dans les urines en utilisant les constantes de Dong et Brook après ajout de Mg(UO ₂)(CO ₃) ₃ ²⁻ . A I = 0,47 mol.L ⁻¹	113
Figure 43 : Spéciation dans les urines à I = 0,47 mol.L ⁻¹ . (a) UO ₂ ²⁺ , (b) PO ₄ ³⁻ , (c) Ca ²⁺ , (d) Mg ²⁺	115
Figure 44 : Signaux des actinides dans le surnageant en fonction du temps de décantation	116
Figure 45: Evolution de l'efficacité de l'extraction de l'uranium sur les colonnes CH en fonction de la concentration en phosphates dans les urines minéralisées	122
Figure 46: Spéciation de l'ion uranyle dans une urine minéralisée (a) urine 1 (b) urine 4	123
Figure 47 : Evolution des fractions de dihydrogénophosphates libres et d'uranyle libre (<i>i.e.</i> non complexé par les phosphates) en fonction de la concentration en calcium ajouté dans l'urine minéralisée 1 à pH ≈ 5,2	124
Figure 48 : Droites obtenues pour la détermination de la constante d'extraction K (a) variation de pH (b) variation de concentration en U	126
Figure 49 : Rendement théorique d'extraction de l'uranium en fonction de la concentration en calcium	127
Figure 50 : Schéma du montage dit « hors-ligne »	134
Figure 51 : Evolution du rendement d'extraction de l'uranium en milieu NaNO ₃ 1,40 mol.L ⁻¹ en fonction du débit d'extraction à pH = 5,2, sur des colonnes CH	135
Figure 52 : Acide 1-hydroxyéthane-1,1-diphosphonique ou HEDPA	137
Figure 53 : Diagramme de prédominance de l'acide phosphorique. Les droites représentent les pH d'élution	138
Figure 54 : Variation du rendement d'élution en fonction (a) de la concentration en acide phosphorique (b) du pH	138
Figure 55 : Diagramme de prédominance de l'acide oxalique. Les droites représentent les pH d'élution	139
Figure 56 : Etude de l'élution avec de l'acide oxalique (a) variation de la concentration en acide oxalique (b) variation de la concentration en acide chlorhydrique	140
Figure 57 : Variation du rendement d'élution de l'uranium en fonction de la (a) concentration en chlorure d'hydroxylammonium ([HCl] = 0,2 mol.L ⁻¹) (b) concentration en acide chlorhydrique ([NH ₄ OHCl] = 2,5 g.L ⁻¹)	141
Figure 58 : Variation des facteurs de capacité avec la concentration des éluants	142
Figure 59 : Schéma du système ISIS pour l'extraction des actinides en ligne par la colonne CH	144
Figure 60 : Variation de la hauteur de plateau théorique normalisée en fonction du diamètre de la colonne	147
Figure 61 : Exemple de chromatogramme obtenu pour les différents diamètres étudiés. Débit = 1,3 mL.min ⁻¹	147
Figure 62 : Effet de la variation du débit d'élution de l'uranium sur la géométrie du pic. Ø _{colonne} = 10mm	148
Figure 63 : Facteur d'asymétrie des pics chromatographiques en fonction du débit d'élution de l'uranium	149
Figure 64 : Variation du nombre de plateaux théoriques en fonction du débit d'élution de l'uranium	149
Figure 65 : Exemple de chromatogramme obtenu lors de la co-élution de U, Pu, Am	150
Figure 66 : Etalonnage chromatographique en milieu nitrate de sodium 0,04 mol.L ⁻¹	152
Figure 67 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse d'une solution de contamination synthétique dopée ²³⁸ U (analyte) et ²³³ U (traceur)	154
Figure 68 : Schéma du montage complètement automatisé	162
Figure 69 : Comparaison des hauteurs de plateaux théoriques normalisée entre le système automatisé et semi-automatisé	163
Figure 70 : Droite d'étalonnage externe	191
Figure 71 : Droite d'étalonnage par ajouts dosés	191
Figure 72 : Limites de détection et potentiels d'ionisation des éléments chimiques (UT2A)	193
Figure 73 : Schéma de principe d'un ICP-MS	194

Figure 74: Micro-nébuliseur concentrique de type MicroMist©.....	194
Figure 75 : Chambre de nébulisation : (a) à bille d'impact, (b) cyclonique, (c) de Scott.....	195
Figure 76 : Torche à plasma	195
Figure 77 : (a) Echantillonneur, (b) Ecrêteur, (c) Bloc lentille (Agilent).....	196
Figure 78 : Représentation du quadripôle	197
Figure 79 : Représentation du fonctionnement d'un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes (Agilent Technologies ©).....	197

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Facteurs de pondération pour les rayonnements (Nénot <i>et al.</i> , 2007)	17
Tableau 2 : Limites de doses corps entier	20
Tableau 3 : États d'oxydation des actinides en solution (en gras les DO les plus stables pour chaque actinide)	22
Tableau 4 : Propriétés de l'uranium naturel et des isotopes artificiels utilisés lors de cette étude (IAEA)	24
Tableau 5 : Classes des composés d'uranium pour le modèle respiratoire	27
Tableau 6 : Isotopes du plutonium émetteurs alpha à période > 1 an (IAEA)	29
Tableau 7 : Classes des composés du plutonium pour le modèle respiratoire	31
Tableau 8 : Propriétés des isotopes de l'américium émetteurs alpha à période > 1 an (IAEA)	33
Tableau 9 : Résumé des résultats des études mettant en œuvre des méthodes rapides pour l'analyse des émetteurs alpha par spectrométrie alpha	59
Tableau 10 : Résumé des études réalisées par couplage entre la chromatographie liquide et l'ICP-MS	77
Tableau 11 : Granulométrie des différentes résines	100
Tableau 12 : Masses volumiques des différentes résines	100
Tableau 13 : Composition typique des urines selon Sutton et Burastero (Sutton and Burastero, 2003)	109
Tableau 14 : Mesures de Carbone Organique Total sur des urines fraîches et minéralisées	117
Tableau 15 : Rendement d'extraction sur les colonnes CH.* moyenne sur les rendements non nuls ..	120
Tableau 16 : Composition ionique moyenne des urines fraîches et minéralisées. *Concentrations calculées. ** Le facteur de concentration n'est pas appliqué	121
Tableau 17 : Détails des concentrations de 4 urines minéralisées utilisées lors de cette étude. * Concentrations calculées	122
Tableau 18 : Résultats de la détermination de la constante d'extraction	126
Tableau 19 : Calcul des rendements théoriques d'extraction de l'uranium	127
Tableau 20 : Rendement d'extraction de l'uranium sur la colonne CH en fonction de la concentration en calcium ajouté	128
Tableau 21 : Effet de l'ajout de chlorure de calcium à 0,1 mol.L ⁻¹ sur le rendement d'extraction des actinides par les colonnes CH	129
Tableau 22 : Concentration testée pour les essais de concentration en acide oxalique et les pH des différentes solutions utilisées	139
Tableau 23 : Concentrations en chlorure d'hydroxylammonium et en HCl étudiées en mélange et les pH correspondant de ces différentes solutions	140
Tableau 24 : Comparaison des rendements d'élution des actinides à partir des colonnes CH dans les urines minéralisées en utilisant l'acide phosphorique 0,25 mol.L ⁻¹ et l'acide nitrique 1 mol.L ⁻¹ comme éluants	142
Tableau 25 : Protocole d'extraction en utilisant le système ISIS	144
Tableau 26 : Variation de la hauteur de pic en fonction de la taille de la colonne	147
Tableau 27 : Amélioration du signal apportée par la chromatographie en ligne	150
Tableau 28 : Extrait du certificat de la solution de ²³³ U	153
Tableau 29 : Résultats obtenus lors de la mesure des blancs réactifs pour déterminer les limites de détection dans les urines minéralisées	156
Tableau 30 : Résumé des différentes études de couplage comparables à ces travaux de thèse	160
Tableau 31 : Proposition de protocole pour le couplage automatisé	162
Tableau 32 : Paramètres d'Helgeson	188

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

A	Nombre de masses
A_e	Activité
AIEA(fr.)/IAEA(eng.)	Agence Internationale pour l'Énergie Atomique
ASN	Autorité de Sûreté Nucléaire
Bq	Becquerel 1 Bq = 1 désintégration/seconde
CC	Colonne à base de calix[6]arène carboxylique
CH	Colonne à base de calix[6]arène hydroxamique
Ci	Curie 1 Ci = $3,7 \cdot 10^{10}$ Bq
CIPR(fr.)/ICRP(eng.)	Comité International pour la Protection Radiologique
CMPO	Octyl(phenyl)-N,N-diisobutylcarbamoylmethylphosphine oxide
CPL	Chromatographie en phase liquide
cps	Coups par seconde
$D_{T,R}$	Dose absorbée (1 Sv)
E	Dose efficace
e_{50}	Paramètre de dose efficace engagée sur 50 ans
eV	Electron-Volt
FT-IR	Infra-rouge à transformée de Fourier
GC-MS	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
HEDPA	acide 1-hydroxyéthylidène diphosphonique
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
H_T	Dose équivalente
i	Activité incorporée
I	Force ionique
IUPAC(eng.)	International Union of Pure and Applied Chemistry
ICP-MS	Spectromètre de masse couplé à un plasma induit
IR-ATR	Infra-rouge à réflexion totale atténuée
k'	Facteur de capacité
LD	Limite de Détection
LQ	Limite de Quantification
MC-ICP-MS	ICP-MS à multi-collecteur
MDA	Minimum Detectable Activity
N	Signal ICP-MS
NEA(eng.)	Nuclear Energy Agency
NIST(eng.)	National Institute of Standards and Technology
OCDE(fr.)/OECD(eng.)	Organisation de Coopération et de Développement Economique
ppb	Partie par milliard ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
ppt	Partie par Trillion ($\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$)
PS-DVB	Polystyrène Divinylbenzène
Q-ICP-MS	ICP-MS quadripolaire
R	Rapport isotopique
s	Sensibilité
SF-ICP-MS	ICP-MS à secteur magnétique
TIS	Specific Interaction Theory (eng.)/ Théorie des Interactions Spécifiques (fr.)
Sv	Sievert
$T_{1/2}$	Temps de demi-vie ou période radioactive
TBP	Tri-butyl phosphate
TIARA	Treatment Initiatives After Radiological Accidents
TIMS	Thermo-Ionisation Mass Spectrometry
TIS(fr.) ou SIT(eng.)	Théorie des Interactions Spécifiques/Specific Interaction Theory
t_R	Temps de rétention
uma	Unité de masse atomique
USI	Unité du Système International
w_t	Pourcentage massique
Z	Nombre de charges
σ	Ecart-type

INTRODUCTION GENERALE

Les actinides sont présents à plusieurs étapes du cycle nucléaire, que ce soit comme composant initial du combustible (l'uranium) ou formés dans le réacteur (le plutonium ou l'américium). Puisque ce sont principalement des émetteurs alpha, leurs rayonnements sont faiblement pénétrants. En cas de contamination interne, ils ne peuvent donc pas être mesurés par des analyses *in vivo*, c'est-à-dire en plaçant des détecteurs à l'extérieur du corps humain. L'évaluation de cette contamination repose alors sur une analyse *in-vitro*, c'est-à-dire dans les *excreta* (urines ou fèces).

Ainsi, en situation normale, la surveillance des travailleurs exposés aux actinides consiste à les analyser par spectrométrie alpha, après minéralisation des échantillons et séparation des actinides de la matrice. Les limites de détection obtenues sont de l'ordre de $0,5 \text{ mBq.L}^{-1}$, ce qui respecte les seuils de doses réglementaires. Cependant ces analyses sont longues et nécessitent au moins huit jours pour rendre un résultat.

En cas d'acte de malveillance ou d'accident nucléaire impliquant ces émetteurs alpha, ceux-ci pourraient être rejetés dans l'atmosphère ou être retrouvés dans l'eau potable. Dans ce cas, un grand nombre de victimes potentielles pourrait être contaminé par ingestion ou inhalation. Il est donc nécessaire de disposer d'une méthode d'analyse des actinides dans les urines qui soit suffisamment rapide pour permettre de traiter le grand nombre d'échantillons généré. Ainsi, en situation de crise, 8 heures soit une journée de travail est un temps d'analyse acceptable lorsque qu'il tient compte du temps de préparation de l'échantillon et de la mesure des actinides. Les protocoles analytiques utilisés pour ces analyses d'actinides en routine ne sont donc pas adaptées.

L'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire est chargé de répondre à ces situations de crise de différentes manières : en établissant des mesures et des modèles pour prédire le comportement du nuage radioactif, mais aussi en proposant des solutions de mitigation de cette crise. Ainsi, le Service de Dosimétrie Interne s'est doté d'une flotte de moyens mobiles permettant un tri rapide des personnes potentiellement contaminées par mesures anthroporadiométriques (analyses *in vivo*). Cependant, ces mesures restent peu performantes en termes de limites de détection pour les émetteurs alpha.

Pour proposer une méthode d'analyse de ces émetteurs alpha adaptée à une situation de crise, il est apparu qu'il est nécessaire de se baser sur les techniques utilisées pour les analyses de routine et de les améliorer en augmentant leur rapidité. A cette fin, le Laboratoire de Radiochimie (LRC) a développé deux molécules de calix[6]arène utilisées spécifiquement pour l'extraction des actinides de la matrice urinaire. Elles sont imprégnées sur des résines et mises en œuvre sous forme de colonnes de chromatographie. Ces colonnes permettent de diminuer significativement la durée de séparation de ces actinides des urines de 3 jours à 0,5 jours.

Pour la mesure, les analyses de radiotoxicologie réalisées en routine utilisent une technique nucléaire (la spectrométrie alpha), pour la détection des actinides. Or, cette technique comporte deux principaux inconvénients : d'une part la nécessité d'isoler chacun des actinides du fait d'interférences spectrales et d'autre part les temps de comptage très long (~ 3 jours) pour pouvoir atteindre des LD suffisamment basses ($0,5 \text{ mBq.L}^{-1}$) pour respecter celles imposées par la législation.

Ainsi, on s'attachera dans cette thèse à proposer une technique de détection rapide. C'est pourquoi la mesure par spectrométrie alpha sera remplacée par une mesure par spectrométrie de masse couplée à un plasma induit. Cette technique de mesure élémentaire et isotopique permettra de réaliser une analyse en masse en quelques minutes.

L'ICP-MS repose sur une détection élémentaire, c'est-à-dire des atomes présents et non des rayonnements qu'ils émettent comme lors d'une mesure par spectrométrie alpha. De ce fait l'ICP-MS est une technique particulièrement adaptée pour l'analyse des radio-isotopes à vie longue ($T_{1/2} > 10\,000$ ans, comme ^{232}Th , ^{238}U ou ^{239}Pu). Dans les urines, les limites de détection que l'on peut atteindre avec cette technique sont aussi basses voire meilleures que celles de la spectrométrie alpha. En revanche pour les isotopes ayant des périodes plus courtes ($T_{1/2} < 10\,000$ ans) la spectrométrie alpha reste la technique de mesure à privilégier pour ces éléments.

L'objectif de ce travail de thèse sera donc de développer une méthode d'analyse en ligne des actinides dans les urines, par couplage entre une des colonnes calix[6]arènes développée au LRC et l'ICP-MS afin d'abaisser les limites de détection. Le passage sur la colonne de chromatographie permettra à la fois de séparer les actinides de la matrice et de les concentrer. Pour que la méthode développée soit utilisable en situation de crise, on cherchera à proposer un protocole dont la durée n'excèdera pas 8 heures (traitement de l'échantillon inclus). Ce couplage devrait permettre d'améliorer les limites de détection du plutonium et de l'américium par l'analyse des pics chromatographiques.

Ce travail sera divisé en quatre parties. Dans le chapitre I, une étude bibliographique regroupera les connaissances nécessaires à la compréhension du sujet puis le chapitre II traitera des techniques et méthodes utilisées dans le cadre de cette thèse. Enfin les chapitres III et IV de ce manuscrit regrouperont l'ensemble des résultats obtenus lors de ce travail.

Le chapitre III sera consacré à la stratégie d'extraction mise en œuvre lors de ce travail. Pour choisir la colonne de chromatographie qui sera utilisée lors de cette étude, il est nécessaire de maîtriser le système de chromatographie. Dans cette perspective, une étude de caractérisation des résines de chromatographie à base de calix[6]arène disponibles au Laboratoire de RadioChimie sera réalisée. En parallèle de cette étude, un protocole de traitement de l'échantillon urinaire avant l'extraction des actinides sur la colonne calix[6]arène sera proposé afin de pré-concentrer ces derniers et de minéraliser la matrice urinaire. Pour concentrer les actinides, une méthode de co-précipitation sera retenue et optimisée grâce à une étude de spéciation des actinides dans la matrice urinaire. L'objectif premier de ces travaux étant la réduction des temps d'analyse, on aura toujours comme finalité d'optimiser la durée des différentes étapes et notamment celle de la minéralisation de l'urine. Pour cela une méthode de minéralisation au four à micro-ondes sera mise en place et son efficacité comparée à celle de la calcination au four à moufle. Par la suite, on discutera les comportements des actinides dans l'échantillon récupéré à l'issue de l'étape de digestion.

Une étude expérimentale sera menée afin de choisir la colonne calix[6]arène permettant l'extraction simultanée des actinides. L'impact de la spéciation des actinides et en particulier de l'uranium sur leur

extraction sera étudié à la fois de manière théorique et expérimentale afin de proposer un protocole de minéralisation favorisant l'extraction simultanée de U, Pu et Am. Pour cela une étude thermodynamique sera réalisée de manière à déterminer la constante de complexation de l'ion uranyle par le calix[6]arène hydroxamique immobilisé sur la résine.

Le chapitre IV traitera de la mise en place de la méthode de couplage entre les colonnes calix[6]arènes et l'ICP-MS et de son application pour les analyses radiotoxicologiques des actinides. Dans un premier temps, des études dites « hors-ligne » seront réalisées pour étudier l'impact des débits d'élution sur le rendement de récupération des actinides contenus dans une solution synthétique simulant une urine minéralisée. Dans un second temps, la colonne calix[6]arène sera couplée à l'ICP-MS à l'aide du système d'injection en ligne intégré (ISIS) de l'ICP-MS Agilent 7700x et les paramètres géométriques de la colonne seront optimisés à l'aide de la théorie des plateaux.

Après la mise en place de la méthode de couplage, les performances du protocole analytique en termes de limites de détection seront déterminées. Celles-ci seront comparées à celles obtenues par des analyses de routine habituelles.

Par la suite, les différentes optimisations réalisées du point de vue du traitement de l'urine et du couplage seront utilisées à des fins d'analyses radiotoxicologiques sur des urines dopées en actinides. L'objectif sera de valider la méthode analytique complète sur des urines réelles. Pour ce faire, on travaillera sur des urines dopées, cette fois, en actinides à des concentrations proches de la limite de détection permettant ainsi de valider les LD obtenues précédemment.

Pour finir, les performances de la méthode d'analyse développée au cours de cette thèse seront discutées en termes de limites de détection et de durée de l'analyse. Les LD seront traduites en doses, suivant un scénario de contamination prédéfini. Cela permettra d'évaluer dans quelle mesure le protocole analytique développé permet de répondre à une situation de crise pour l'analyse des actinides. On pourra également discuter de sa transposabilité aux analyses de routine. Enfin, on s'attachera à proposer un système qui permettrait une automatisation complète de tout le système de couplage.

CHAPITRE I : ÉTAT DE L'ART

Dans ce travail de thèse, on se propose de mettre au point une méthode d'analyse rapide des actinides (U, Pu, Am) par couplage entre une colonne de chromatographie liquide à base d'un calix[6]arène fonctionnalisé et un ICP-MS. L'objectif est de rendre un résultat d'analyse en moins de 8 heures afin de traiter un très grand nombre d'échantillons le plus rapidement possible.

Ce chapitre traitera des différents concepts et méthodes utilisés lors de cette étude.

I. RAYONNEMENTS ET RADIOPROTECTION

La radioactivité naturelle a été découverte en 1896 par Henri Becquerel, l'année après que Roentgen ait découvert les rayons X artificiels. Dès lors, la radioactivité, qu'elle soit naturelle ou artificielle, a été exploitée dans divers domaines, de l'énergie à la médecine, en passant brièvement par les cosmétiques et la décoration. Le domaine médical a été un des premiers à utiliser les rayonnements ionisants avec le développement des appareils de radiographie.

Il est donc devenu nécessaire de définir ces nouveaux éléments et leurs propriétés particulières. Ainsi, un radionucléide est défini comme étant un isotope radioactif d'un élément alors qu'un radioélément est un élément dont tous les isotopes sont radioactifs. Au cours de ce travail de thèse, une famille de radioéléments sera particulièrement étudiée : les actinides.

La seconde guerre mondiale, avec le projet Manhattan a lancé une utilisation militaire de la radioactivité. Cela a conduit au développement des armes nucléaires et à la découverte d'éléments radioactifs artificiels tels que le plutonium et l'américium (deux des éléments d'intérêt de cette étude) ou encore le curium.

L'apparition de cas de cancers chez les personnes travaillant avec des matières radioactives a mis en évidence l'effet potentiellement néfaste des radionucléides et des rayonnements ionisants sur la santé, et donc la nécessité de mettre en place des moyens de protection. Le rôle de la radioprotection est ainsi d'évaluer les risques liés à l'exposition aux rayonnements et de mettre en œuvre des moyens appropriés pour les limiter. Pour ce faire, il faut être capable de les analyser, de manière à pouvoir les quantifier ou simplement détecter leur présence.

En Europe, depuis les années 1950, la Commission Internationale pour la Protection Radiologique (CIPR), a pour rôle de donner les recommandations liées à la radioprotection qui seront retranscrites dans la législation de chaque pays membre. La réglementation actuelle est basée sur la publication 103 de la CIPR parue en 2007 (Nénot *et al.*, 2007).

I.1. LA RADIOACTIVITE

La radioactivité est définie comme le phénomène produit par des noyaux instables qui ont tendance à libérer une particule ou un rayonnement de manière à pouvoir atteindre un état plus stable. Il existe différents types de rayonnements ionisants notamment : les rayonnements alpha, bêta et gamma. L'unité utilisée pour représenter l'activité est le becquerel (Bq), elle correspond à une désintégration par seconde. Chaque isotope radioactif a une **activité spécifique** qui correspond à l'activité contenue

dans un gramme de matière, ainsi qu'une **période** (ou demi-vie) qui correspond au temps nécessaire à la désintégration de la moitié des noyaux radioactifs présents à l'état initial.

I.2. LES RAYONNEMENTS

Trois des types de rayonnements auxquels la population pourrait être exposée en cas d'accident seront mentionnés ici : les émissions alpha, bêta et gamma.

Un rayonnement alpha (α) est caractérisé par l'émission d'un noyau d'hélium chargé positivement (également appelé particule alpha). C'est un rayonnement faiblement pénétrant mais fortement énergétique (de l'ordre de quelques MeV¹). Ils peuvent être stoppés par une feuille de papier ou même quelques centimètres d'air. Dans ces travaux, on se focalisera uniquement sur ce type d'émission car en cas d'incorporation elles sont difficilement détectables à l'extérieur du corps humain.

Il existe deux types de rayonnement bêta (β^+ et β^-). Le premier est dû à l'émission d'un positon et le second d'un électron. Plus pénétrants que les rayonnements alpha, ils sont quant à eux stoppés par une feuille d'aluminium et ont une énergie de l'ordre de quelques centaines de keV.

Les rayonnements les plus pénétrants sont appelés rayonnements gamma (γ). Ils sont caractérisés par l'émission d'un rayonnement électromagnétique dû à la désexcitation d'un noyau radioactif. Ce type de rayonnement est fortement pénétrant et ne peut être stoppé que par un mur de béton ou quelques centimètres de plomb. En revanche, les rayonnements gamma sont de faible énergie (quelques keV).

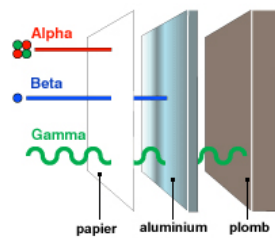


Figure 1 : Ecranage des différents rayonnements

I.3. LES DIFFERENTS TYPES D'EXPOSITION

Il existe trois types d'exposition aux rayonnements ionisants :

- L'**exposition externe** ou **irradiation** est due à un rayonnement de faible énergie mais fortement pénétrant de type (bêta, gamma). La source émettrice se trouve à l'extérieur du corps humain.
- La **contamination interne** : la particule radioactive est incorporée par ingestion ou inhalation mais elle peut également pénétrer à l'intérieur du corps humain par l'intermédiaire d'une plaie cutanée. Ce type d'exposition est particulièrement problématique lorsqu'elle implique des émetteurs alpha. La contamination interne est la voie de pénétration qui sera prise en compte dans ce travail de thèse.

¹ eV : électron- volt, 1eV=1,602x10⁻¹⁹J

- La **contamination externe** : la source vient au contact direct avec la peau. Si les particules pénètrent à l'intérieur du corps, suivant leur solubilité, on parlera à nouveau de contamination interne.

I.4. LA MESURE DES RADIONUCLÉIDES EN CAS DE CONTAMINATION

En cas de contamination interne, les rayonnements ionisants peuvent être mesurés de différentes façons. Ces mesures peuvent être divisées en deux catégories : les mesures anthroporadiométriques et les analyses radiotoxicologiques.

Les premières sont des mesures réalisées *in vivo* en plaçant des détecteurs à l'extérieur du corps humain afin de détecter les radionucléides qui ont potentiellement été incorporés par la victime. Cependant, ces mesures sont limitées par l'énergie des rayonnements ionisants. En effet, l'enveloppe corporelle empêche la détection des rayonnements autres que les rayonnements gamma ou X.

Les secondes, sont réalisées sur des *excreta* (urines ou fèces). Les radionucléides sont excrétés par l'organisme. Ce type d'analyse permet de détecter les émetteurs alpha, mais également d'autres émetteurs (bêta, gamma, X). Les analyses de routine en radiotoxicologie se basent en général sur des mesures nucléaires. Les méthodes les plus fréquemment utilisées sont :

- La spectrométrie alpha (émetteurs alpha)
- Le compteur proportionnel (émetteurs bêta)
- La spectrométrie gamma (émetteurs gammas et X)

En situation accidentelle, la mesure des rayonnements bêta et gamma ne pose pas de problèmes. En effet, pour les émetteurs gamma, les mesures d'anthroporadiométrie réalisées *in vivo* permettent d'atteindre des limites de détection suffisamment basses. De plus cette méthode est transportable et peut être utilisée pour effectuer un tri des victimes potentielles sur les lieux de l'accident. Pour les émetteurs bêta, les mesures seront réalisées par scintillation liquide (*in vitro*) qui est une méthode de mesure rapide.

En ce qui concerne la mesure des émetteurs alpha, il est nécessaire de récupérer des *excreta* des potentielles victimes. En situation d'urgence, il serait, sans doute, plus facile de leur demander des prélèvements urinaires plutôt que des prélèvements de selles. Les rayonnements alpha étant arrêtés par la matière, leur mesure nécessite une préparation chimique de l'urine contraignante et associée à des temps de comptage longs par spectrométrie alpha. Ces analyses nécessitent donc plusieurs jours de travail, comme c'est le cas dans celles réalisées pour le suivi de routine des travailleurs. L'objectif de cette étude est de rendre cette analyse réalisable en moins d'une journée de travail soit 8 heures. Les protocoles d'analyses couramment utilisés en cas de contamination interne par des actinides seront détaillés dans la partie V de ce chapitre.

Les activités ainsi mesurées peuvent être converties en doses qui vont ensuite permettre d'évaluer le risque pour la santé des personnes contaminées et de prendre une décision concernant le traitement de la victime. Les concepts de doses seront définis au paragraphe suivant.

Lors de ces travaux, on se focalisera sur la mesure de certains émetteurs alpha (les actinides) en cas de contamination interne, car ceux-ci sont difficilement mesurables in vivo contrairement aux émetteurs bêta et gamma. Jusqu'ici en situation de crise, on ne dispose pas de moyen de mesure rapide bien que ces éléments soient particulièrement néfastes du point de vue de la santé (apparition de cancers, ...).

I.5. LA DOSE

I.5.1. Les unités de dose

La dose est une grandeur opérationnelle qui permet d'évaluer les effets radiologiques en cas d'exposition à un radionucléide et donc le risque pour la santé de la personne exposée.

On détermine tout d'abord la **dose absorbée** ($D_{T,R}$) qui correspond à la quantité d'énergie déposée par le rayonnement lors de son interaction avec la matière. Elle est exprimée en Joules/Kilogramme ($J.kg^{-1}$) ou en Gray (Gy). Les effets de cette dose absorbée sont tout d'abord mesurés par la **dose équivalente** (H_T) (équation 1) qui représente l'effet d'un rayonnement sur un tissu. Chaque rayonnement est affecté d'un facteur de pondération (W_R) (Tableau 1) qui traduit l'impact sanitaire d'un rayonnement sur un organe donné. La dose équivalente est exprimée en Sievert (Sv) ou $J.kg^{-1}$ (USI).

$$H_T = \sum W_R D_{T,R} \quad \text{Eq. 1}$$

Type de rayonnement	Facteur de pondération W_R
Photon (γ)	1
Electrons (β)	1
Protons	2
Particules alpha	20

Tableau 1 : Facteurs de pondération pour les rayonnements (Nénot *et al.*, 2007)

On peut constater que les particules alpha ont un facteur de pondération bien plus élevé que les particules bêta ou gamma. Cela traduit l'intensité de l'interaction entre le rayonnement et la matière et montre que pour une même dose absorbée, les particules alpha auront un effet plus délétère sur l'organisme que les particules bêta ou gamma.

Enfin, la **dose efficace** (E) (Eq. 2) permet de traduire la sensibilité de chaque organe aux rayonnements. On attribue ainsi un facteur de pondération (W_T) à chaque organe (Nénot *et al.*, 2007). La somme de ces facteurs de pondération est égale à 1 pour représenter le corps entier. La dose efficace est également exprimée en Sievert.

$$E = \sum W_T H_T = \sum W_T \sum W_R D_{T,R} \quad \text{Eq. 2}$$

En cas de contamination interne, l'effet du rayonnement perdure tant que le radionucléide est présent dans l'organisme. C'est pourquoi, il est nécessaire de calculer la **dose engagée**. Celle-ci représente l'équivalent de dose qui sera reçue jusqu'à disparition complète du radionucléide de l'organisme ou, le cas échéant sur 50 ans.

I.5.2. Détermination de la dose en cas de contamination interne

De manière à pouvoir déterminer la dose absorbée, des modèles biocinétiques ont été développés et validés par la CIPR, à partir des mesures de radionucléides réalisées par anthroporadiométrie ou par analyse radiotoxicologique sur des *excreta*.

Il existe deux types de modèles biocinétiques : les modèles d'entrées et les modèles systémiques. Les premiers permettent de représenter les voies d'incorporation et le passage au système sanguin. Puis, les seconds vont permettre de modéliser le comportement des radionucléides (rétention, excrétion) dans le corps après leur passage dans le sang et notamment du sang vers les différents organes de rétention ainsi que leur élimination par les voies naturelles (urines, selles).

Il existe trois modèles biocinétiques d'entrées dans l'organisme : le modèle respiratoire pour la contamination par inhalation (ICRP, 1994), le modèle alimentaire (ICRP, 2006) pour la contamination par ingestion, tous deux proposés par la CIPR et le modèle de blessure (NCRP, 2006) proposé par le National Council on Radiological Protection américain pour la contamination par blessures. Ceux-ci tiennent compte de la solubilité des contaminants dans l'organisme. Pour le modèle respiratoire, on peut définir trois types de solubilité : F pour fast concerne les composés qui sont facilement dissous et qui sont en règle générale peu retenus par l'organisme, M pour médium concerne les composés dont la solubilité est intermédiaire, et S pour slow recouvre les composés faiblement solubles. Ceux-ci sont généralement très retenus par l'organisme car ils sont difficilement transférés au système sanguin puis éliminés.

Les modèles systémiques quant à eux décrivent le passage du sang aux différents organes de rétention. Ils sont différents d'un radionucléide à l'autre et tiennent compte des différences de comportement dans l'organisme du point de vue biochimique et métabolique (ICRP, 1979, 1995).

Ces différents modèles prennent en compte la morphologie et la physiologie du corps humain ainsi que le dépôt et l'élimination des différents radionucléides dans l'organisme. Ils tiennent aussi compte de la forme physico-chimique des composés incorporés mais également des organes cibles et de la rétention des composés dans l'organisme. Ils permettent ainsi de définir une fonction de rétention et une fonction d'excrétion.

Une fois définies les **fonctions d'excrétion et de rétention** du radionucléide dans l'organisme, il sera possible de ramener les activités mesurées dans l'organisme à l'activité initiale incorporée lors de l'accident.

Un modèle dosimétrique définit le paramètre e_{50} , tabulé par la CIPR, qui représente la dose efficace engagée sur 50 ans par unité d'incorporation pour l'homme de référence. Ceci permet ainsi de définir la dose efficace engagée par rapport à l'activité initiale incorporée i :

$$E = i \times e_{50} \quad \text{Eq. 3}$$

Afin d'évaluer les performances de la méthode analytique développée dans le cadre de cette étude, les limites de détection déterminées seront converties en doses. En effet, le système d'analyse devra

permettre d'obtenir des limites de détection pour lesquelles la dose associée est inférieure aux limites imposées par la législation.

Pour déterminer la dose et afin de s'affranchir de la **diurèse** (totalité de l'excrétion quotidienne) qui peut être affectée par l'heure de la miction ou la quantité de liquide ingérée, il est courant de travailler sur un volume d'un litre d'urine. Cela correspond environ à une excrétion de 24 heures (en moyenne 1,2 L pour les femmes et 1,4 L pour les hommes). S'il n'est pas possible de travailler sur une urine de 24 h, le résultat obtenu sur une miction est normalisé soit par rapport à la créatinine présente dans les urines (qui sert de marqueur de la fonction rénale et donc de la diurèse) ou tout simplement par rapport au volume moyen d'excrétion sur 24 h quand cette information n'est pas disponible. Cela impactera l'incertitude de la dose calculée.

I.5.3. Les effets-doses

Il existe deux types d'effets dus aux rayonnements ionisants :

- Les **effets déterministes** (comme les brûlures radiologiques) sont des effets dont la gravité augmente de manière exponentielle avec la dose reçue, le seuil est fixé par la CIPR à 500 mSv (Nénot *et al.*, 2007). Ces résultats ont été tirés des études épidémiologiques menées sur les survivants d'Hiroshima.
- Les **effets stochastiques** (comme la mutation cellulaire et l'apparition de cancer), ont quant à eux une probabilité d'apparition qui augmente avec la dose efficace reçue. Il n'y a pas de seuil de dose mais un seuil de linéarité qui est établi à 100 mSv. Cependant, sous ce seuil il n'y a pas de consensus sur le modèle de réponse effet-dose. Toutefois, la CIPR a choisi la linéarité des effets stochastiques sur tout le domaine de dose.

I.6. LA RADIOPROTECTION

I.6.1. Situation normale

I.6.1.a. Principes

La radioprotection est fondée sur trois principes rappelés dans la CIPR 103 (Nénot *et al.*, 2007):

- **Justification** : aucune pratique impliquant des rayonnements ne doit être mise en œuvre si le bénéfice est surpassé par le risque encouru. Par exemple : il est acceptable d'utiliser des rayonnements ionisants en médecine mais pas d'utiliser de l'américium dans les paratonnerres.
- **Optimisation** : le principe ALARA (As Low As Reasonably Achievable) doit être appliqué. Les doses reçues par les individus doivent être aussi basses que possible et pour cela tous les moyens de protection nécessaires devront être mis en œuvre.
- **Limitation** : l'exposition de chaque individu ayant participé à différentes pratiques justifiées et optimisées ne doit pas excéder certaines valeurs limites qui seront définies ultérieurement.

I.6.1.b. Les limites

Des limites annuelles de doses ont été proposées par la CIPR. Elles ont été retranscrites dans la législation française ([Code du travail Art. R4451-1](#)), en fonction de la catégorie radiologique de la personne telles que notées dans le Tableau 2 :

Catégorie de population	Limite de dose efficace corps entier (mSv) sur 12 mois glissants
Travailleurs Catégorie A	20
Travailleurs Catégorie B	6
Public et travailleurs non exposés	1

Tableau 2 : Limites de doses corps entier

I.6.2. Situation accidentelle et gestion de crise

On distingue deux types de situations de crise : l'accident nucléaire et l'acte de malveillance. Dans le premier cas le terme source et les contaminants sont connus permettant ainsi de réaliser une estimation de la dose reçue par les victimes en fonction de leur situation par rapport au nuage radioactif par exemple ou encore de leur alimentation. A la différence, en cas d'acte de malveillance le terme source n'est pas connu.

En cas de crise, des mesures particulières doivent être mises en place. En effet, les limites de doses prévues pour des situations d'expositions planifiées ne peuvent pas s'appliquer. En outre, le grand nombre de victimes potentielles qu'il faudrait trier, analyser et si besoin traiter est un défi majeur. Un autre concept est alors introduit : la dose de référence. C'est une limite qui n'a pas de valeur légale, c'est-à-dire qu'aucune responsabilité pénale ne peut être engagée si elle est dépassée contrairement à la limite de dose. La dose de référence est un niveau indicatif qu'il faudrait ne pas dépasser en situation accidentelle. Cependant, les principes de base de la radioprotection doivent s'appliquer (justification, limitation, optimisation) et la dose reçue par les victimes ou les intervenants doit tendre vers 1 mSv. En France, la dose de référence est fixée à 100 mSv pour les intervenants (un intervenant peut être un travailleur de l'industrie du nucléaire mais également un pompier ou une personne réquisitionnée pour évacuer la population), mais, elle peut être augmentée à 300 mSv lorsque l'exposition de la personne est surpassée par la nécessité du bien-être collectif.

Aux Etats-Unis, la dose de référence pour le tri des victimes est fixée à 100 mSv ce qui correspond à la limite au-delà de laquelle un traitement médical est systématiquement mis en place ([NCRP, 1993](#)).

Après l'accident de Fukushima, la dose de référence a été établie à 20 mSv par an pour les populations vivant dans certaines régions proches de l'accident, avec pour objectif qu'au fil des années de moins en moins de personnes soient exposées à ce niveau de dose. Ce concept mal relayé et expliqué auprès du public a entraîné des incompréhensions et des inquiétudes parmi la population. En effet, établir ce niveau de référence ne signifie pas que les personnes reçoivent cette dose annuellement. Cette valeur permet uniquement de disposer d'un critère sur lequel se baser pour abaisser au mieux les doses reçues ([Sakai, 2013](#)).

L'AIEA a proposé des protocoles à suivre en cas de crise nucléaire qui nécessitent la prise en charge d'un grand nombre de victimes (IAEA, 2005). Les doses de référence sont du point de vue de l'AIEA, de 100 mSv pour les populations et 500 mSv pour les intervenants. Elles sont transcrites dans la législation des pays membres. Ainsi, en France les doses de références retenues sont de 50 mSv pour les populations et de 100 mSv pour les intervenants.

Un rapport de la commission européenne intitulé « Treatment Initiatives After Radiological Accidents » (TIARA) propose des abaques pour chaque radionucléide reliant les activités excrétées par jour et mesurées dans les urines aux doses correspondantes. Ces activités excrétées permettent de définir des zones délimitant les doses reçues en fonction de la durée écoulée entre la contamination et la mesure dans les urines (Ménétrier et al., 2007). Un calcul de doses nécessite de connaître tous les paramètres du scénario de contamination. Par exemple, pour le modèle d'inhalation il faut connaître le diamètre moyen des particules inhalées (AMAD), la solubilité du produit (F, M ou S) ou encore les rythmes respiratoire et d'élimination de la victime. En situation de crise, il pourrait être difficile d'avoir rapidement ces informations. Ainsi, pour concevoir les abaques TIARA, deux jeux de paramètres ont été pris en compte correspondant à l'hypothèse la plus pénalisante d'une part et la plus favorable d'autre part, afin de déterminer les limites hautes et basses des doses correspondant aux activités mesurées. Les abaques sont représentés en annexe.

En cas d'acte de malveillance le « TMT handbook » (Rojas-Palma et al., 2009) préconise l'utilisation de ces abaques pour effectuer un tri des populations : personnes contaminées ou non. Dans ce cas, le niveau d'action supérieur (c'est-à-dire la dose à partir de laquelle un traitement médical doit être envisagé pour réduire la dose) est fixé à 100 mSv (limite de linéarité des effets stochastiques). Cependant, on remarque que cette valeur n'apparaît pas sur les abaques TIARA. Comme mentionné dans le rapport, en cas de suspicion de dépassement d'une dose égale à 20 mSv, il est nécessaire d'effectuer un calcul de dose plus précis.

Finalement, l'AIEA émet des recommandations qui sont retranscrites dans la législation de chaque état membre. Ces recommandations portent sur les conduites à tenir en cas de crise nucléaire ainsi que sur les doses de références à appliquer dans chaque recommandation. Les pratiques propres à la France tendent vers une application plus stricte que les suggestions de l'AIEA (par exemple : la limite de dose pour les travailleurs de catégorie A est de 20 mSv sur douze mois glissants alors que les recommandations internationales sont de 100 mSv sur 5 ans glissants).

II. LA CHIMIE DES ACTINIDES

Ce paragraphe s'attachera à décrire les principales caractéristiques chimiques des trois actinides d'intérêt dans cette étude (U, Pu et Am), afin de disposer des connaissances nécessaires pour améliorer leur protocole d'analyse dans les urines.

II.1. GENERALITES

Les actinides sont les éléments qui suivent l'actinium ($Z = 89$). Ils ont des propriétés chimiques particulières notamment dues à leur structure électronique $[Rn] 5f^x$. Cette structure leur confère un grand nombre d'états d'oxydation (Tableau 3) en solution.

Les actinides ont une électropositivité dure due à la délocalisation des orbitales 5f et donc une forte tendance à réagir avec les noyaux fortement électronégatifs tels que l'oxygène.

Par ailleurs, les cations d'actinides vont avoir tendance à former des complexes généralement thermodynamiquement stables. Leur aptitude à l'hydrolyse décroît en fonction de leur état d'oxydation dans l'ordre suivant : $M^{4+} > MO_2^{2+} > M^{3+} > MO_2^+$. En milieux salins, les actinides vont avoir tendance à réagir préférentiellement avec les anions dans l'ordre suivant : $PO_4^{3-} > CO_3^{2-} > OH^- > SO_3^{2-} > F^- > SO_4^{2-} > HPO_4^{2-} > H_2PO_4^-$.

DO	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99
III	Ac³⁺	Th ³⁺	Pa ³⁺	U ³⁺	Np ³⁺	Pu ³⁺	Am³⁺	Cm³⁺	Bk³⁺	Cf³⁺	Es³⁺
IV		Th⁴⁺	Pa ⁴⁺	U ⁴⁺	Np ⁴⁺	Pu⁴⁺	Am ⁴⁺	Cm ⁴⁺	Bk ⁴⁺	Cf ⁴⁺	
V			PaO₂⁺	UO ₂ ⁺	NpO₂⁺	PuO ₂ ⁺	AmO ₂ ⁺				
VI				UO₂²⁺	NpO ₂ ²⁺	PuO ₂ ²⁺	AmO ₂ ²⁺				
VII					NpO ₂ ³⁺	PuO ₂ ³⁺	[AmO ₆] ⁵⁻				

Tableau 3 : États d'oxydation des actinides en solution (en gras les DO les plus stables pour chaque actinide)

On s'intéressera plus particulièrement à trois éléments lors de cette étude : l'uranium et le plutonium (en cas de réacteurs utilisant du combustible MOx) qui sont les composants du combustible nucléaire et l'américium qui est un des produits formés dans le réacteur nucléaire.

II.2. L'URANIUM

II.2.1. Généralités

L'uranium ($Z = 92$) est un actinide majeur qui a été découvert en 1789 par M.H. Klaproth (Klaproth, 1789) par précipitation après dissolution de cristaux de Pechblende.

L'uranium est un élément naturel ubiquiste, présent dans la croûte terrestre à environ 3 g.t^{-1} (Métivier, 2001) dans les proportions isotopiques données Tableau 4. Il est utilisé dans différents domaines et est notamment le composant principal du combustible nucléaire. Il peut être enrichi en ^{235}U dans diverses proportions qui peuvent aller de 3 % pour une utilisation dans les crayons de combustible des centrales nucléaires de production d'électricité à 90 % pour une utilisation militaire. L'uranium est une « matière nucléaire » et est de ce fait particulièrement contrôlé par l'AIEA et Euratom.

II.2.2. Propriétés nucléaires

L'uranium a 23 isotopes tous radioactifs ($A = 217$ à 219 et $A = 221$ à 240) dont seulement trois sont naturels (*cf.* Tableau 4). Plusieurs de ces isotopes seront utilisés lors de cette étude, ^{238}U comme analyte et ^{233}U et ^{236}U comme traceurs. Du fait des très longues périodes radioactives de ces isotopes, l'uranium naturel (Unat) a une faible activité spécifique soit $25 \text{ mBq} \cdot \mu\text{g}^{-1}$.

Par ailleurs, ^{235}U et ^{238}U sont les principaux composants du combustible nucléaire utilisé pour produire de l'électricité. En effet, une centrale nucléaire fonctionne à l'aide de crayons de combustible contenant de l'uranium enrichi de 3 à 5 % en ^{235}U (Areva, 2009). ^{235}U est un noyau fissile, c'est-à-dire qu'il va se diviser en deux noyaux plus légers sous l'impact d'un neutron produisant ainsi de l'énergie. ^{238}U est quant à lui fertile, c'est-à-dire qu'il va devenir fissile après l'absorption d'un neutron thermique. Il est à noter qu'il peut également se fissionner sous l'effet d'un neutron rapide.

Chapitre I : Etat de l'art

	Masse atomique (uma)	Composition isotopique de l'uranium naturel (%)	Période (années)	Décroissance (%)	Activité spécifique (Bq.g ⁻¹)	Emissions principales/Intensité relative	Emissions secondaires/Intensité relative
²³³ U	233,039635525	-	1,592.10 ⁵	α : 100%	3,57.10 ⁸	4824,2 keV/84,3 % 4783,8 keV/13,2 %	γ : 42,4349 keV/0,072 % X : 13,00 keV/0,030 %
²³⁴ U	234,040952088	0,0054(5)	2,455.10 ⁵	α : 100%	2,30.10 ⁸	α : 4722,4 keV/28,42 % α : 4774,6 keV/71,38 %	X : 13,00 keV/10,0(4) % e ⁻ : 32,728 (20) keV/20,9 (8) %
²³⁵ U	235,043929918	0,7204(6)	7,04.10 ⁸	α : 100%	8,00.10 ⁴	α : 4364,3 keV/18,92 % α : 4395,4 keV/57,73 %	γ : 185,715 (5) keV/57,0(6) % X : 83,3500(20) keV/5,65(12) % e ⁻ : 9,4980 keV/26,2(12) %
²³⁶ U	236,04556821	-	2,342.10 ⁷	α : 100%	2,39.10 ⁶	α : 4494 keV/74 % α : 4445 keV/26 %	γ : 49,46 keV/0,078 % X : 13,00 keV/9,0 %
²³⁸ U	238,050788247	99,2742(10)	4,47.10 ⁹	α : 100%	1,24.10 ⁴	α : 4115,1 keV/21 % α : 4198 keV/79 %	γ : 49,55 (6) keV/0,064(8) % X : 13,00 keV/7,3 (10) % e ⁻ : 29,3 (20) keV

Tableau 4 : Propriétés de l'uranium naturel et des isotopes artificiels utilisés lors de cette étude (IAEA)

II.2.3. Propriétés chimiques en solution aqueuse

L'uranium ($Z = 92$) a pour structure électronique $[Rn] 5f^3$ dans son état fondamental et peut exister aux états d'oxydation U(0), U(III), U(IV), U(V), U(VI).

En solution aqueuse, les états d'oxydation V et VI ne sont pas stables sous formes U^{5+} et U^{6+} . Ils vont donc réagir avec l'oxygène de leur environnement pour atteindre les formes UO_2^+ et UO_2^{2+} . La structure de la forme la plus stable $U^{VI}O_2^{2+}$ est appelée ion uranyle (Figure 2).

Les liaisons U-O de cet ion sont courtes (1,70 Å) caractérisant une liaison multiple. En effet, l'ion uranyle présente une structure linéaire et existe en phase aqueuse sous forme pentahydratée avec ses molécules d'eau dans le plan équatorial.

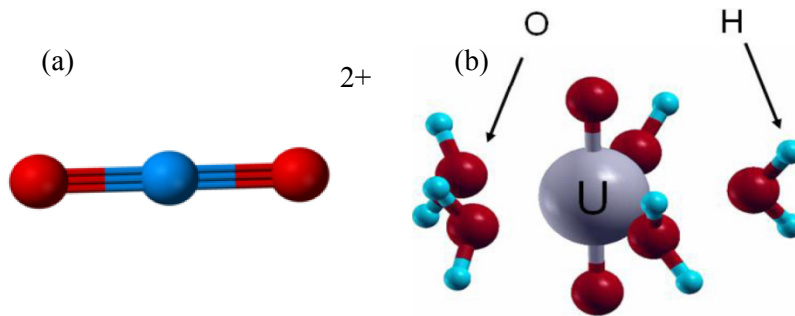


Figure 2 : (a) Ion uranyle et (b) sphère de solvation (Roques *et al.*, 2009)

Cette structure caractéristique lui confère de nombreuses formes chimiques. Lors de la mise en présence de l'ion uranyle avec des ligands ceux-ci vont remplacer les molécules d'eau de la sphère d'hydratation dans ce plan équatorial (Figure 2).

Le diagramme potentiel-pH représenté Figure 3 indique la stabilité des différentes espèces en solution. Les espèces aux états d'oxydation IV (zone B) et VI (zone A) sont les plus stables et sont relativement insolubles notamment à $pH > 5$. L'ion uranyle a une forte capacité à l'hydrolyse. En l'absence de complexant, seules les formes hydrolysées de U(VI) sont observables, comme représentées Figure 4. A partir de $pH > 4$, ces formes hydrolysées sont majoritaires. Elles vont donc être moins facilement excrétées par le corps humain, entraînant un intérêt accru pour l'étude de leur comportement. Les espèces de type U(III) et U(V) sont, quant à elles, très peu stables et vont former peu de complexes.

Les conditions opératoires mises en place lors de cette étude ont conduit à supposer la stabilité du état d'oxydation VI lors de toutes les expériences. En effet, celles-ci sont réalisées en milieu fortement oxydant ($E \approx 1$ V/ESH) c'est pourquoi seule la forme U(VI) sera considérée dans ce travail.

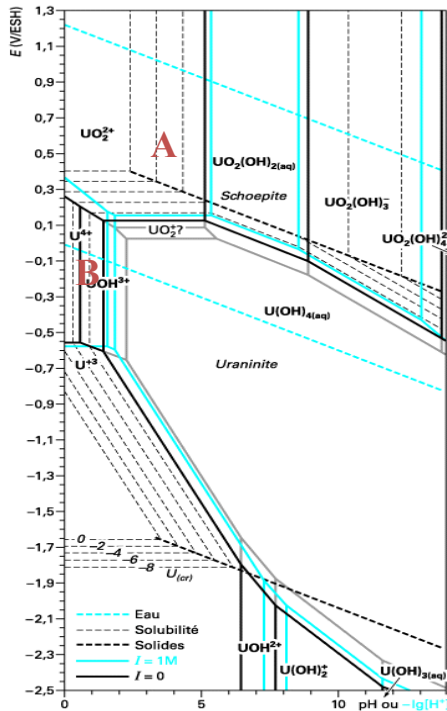


Figure 3 : Diagramme de Pourbaix de l'uranium (Vitorge, 1999)

Le milieu urinaire dans lequel est analysé l'uranium contient des espèces ioniques et organiques de sorte que l'ion uranyle va pouvoir y former des complexes plus ou moins stables (*cf.* partie III de ce chapitre et annexe).

En 1992, l'OCDE a publié un recueil de toutes les constantes thermodynamiques (Grenthe *et al.*, 1992) qui a été mis à jour en 2003 (Guillaumont *et al.*, 2003). L'ion uranyle va avoir tendance à former des complexes très stables avec les phosphates notamment. Ces propriétés vont à la fois être un avantage (utilisation de l'HEDPA (acide 1-hydroxyéthylène diphosphonique) pour certains procédés de recyclage) ou un inconvénient (difficultés de purification de l'acide phosphorique (Beltrami *et al.*, 2014)). Cette capacité de complexation a également un impact sur la rétention des composés d'uranium dans l'organisme, si celui-ci se complexe avec des ligands biologiques (Ansoborlo *et al.*, 2006). De manière à comprendre ces phénomènes, de nombreuses études ont été menées pour étudier notamment l'aptitude de l'uranium à former des complexes avec des citrates (Sutton and Burastero, 2004; Guenther *et al.*, 2011), l'urée (Osman *et al.*, 2013) ou encore des protéines telles que l'ostéopontine (protéine responsable de la croissance de l'os) (Safi *et al.*, 2013).

Dans cette étude, la spéciation de l'uranium dans l'urine fraîche et l'urine minéralisée sera déterminée (chapitre III). L'objectif de cette étude est de comprendre et maîtriser la réactivité de l'uranium lors du traitement de l'urine.

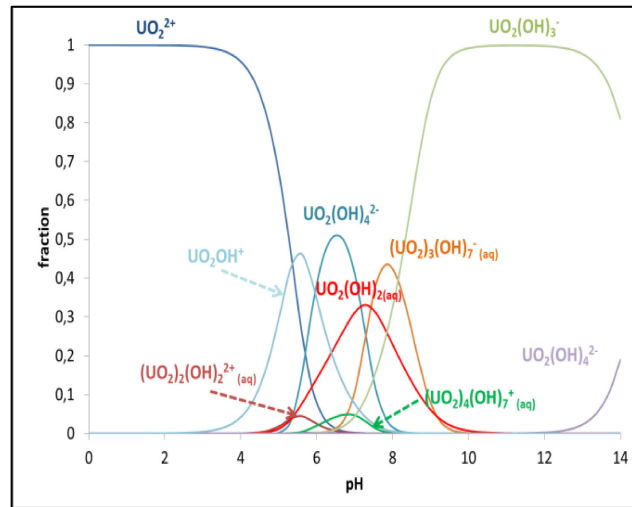


Figure 4 : Hydrolyse de l'ion uranyle dans l'eau en l'absence de complexants

II.2.4. Toxicité radiologique et chimique

Compte tenu de sa faible activité spécifique ($25 \text{ mBq} \cdot \mu\text{g}^{-1}$), l'uranium naturel est principalement considéré comme un toxique chimique. Il a de ce point de vue des propriétés de métal lourd. La toxicité de l'uranium est principalement rénale après une exposition aiguë (Paquet *et al.*, 2009).

A de plus fort taux d'enrichissement (3 % pour le combustible et jusqu'à 90 % pour l'uranium utilisé à des fins militaires), il devient également un toxique radiologique du fait des particules alpha qu'il émet. Ces particules, peuvent créer chez les individus contaminés des dommages au niveau cellulaire et provoquer des cancers (Bleise *et al.*, 2003).

Des études de toxicologie menées chez le rat ont décrit la biocinétique de l'uranium et ont mis en évidence que 50 à 70 % de l'uranium incorporé est éliminé dans les 24 heures qui suivent l'épisode de contamination (Leggett and Pellmar, 2003). La quantité restante dans le corps est retrouvée dans les os et les reins (Squibb *et al.*, 2005). L'uranium peut être plus ou moins retenu par l'organisme suivant sa forme physico-chimique. Dans le modèle biocinétique pulmonaire, on définit trois classes de composés qui dépendent de leur solubilité (Tableau 5). Ainsi, les composés de type F sont les plus solubles et seront donc éliminés plus rapidement par l'organisme, contrairement aux composés de type S qui seront les plus retenus.

Type F (Fast)	Type M (Medium)	Type S (Slow)
UF ₆ , UCl ₄ , UO ₂ F ₂	UF ₄	UO ₂
UO ₂ (NO ₃) ₂ , 6H ₂ O	UO ₃	U ₃ O ₈

Tableau 5 : Classes des composés d'uranium pour le modèle respiratoire

Chez l'homme des effets néfastes ont été observés au niveau cognitif, notamment chez les vétérans de la guerre du Golfe, pendant laquelle l'uranium appauvri était utilisé sur les têtes de missiles. Des études chez l'animal ont permis des observations similaires (Paquet *et al.*, 2009).

Il existe peu de traitements approuvés par l'Autorité de Sûreté Nucléaire (ASN) pour soigner une incorporation accidentelle d'uranium. Les deux traitements recommandés sont l'injection de bicarbonate de soude isotonique à 14 % pour prévenir la toxicité rénale ou l'ingestion de phosphate d'aluminium colloïdal en cas de contamination digestive (ASN, 2008).

II.3. LE PLUTONIUM

II.3.1. Généralités

Le plutonium ($Z = 94$) est un radioélément transurannique dont 20 isotopes ($A = 228$ à 247) ont été identifiés. En 1940, G. Seaborg et E. MacMillan travaillant sur le projet Manhattan le découvrirent en bombardant de l'uranium-238 à l'aide de deutéron. Le plutonium-239 fut le constituant de la bombe qui détruisit Nagasaki en 1945. Depuis lors, il est considéré comme un élément proliférant par l'AIEA et son utilisation est particulièrement surveillée. Le plutonium est présent à l'état de traces dans l'environnement (5 à 2000 mBq.kg^{-1} , suivant les endroits) suite à des accidents ou des essais nucléaires. Il est également utilisé en mélange avec l'uranium dans le combustible MOx des centrales nucléaires.

II.3.2. Propriétés nucléaires

Le Tableau 6 recense les 7 isotopes à vie les plus longues, c'est-à-dire avec des demi-vies supérieures à l'année. Les 13 autres ont des périodes allant de la seconde au mois. Ces 7 isotopes sont principalement des émetteurs alpha. Seul ^{241}Pu ($T_{1/2} = 14,4$ ans) qui est majoritairement un émetteur bêta, ne sera pas mentionné.

^{239}Pu est fissile et peut donc être utilisé dans les centrales nucléaires, notamment dans le combustible MOx. ^{241}Pu est également fissile. ^{238}Pu est quant à lui fertile, il est l'élément envisagé pour servir de couverture dans les réacteurs à neutrons rapides en permettant la surgénération formant du ^{239}Pu après capture neutronique. Le même phénomène se produit avec ^{240}Pu . En radiotoxicologie, le ^{242}Pu est utilisé comme traceur interne.

Isotope	Masse atomique (uma)	Période (années)	Activité spécifique (Bq.g ⁻¹)	Décroissance (%)	Emissions principales/Intensité relative	Emissions secondaires/Intensité relative
²³⁶ Pu	236,046058109	2,858	1,96.10 ¹³	α : 100 %	α : 5767,53 keV/69,1 % α : 5720,80 keV/30,8 %	X : 13,60 keV/11,2 % e ⁻ : 25,813 keV/22,2 % e ⁻ : 9,890 keV/11,2 %
²³⁸ Pu	238,049560111	87,7	6,33.10 ¹¹	α : 100 %	α : 5499,03 keV/70,91 % α : 5456,3 keV/28,98 %	X : 13,60 keV /10,2 % e ⁻ : 21,7406 keV/20,4 % e ⁻ : 9,890 keV/10,2 %
²³⁹ Pu	239,052163591	24110	2,29.10 ⁹	α : 100 %	α : 5156,59 keV/70,77 % α : 5144,3 keV/17,11 %	X : 13,60 keV/3,18 % e ⁻ : 29,8666 keV/6,27 %
²⁴⁰ Pu	240,0053813750	6561	8,38.10 ⁹	α : 100 %	α : 5168,17 keV/72,80 % α : 5123,68 keV/27,10 %	X : 13,60 keV/9,6 % e ⁻ : 23,4866 keV/19,2 %
²⁴² Pu	242,058742809	3,75.10 ⁵	1,46.10 ⁸	α : 100 %	α : 4902,2 keV/76,49 % α : 4858,1 keV/23,48 %	X : 13,60 keV/8,5 % e ⁻ : 23,158 keV/16,9 %
²⁴⁴ Pu	244,064205260	8,00.10 ⁷	6,65.10 ⁵	α : 99.879(4) % Fission spontanée : 0,124(4)%	α : 4546 keV/80,5 % α : 4546 keV/19,4 %	γ : 44 keV/0,029 % e ⁻ : 22,2 keV/11,4 %

Tableau 6 : Isotopes du plutonium émetteurs alpha à période > 1 an (IAEA)

II.3.3. Propriétés chimiques en solution aqueuse

Le plutonium a pour structure électronique [Rn] 5f⁵ dans son état fondamental et peut être retrouvé à cinq états d'oxydation Pu(III), Pu(IV), Pu(V), Pu(VI) et Pu(VII).

L'état d'oxydation VII est peu stable en solution et nécessite un milieu très fortement basique et oxydant.

Le diagramme potentiel-pH (Figure 5) représente la stabilité des différentes espèces en solution aqueuse non complexante. On peut noter que le Pu (III) (zone B) et Pu(VI) (zone A) sont les espèces les plus stables aux basses valeurs de pH. A I = 0 mol.L⁻¹ (diagramme noir), Pu⁴⁺ est absent mais apparaît et est stabilisé lorsque la force ionique augmente. Les urines minéralisées ont une forte charge saline, la force ionique dans ce type de situation est élevée. De plus, en milieu acide Pu(IV) se dismute en faible proportion ce qui laisse supposer pour la suite de cette étude que le plutonium sera retrouvé préférentiellement à ce état d'oxydation. En effet, lors de l'étape de préparation, l'échantillon urinaire est minéralisé en milieu acide concentré, permettant les conditions favorables à la présence de Pu(IV).

L'augmentation du pH de la solution favorise la dismutation et également l'hydrolyse du plutonium (IV) (Figure 6) si on considère que les concentrations dans le milieu ne permettent pas d'atteindre la saturation.

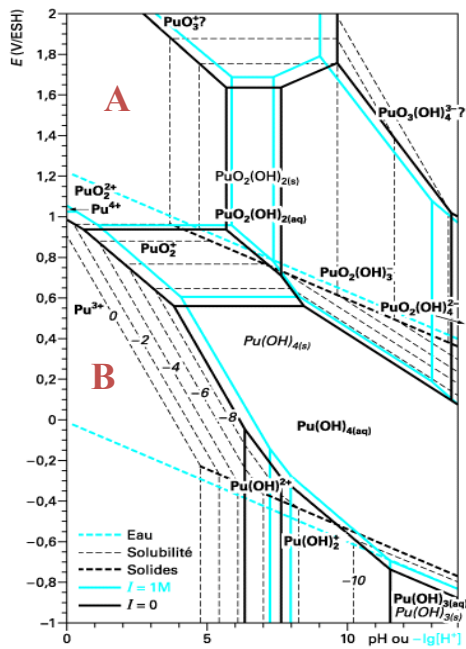


Figure 5 : Diagramme de Pourbaix du plutonium (Vitorge, 1999)

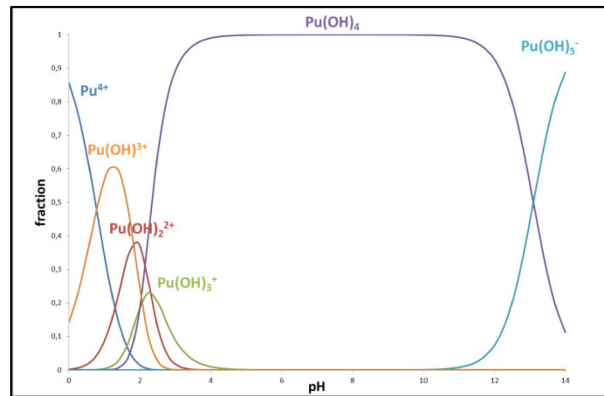


Figure 6 : Hydrolyse du plutonium (IV) en l'absence de précipitation dans l'eau

Tout comme l'uranium, le plutonium en présence d'anions aura tendance à former des complexes. Sa réactivité vis-à-vis de ceux-ci avec lesquels il peut former des complexes suit le même ordre que pour l'uranium et les autres actinides à savoir PO₄³⁻>CO₃²⁻>OH>SO₃²⁻>F>SO₄²⁻>HPO₄²⁻>H₂PO₄.

Une fois encore, les données thermodynamiques mises à jour en 2003 (Guillaumont *et al.*, 2003) obtenues avec des données biologiques permettent de comprendre les phénomènes de rétention dans l'organisme (Ansoborlo *et al.*, 2006). Le plutonium a également tendance à former facilement des complexes stables avec les phosphates. Cette propriété sera intéressante à exploiter lors du choix de la méthode de co-précipitation des actinides dans la matrice urinaire.

II.3.4. Toxicité radiologique et chimique

Le plutonium est un émetteur alpha ce qui le rend inoffensif par irradiation ou contamination externe. Par contre c'est un toxique radiologique particulièrement néfaste en cas de contamination interne. Les effets dus à une contamination au plutonium ont été étudiés sur des populations comme dans le cas des travailleurs de Mayak (Leggett *et al.*, 2005). Les données épidémiologiques obtenues ont permis de développer les modèles biocinétiques utilisés par la CIPR. A l'origine, ces modèles ont été développés par une étude controversée réalisée chez l'Homme sur des patients atteints de maladies incurables et ayant reçu des injections de $\text{Pu}(\text{NO}_3)_4$ (Langham *et al.*, 1980).

Le Tableau 7 indique les classes de composés en cas de contamination par inhalation. Contrairement à l'uranium, le plutonium est bien plus retenu dans le corps humain du fait de la faible solubilité de ses différents composés quelle que soit sa forme chimique. Celui-ci n'est éliminé qu'à hauteur de quelques pour cent par excrétion fécale et urinaire et est majoritairement retrouvé dans les os et dans le foie (Ansoborlo *et al.*, 2009).

Des études expérimentales menées principalement chez le chien et le rat ont permis de montrer l'apparition de tumeurs et de cancers pulmonaires par inhalation de $^{239}\text{PuO}_2$ pour une dose d'environ 1 Gy (soit l'équivalent d'une ingestion de 200 kBq chez l'Homme) (Ansoborlo *et al.*, 2009). La dose létale 50 (*i.e.* 50 % des personnes exposées décèdent des suites des doses reçues) a été définie comme étant d'environ 21 MBq.

Type M	Type S
Pu- <i>Tert-Butyl</i> Phosphate, $\text{Pu}(\text{NO}_3)_4$	PuO_2 , Oxydes mixtes (U,Pu) O_2

Tableau 7 : Classes des composés du plutonium pour le modèle respiratoire

Le traitement recommandé à l'heure actuelle est l'inhalation de DTPA (acide diéthylène triamine pentaacétique) en cas de contamination pulmonaire ou la prise de sulfate de magnésium en cas de contamination digestive (ASN, 2008).

II.4. L'AMERICIUM

II.4.1. Généralités

L'américium ($Z = 95$) est également un radioélément artificiel qui possède 18 isotopes ($A = 230$ et $A = 232$ à 248) ayant des vies plus courtes que celles des isotopes de U et Pu et donc de plus fortes activités spécifiques. La période pour ^{248}Am n'a pas encore été déterminée.

L'américium a été découvert en 1944 par Glenn Seaborg et ses collaborateurs de l'Argonne National Laboratory à Chicago, en soumettant du ^{239}Pu à plusieurs captures neutroniques pour former du ^{241}Am .

Les isotopes de l'américium sont majoritairement issus des réactions en chaîne se produisant dans les centrales nucléaires. L'américium est parfois appelé actinide mineur car il est présent en moins grande quantité que l'uranium et le plutonium dans le combustible nucléaire usagé. Il est retrouvé lors du retraitement.

On peut également retrouver de l'américium-243 dans des détecteurs de fumée où il sert de source d'énergie à une chambre d'ionisation. Cette utilisation étant contraire au principe ALARA, ceux-ci sont progressivement retirés de la circulation.

II.4.2. Propriétés nucléaires

Le Tableau 8 recense les propriétés nucléaires des deux isotopes de l'américium ayant les vies les plus longues à savoir ^{241}Am et ^{243}Am .

Les différents isotopes de l'américium ont de fortes activités spécifiques, les rendant particulièrement dangereux même présents en faible proportion. Du fait qu'ils sont produits dans les réacteurs nucléaires par capture neutronique, ceux-ci sont retrouvés lors du retraitement des déchets nucléaires, contribuant à la forte activité des colis de déchets vitrifiés destinés à être enfouis.

L'américium-241 étant donc retrouvé dans le combustible nucléaire, il pourrait être retrouvé dans l'organisme en cas d'accident. L'américium-243 est habituellement utilisé comme traceur interne pour le doser, lors des analyses de radiotoxicologie de routine. Pour des raisons de radioprotection, les développements réalisés lors de notre étude seront effectués sur ^{243}Am .

Isotope	Masse atomique (uma)	Période (années)	Activité spécifique (Bq.g ⁻¹)	Décroissance (%)	Emissions principales/Intensité relative	Emissions secondaires/Intensité relative
²⁴¹ Am	241,056828349	432,6	1,27x10 ¹¹	α : 100 %	α : 5485,56 keV/54,8 % α : 5442,81(keV)/13,1 %	γ : 59,5409 keV/35,9 % X : 13,90 keV/36 % e ⁻ : 10,10 keV/35 %
²⁴³ Am	243,061381302	7370	7,38x10 ⁹	α : 100 %	α : 5275,3 keV/87,1 % α : 5233,3 keV/11,2 %	γ : 74,66 keV/67,2 % X : 13,90 keV/18,6 % e ⁻ : 10,10 keV/17,8 %

Tableau 8 : Propriétés des isotopes de l'américium émetteurs alpha à période > 1 an (IAEA)

II.4.3. Propriétés chimiques en solution aqueuse

L'américium est un élément transurannique dont la structure électronique est $[Rn] 5f^6$ dans son état fondamental et peut exister à 5 états d'oxydation Am(III), Am(IV), Am(V), Am(VI), Am(VII).

La forme la plus stable de l'américium est Am(III) (zone A). Il est stable en solution sous forme Am^{3+} . La force ionique a moins d'impact sur le comportement redox de l'américium que sur celui du plutonium, comme le montre le diagramme de Pourbaix (Figure 7).

L'hydrolyse de l'américium suit la tendance générale des actinides. Les conditions opératoires utilisées lors de cette étude tendent à favoriser Am(III). Le diagramme de son hydrolyse dans l'eau présenté Figure 8 montre que l'hydrolyse de Am(III) apparaît à des pH similaires à ceux de U(VI) (*i.e.* à partir de $pH = 4$).

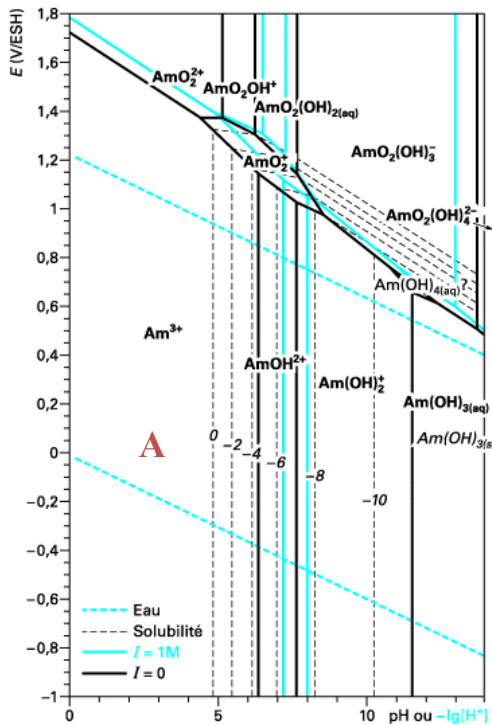


Figure 7 : Diagramme de Pourbaix de l'américium (Vitorge, 1999)

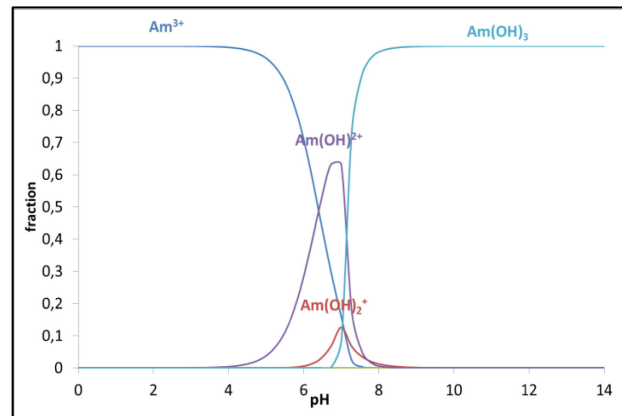


Figure 8 : Hydrolyse de l'américium III en milieu non complexant

Les données thermodynamiques sur l'américium ont fait l'objet d'une revue critique en 1995 par l'OCDE (Silva *et al.*, 1995) et d'une mise à jour en 2003 (Guillaumont *et al.*, 2003). Ici encore les phénomènes de complexation sont de la plus grande importance, particulièrement en ce qui concerne les interactions avec des molécules organiques. Des études de spéciation ont été menées en incluant notamment les citrates (Bion *et al.*, 2005). Pour l'américium, comme pour tous les actinides, les phosphates sont des ions inorganiques avec lesquels il a tendance à former des complexes stables. Ces propriétés sont intéressantes du point de vue des analyses radiotoxicologiques et seront utilisées pour les étapes de co-précipitation dans notre protocole d'analyse.

II.4.4. Toxicité radiologique et chimique

L'américium est un toxique radiologique d'autant plus dangereux que son activité spécifique est très élevée. En cas d'incorporation, les organes cibles sont principalement le squelette et le foie. Des études, basées sur le suivi post accidentel de travailleurs exposés par contamination à de l'américium-241, ont été menées pendant 11 ans. Sur le plan des effets déterministes, des changements hématologiques ont été observés (Filipy *et al.*, 1995). En cas de contamination d'une femme enceinte, l'américium peut être transmis au fœtus (Métivier, 1998).

Chez la souris et le chien, des études ont montré qu'en cas d'injection de ^{241}Am , l'occurrence de cancers augmentait significativement (US Department of health an human service, 2004).

Concernant le modèle biocinétique, la CIPR de 1995 recommande de considérer tous les composés de l'américium comme étant de type M (US Department of health an human service, 2004).

Le traitement préconisé en cas de contamination pulmonaire est l'inhalation de DTPA micronisé. Une solution de DTPA peut également être utilisée pour nettoyer des plaies contaminées mais aussi pour une injection intraveineuse. En cas de contamination digestive, la prise de sulfate de magnésium est recommandée.

II.5. CONCLUSION

Notre étude met en œuvre trois actinides : U, Pu et Am. Cette étude bibliographique montre que les conditions opératoires (à savoir un milieu acide concentré et oxydant) devraient favoriser les états d'oxydation suivants : U(VI) et Am(III). En revanche pour le plutonium, il n'est pas possible d'affirmer avec certitude quel est son état d'oxydation. Cependant, le milieu réactionnel peut laisser penser que celui-ci peut être sous forme Pu(IV) ou Pu(VI). Ce sujet sera discuté chapitre III. Par ailleurs, on peut constater que le Pu(IV) a une tendance à l'hydrolyse dès $\text{pH} = 2$ tandis que U(VI) et Am(III) s'hydrolysent à partir de $\text{pH} = 4$. La chimie de ces actinides amènera à tenter de comprendre les phénomènes se produisant lors de la minéralisation et de leur extraction par la colonne calix[6]arène utilisée. Pour cela, des études de spéciation dans les milieux urinaires (minéralisés ou non) seront mises en place.

III. LES URINES

Les *excreta* sont les milieux de prédilection des analyses radiotoxicologiques. Celles-ci peuvent être réalisées soit sur des selles soit sur des urines. En situation de crise, il est nécessaire de travailler sur les échantillons les plus faciles à obtenir. Contrairement aux selles, les urines sont relativement faciles à collecter sur un période 24 h car les victimes potentielles se prêtent plus aisément au prélèvement des échantillons. Ainsi, les urines seront le milieu d'analyse utilisé lors de cette étude.

Leurs compositions organique et minérale varient en fonction du régime alimentaire de la personne et ont été décrites par différentes études (Putnam, 1971; Sutton and Burastero, 2003). Elles contiennent majoritairement des alcalins et alcalino-terreux (Na^+ , K^+ , Ca^+ , Mg^+), il est également possible d'y trouver des poly-anions comme des phosphates ou des nitrates ou des mono-anions comme des

chlorures ou des fluorures. La composition moyenne est présentée en annexe. Ces ions inorganiques peuvent complexer les actinides. Le pH des urines est habituellement compris entre 3 et 10 pour une personne saine.

La matière organique également présente dans les urines peut aussi complexer les actinides qui s'y trouvent et affecter la mesure que ce soit par spectrométrie alpha (*cf.* partie VI de ce chapitre) ou par ICP-MS (*cf.* partie VII de ce chapitre). C'est pour cela qu'elle est détruite lors d'une étape de minéralisation. La solution obtenue après cette étape est appelée **urine minéralisée**.

Lors d'analyses radiotoxicologiques, la mesure de certaines molécules organiques, comme la créatinine, présentes dans les urines avant minéralisation, permet de représenter la **diurèse** à savoir le volume excrété sur 24 h. Cette donnée permet de normaliser les excrétions urinaires. Lors du calcul de la dose, cette donnée est utilisée pour ramener le calcul à une excrétion de 24 h, si l'analyse a été réalisée sur une miction.

IV. LA SPECIATION

IV.1. GENERALITES

La spéciation chimique d'un élément correspond aux formes chimiques dans lesquelles il se trouve suivant son environnement. Elle dépend des caractéristiques intrinsèques de l'élément (état d'oxydation, constantes de complexation) mais également de celles du milieu (pH, présence d'autres ions, *etc.*).

Les calculs de spéciation permettent de prévoir le comportement des ions dans un environnement donné (matrice biologique (Osman *et al.*, 2013), environnementale (Vercouter *et al.*, 2014)). Ce type de modélisation est également important pour prédire par exemple la mobilité des radionucléides lors du stockage des déchets nucléaires ou encore la rétention de ceux-ci dans l'organisme (Safi *et al.*, 2013).

IV.2. FORCE IONIQUE

La **force ionique I** (Eq. 4) est une représentation de la concentration ionique en solution. Elle est calculée à partir de la charge et de la concentration des ions dans le milieu. Elle s'exprime en mol.kg⁻¹ dans le système international.

$$I = \frac{1}{2} \sum C_i z_i^2 \quad \text{Eq. 4}$$

La contribution d'un ion doublement chargé à la force ionique est ainsi supérieure à celle d'un ion simplement chargé.

IV.3. THERMODYNAMIQUE

IV.3.1. Activité et coefficients d'activités

L'**activité chimique** (a_i) (Eq. 5) d'une espèce est la concentration corrigée (C_i) des effets électrostatiques dus aux autres espèces présentes dans la solution. Elle est liée au potentiel chimique de la solution et permet de corriger l'écart à l'idéalité. Le **coefficient d'activité** (γ_i) est lié à la force

ionique de la solution, ce qui lui permet de représenter au mieux ses effets. Différentes théories ont été développées pour le calcul des coefficients d'activité. Celles-ci sont présentées en annexe. C° définit la concentration standard qui est égale à 1 mol.L^{-1} en solution diluée.

$$(a_i) = \gamma_i \frac{C_i}{C^\circ} \quad \text{Eq. 5}$$

IV.4. LOGICIEL DE SPECIATION

IV.4.1. Généralités

Il existe différents logiciels qui permettent de réaliser des calculs de spéciation. En géochimie et radiochimie, les logiciels les plus fréquemment rencontrés sont CHESS (Van der Lee, 1998), PhreeqC (Parkhurst and Appelo, 2013) ou encore Medusa (Puigdomenech, 1999). C'est ce dernier qui sera utilisé lors de cette étude car il a pour avantage d'avoir une grande latitude sur les données thermodynamiques utilisables. Il est, par ailleurs, implémenté avec différents modèles de calcul des coefficients d'activité dont les équations de Davies ou la Théorie des Interactions Spécifique (TIS) (cf. annexe).

IV.4.2. Code de calcul

MEDUSA (Puigdomenech, 1999) est basé sur le code de calcul Haltafall (Ingri *et al.*, 1967). Ce programme permet au logiciel de calculer les concentrations en solutions pour n'importe quel nombre de complexes, pourvu que leurs constantes d'équilibre et les réactifs les formant soient implémentés dans le fichier d'entrée.

IV.4.3. La base de données

La base de données HYDRA fournie avec MEDUSA est issue des données de l'OCDE publiées en 1992 (Grenthe *et al.*, 1992) et mises à jour en 2003 (Guillaumont *et al.*, 2003).

Les complexes inorganiques de l'ion uranyle manquants ont été ajoutés. Il s'agit notamment de complexes ternaires alcalino-terreux-carbonates-uranyles (cf. annexe). En effet, ces complexes ont un fort impact sur la spéciation de l'uranyle dans différents milieux comme les urines (Osman *et al.*, 2013) ou des eaux de rivières (Vercoouter *et al.*, *in press*).

En effet, $\text{Ca}_2(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3$, (noté complexe 213²) a été observé par Bernhard et collaborateurs en 1996 (Bernhard *et al.*, 1996) par Spectroscopie Laser Résolue en Temps dans des eaux issues de bassins versants de mines d'uranium. D'après les résultats obtenus, une première constante a été déterminée pour ce complexe ternaire à $I = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$: $\log \beta_{213} = 26,8 \pm 0,7$.

En 2000, Kalmykov et Choppin (Kalmykov and Choppin, 2000) ont extrapolé à $I = 0 \text{ mol.L}^{-1}$ avec la Théorie des Interactions spécifiques (TIS) (cf. annexe), les constantes déterminées par fluorescence X à différentes forces ioniques pour obtenir $\log \beta_{213}^\circ = 29,8 \pm 0,7$ pour $\text{Ca}_2(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3$.

² 213 fait référence à la stœchiométrie du complexe

Une nouvelle étude faisant appel à différentes techniques spectroscopiques (EXAFS, SLTR, LIPAS) a été menée pour vérifier la stabilité du complexe $\text{Ca}_2(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3$ (Bernhard *et al.*, 2001) et valider la constante ($\log \beta_{213}^\circ = 30,55 \pm 0,25$). Les valeurs ont été extrapolées à dilution infinie ($I = 0 \text{ M}$) en utilisant l'équation de Davies (*cf.* annexe). L'incertitude sur la constante a également été diminuée, augmentant la confiance en la valeur. La constante du complexe $\text{Ca}(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3^{2-}$ a été obtenue par réduction de la concentration en calcium et établie à $\log \beta_{113}^\circ = 25,4 \pm 0,25$.

Ces constantes ont été discutées dans la mise à jour des données thermodynamiques par Guillaumont et collaborateurs, (Guillaumont *et al.*, 2003) mais aucun consensus sur la valeur n'a été trouvé malgré la nécessité de tenir compte de ces constantes dans les calculs de spéciation. C'est pourquoi celles-ci ne figuraient pas dans la base de données HYDRA.

En 2006, Dong et Brooks (Dong and Brooks, 2006) utilisèrent les échanges ioniques pour différencier les deux complexes, rapportant deux constantes, extrapolées à $I = 0 \text{ mol.L}^{-1}$ par l'équation de Davies, différentes des précédentes $\log \beta_{113, \text{Ca}}^\circ = 27,18 \pm 0,06$ et $\log \beta_{213}^\circ = 30,70 \pm 0,05$. Les constantes sont cette fois-ci entachées d'incertitudes bien plus basses. Les auteurs ont également déterminé la constante pour le complexe 113 $\text{Mg}(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3^{2-}$ ($\log \beta_{113, \text{Mg}}^\circ = 26,11 \pm 0,04$) observé par Geipel et collaborateurs (Geipel and Bernhard, 2006).

La détermination des constantes de stabilité passe par l'extrapolation à $I = 0 \text{ mol.L}^{-1}$ en utilisant un des modèles de calcul de coefficient d'activité. Au vu des domaines où sont réalisés les expériences, les deux principaux modèles utilisés sont la théorie des interactions spécifiques (SIT) ou l'équation de Davies. En effet, les expériences Kalmykov et collaborateurs ont utilisé le premier modèle car leurs expériences ont été réalisées entre 0,1 et 3 mol.L^{-1} . En 2008, Dong et Brooks (Dong and Brooks, 2008) ont comparé l'impact du choix du modèle d'extrapolation sur la valeur de la constante et son incertitude. Pour les expériences réalisées à $I = 0,3 \text{ mol.L}^{-1}$ en milieu NaNO_3 le modèle SIT a été appliqué et la discussion focalisée sur le paramètre d'interaction entre deux espèces (ϵ) à utiliser. En effet, cette théorie indique que ce paramètre est nul entre deux espèces de même signe ou neutre mais certains auteurs sont opposés à cette hypothèse. Guillaumont et collaborateurs (Guillaumont *et al.*, 2003) ont également discuté l'importance du choix de ce paramètre, ce qui a conduit Dong et Brooks à utiliser $\epsilon_{(\text{Mn}^{2+}, \text{NO}_3^-)}$ pour tenir compte de la formation de ces complexes, montrant de ce fait que pour ces expériences à forces ioniques plus élevées, les incertitudes obtenues avec l'équation de Davies sont dix fois supérieures à celles obtenues avec SIT.

Toutes les autres études ayant été réalisées à des forces ioniques inférieures à 0,3 mol.L^{-1} , l'équation de Davies a été utilisée lors de l'extrapolation de la constante de stabilité à $I = 0 \text{ mol.L}^{-1}$. Le domaine de force ionique étant plus adapté à ce modèle cela peut expliquer les incertitudes proches de celles obtenues pour le modèle SIT lors de la détermination des constantes pour les complexes ternaires 113 et 213 du calcium par Dong et Brooks en 2006 (Dong and Brooks, 2006).

Lors de la modélisation de la spéciation, il est nécessaire de maîtriser la base de données utilisée. Des différences significatives sont observées si les données utilisées ne sont pas identiques, d'où l'importance du choix et de la cohérence des constantes utilisées. Ainsi, des intercomparaisons organisées par la CETAMA (GT 32) montrent que le choix de la base de données et sa pertinence est de la plus haute importance (Bion *et al.*, 2005) particulièrement en présence de matière organique. Une intercomparaison plus récente réalisée pour la spéciation de l'uranium dans des eaux exemptes de matière organique montre également l'importance particulière du choix des constantes et l'impact des complexes ternaires calcium-carbonate-uranyle (Vercouter *et al.*, 2014).

IV.5. LA SPECIATION DES ACTINIDES EN MILIEUX BIOLOGIQUES

La littérature regorge d'études de spéciation de l'uranium en milieu biologique. En effet, ces données ont une importance du point de vue de la compréhension du mécanisme de rétention de l'uranium dans l'organisme (Paquet *et al.*, 2009). La forme chimique a un impact important sur l'absorption et la biocinétique des actinides dans l'organisme (Paquet *et al.*, 2003). Ici, on s'intéressera à la spéciation de l'ion uranyle dans les urines fraîches et minéralisées afin de comprendre son impact sur l'extraction de l'uranium par la colonne calix [6]arène choisie. Dans les urines, quelques études ont été réalisées. Sutton et Burastero (Sutton and Burastero, 2004) ont proposé un modèle de spéciation de l'ion uranyle dans les urines qui ne tenait pas compte des espèces ternaires discutées précédemment montrant la prédominance d'espèces telles que UO_2PO_4^- . Osman et collaborateurs (Osman *et al.*, 2013) ont proposé un modèle qui, cette fois, tenait compte des complexes ternaires montrant leur impact sur la spéciation de l'ion uranyle à $7 < \text{pH} < 10$. Ces différents modèles seront discutés plus en détail chapitre III de manière à choisir le jeu de constantes le plus approprié pour réaliser les calculs de spéciation dans les urines fraîches et minéralisées.

V. LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE (CPL)

V.1. PRINCIPES ET GENERALITES

L'IUPAC définit la chromatographie comme un procédé physico-chimique permettant la séparation de substances en mélange. La distribution de ces substances entre la phase mobile et la phase stationnaire permet cette séparation (McNaught and Wilkinson, 2009).

Il existe différents types de chromatographie utilisant une phase stationnaire solide et une phase mobile liquide. Elles peuvent être utilisées pour la purification de produits (en chimie organique par exemple) ou plus couramment pour l'analyse de produits. Les premières analyses datent du milieu du XIX^{ème} siècle. Le « projet Manhattan » a permis des avancées fulgurantes notamment sur la compréhension et l'application des échanges ioniques. Les années 1970 ont vu l'apparition de la chromatographie liquide haute performance ou HPLC (Eith *et al.*, 2002).

En pratique, une première solution contenant les ions ou molécules à analyser est injectée sur la colonne de chromatographie. A cette étape, une première séparation peut avoir lieu. Suivant l'affinité des ions avec la phase stationnaire certains peuvent être retenus d'autres pas. Les ions fixés sont ensuite élués, leur différence de rétention par la phase stationnaire et leur affinité pour la phase mobile

permettent, là encore, de les séparer. Une détection transitoire, permet d'observer un pic chromatographique. L'IUPAC définit le détecteur comme devant être un détecteur conductimétrique ou UV mais il est également possible d'obtenir des signaux transitoires en utilisant d'autres techniques dont l'ICP-MS.

Différents types de mécanismes sont mis en jeu pour aboutir à la séparation des solutés d'intérêt, comme l'échange d'ion, l'adsorption par polarité ou encore l'exclusion de taille. Dans le cas de la séparation des actinides, les colonnes de chromatographie utilisées reposent généralement sur deux types de mécanisme :

- L'échange d'ions
- La chromatographie d'extraction

La chromatographie ionique (ou par échange ionique) est basée sur une réaction chimique stœchiométrique entre les ions d'une solution et des groupements fonctionnels d'une phase stationnaire (Eith *et al.*, 2002). Les interactions entre la phase stationnaire et les analytes sont de nature électrostatique.

La chromatographie d'extraction quant à elle reprend les principes de l'extraction liquide-liquide en immobilisant la phase organique sur la phase stationnaire permettant ainsi d'extraire les ions d'intérêt. Les interactions entre la phase stationnaire et les analytes mettent en jeu la formation de liaisons chimiques entre l'extractant et les ions d'intérêt.

V.2. LES GRANDEURS CHROMATOGRAPHIQUES

De nombreuses grandeurs permettent de représenter les phénomènes physiques se produisant dans les colonnes de chromatographie et de comparer les différentes performances analytiques de celles-ci. Celles utilisées lors de cette thèse vont être décrites dans ce paragraphe.

V.2.1. Le temps de rétention et la sélectivité

Le **temps de rétention** (t_R) est la durée au bout de laquelle l'ion ou le substrat d'intérêt est détecté. t_0 est le temps de rétention d'un composé non retenu par la colonne. Il correspond au volume mort. Pour s'affranchir des paramètres géométriques de la colonne et ne comparer que la différence d'affinité de deux substrats pour le support chromatographique, il est nécessaire de calculer le **facteur de capacité** k' (Eq. 6) (Caude and Jardy, 1994) de chacun des substrats (avec C la concentration et V le volume). Celui-ci peut également être défini comme le rapport : quantité de matière présente dans la phase solide (s)/ quantité de matière présente phase mobile (m). Ainsi, pour un éluant plus le facteur de capacité est faible, plus l'élution est efficace.

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{C_s V_s}{C_m V_m} \quad \text{Eq. 6}$$

Il peut également être intéressant de définir la **sélectivité** α (Eq. 7) de la colonne vis-à-vis de deux substrats. Celle-ci permet de définir la rétention relative de ces deux substrats sur une même colonne

et d'évaluer les performances de la colonne pour leur séparation. Plus la valeur de α est grande meilleure est la séparation.

$$\alpha = \frac{t_{R1} - t_0}{t_{R2} - t_0} = \frac{k'_1}{k'_2} \quad \text{Eq. 7}$$

V.2.2. Plateaux théoriques

Il est nécessaire de pouvoir comparer l'efficacité de colonnes de chromatographie en s'affranchissant de l'affinité du substrat pour les différentes phases.

Pour cela, la colonne est divisée en compartiments élémentaires théoriques dans lesquels se produit un équilibre thermodynamique rapide et réversible entre la phase stationnaire et la phase mobile (Figure 9). Plus le nombre de plateaux théoriques est élevé, plus la colonne est considérée comme efficace.

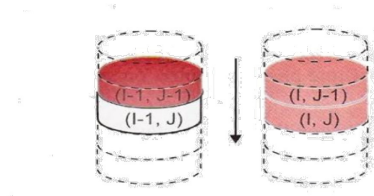


Figure 9 : Représentation des plateaux théoriques

Il existe plusieurs méthodes pour calculer le **nombre de plateaux théoriques** (N) qui sont dépendantes de la forme du pic chromatographique et des différentes grandeurs qui le caractérisent (Figure 10).

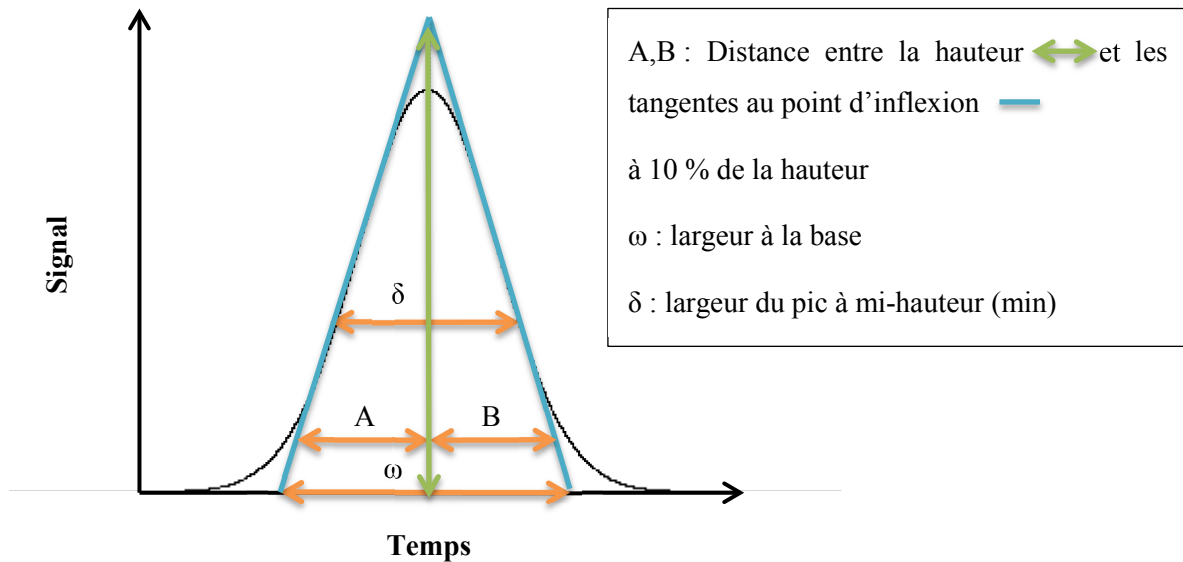


Figure 10 : Représentation d'un pic chromatographique (ici gaussien) et de ses principales caractéristiques

- Si le pic est parfaitement gaussien le nombre de plateaux théoriques répond à l'équation 8 (Caude and Jardy, 1994) :

$$N = \left(\frac{t_R}{\omega}\right)^2 = 5,54 \left(\frac{t_R}{\delta}\right)^2 \quad \text{Eq. 8}$$

- En pratique, un pic chromatographique est rarement gaussien, un effet de traîne (ou « peak-tailing ») apparaît. Le facteur d'asymétrie est alors défini par $T = \frac{B}{A}$. En 1983, Foley et Dorsey ont proposé une méthode d'analyse des pics déformés exprimant le nombre de plateaux théoriques en fonction de T (Eq. 9) (Foley and Dorsey, 1983).

$$N = 41,7 \frac{\left(\frac{t_R}{\delta}\right)^2}{T+1,25} \quad \text{Eq. 9}$$

Le nombre de plateaux théoriques permet de comparer deux colonnes de géométries identiques. De manière à comparer deux colonnes avec des géométries différentes, il faut donc calculer la **hauteur de plateau théorique** (H) (Eq. 10). Plus cette valeur est faible, plus la colonne est efficace.

$$H = \frac{L}{N} \text{ avec } L : \text{longueur de la colonne (m)} \quad \text{Eq. 10}$$

A titre d'exemple une colonne de HPLC contient environ 50 000 plateaux théoriques par mètre, une colonne de chromatographie liquide 200.

V.3. LES PHASES SOLIDES

Une séparation sur colonne chromatographique est utilisée afin d'isoler les actinides de la matrice urinaire mais également pour les séparer entre eux et éviter les interférences lors de la mesure. En effet, quelle que soit la technique de mesure utilisée (spectrométrie alpha ou ICP-MS), ces interférences peuvent augmenter les limites de détection.

Les supports chromatographiques utilisés peuvent être soit : greffés (Nilchi *et al.*, 2012), auquel cas la molécule extractante est liée chimiquement à un support solide (de silice, par exemple), ou imprégnées comme dans le cas des colonnes calix[6]arènes développées au Laboratoire de Radiochimie de l'IRSN (Boulet *et al.*, 2008).

Les supports greffés présentent, en règle générale, l'avantage de pouvoir résister à la pression. L'imprégnation quant à elle ne modifie pas la conformation et la géométrie des molécules utilisées.

La plupart des colonnes utilisées pour la séparation des actinides repose sur la chromatographie liquide basse pression, le passage des solutions à travers des colonnes ayant lieu par simple gravité.

V.3.1. Les résines pour la séparation des actinides

V.3.1.a. Les résines commerciales

Les analyses usuelles de radiotoxicologie utilisent en général des colonnes de chromatographie développées spécifiquement pour la séparation des actinides.

Dans le but d'isoler chacun de ces actinides, il est habituellement nécessaire d'utiliser plusieurs colonnes successives pour réaliser cette séparation.

Horwitz et collaborateurs (Horwitz *et al.*, 1995) ont ainsi développé trois types de résines commercialisées par la société Eichrom™ :

- la résine TEVA® composée d'Aliquat™336 (sel d'ammonium quaternaire)

- la résine UTEVA® composée de diamyl, amyolphosphonate
- la résine TRU® composée d'un mélange TBP/CMPO

La séparation est réalisée par ajustement des états d'oxydation et une élution sélective par conversion des colonnes par les ions chlorure ou les ions nitrate.

La première colonne conditionnée en milieu nitrate permet d'extraire Th(IV), Pu(III), Np(IV), après ajustement de leurs états d'oxydation. L'élution est réalisée par HCl pour Th et dans un mélange HNO₃/HF pour Pu et Np. Puis, le pied de la colonne contenant U et Am est injecté dans la colonne suivante U/TEVA afin d'extraire U qui sera ensuite élué par HNO₃. Finalement la dernière fraction contenant Am est chargée sur la troisième colonne TRU. Am sera ensuite élué en milieu acide nitrique afin de les séparer des lanthanides et autres produits fission.

Il existe d'autres types de résines notamment la résine DGA Resin® composée de NNN'N' tétraoctyldiglycolamide. Celle-ci a une affinité particulière pour Am(III) tout en permettant facilement son élution à l'inverse de certaines résines qui ont une bonne affinité pour Am mais ne permettent pas une élution quantitative.

A des visées d'analyses radiotoxicologiques par spectrométrie alpha, Harduin et collaborateurs (HARDUIN *et al.*, 1996), proposent un système de séparation mettant en œuvre la colonne DOWEX anionique pour séparer Pu et une partie de Th en milieu nitrique en amont d'une colonne TEVA et de deux colonnes TRU (Figure 11).

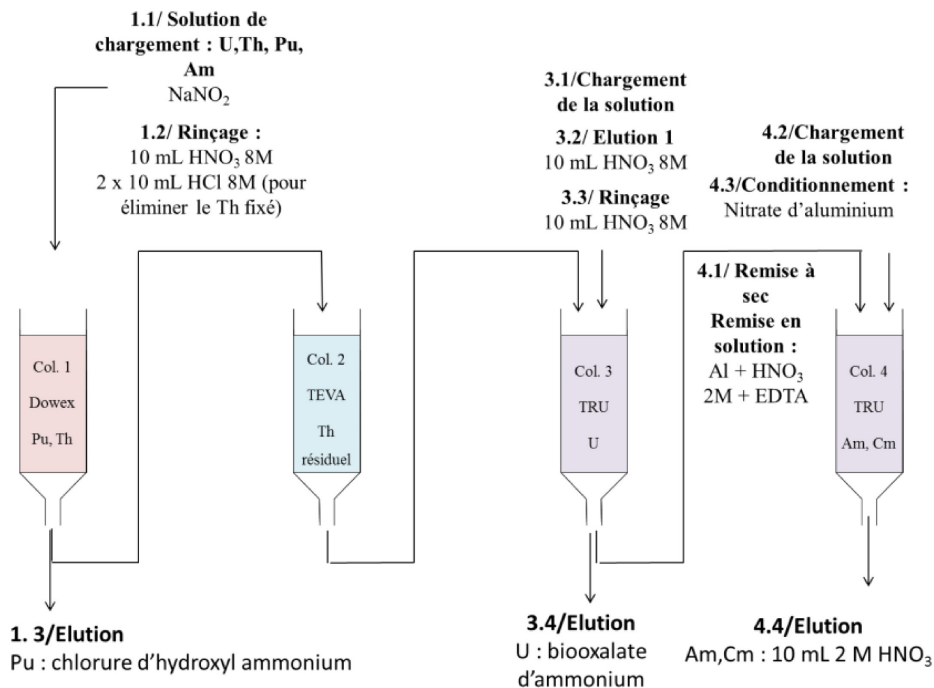


Figure 11 : Protocole de séparation des actinides précédant une mesure par spectrométrie alpha en radiotoxicologie (HARDUIN *et al.*, 1996).

Ces différents protocoles permettent une extraction quantitative des actinides et une séparation sélective. Cependant, l'affinité des colonnes utilisées pour seulement un ou deux actinides nécessite

une mise en œuvre en cascade, entraînant des schémas de séparation relativement complexes. Même s'il existe de nombreuses variantes possibles pour réaliser ces séparations, les étapes de conditionnement des résines, des échantillons (évaporation/remise à sec) ainsi que le nombre de colonnes utilisées empêchent l'utilisation de ces méthodes en situation de crise.

V.3.1.b. Les calixarènes

V.3.1.b.i. Généralités

Les calixarènes sont une famille de macromolécules hétérocycliques. La première molécule fut synthétisée en 1878 par Baeyer grâce à la condensation d'un phénol par le formaldéhyde en milieu basique. La structure macrocyclique des calixarènes fut déterminée en 1941. Ils sont composés de cycles phénoliques *para*-substitués séparés entre eux par des ponts méthyléniques. (Figure 12).

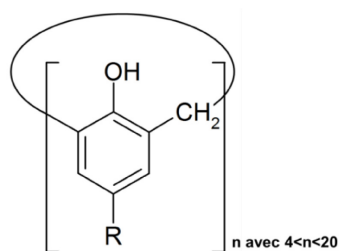


Figure 12 : Formule générale des calix[n]arènes

Le calixarène est divisé en deux régions : une cavité délimitée par les groupements R (*tertio*-butyl par exemple) et appelée bord supérieur (bien qu'apparaissant sur la partie supérieure de la Figure 13), le bord inférieur est quant à lui délimité par les fonctions hydroxyles. Un calixarène a une forme conique, ce qui lui a donné son nom (Figure 13). Le terme calixarène, fut introduit en 1978 par Gutsche et Muthukrishnan (Gutsche and Muthukrishnan, 1978) pour simplifier la nomenclature de ces macrocycles. Le préfixe est dérivé du latin « calyx » signifiant vase, représentant la forme conique et le suffixe arène indique le macrocycle formé par les groupements phénoliques.

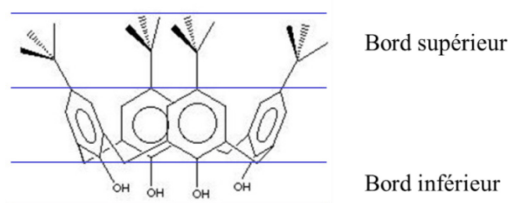


Figure 13 : Représentation d'un p-terbutyl calix[4]arène(Bassez, 1998)

Les calixarènes ont une affinité générale pour les cations, que ce soient des métaux de transition ou les actinides.

V.3.1.b.ii. Les calix[6]arènes du LRC

Les molécules de calixarènes utilisées lors de ce projet sont des calix[6]arènes super-uranophiles (Figure 14) : 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂COOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène (calix[6]arène carboxylique ou L_{carb}H₃ ou CC) (M = 1189,56 g.mol⁻¹) (Otsuka *et al.*, 1995) et le 1,3,5-OCH₃-2,4,6-

$\text{OCH}_2\text{CONHOH}$ -*p-tert*-butylcalix[6]arène (calix[6]arène hydroxamique ou $L_{\text{hyd}}\text{H}_3$ ou CH) ($M = 1234,6 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) (Bennouna *et al.*, 2001).

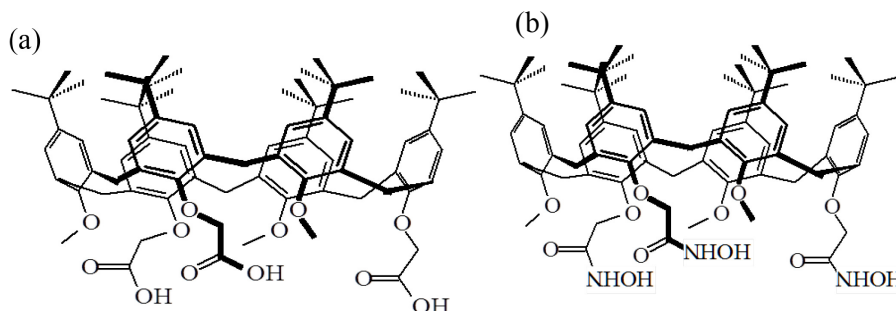


Figure 14 : (a) 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂COOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène et (b) 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂CO-NHOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène

V.3.1.b.iii. Utilisation pour l'extraction des actinides en milieux biologiques

Les premiers essais d'utilisation du calix[6]arène carboxylique ont été menés par Dinse et collaborateurs par extraction liquide-liquide (Dinse *et al.*, 1997). Baglan et collaborateurs (Baglan *et al.*, 1997) ont montré une très bonne affinité de ce calix[6]arène carboxylique pour l'uranium. En effet, $L_{\text{carb}}\text{H}_3$ permet d'extraire sélectivement ($99,5 \pm 1,0$) % de U sans extraire le plutonium présent en solution à un pH d'extraction de 3,8. Par ailleurs, cette étude a démontré que ce calix[6]arène présente une très bonne sélectivité en faveur des actinides vis-à-vis des alcalins ou des alcalino-terreux qui ne sont pas extraits. L'américium (III) est également bien extrait par ce calix[6]arène carboxylique.

Les études se sont poursuivies sur le calix[6]arène hydroxamique démontrant son affinité pour Pu(IV). Boulet et collaborateurs (Boulet *et al.*, 2007) ont également démontré que la sélectivité de ce calix[6]arène vis-à-vis de l'uranium et du plutonium en système liquide-liquide dépendait du pH. En effet, la réaction d'extraction des actinides se base sur l'échange d'ions H^+ comme discuté plus loin. Ils ont montré sur des solutions de contamination synthétiques (NaNO_3 0,04 mol.L⁻¹ tamponné à pH = 5,2 par du tampon acétate) que 99 % du Pu(IV) (l'état d'oxydation est fixé par les conditions opératoires) était extrait à partir de pH = 2 alors que l'uranium et l'américium ne sont extraits de manière quantitative qu'à partir de pH = 5,2 (Figure 15). Cette propriété peut être utilisée pour réaliser une séparation sélective de Pu vis-à-vis de U et Am lors de la fixation.

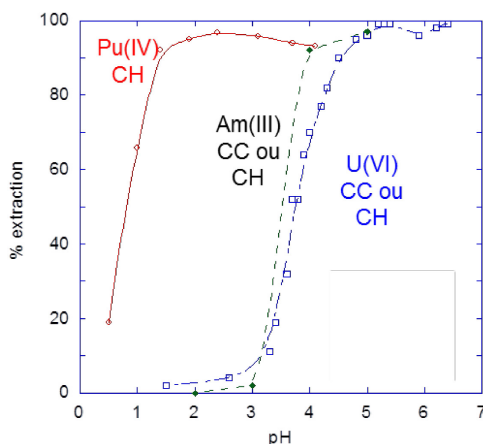


Figure 15 : Extraction de U, Pu, Am par le calix[6]arène hydroxamique ou carboxylique en système liquide-liquide en fonction du pH à partir de solutions de contamination synthétiques de nitrate de sodium

En 2007, une étude a cherché à séparer l'uranium et l'américium de manière sélective à l'aide de résines Macroprep© (polymétacrylate) imprégnées du calix[6]arène carboxylique ou hydroxamique (Poriel *et al.*, 2007). Les résultats ne montrent certes pas une sélectivité en milieu synthétique (NaNO_3 , $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$), en revanche on remarque la très bonne extraction de U et Am à $\text{pH} = 5$ sur les deux types de support de chromatographie. Suite à ces résultats et en vue d'utiliser les calix[6]arènes dans des protocoles d'extraction pour une application à des analyses radiotoxicologiques de routine, ces molécules de calix[6]arène ont été imprégnées sur des résines pour une mise en œuvre sous forme de colonne de chromatographie (Boulet *et al.*, 2008).

Ces résultats ont conduit à proposer un nouveau protocole d'analyses radiotoxicologiques (décrit Figure 16) utilisant les deux colonnes développées lors de ces différentes études, permettant d'extraire sélectivement les trois actinides en jouant sur le pH de la phase mobile et la composition de ces éluants en vue d'une analyse par spectrométrie alpha ou par ICP-MS. (Bouvier-Capely *et al.*, 2009). Le pH de la solution contenant les actinides est d'abord ajusté à $\text{pH} = 2,7$ puis celle-ci est injectée sur la colonne en calix[6]arène hydroxamique ($\text{L}_{\text{hyd}}\text{H}_3$) d'où le plutonium est élué en milieu acide chlorhydrique. Puis la fraction U et Am est récupérée et son pH est ajusté à 5, cette solution est ensuite injectée sur la colonne en calix[6]arène carboxylique ($\text{L}_{\text{carb}}\text{H}_3$), puis Am est élué sélectivement à l'aide d'EDTA à $\text{pH} = 3,2$ puis U à l'aide de HCl.

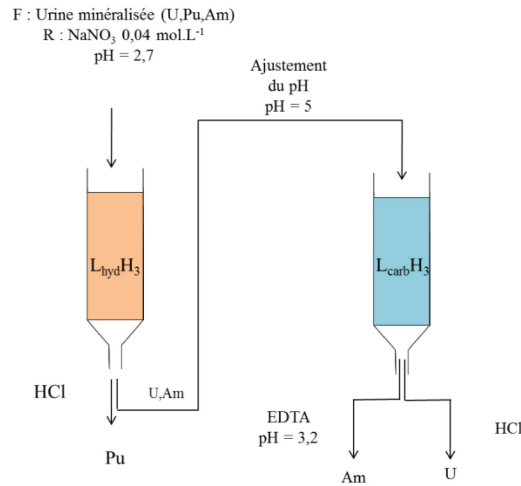
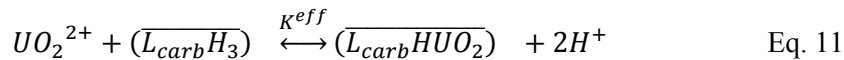


Figure 16 : Protocole de séparation de U, Pu, Am contenus dans une urine minéralisée (Bouvier-Capely *et al.*, 2009)

Ce protocole permet de réduire les durées d'analyses grâce à l'utilisation d'une colonne de moins que les protocoles usuels et évite toute étape de remise à sec de l'échantillon. Par ailleurs, les fractions d'élution peuvent être analysées soit par spectrométrie alpha soit par ICP-MS. Ces optimisations permettent ainsi de rendre un résultat d'analyse en 3 jours si la mesure est réalisée par ICP-MS.

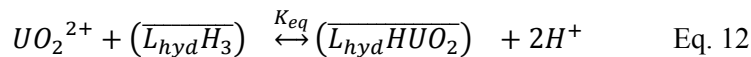
V.3.1.b.iv. Réaction d'extraction avec les actinides

L'affinité et la sélectivité du 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂COOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène (L_{carb}H₃) pour les actinides a été étudiée par C. Dinse lors de sa thèse (Dinse, 1999). Lors de cette étude, la réaction d'extraction de l'uranium a pu être établie en système liquide-liquide (Eq. 11). La valeur de la constante effective d'extraction a été établie, $K^{eff}(UO_2^{2+}) = (4,68 \pm 0,92).10^{-4}$ dans une solution de contamination synthétique composée de nitrate de sodium à 0,04 mol.L⁻¹.



De manière à pouvoir être extraits, les actinides doivent être sous les formes U(VI), Pu(IV ou VI) et Am(III).

En ce qui concerne le calix[6]arène hydroxamique, il extrait l'uranium selon la réaction définie Equation 12. Une constante apparente $K_{eq} = (7,22 \pm 0,77).10^{-5}$ mol.L⁻¹ a été déterminée lors d'une étude thermodynamique en système liquide-liquide:



Ce calix[6]arène présente également une bonne affinité vis-à-vis de Pu (sous forme IV ou VI) et Am(III).

Comme le montrent les Equations 11 et 12, ces calix[6]arènes complexent efficacement les actinides en se déprotonant, en revanche ils ne sont pas solubles dans l'eau. Les pKa du calix[6]arène carboxylique ont pu être déterminés en milieu méthanol (7,88/8,37/9,23) (Souane *et al.*, 2003) par titrage potentiométrique à l'aide de Et₄NOH. En revanche, cela n'a pas été possible pour le

calix[6]arène hydroxamique à cause d'une dérive de potentiel qui provient du fait que l'équilibre cinétique n'est pas atteint.

V.3.2. Conclusion

Alors que le protocole décrit Figure 16 utilise deux colonnes pour extraire et séparer les actinides, l'objectif de ce travail de thèse sera de mettre en œuvre une seule colonne pour l'extraction simultanée des actinides de manière à pouvoir ensuite les éluer sélectivement si nécessaire et les analyser grâce à un couplage en ligne entre la colonne choisie et un ICP-MS. En effet, dans le contexte de la crise il semble plus approprié de n'utiliser qu'une seule colonne afin de simplifier le protocole. Une fois les actinides extraits sur la colonne, la fraction d'élution sera analysée en ligne par l'ICP-MS. La séparation pourrait être réalisée à ce moment si nécessaire.

Dans ce contexte, une modélisation de l'extraction de l'uranium sur la colonne retenue sera effectuée et utilisée pour optimiser ses performances. Cela amènera à compléter les données précédentes obtenues en système liquide-liquide en déterminant la constante d'extraction de l'uranium par le calix[6]arène immobilisé sur la résine CH. Cette constante sera utilisée pour des calculs de spéciation pour simuler les phénomènes se produisant lors de l'extraction sur la colonne et améliorer les rendements d'extraction des actinides par la colonne CH.

V.4. LES PHASES MOBILES

Les éluants qui devraient être utilisés lors de cette étude doivent avoir différentes propriétés. En effet, il est nécessaire de contrebalancer l'extraction des actinides par les molécules de calix[6]arène. Pour cela, plusieurs mécanismes peuvent être mis en œuvre : abaisser le pH, créer une compétition en ajoutant un complexant dans l'éluant ou bien réduire le état d'oxydation de U et Pu pour favoriser leur dés-extraction. L'abaissement du pH va permettre de reprotoner les fonctions acides du calix[6]arène permettant ainsi l'élution des actinides. L'ajout d'un complexant dans l'éluant entraînera une compétition entre la réaction d'extraction des actinides par le calix[6]arène et la réaction de complexation de ces actinides par l'éluant, favorisant également leur dés-extraction de la colonne. Il est également possible d'ajouter un réducteur, pour améliorer l'élution de U et Pu. En effet, ils sont extraits aux états d'oxydation IV ou VI, par les calix[6]arènes carboxylique ou hydroxamique, les réduire aux états d'oxydation IV pour U ou III pour Pu pourrait permettre de les éluer plus facilement. La solution d'élution idéale pourra utiliser une seule de ces propriétés mais également être un mélange de produits combinant les effets pour améliorer la dés-extraction.

De nombreuses solutions présentant ces propriétés sont proposées dans la littérature pour l'élution des actinides qui ont été extraits sur des colonnes commerciales (TRU, TEVA, UTEVA). On retrouve parmi elles l'acide chlorhydrique et l'acide nitrique qui sont des acides forts qui pourraient permettre la reprotonation du calix[6]arène carboxylique ou hydroxamique. Des acides organiques faibles et complexants semblent également permettre la dés-extraction des actinides de la colonne. C'est le cas de l'acide oxalique en milieu acide ou sous forme oxalate (Benkhedda *et al.*, 2005) ou encore de l'EDTA (Epov *et al.*, 2005) qui permettrait non seulement de reprotoner le calix[6]arène mais également de

complexer les actinides pouvant ainsi améliorer leur désextraction. L'acide phosphorique peut présenter des propriétés similaires, car les complexes entre les actinides d'intérêt et les phosphates ont des constantes de formation élevées (Guillaumont *et al.*, 2003), de plus c'est un acide modérément fort ($pK_{a1} = 1,75$).

La solution d'éluant peut également contenir un réducteur de manière à abaisser les états d'oxydation des actinides, notamment U(VI) et Pu(IV ou VI). Parmi les réducteurs qu'il est possible d'utiliser, on trouve $TiCl_3$ (Maxwell *et al.*, 2014) ou encore NH_4OCl (Greis *et al.*, 2007). Il serait donc possible de les ajouter à la solution d'éluant afin de faciliter la désextraction de ces deux actinides.

Par ailleurs, le couplage en ligne de la colonne à l'ICP-MS impose quelques contraintes sur la composition de l'éluant. Ainsi, celui-ci doit avoir une concentration maximale de 1 g.L^{-1} en sel et de 10 % en acide pour le bon fonctionnement de l'ICP-MS.

La séparation par chromatographie est utilisée à partir du moment où les actinides d'intérêt se trouvent dans une matrice complexe. Celle-ci permet de concentrer les éléments d'intérêt de la matrice et d'éliminer cette dernière. La séparation des actinides est donc la première étape des analyses radiotoxicologiques. Certaines méthodes nécessitent également une séparation sélective afin de limiter les interférences au niveau de leur mesure, c'est le cas à la fois avec la spectrométrie alpha (technique de mesure de prédilection en radiotoxicologie) mais également avec l'ICP-MS. L'objectif est, à terme, d'utiliser une seule colonne de chromatographie à base d'un calix[6]arène développé au laboratoire, pour réduire le temps de séparation, puis cette colonne sera couplée à un ICP-MS, ce qui imposera de respecter des contraintes en termes de concentration d'acide (10 %) et en sel (1 g.L^{-1}). Le choix de l'éluant sera étudié du point de vue de son affinité pour les actinides et de son impact sur leur désextraction mais aussi de sa compatibilité avec une utilisation lors du couplage de la colonne à l'ICP-MS (débit, concentration, ...).

VI. ANALYSES RADIOTOXICOLOGIQUES POUR LES EMETTEURS ALPHA

VI.1. ANALYSES DE ROUTINE

VI.1.1. Le suivi des travailleurs

Les travailleurs de l'industrie du nucléaire bénéficient d'un suivi radiologique dont la fréquence dépend de leur catégorie (A ou B, Tableau 2). La nouvelle législation prévoit un suivi radiotoxicologique annuel pour les travailleurs de catégorie A et biennuel pour ceux de catégorie B.

En cas de travail en zone contaminante, des analyses sont effectuées sur les urines pour U et Am et sur les selles pour Pu après 24 heures.

Dans la suite de ce chapitre les protocoles utilisés en routine et les adaptations qui ont été proposées pour leur application en situation de crise seront présentés.

VI.1.2. Le principe

VI.1.2.a. Généralités

L'analyse des actinides dans les urines repose habituellement sur la mesure par spectrométrie alpha, qui consiste à compter les particules alpha (faiblement pénétrantes) émises par une source. Afin que les particules alpha ne soient pas arrêtées par la matière organique et minérale constituant l'échantillon (Vajda and Kim, 2010), il est nécessaire d'éliminer au préalable la matrice urinaire et de concentrer les éléments d'intérêt avant la préparation de sources en couches minces. Ces sources sont ensuite placées dans des chambres alpha sous vide et les particules émises sont alors comptées pendant plusieurs jours et discriminées en fonction de leurs énergies, permettant ainsi d'identifier les radionucléides présents dans l'échantillon. Toutefois, la présence d'interférences spectrales entre certains actinides (par exemple : $^{238}\text{Pu}/^{241}\text{Am}$) va nécessiter une séparation sélective et quantitative de U, Pu et Am entre eux, avant la préparation de la source, en utilisant des colonnes de chromatographie et des éluants spécifiques. La quantification de chaque radionucléide est réalisée par étalonnage interne à l'aide de traceurs spécifiques pour chaque actinide (^{232}U , ^{242}Pu , ^{243}Am) ajoutés avant le début du traitement de l'échantillon. Les limites de détection obtenues dans les urines après chimie sont de l'ordre de $0,5 \text{ mBq.L}^{-1}$ dans les urines (pour un temps d'analyse global de 7 jours comprenant 4 jours de traitement de l'échantillon puis 3 jours de comptage). Pour respecter les limites de dose réglementaires, la CIPR 78 a défini les limites de détection requises pour le suivi des travailleurs (Fry *et al.*, 1997) : 10 mBq.L^{-1} pour les isotopes de U, 1 mBq.L^{-1} pour les isotopes de Pu et de Am.

Les différentes étapes de ces protocoles d'analyses de routine seront détaillées dans ce paragraphe, et plus particulièrement l'étape de minéralisation qui fera l'objet d'une étude approfondie lors de ce travail de thèse.

VI.1.2.b. Minéralisation

La minéralisation est la première étape de toute analyse radiotoxicologique de routine. Elle a pour but de détruire la matrice organique mais aussi de concentrer les analytes d'intérêt avec pour objectif ultime d'abaisser les limites de détection.

Cette minéralisation comprend plusieurs étapes qui seront décrites ci-dessous :

1. La minéralisation par voie humide pour détruire une partie de la matière organique
2. L'entraînement ou co-précipitation des actinides pour les concentrer
3. La calcination du précipité au four à moufle pour détruire la totalité de la matière organique restante
4. La reprise du calcinat (ou minéralisat) en vue du passage sur colonne. Cette solution de reprise est la solution appelée **urine minéralisée**

Minéralisation par voie humide

La minéralisation par voie humide est la première étape de la plupart des méthodes utilisées à l'heure actuelle (Kumar *et al.*, 2009; Qiao *et al.*, 2013). Elle consiste à porter l'urine à ébullition sous reflux,

en présence d'acide nitrique concentré ($w_t = 67\%$) de manière à détruire la majeure partie de la matière organique présente.

Les analyses radiotoxicologiques des actinides sont habituellement réalisées sur des urines de 24 h (soit 1,4 L). Travailler sur ce volume au départ a non seulement un intérêt du point de vue de la détermination de la dose (*cf.* partie I.5.2 de ce chapitre) mais également un intérêt du point de vue métrologique. En effet, plus le volume collecté est important plus la quantité d'actinides recueillie est grande, la limite de détection en sera donc abaissée.

Entraînement des actinides par co-précipitation

Une fois la majeure partie de la matière organique détruite, une étape de co-précipitation est réalisée de manière à concentrer les actinides.

La co-précipitation est le fait d'entraîner un ion présent à l'état de traces en faisant précipiter un autre ion présent en quantité pondérable ou ajouté à la solution dans cet objectif. Il est nécessaire que l'ion qui sert d'entraîneur soit de même charge que l'ion entraîné.

Il existe de nombreux moyens de co-précipiter de manière efficace les actinides. Il est généralement nécessaire d'ajuster le pH pour atteindre le point de précipitation du sel d'intérêt. C'est le cas de la précipitation des phosphates d'alcalino-terreux pour entraîner U, Th, Pu, et Am (Zoriy *et al.*, 2004), de l'oxyde de titane pour Am et Cm (Gagne *et al.*, 2013) ou U, Pu, Am et Cm (Dai and Kramer-Tremblay, 2010) ou encore de la précipitation des hydroxydes ferriques pour U (Chou and Moffatt, 2000), l'oxyde de manganèse est aussi un potentiel entraîneur (Qiao *et al.*, 2013). D'autres méthodes telle que l'ajout de sulfate de baryum (Kimura and Kobayashi, 1985) peuvent également être utilisées. Le choix de la méthode de précipitation est fonction du pH, de l'ajout ou non d'ions non présents ou en trop faible quantité dans les urines et surtout des actinides à entraîner et le état d'oxydation dans lequel il se trouve.

La précipitation des phosphates d'alcalino-terreux (utilisés comme entraîneur) nécessite uniquement d'augmenter le pH de l'urine à l'aide d'eau ammoniacale alors que celles mettant en œuvre des métaux de transition (Mn ou Fe) nécessitent l'ajout de ces derniers.

Le choix de la méthode de précipitation lors de ce projet a fait l'objet d'une étude à la fois expérimentale et de spéciation qui sera détaillée chapitre III. On cherchera alors à expliquer quels phénomènes sont à l'origine de la précipitation des trois actinides d'intérêt.

Calcination au four à moufle

Une fois le précipité décanté et isolé, il peut être traité de plusieurs manières, afin de détruire la matière organique restante et d'obtenir une solution liquide. La méthode dite « classique » consiste en une calcination au four à moufle à haute température (900°C). Cette méthode est très efficace et bien maîtrisée mais nécessite 14 heures, ce qui est inadapté à une situation de crise pour laquelle il faudrait être capable de rendre un résultat en moins de 8 heures. L'efficacité d'une méthode de minéralisation

au four à micro-ondes en milieu acide et oxydant sera investiguée lors de cette étude afin de valider son utilisation en situation de crise.

Reprise du minéralisat

L'extraction sur colonne de chromatographie pour séparer les éléments d'intérêt de la matrice peut nécessiter un ajustement du état d'oxydation des actinides en fonction du type de colonne utilisé. En règle générale, il est nécessaire d'avoir U(VI), Pu(IV) et Am(III), ce qui peut imposer de « stabiliser » le plutonium sous forme Pu(IV). Pour ce faire, l'ajout de nitrite de sodium à l'urine minéralisée est habituellement recommandé (Li *et al.*, 2008).

Le protocole de minéralisation développé lors de cette étude est détaillé en annexe.

VI.1.2.c. La séparation des actinides sur colonnes

Cette étape vise à séparer les actinides les uns des autres, avant leur mesure « individuelle » par spectrométrie alpha.

Les colonnes utilisées et les principes mis en œuvre ont été détaillés précédemment (partie V de ce chapitre).

VI.1.2.d. Préparation de la source de spectrométrie alpha

Une source de spectrométrie alpha doit être aussi fine et régulière que possible, de manière à éviter toute atténuation des particules alpha lors de la mesure.

Il est possible de préparer les sources de spectrométrie alpha par co-précipitation d'un fluorure de terre rare (LaF₃, NdF₃, CeF₃). Les terres rares sont de bons analogues des actinides aux états d'oxydation III ou IV et leur précipitation entraîne les actinides. Ce micro-précipité est filtré et le filtre sert de source alpha pour le comptage. L'autre méthode utilisée est l'électrodéposition sur une plaque métallique qui est ensuite directement placée dans la chambre du spectromètre pour le comptage.

Co-précipitation : exemple de LaF₃

Le pH de la solution à analyser (*i.e.* la fraction récupérée en pied de colonne et contenant un des actinides) est ajusté à environ 1,8. Les états d'oxydation des actinides devant être stabilisés aux degrés III ou IV. TiCl₃ est ajouté en tant que réducteur. Du chlorure de lanthane et de l'acide fluorhydrique sont ajoutés à la solution. Les actinides d'intérêt sont alors co-précipités, puis la solution filtrée sur des filtres Millipore de 0,22 µm.

Electro-dépôt :

C'est un procédé utilisant un courant pour former une couche mince de cations métalliques présents en solution sur une électrode. Cette technique permet l'obtention d'une couche suffisamment mince et homogène pour être utilisée lors de la mesure par spectrométrie alpha (Crespo, 2012).

VI.1.2.e. La mesure par spectrométrie alpha

La spectrométrie alpha permet de compter les particules alpha en les discriminant en fonction de leurs énergies.

La source préparée précédemment est placée dans une chambre de mesure qui sera mise sous vide grâce à une pompe primaire. Les particules alpha seront détectées par un détecteur en cristal de silicium semi-conducteur suite à l'application d'une tension entre le porte-échantillon et le détecteur, où grâce à la création de paires d'ions elles seront discriminées. En effet, le nombre de paires d'ions créé dépend de l'énergie apportée par la particule alpha. L'efficacité du détecteur dépend de sa distance avec la source. Le signal analogique est ensuite converti, après avoir été amplifié, en signal numérique de manière à pouvoir observer le spectre alpha qui pourra être déconvolué. Le rendement de comptage des détecteurs est d'environ de 20 % avec une résolution de 10 keV. Le calcul de l'activité mesurée (A) répond à l'Equation 13 et dépend du temps de comptage (t), du rendement de la chambre (rdt) et du nombre de coups mesuré (N).

$$A_{mesurée} = \frac{N}{t \times rdt} \quad \text{Eq. 13}$$

L'activité mesurée est dépendante du rendement chimique global du protocole. De manière à pouvoir tenir compte de celui-ci, un traceur interne (*i.e.* un isotope non présent, ²³²U, ²⁴²Pu, ²⁴³Am) est ajouté en quantité connue (A_t). Finalement l'activité réelle de l'échantillon (A_e) pourra être quantifiée en fonction du signal obtenu N_t pour le traceur et de N_e pour l'échantillon suivant l'Equation 14.

$$A_e = \frac{N_e}{N_t} \times A_t \quad \text{Eq. 14}$$

VI.2. ANALYSES EN SITUATION DE CRISE

VI.2.1. Généralités

Les différentes crises nucléaires comme l'accident de Tchernobyl en 1986 ou de la centrale de Fukushima Daïchi en 2011 ont montré la nécessité de disposer de méthodes d'analyses rapides des émetteurs alpha pour faire face à ce type d'évènement. Bien que les méthodes d'analyses radiotoxicologiques de routine actuelles soient très efficaces et permettent d'atteindre des limites de détection basses, elles sont longues et assez difficiles à mettre en place, particulièrement lorsqu'il y a un grand nombre de victimes potentielles.

Pour faire face à des situations de crises, des protocoles alternatifs et plus rapides ont été développés pour l'analyse des actinides dans les urines. Certaines de ces méthodes mettent en œuvre la spectrométrie alpha mais les méthodes non radiométriques prennent une place de plus en plus importante dans le paysage de l'analyse en situation de crise.

VI.2.2. Méthodes rapides par spectrométrie alpha

Les méthodes d'analyse utilisables en situation de crise requièrent de rendre les résultats de ces analyses le plus rapidement possible. Les analyses de routine pouvant durer plus d'une semaine, il est donc nécessaire d'optimiser les différentes étapes des protocoles usuels.

Pour se préparer à une éventuelle crise et vérifier leur capacité analytique que ce soit du point de vue de la quantité d'échantillons à traiter ou des limites de détection obtenues, les laboratoires de radiotoxicologie participent régulièrement à des exercices d'intercomparaison. Une d'entre elles organisée par le NIST (National Institute for Standards and Technologies) (Nour *et al.*, 2011) a amené à conclure sur les améliorations à apporter afin de répondre à une situation de crise. Il est apparu lors de ces exercices que la préparation et l'acquisition d'automatismes expérimentaux par les opérateurs étaient nécessaires pour pouvoir répondre efficacement à une situation de crise. Par ailleurs, la durée totale de l'analyse du début du traitement de l'échantillon, au rendu du résultat, doit être inférieure à 8 heures. Cette durée, qui correspond à une journée de travail, semble la limite qu'il faudrait ne pas dépasser pour rendre un résultat d'analyse avec le protocole que l'on cherchera à développer dans le cadre de cette thèse.

Il existe plusieurs moyens d'augmenter la rapidité des analyses lorsque la mesure est réalisée par spectrométrie alpha. Les différentes étapes à optimiser sont :

- La minéralisation de l'urine
- La séparation des actinides sur colonnes
- La durée de comptage alpha

Pour vérifier que ces méthodes sont adaptées à la gestion de crises, certains auteurs convertissent les limites de détection obtenues (ou les activités minimales détectées) en doses absorbées à l'aide d'un scénario de contamination donné, afin d'évaluer les performances analytiques de ces méthodes par rapport aux niveaux de dose prédéfinis. Pour pouvoir comparer les méthodes entre elles, nous nous attacherons à convertir les limites de détection obtenues en doses à l'aide des diagrammes TIARA (*cf.* annexe et paragraphe I.5.2 de ce chapitre). Il en sera de même pour les études réalisées lors de cette thèse.

VI.2.2.a. Optimisation de la minéralisation

Pour diminuer la durée de l'étape de minéralisation, il est possible de s'affranchir de la minéralisation par voie humide et de précipiter directement les actinides pour les concentrer par précipitation d'oxyde de titane par exemple (Dai and Kramer-Tremblay, 2011), ou encore par précipitation d'un phosphate de calcium (après ajout de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ et NH_4HPO_4) en augmentant le pH (Maxwell III and Jones, 2009). Dans les deux cas, le précipité est ensuite récupéré puis redissous par un mélange $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$. Cependant, pour réaliser l'entraînement « direct » des actinides par précipitation, il est recommandé d'utiliser des volumes d'échantillons urinaires relativement faibles (100 à 200 mL), afin de limiter la quantité de matière organique présente. Lorsqu'on travaille sur de plus grands volumes, comme lors des analyses de routines (1 L par exemple), il est difficile d'éliminer toute la matière organique qui pourrait interférer avec l'extraction par simple entraînement des actinides. Pour détruire la totalité de la matière organique, il peut être judicieux de récupérer le précipité et de le digérer au four à micro-ondes (Benkhedda *et al.*, 2005) au lieu de le calciner au four à moufle afin de limiter la durée de cette étape. Pour ce faire, le précipité est dissous en milieu acide nitrique/eau oxygénée puis minéralisé.

Dans le cadre de ce travail de recherche, un protocole de minéralisation de l'urine par digestion au four à micro-ondes compatible avec l'utilisation des colonnes calix[6]arènes sera validé chapitre III.

VI.2.2.b. Optimisation de la séparation

Une fois cette première étape optimisée, il peut être nécessaire de réduire le temps de passage sur colonne. La séparation des actinides nécessite souvent l'utilisation de plusieurs colonnes en cascade (2 à 4 suivant les protocoles) et le passage des solutions par simple gravité sur les colonnes peut nécessiter plusieurs heures. Il est également parfois nécessaire d'évaporer les échantillons à sec entre les différentes colonnes pour améliorer l'extraction. En 2007, Maxwell et collaborateurs (Maxwell, 2007) ont proposé d'utiliser un système de vide permettant de contrôler les débits de chargement sur la colonne accélérant ainsi la séparation. Il a été montré que l'utilisation d'un tel système avait un impact négligeable sur les rendements de récupération des traceurs utilisés sur des urines et des eaux. Par ailleurs, il a été constaté que le remplissage sous vide des colonnes permettait également de réduire ce temps de séparation, et d'augmenter leur efficacité. En effet, plus la colonne est remplie de manière homogène, plus l'extraction est efficace. S'il persiste des zones hétérogènes, l'extraction ne sera pas réalisée sur l'ensemble du support chromatographique et les rendements d'extraction seront affectés. Le contrôle des débits permet également de limiter la présence de ces zones d'hétérogénéité dans la colonne de chromatographie.

VI.2.2.c. Optimisation des durées de comptage

La dernière partie de l'analyse à optimiser est la durée de la mesure par spectrométrie alpha. Pour obtenir des limites de détection suffisamment basses, il est nécessaire de compter chaque échantillon durant plusieurs heures voire plusieurs jours. Cela est dû au principe même de cette technique de mesure qui requiert de compter un maximum de particules émises pour obtenir les meilleures limites de détection possible. En effet, plus l'activité mesurée dans l'échantillon est faible, plus le nombre de particules alpha émises par unité de temps est bas. La limite de détection en spectrométrie alpha est donc inversement proportionnelle au temps de comptage. La réduction des temps de comptage doit être réalisée de manière pondérée afin de ne pas trop dégrader les limites de détection. Maxwell et collaborateurs (Maxwell and Culligan, 2009) montrent qu'au bout de deux heures et suivant le volume de l'échantillon traité, ils obtiennent des limites de détection de 16,3 mBq.L⁻¹ (100 mL d'échantillon traité) et 4,07 mBq.L⁻¹ (400 mL d'échantillon traité). Ces limites de détection atteignent respectivement 1,5 et 0,37 mBq.L⁻¹ lorsque la durée de comptage est augmentée à 24 h. Pour 4 heures de comptage Dai et Kramer-Tremblay (Dai and Kramer-Tremblay, 2011) mesurent des limites de détection entre 7 et 17 mBq.L⁻¹ pour U, Pu, Am et Cm. Ces différents résultats montrent l'impact du temps de comptage sur les limites de détection. Ces méthodes sont bien plus rapides et se basent sur les mêmes principes que les méthodes de routine. Bien que supérieures aux limites de détection obtenues lors d'analyses de routine, celles obtenues dans ces études sont relativement basses (quelques mBq) même pour des durées de comptage n'excédant pas 4 heures.

VI.2.2.d. Transposition de la limite de détection à la dose

Comme mentionné précédemment, en situation de crise due à un acte de malveillance, il est possible d'utiliser les diagrammes proposés par les abaques TIARA (Ménétrier *et al.*, 2007) (*cf.* annexe). Les différentes limites de détection obtenues dans les études présentées ici vont donc être converties en doses puis discutées en fonction de la durée écoulée entre le prélèvement urinaire et la date d'incorporation.

En ce qui concerne l'uranium (sous toutes ses formes) les limites de détection atteintes sont de l'ordre de 10 mBq.L^{-1} ce qui, si on suppose que l'uranium est naturel, correspond à une concentration de 0,8 ppb. Cela permet d'affirmer que les doses reçues par les victimes sont inférieures à 20 mSv mais potentiellement supérieures à 1 mSv pour un prélèvement réalisé jusqu'à 10 jours après contamination. Si le prélèvement est réalisé plus tard, la dose peut être supérieure à 20 mSv mais reste inférieure à 200 mSv.

Pour ^{241}Am , Dai et Kramer-Tremblay (Dai and Kramer-Tremblay, 2011) obtiennent une LD de 17 mBq.L^{-1} . Si le prélèvement est réalisé jusqu'à 2 jours après la date d'incorporation la dose reçue reste inférieure à 200 mSv. Cependant, si le prélèvement est réalisé plus tard la dose peut être supérieure à 200 mSv.

Pour ^{239}Pu , les limites de détection sont de l'ordre de 10 mBq.L^{-1} pour 4 h de comptage par spectrométrie alpha. La dose associée peut être supérieure à 200 mSv quelle que soit la date à laquelle le prélèvement urinaire est réalisé.

VI.2.2.e. Les autres méthodes de séparation

Des méthodes utilisant un autre type de séparation que l'extraction sur colonne ont été développées et ont été couplées à une diminution du temps de comptage pour augmenter la rapidité d'analyse. O'Hara et collaborateurs (O'Hara *et al.*, 2011) ont proposé d'utiliser des nanoparticules magnétiques pour accélérer l'étape d'extraction. Des échantillons de 50 mL d'urines dopées (^{210}Po , ^{226}Ra , ^{233}U , ^{241}Am) ont été mis en contact avec des nanoparticules de Mn-Fe-O ou de Fe_3O_4 qui en présence d'un champ magnétique vont s'agglomérer au fond du récipient. Une fois récupérées, ces nanoparticules sont dissoutes en milieu acide et les actinides présents sont co-précipités par du NdF_3 pour former la source alpha. Le rendement de récupération chimique peut atteindre 92,3 % pour l'américium. L'augmentation des temps de comptage de 15 min à 12 h permet d'abaisser l'activité minimum détectée, représentée Figure 17. L'augmentation des temps de comptage permet dans les deux cas de réduire la limite de détection de 200 mBq à 2 mBq. L'application du modèle d'inhalation et d'un coefficient de dose efficace de $2,7 \cdot 10^{-5} \text{ Sv.Bq}^{-1}$ permet de recalculer des doses allant de 1 Sv pour 15 min de comptage pour atteindre 0,1 Sv pour 1h et 1,1 mSv pour 12 h. La diminution du temps de comptage à 1 h et la rapidité de la séparation permettent de rendre cette méthode applicable à une situation de crise en respectant le critère de référence américain en cas de crise : 100 mSv.

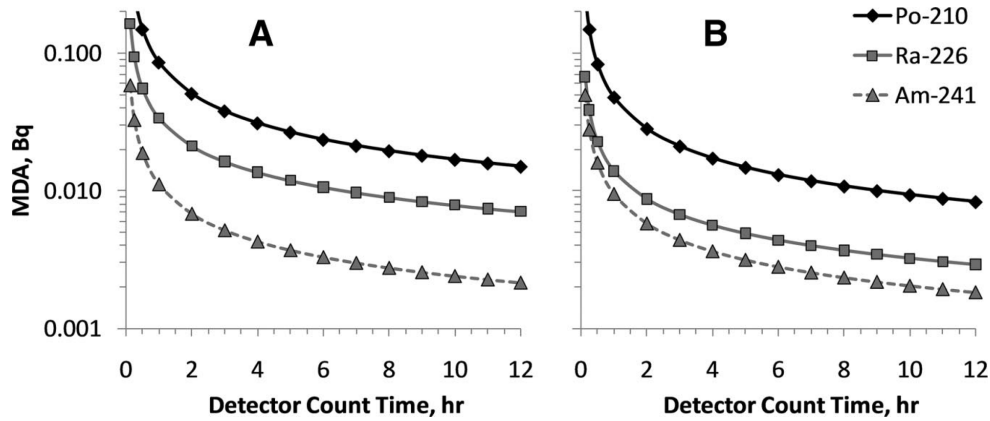


Figure 17 : Minimum d'activité détectable (limites de détection) pour ^{210}Po , ^{226}Ra , ^{241}Am (A) pour Fe_3O_4 (B) pour Fe-Mn-O (O'Hara *et al.*, 2011)

VI.2.2.f. Applicabilité à une situation de crise

La spectrométrie alpha permet de garder des limites de détection basses lorsque les temps de comptage sont supérieurs à 12 h, conduisant pour tous les actinides à des limites de détection qui correspondent aux limites proposées par la CIPR 78 (Fry *et al.*, 1997). L'augmentation de la rapidité de l'analyse passe par l'amélioration de la séparation sur colonne et de la préparation de l'échantillon mais aussi par la diminution de temps de comptage. Cette diminution ne permet pas d'obtenir des résultats qui correspondent à la législation européenne qui limite la dose pour le public à 1 mSv pour tous les actinides. Cependant, en situation de crise ces limites de dose ne s'appliquent pas et sont remplacées par des critères de références et dans cette situation, ces méthodes peuvent permettre une réponse appropriée.

Les Etats-Unis ayant défini leur critère de référence à ce qu'ils appellent la limite de traitement médical de 100 mSv, le comptage par spectrométrie alpha peut être réduit, suivant les méthodes, à 4 heures, voire 1 heure. Cependant, ces méthodes sont souvent utilisées pour l'analyse du plutonium ou de l'américium qui ont de plus fortes activités spécifiques que l'uranium. Les limites de détection pour ce dernier pourraient être trop hautes si le temps de comptage était trop réduit.

Afin de comparer différentes études ayant pour objectif de proposer des systèmes utilisables en situation de crise Li et collaborateurs (Li *et al.*, 2010) ont étudié différents paramètres tels que les limites de détection, la durée de l'analyse ou encore la transportabilité des différentes méthodes. Pour un certain nombre de ces méthodes rapides (notamment certaines utilisant la spectrométrie alpha en diminuant les temps de comptage) le critère de limite de dose américain (100 mSv) n'est pas respecté pour des actinides tels Pu. Par ailleurs, il n'existe aucune méthode de terrain pour la détection des émetteurs alpha. Pour ^{239}Pu , la limite de détection nécessaire est atteinte avec un ICP-MS en 20 min mais pas par spectrométrie alpha pour des temps de comptage court.

VI.2.2.g. Conclusion

En situation de crise, les experts et les médecins ont besoin d'obtenir rapidement des résultats. L'accent est mis sur la capacité d'un laboratoire à rendre des résultats le plus rapidement possible avec des limites de détection basses qui ne sont pas fixées par la réglementation. Cependant, les résultats des différentes études présentées ici, résumés Tableau 9, montrent que la rapidité ne va pas toujours de pair avec des limites de détection basses. En effet, si la spectrométrie alpha est utilisée comme technique de mesure, le temps de comptage doit être diminué pour permettre une analyse en moins de 8 heures. Cependant, si le temps de comptage est réduit la limite de détection est dégradée. Malgré le fait qu'elle soit bien maîtrisée par les laboratoires de radiotoxicologie, il est donc difficile d'utiliser cette technique de mesure en situation de crise pour conserver des limites de détection qui correspondent à des doses respectant la législation française. En cas d'accident par contamination interne, des améliorations de la technique de mesure utilisée devront être apportées pour limiter l'augmentation des limites de détection. Il a été constaté que l'ICP-MS permettrait cette amélioration notamment pour le plutonium et l'uranium. Les études réalisées avec cette méthode seront détaillées ultérieurement.

Dans un premier temps, nous avons pu constater que le développement de protocoles d'analyse des actinides pour une utilisation en situation de crise nécessite d'optimiser l'étape préliminaire de minéralisation de l'urine. Au cours de ce travail de thèse, une étude à la fois théorique et expérimentale de l'étape de minéralisation sera réalisée avec pour objectif de l'adapter à l'utilisation ultérieure d'une colonne calix[6]arène pour la séparation des actinides. Par ailleurs, afin de réduire la durée de cette étape de minéralisation, une méthode de digestion du précipité contenant les actinides à l'aide d'un four à micro-ondes sera validée.

Dans un second temps, on peut noter que l'utilisation de la spectrométrie alpha lors de situations de crise permet aux laboratoires de s'appuyer sur des méthodes bien maîtrisées. En revanche, le gain de temps obtenu par diminution des temps de comptage entraîne une dégradation des limites de détection. Pour pouvoir améliorer ces limites de détection, particulièrement pour les actinides émetteurs alpha à vie les plus longues ($T > 10\,000$ ans), d'autres équipes se sont intéressées à l'utilisation d'un ICP-MS avec ou sans préparation préalable de l'échantillon urinaire. C'est pourquoi lors de ces travaux, la mesure ICP-MS sera utilisée. Nous chercherons à abaisser les limites de détection des actinides à vie les plus courtes pour les rendre adaptées à une analyse radiotoxicologique.

Finalement, il est également possible de constater que le gain de temps nécessite de contrôler les débits des solutions sur les colonnes de chromatographie. L'objectif principal de cette étude étant de coupler la colonne de chromatographie à base de calix[6]arène choisie à l'ICP-MS, nous nous attacherons à vérifier l'impact de ces débits sur l'extraction des actinides.

Chapitre I : Etat de l'art

Auteurs	Maxwell <i>et coll.</i> (Maxwell and Culligan, 2009)	Dai <i>et coll.</i> (Dai and Kramer-Tremblay, 2011)	O'Hara <i>et coll.</i>
Actinides analysés	U, Pu, Am, Np	U, Pu, Am, Cm	Am
Méthode de co-précipitation utilisée	Ca ₃ PO ₄	HTiO	N/A
Colonne de chromatographie	TEVA TRU DGA	AGMP (Pu) U/TEVA (U) DGA (Am,Cm)	Déposition sur de nano-particules Fe ₃ O ₄ ou Fe-Mn-O
Durée de l'analyse / durée de comptage	3 à 4 h / 30 min à 2h	4 h/4 h ou 20 h	4 h/ 15 min à 12h
Prise d'essai	100 mL	200 mL	50 mL
Limites de détection (temps de comptage)	Activité totale. 65,3 mBq.L ⁻¹ (30 min) 16,3 mBq.L ⁻¹ (2h)	²³⁸ Pu : 13 mBq.L ⁻¹ (4h)/10 mBq.L ⁻¹ (20h) ²³⁹ Pu : 10 mBq.L ⁻¹ (4h)/4 mBq.L ⁻¹ (20 h) ²³⁴ U : 10 mBq.L ⁻¹ / (4h)/10 mBq.L ⁻¹ (20 h) ²³⁵ U : 10 mBq.L ⁻¹ (4h)/10 mBq.L ⁻¹ (20 h) ²⁴¹ Am : 17 mBq.L ⁻¹ (4h)/8 mBq.L ⁻¹ (20 h) ²⁴⁴ Cm : 7 mBq.L ⁻¹ (4h)/5 mBq.L ⁻¹ (20 h)	²⁴¹ Am : <i>cf.</i> Figure 17

Tableau 9 : Résumé des résultats des études mettant en œuvre des méthodes rapides pour l'analyse des émetteurs alpha par spectrométrie alpha

VI.2.3. Les autres méthodes rapides

Afin d'améliorer la rapidité des analyses radiotoxicologiques pour faire face à une situation de crise tout en conservant des limites de détection suffisamment basses, un certain nombre d'auteurs ont développé des protocoles alternatifs en remplaçant la spectrométrie alpha par une analyse par ICP-MS. D'autres sont allés encore plus loin, proposant de coupler directement la méthode de séparation à l'analyse ICP-MS. Les résultats de ces travaux seront présentés dans le prochain paragraphe.

VII. LA SPECTROMETRIE DE MASSE A PLASMA INDUIT (ICP-MS)

VII.3. GENERALITES

La spectrométrie de masse est une technique plus que centenaire pour l'analyse élémentaire. Le premier article publié sur le sujet par Goldstein en 1886 mettait en œuvre une décharge lumineuse comme source d'ion. Les premières analyses de masses ont été réalisées par Wien, Thomson et Aston dans les années 1910-1920. Les principes de bases de l'ICP-MS sont bien maîtrisés depuis les années 1960 et le premier instrument commercial a été introduit sur le marché en 1982 par Sciex.

VII.4. PRINCIPE

VII.4.1. Principe général

L'ICP-MS est une technique d'analyse élémentaire et isotopique. Elle permet d'analyser la plupart des éléments de la classification périodique au niveau de traces (1-10 $\mu\text{g.L}^{-1}$) voire d'ultra-traces (0,1-100 ng.L^{-1}) (cf. annexe). Le principe général est le suivant : un échantillon (généralement liquide) est introduit dans un plasma d'argon sous forme d'aérosol. Il va ainsi être désolvaté, atomisé puis ionisé. Un filtre de masse permet de trier les ions d'intérêt en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z) afin qu'ils soient mesurés par un détecteur.

Les différentes étapes du fonctionnement de l'ICP-MS (Olesik, 2000; Becker, 2007) ainsi que les méthodes d'étalonnage seront détaillées annexe.

VII.4.2. Les grandeurs et définitions

- La **résolution** est la capacité d'un analyseur à discriminer deux masses. Elle varie en fonction du type d'analyseur. Elle s'exprime suivant l'Equation 15 :

$$\text{Résolution} = \frac{m}{\Delta m} \quad \text{Eq. 15}$$

Avec :

- m : la masse
 - Δm : la différence de masse des deux masses d'intérêt
- Le **rapport signal sur bruit** est un moyen de normaliser la sensibilité entre les appareils.
 - La **sensibilité** est le signal obtenu pour une concentration en élément donné typiquement 1 ppb.
 - Le **biais en masse** est le fait que deux isotopes d'un même élément n'auront pas la même réponse en signal pour une même concentration. En ICP-MS, on observe une différence de

réponse du détecteur en fonction des rapports m/z mesurés. Ce biais en masse peut être déterminé et le rapport isotopique de l'échantillon corrigé ($R_{\text{corrigé}}$) grâce à l'utilisation de solutions de rapport isotopique certifié (R_{ref}). La loi linéaire de correction du biais en masse est exprimée Equation 16 (Quétel *et al.*, 2000; Appelblad *et al.*, 2001). La Figure 18 représente le signal obtenu pour deux masses différentes aux mêmes concentrations.

$$R_{\text{corrigé}} = \frac{R_{\text{mesuré}}}{1-C.\Delta m} \text{ avec } C = \frac{R_{\text{ref}}-R_{\text{mesuré}}}{R_{\text{mesuré}}.\Delta m} \quad \text{Eq. 16}$$

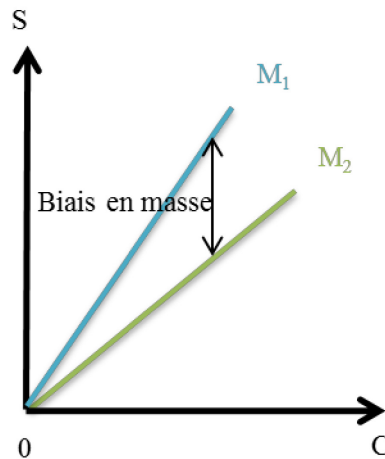


Figure 18 : Représentation du biais en masse

VII.4.3. Les appareils commerciaux

Il existe trois types d'instruments commerciaux :

- les **ICP-MS quadripolaires** (Q-ICP-MS) qui sont les plus courants. Ils sont faciles d'utilisation et permettent d'obtenir des limites de détection au niveau *sub-ppt*. Ils ont des résolutions de 2 à 800.
- Les **ICP-MS à secteur magnétique** à haute résolution (HR-SF-ICP-MS). Ils permettent d'améliorer la séparation en masse avec des résolutions pouvant aller jusqu'à 10 000 en mode Haute Résolution (H.R.). Ils sont particulièrement utiles pour la résolution de certaines interférences.
- Les **ICP-MS à multi-collecteurs** (MC-ICP-MS) sont quant à eux basés sur une collection simultanée des ions. Ils peuvent atteindre des résolutions « moyennes » de l'ordre de 3000. Cette technique est d'un grand intérêt pour des réaliser des mesures précises de rapports isotopiques notamment.

A l'heure actuelle, plusieurs constructeurs se partagent principalement le marché de l'ICP-MS : Agilent Technologies, Analytic Jena, Perkin Elmer, ThermoScientific, ...

Le laboratoire dispose d'un ICP-MS quadripolaire Agilent 7700x muni d'une cellule de collision réaction et d'un système d'injection intégré (ISIS) (Figure 19). Le système d'introduction de l'échantillon est constitué d'un micro-nébuliseur et d'une chambre de Scott refroidie par effet Peltier. La détection est réalisée par un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes.

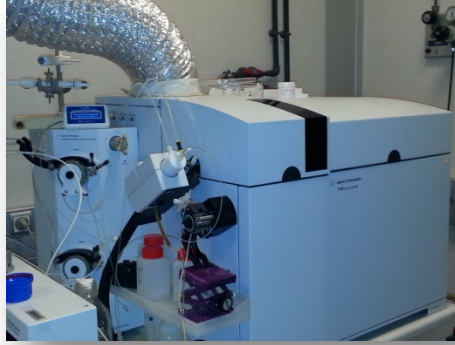


Figure 19 : ICP-MS 7700x du Laboratoire de RadioChimie

VII.4.4. Les interférences

VII.4.4.a. Les interférences en ICP-MS

Il existe différents types d'interférences ayant un impact sur les limites de détection et la justesse de l'analyse :

- Les **interférences isobariques** : deux éléments de même masse ne peuvent pas être discriminés (par exemple $^{238}\text{U}^+$ et $^{238}\text{Pu}^+$).
- Les **interférences poly-atomiques** : le plasma fournissant une très forte énergie aux atomes, des réactions chimiques peuvent se produire en son sein créant des ions moléculaires à la même masse qu'un élément d'intérêt (par exemple : $^{239}\text{Pu}^+$ peut être interféré par $^{238}\text{UH}^+$).
- La **sensibilité en abondance** (ou « peak tailing » en anglais) : elle correspond à la contribution du pic de masse M sur les pics de masse M-1 et M+1. Elle est de l'ordre de 10^{-6} sur notre instrument (c'est-à-dire 1 000 000 cps pour $^{238}\text{U}^+$ entraînera 1 cps pour $^{239}\text{Pu}^+$).
- Les **effets de matrices** : ils sont dus à la constitution de la matrice contenant les analytes. La « charge ionique » de la solution influe sur la température du plasma et sur la quantité d'énergie disponible pour ioniser tous les atomes. Lorsque la charge ionique augmente, le rendement d'ionisation des atomes diminue rendant le comportement des ions dans le plasma, et donc la relation entre le signal observé et la concentration de l'analyte, dépendants de la matrice. Ce phénomène est un obstacle à la réalisation un étalonnage externe dans une matrice de composition éloignée de celle de l'échantillon à analyser.

VII.4.4.b. La résolution des interférences

Différentes stratégies peuvent être adoptées pour limiter ces interférences, celles-ci seront traitées à travers l'exemple des interférences particulières des actinides. Dans ce cas-là, les interférences qui apparaissent en ICP-MS sont bien connues. Diverses méthodes peuvent être mises en œuvre pour s'en affranchir. L'utilisation de méthodes de séparation préalables à l'analyse est l'une d'entre elles, mais depuis l'apparition des cellules de collision-réaction dans les instruments, un certain nombre de ces interférences sont résolues *in situ*.

VII.4.4.b.i. Les effets de matrices

Il est possible de réaliser préalablement un traitement chimique de l'échantillon avant son analyse par ICP-MS. Ce traitement peut comporter une étape de minéralisation et/ou de séparation (chromatographie/précipitation). Ceci permettra de limiter les effets de matrice, en détruisant par exemple la matière organique présente dans un échantillon biologique ou encore en réalisant une séparation des analytes sur colonne de chromatographie, limitant ainsi certaines interférences isobariques ou polyatomiques. Il est aussi possible d'utiliser le ^{209}Bi comme étalon interne pour l'uranium (dont les énergies d'ionisation sont respectivement 7,289 eV et 6,194 eV). En revanche, si l'élément a plusieurs isotopes, et c'est le cas de l'uranium, on pourra utiliser un de ces isotopes s'il est non présent dans l'échantillon. La concentration de l'étalon interne étant connue et identique dans tous les échantillons et étalons, il sera possible de corriger le signal de l'analyte par le signal du traceur interne. Cette correction n'est pas toujours optimale. Ceci peut être dû notamment au biais en masse ou à une analogie imparfaite entre l'étalon interne et l'analyte. Cet étalon interne permet cependant de corriger significativement les effets de matrice.

VII.4.4.b.ii. Les interférences isobariques et polyatomiques

Pour s'affranchir des interférences dues aux réactions se produisant dans le plasma (polyatomiques) ou à la présence d'ions interférents dans la solution (isobariques) les constructeurs d'ICP-MS ont développé un système appelé cellule de collision ou de réaction qui permet de réduire ces interférences suivant le mode utilisé. La première cellule a été introduite sur le marché par Perkin Elmer sur l'Elan DRC.

Le *mode collision* fonctionne à l'aide d'hélium gazeux. Le gaz est injecté dans la cellule, qui est placée avant l'analyseur, les ions présents entrent en collision avec celui-ci. Les ions polyatomiques sont plus larges et entrent donc plus souvent en collision avec le gaz. Ils perdent donc plus d'énergie lors de leur passage à travers la cellule. La barrière de potentiel appliquée à la cellule permet de les séparer des ions élémentaires.

Le *mode réaction* quant à lui, permet la formation de nouvelles espèces chimiques en introduisant un gaz dans la cellule (NH_3 , O_2 , H_2 , CO_2 ,...). On privilégiera la réaction soit entre l'interfèrent et le gaz soit entre l'analyte et le gaz, en jouant sur des différences de réactivité ou de cinétique réactionnelle. Au moment du passage sur l'analyseur, l'analyte et l'interfèrent auront une masse différente et pourront donc être discriminés.

Cas de $^{238}\text{UH}^+ / ^{239}\text{Pu}^+$:

L'ion $^{239}\text{Pu}^+$ en présence d'uranium-238 tend à être interféré par $^{238}\text{UH}^+$. Cette interférence peut être quantifiée et est de l'ordre de 10^{-6} sur l'appareil Agilent disponible au laboratoire, c'est-à-dire que pour 1 000 000 cps à la masse 238 on observera 1 cps à la masse 239. La résolution en masse nécessaire à séparer ces deux ions interférents est de $R = 36\,400$.

Technologiquement, les seuls appareils capables d'atteindre ce type de résolution sont les spectromètres de masse à accélérateur ($R = 200\,000$). Dai et collaborateurs ont ainsi montré avec ce type de spectrométrie de masse qu'il n'y avait pas d'effet de la sensibilité en abondance ni des hydrures sur la mesure de ^{239}Pu (Dai *et al.*, 2012). Toutefois, c'est une technique de pointe réservée aux laboratoires de recherche et qui nécessite un accélérateur linéaire.

Une autre solution plus abordable est de réaliser une séparation chimique quantitative au préalable pour séparer l'uranium du plutonium. Les colonnes chromatographiques utilisées pour cette séparation sont similaires à celles mises en œuvre pour la spectrométrie alpha et ont été décrites partie V de ce chapitre.

Vais et collaborateurs (Vais *et al.*, 2004) ont utilisé la cellule de collision-réaction de l'ICP-MS Elan DRC (Perkin Elmer). L'uranium réagit de la même façon que le plutonium avec l'oxygène. En revanche, en présence d'ammoniac dans la cellule une discrimination en matière de cinétique de réaction permet ainsi de mesurer le plutonium à une masse différente. Le plutonium tend à former PuNH_2^+ et peut donc être mesuré à $m_2/z_2 = m_1/z_1 + 16$. Dans ce cas, l'uranium-238 et son hydrure réagissent différemment du plutonium permettant une séparation des ions UH^+ et Pu^+ , sans séparation préalable de l'uranium et du plutonium. Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par Maxwell et collaborateurs après une séparation chimique complexe pour éliminer ^{238}U présent dans les échantillons de plutonium (Maxwell *et al.*, 2011).

Une autre méthode pour s'affranchir de ces hydrures est d'utiliser un système de désolvatation. Celui-ci va supprimer en amont du plasma les molécules d'eau limitant ainsi la présence d'hydrogène pouvant réagir avec les ions présents. Par ce moyen, l'interférence peut être réduite de 10 ordres de grandeur.

Plus récemment, Agilent Technologies a mis sur le marché un ICP-MS triple quadripôle. Un premier filtre de masse est placé avant la cellule de collision-réaction. Pour mesurer ^{236}U en présence de ^{235}U , Tanimizu et collaborateurs ont utilisé le fait que moins de 1% de l'ion UH^+ s'oxyde contrairement à U^+ qui réagit facilement avec l'oxygène formant UO^+ (Tanimizu *et al.*, 2013). Le premier quadripôle a été réglé à $m/z = 236$ uma permettant la mesure de $^{235}\text{UH}^+$ et $^{236}\text{U}^+$. Après réaction avec l'oxygène dans la cellule l'uranium-236 peut être mesuré en totalité sans être interféré par $^{235}\text{UH}^+$ à $m/z = 236 + 16$ uma. Cela permet d'obtenir des mesures précises de rapports isotopiques $^{236}\text{U}/^{238}\text{U}$. Sachant que l'uranium et le plutonium réagissent de la même façon en présence d'oxygène, la même réactivité pourrait être utilisée pour résoudre l'interférence $^{238}\text{UH}^+ / ^{239}\text{Pu}^+$.

Lors de notre étude, le niveau de cette interférence sera vérifié sur le système d'analyse mis en place et on cherchera à la résoudre si nécessaire.

Cas de $^{238}\text{U}^+ / ^{238}\text{Pu}^+$:

La résolution nécessaire pour résoudre cette interférence est de $R = 193\,900$. Les moyens de la résoudre sont les mêmes que ceux utilisés pour l'interférence $^{238}\text{UH}^+ / ^{239}\text{Pu}^+$: une séparation chimique, l'utilisation d'un gaz de réaction ou la spectrométrie masse à accélérateur.

En ce qui concerne le plutonium, l'interférence isobarique à la masse 238 ($^{238}\text{U}^+$ et $^{238}\text{Pu}^+$) et la sensibilité en abondance en présence de ^{238}U sur ^{239}Pu peuvent être résolues grâce à une séparation préalable à l'analyse par ICP-MS. L'utilisation de la cellule de collision-réaction en présence d'ammoniac (Vais *et al.*, 2004) est également proposée par certains auteurs, ce gaz ayant une réactivité différente vis-à-vis du plutonium et de l'uranium, comme mentionné auparavant.

Gourgiotis et collaborateurs (Gourgiotis *et al.*, 2010) utilisent le CO_2 comme gaz de réaction. Celui-ci a également une réactivité vis-à-vis du plutonium et de différente de celle vis-à-vis l'uranium, en fonction du débit de gaz. La différence de cinétique réactionnelle permet de s'affranchir de cette interférence isobarique.

Lors de cette étude seuls ^{239}Pu et ^{242}Pu seront utilisés en tant que traceurs. La période de ^{238}Pu étant de 83,3 ans, son activité spécifique est très élevée, donc il ne sera considéré ni comme une impureté, ni comme un interférent, car il faudrait qu'il soit présent dans l'urine à des niveaux d'activité très élevés ($> 10 \text{ Bq.L}^{-1}$) pour être détecté par un ICP-MS quadripolaire.

Cas de $^{241}\text{Am} / ^{241}\text{Pu}$:

Une interférence existe entre ^{241}Am et ^{241}Pu mais cet isotope de plutonium est un émetteur bêta avec une activité spécifique plus élevée donc une période plus courte ($T_{1/2} = 14,4$ ans). On considèrera qu'il n'interfère pas avec la mesure de ^{241}Am . Par ailleurs, le fait que le plutonium-241 soit un émetteur bêta permet de réaliser rapidement une mesure radiométrique en situation de crise

Dans les conditions de cette étude, on considèrera donc que l'américium n'est pas interféré.

Toutes les interférences discutées sont quantifiables et peuvent être limitées en réalisant au préalable une séparation chimique. Là encore, le couplage entre la colonne de chromatographie et l'ICP-MS permettrait non seulement un gain de temps mais une amélioration de la résolution des interférences en séparant les actinides d'intérêt de la matrice. Cependant, on ne cherchera pas à réaliser une séparation sélective afin de faciliter le protocole d'extraction. Il sera cependant nécessaire de vérifier que la formation d'hydrure d'uranium-238 n'impacte pas la mesure de plutonium-239. Par ailleurs il est difficile d'envisager l'utilisation de gaz de réaction en situation de crise. Ils ne seront pas étudiés lors de ce travail.

VII.5. L'ICP-MS POUR L'ANALYSE DES ACTINIDES EN RADIOTOXICOLOGIE

Les mesures par ICP-MS sont de plus en plus courantes pour l'analyse des radionucléides. En effet, celles-ci peuvent être réalisées sur un grand nombre de matrices différentes avec pour objectif de

déterminer des niveaux de contamination notamment dans les eaux (Unsworth *et al.*, 2001), des filtres à air (Maxwell *et al.*, 2010) ou encore des sédiments minéralisés (Harrison *et al.*, 2011).

La mesure par ICP-MS des actinides est particulièrement intéressante pour les actinides à vies longues ($T > 10\ 000$ ans). En effet, ceux-ci ayant une activité spécifique plus faible, pour une même activité à détecter, la quantité de matière présente dans l'échantillon est plus élevée. Les limites de détection répondent à l'Equation 17. Les mesures peuvent être réalisées après (Maxwell III and Jones, 2009) ou sans séparation chimique (Bouvier-Capely *et al.*, 2004). En effet, dans certaines situations, une simple dilution de l'échantillon peut suffire pour limiter les effets de matrice.

$$LD (mBq.L^{-1}) = LD (\mu g.L^{-1}) \times A_{spécifique} \quad \text{Eq. 17}$$

L'analyse des urines par ICP-MS peut-être réalisée sur différents types d'appareils : les ICP-MS quadripolaires (Q) (Ejnik *et al.*, 2005), à secteurs magnétiques (SF) (Zoriv *et al.*, 2004) ou à multicollecteurs (MC) (Karpas *et al.*, 2005). Chaque type d'appareillage a ses avantages, les appareils hautes résolutions permettent de limiter les interférences, les appareils multi-collecteurs permettent de mesurer des rapports isotopiques précis grâce une détection simultanée. Par contre, les ICP-MS quadripolaires sont moins coûteux et sont de loin les plus faciles d'utilisation. Ce critère est à prendre en compte lors d'une analyse en situation de crise.

En termes de radioprotection, il est nécessaire d'exprimer la limite de détection en activité pour évaluer la dose et donc le risque sur la santé. Pour la traduire en activité, la limite de détection en masse doit être multipliée par l'activité spécifique de l'isotope considéré. L'ICP-MS permet d'obtenir des limites de détection basses en masse mais celles en activité sont liées à la période de l'élément analysé. De ce fait, les éléments avec des temps de demi-vie supérieurs à 10 000 ans peuvent déjà être analysés avec des limites de détection inférieures à celle de la spectrométrie alpha, en diluant simplement l'échantillon avant la mesure par ICP-MS. Le problème réside dans les éléments dont les périodes radioactives sont inférieures à 10 000 ans et pour lesquels les activités spécifiques sont élevées. Ainsi, pour une même limite de détection en masse, les éléments à demi-vie plus basse auront une limite de détection en activité bien supérieure à celle des éléments de périodes plus longues. Les limites de détection obtenues sont donc inadaptées aux analyses radiotoxicologiques.

Pour la mesure en milieu urinaire, Bouvier-Capely et collaborateurs (Bouvier-Capely *et al.*, 2004) ont proposé un abaque pour les actinides, représentant les limites de détection obtenues lors d'une mesure par Q-ICP-MS ou par spectrométrie alpha en fonction de la période des isotopes (Figure 20). Ce diagramme se base sur l'extrapolation de l'Equation 17. La spectrométrie alpha permettant de mesurer directement une activité, la limite de détection en activité ne dépend que du temps de comptage. Elle est donc indépendante de la période des isotopes. Pour des mesures par ICP-MS, il est nécessaire de convertir les limites de détection exprimées en masse ($\mu g.L^{-1}$) à celles en activité ($mBq.L^{-1}$) à l'aide de l'Equation 17. La relation entre la période et l'activité spécifique répond à l'Equation 18.

$$A_{spécifique} = \frac{N_A}{M} \times \frac{\ln 2}{T_{1/2}} \quad \text{Eq. 18}$$

avec

- N_A nombre d'Avogadro
- M la masse en unité de masse atomique
- $T_{1/2}$ la période en secondes.

L'Equation 17 peut donc être transformée en l'Equation 19 qui, exprimée en logarithme, est linéaire.

$$\log(LD \text{ (mBq.L}^{-1}\text{)}) = \log(LD \text{ (}\mu\text{g.L}^{-1}\text{)}) + \log\left(\frac{N_A \times \ln 2}{M}\right) - \log\left(T_{\frac{1}{2}}\right) \quad \text{Eq. 19}$$

Sur ce diagramme la droite en orange correspond aux limites de détection obtenues par ICP-MS pour les différents actinides après une simple dilution de l'urine et délimite la zone 1 (zone hachurée). La droite bleue représente les limites de détection que l'on peut atteindre par ICP-MS après le traitement chimique de l'urine pour pré-concentrer et séparer les actinides de l'urine. La zone 2 (zone grise) est délimitée par ces deux limites de détection et représente le gain obtenu par le traitement chimique. Enfin la droite verte correspond aux limites de détection obtenues par spectrométrie alpha pour trois jours de comptage et après un traitement chimique de l'urine. Cet abaque permet donc de comparer, en termes de limites de détection et de durée d'analyse les performances de l'ICP-MS et de la spectrométrie alpha.

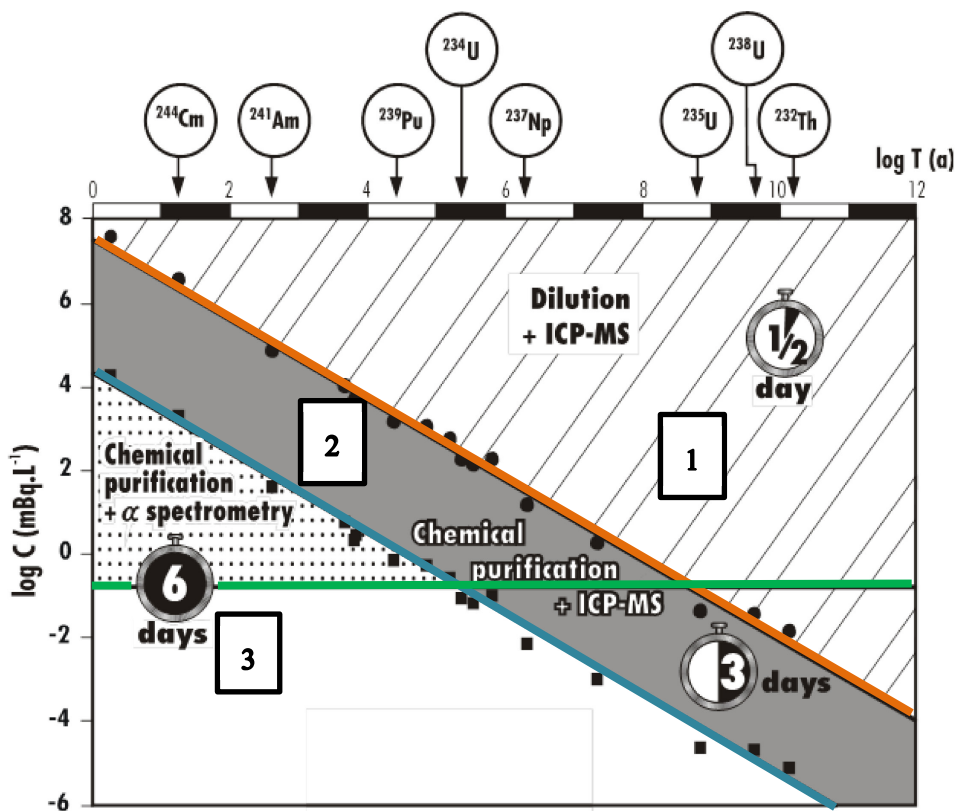


Figure 20 : Classification des actinides en fonction de leurs périodes et des limites de détection obtenues par la spectrométrie alpha et l'ICP-MS (Bouvier-Capely *et al.*, 2004)

Pour les isotopes de période $T > 10\,000$ ans, notamment ^{239}Pu , ^{237}Np , $^{234,235,238}\text{U}$ et ^{232}Th , la mesure par ICP-MS permet d'obtenir des limites de détection dans les urines, plus basses ou du même ordre de grandeur que par la spectrométrie alpha. Cette méthode est bien plus rapide (que ce soit avec ou sans séparation chimique) et est donc mieux adaptée pour une utilisation en situation de crise que la spectrométrie alpha. Pour les actinides à vies plus courtes ($T < 10\,000$ ans) comme ^{244}Cm et ^{241}Am la spectrométrie alpha reste la technique la plus performante en terme de limites de détection. En revanche, le gain de temps pour la mesure rend tout de même l'ICP-MS intéressante pour l'analyse des actinides en milieu biologique en situation de crise. Pour réaliser des mesures de ^{235}U et ^{238}U , Kurosaki et collaborateurs (Kurosaki *et al.*, 2013) ont comparé les limites de détection obtenues par ICP-MS selon le traitement de l'urine. La première méthode consistait en une injection directe d'un gramme d'urine minéralisée après dilution, la seconde à une injection suite à la pré-concentration de 50 g d'urine sur une colonne TRU. Les limites de détection sont abaissées d'un facteur 16 pour ^{238}U et de 102 pour ^{235}U montrant, l'apport de la séparation chimique pour la mesure par ICP-MS. Cette étape de pré-concentration semble primordiale pour abaisser les limites de détection.

L'autre étape en amont de la mesure est la minéralisation des urines. Comme il a été mentionné précédemment, les calculs de doses sont ramenés à une excrétion journalière (environ 1,4 L), de plus il peut également être intéressant de travailler sur un large volume afin d'abaisser les limites de détection. Cependant cette étape de minéralisation allonge la durée de l'analyse même si des efforts ont été faits pour la raccourcir. Pour gagner du temps lors de l'analyse sans perdre les avantages de la séparation, Pappas et collaborateurs (Pappas *et al.*, 2004) ont proposé de s'affranchir de l'étape de minéralisation de l'urine et de ne travailler que sur 1 mL d'urine avec un appareil à secteur magnétique. Les limites de détection obtenues à l'aide de cette méthode sont de l'ordre de $1,4\text{ fg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ($3,7\text{ mBq}\cdot\text{L}^{-1}$) pour ^{239}Pu . Pour atteindre ce niveau de détection, les auteurs ont réalisé une étape de séparation sur une colonne TEVA de manière à s'affranchir de la présence d'uranium et ainsi éliminer l'interférence polyatomique $^{238}\text{UH}^+$. Compte tenu du faible volume d'échantillon, les résultats sont normalisés par rapport à la quantité de créatinine présente dans les urines. Le critère d'action est établi à $0,13\text{ pCi}\cdot\text{L}^{-1}$ (soit $4,81\text{ mBq}\cdot\text{L}^{-1}$), ce qui valide cette méthode pour l'utilisation lors d'une analyse radiotoxicologique.

Lecompte et ses collaborateurs ont réalisé une revue bibliographique comparant les performances en termes de limites de détection des différents types d'ICP-MS. L'utilisation des appareils à Hautes-Résolutions (H.R.) (Shi *et al.*, 2011) ou à Multi-Collecteurs permet, grâce à l'augmentation des résolutions, de résoudre un certain nombre d'interférences et d'améliorer la sensibilité comparé à l'utilisation d'ICP-MS quadripolaires.

Là encore, pour les isotopes à vie les plus longues (^{235}U et ^{238}U), il est possible d'atteindre des limites de détection plus basses que celles recommandées par la CIPR 78 ($10\text{ mBq}\cdot\text{L}^{-1}$). Par contre, seuls quelques auteurs parviennent à atteindre des LD ($1\text{ mBq}\cdot\text{L}^{-1}$) sous ces seuils pour des isotopes à vies plus courtes (^{234}U , ^{239}Pu , ^{241}Pu , ^{241}Am).

En ce qui concerne l'américium-241, les recommandations de la CIPR 78 ne sont atteintes par aucun des groupes de recherche. C'est également le cas du plutonium-241. Ces deux isotopes vont s'interférer mutuellement s'ils ne sont pas séparés en amont de la mesure par ICP-MS et subir les effets de la sensibilité en abondance de ^{240}Pu .

Pour ^{234}U , des limites de détection inférieures à celles recommandées par la CIPR 78 (10 mBq.L^{-1}) ne sont atteintes qu'avec des appareils hautes résolutions ou à multi-collection.

En 2008, Li et collaborateurs (Li *et al.*, 2008) ont rendu public les résultats d'une intercomparaison sur la mesure de $^{239/240}\text{Pu}$ dans des urines humaines. Les différents participants ont utilisé ou non des méthodes de préparation et de séparation d'échantillon. La mesure a été réalisée soit par spectrométrie alpha soit par ICP-MS mais aussi par TIMS (Spectrométrie de Masse par Ionisation Thermique). La mesure par ICP-MS reste la méthode la plus rapide (80 échantillons en 24 h), comparée à une analyse par TIMS (12 échantillons en 24 h) ou par spectrométrie alpha (89 h de comptage). Cependant, le TIMS reste la technique la plus performante avec des limites de détection comprises entre $1,2 \text{ mBq.L}^{-1}$ et $4,4 \text{ mBq.L}^{-1}$ obtenues avec la procédure de préparation la plus courte pour atteindre $1,2$ à $4,7 \mu\text{Bq.L}^{-1}$ pour une préparation plus complexe. L'ICP-MS et la spectrométrie alpha permettent d'obtenir des limites de détection du même ordre de grandeur : respectivement de $3,2$ ou $11,8 \text{ mBq.L}^{-1}$ et 2 ou 4 mBq.L^{-1} .

Alors que la mesure par ICP-MS est plutôt adaptée pour l'analyse des actinides à vie plus longues ($T > 10\,000$ ans), la mesure par spectrométrie alpha permet d'atteindre des limites de détection basses quels que soient les actinides mesurés. Cependant, pour obtenir des limites de détection correspondant à la législation en situation normale, les temps de comptage sont longs.

Pour tirer profit des performances de ces deux techniques, certains auteurs proposent des méthodes d'analyse dites « hybrides » utilisant à la fois la mesure ICP-MS pour la mesure de ^{238}U et la spectrométrie alpha pour les isotopes de U les plus légers (Maxwell III and Jones, 2009). Cette méthode permet d'obtenir des limites de détection basses, et les doses de références pour les situations de crises sont atteintes en jouant sur les temps de comptage en spectrométrie alpha. En revanche, la séparation utilisée est très complexe mettant en œuvre plus de trois colonnes suivant les isotopes à analyser et rendant l'exploitation à grande échelle de cette méthode difficile.

VII.6. CONCLUSION

L'analyse par ICP-MS des actinides en situation de crise présente de nombreux avantages notamment du point de vue de la rapidité de la mesure et de la facilité d'utilisation (parfois une simple dilution de l'échantillon suffit). En revanche, la résolution des interférences nécessite dans la plupart des cas une séparation chimique préalable. Dans le cadre de ces travaux, les proportions relatives des isotopes utilisés font en sorte que les interférences (notamment $^{238}\text{UH}^+ / ^{239}\text{Pu}^+$) ne sont pas un inconvénient. On s'attachera cependant à vérifier que ces interférences n'ont pas d'impact sur les limites de détection permettant ainsi d'envisager une co-élution des trois actinides d'intérêt U, Pu et Am.

Cette séparation chimique permet aussi une concentration des analytes présents dans l'échantillon lors de l'élution, abaissant ainsi les limites de détection. Cette particularité pourra être utilisée doublement à notre avantage puisque la colonne de chromatographie sera couplée à l'ICP-MS et que l'injection sera réalisée en direct après la séparation.

VIII. LE COUPLAGE

VIII.1. GENERALITES

L'ICP-MS est une technique d'analyse largement répandue et depuis plusieurs années des auteurs ont proposé des méthodes de séparation ou d'échantillonnage couplées à cette analyse. Les objectifs sont multiples : séparer et concentrer les analytes en ligne (couplage avec la chromatographie liquide) de manière à augmenter le signal et abaisser les limites de détection, réaliser un échantillonnage de solides pour s'affranchir de l'étape de minéralisation (couplage avec l'ablation-laser) ou réaliser des études de spéciation (couplage avec une électrophorèse capillaire). Lors de cette étude, un couplage chromatographie liquide/ICP-MS sera mis en œuvre. Les principes généraux d'un tel couplage sont explicités dans ce paragraphe.

VIII.2. CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE ET ICP-MS

Le premier couplage entre la chromatographie liquide et la spectrométrie de masse à plasma induit a été proposé par Beauchemin et Berman en 1989 (Beauchemin and Berman, 1989). Ce couplage avait pour but d'abaisser les limites de détection en réalisant une étape de pré-concentration en ligne pour l'analyse de métaux de transition et d'uranium, lors de l'analyse d'un échantillon standard d'eau fourni par le NIST (National Institute of Standards and Technology). L'abaissement des limites de détection de 5 à 7 fois a montré tout l'intérêt de cette méthode.

Ainsi, le couplage entre la colonne de chromatographie et l'ICP-MS permet une diminution des LD à double titre. Tout d'abord, l'utilisation de la colonne en amont de l'analyse permet la pré-concentration des analytes d'intérêt en permettant l'analyse d'un signal transitoire et la détection du pic chromatographique avec un signal maximum au sommet du pic. Ce signal est plus élevé que le signal correspondant à la concentration moyenne de l'analyte dans la fraction d'élution, si celle-ci était mesurée par ICP-MS mais hors couplage (Figure 21). Un autre intérêt de ce type de couplage est la suppression en ligne de certains types d'interférences.

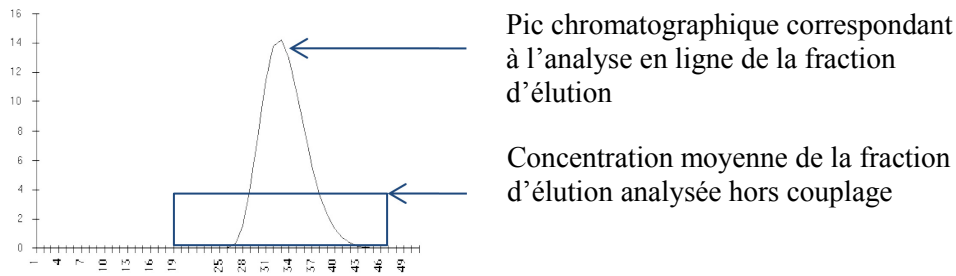


Figure 21 : Comparaison entre l'analyse par ICP-MS de la fraction d'élution hors couplage et son analyse en ligne

Le couplage LC-ICP-MS présente beaucoup d'avantages du point de vue de l'abaissement des limites de détection. En revanche, un certain nombre de contraintes dues à la mesure ICP-MS apparaît au niveau de la séparation chimique, comme la limitation de la concentration en acide (10 % massique) ou en sels dissous (1 à 2 g.L⁻¹) pour les réactifs qui seront utilisés lors de la séparation et injectés à l'ICP-MS.

VIII.3. COUPLAGE POUR LES ANALYSES RADIOTOXICOLOGIQUES

Depuis les années 2000, le couplage entre des méthodes de séparation et un ICP-MS a été utilisé pour réaliser des analyses de radiotoxicologie avec pour objectif de réduire les durées d'analyses tout en abaissant les limites de détection.

Cependant, les articles traitant d'un couplage entre la chromatographie liquide et l'ICP-MS appliquée à l'analyse d'échantillons biologiques sont encore peu nombreux. *A contrario*, le nombre d'études de couplage appliquées à des matrices environnementales telles des eaux est plus important (Aldstadt *et al.*, 1996; Ohtsuka *et al.*, 2005). Dès 2005, il est apparu que cette méthode permettait d'atteindre des limites de détection proches de la spectrométrie alpha (utilisation en routine) notamment pour les actinides de période T < 10 000 ans comme l'américium-241 ou les isotopes du plutonium (Hang *et al.*, 2004; Epov *et al.*, 2005; Charlton *et al.*, 2013). En effet, si le signal est augmenté par l'obtention d'un pic chromatographique, le bruit de fond l'est également. Par conséquent, si les éléments sont présents à l'état naturel, comme l'uranium, le gain sur le rapport signal sur bruit obtenu lors d'une analyse en couplage devrait être limité, ce qui n'entraînerait pas un abaissement conséquent des limites de détection. Pour les éléments peu ou non présents à l'état naturel, le gain sur le rapport signal/bruit devrait être beaucoup plus important, permettant ainsi d'abaisser de manière significative les limites de détection.

Le couplage chromatographie liquide/ICP-MS a été également utilisé pour mesurer des rapports isotopiques précis, notamment pour le rapport ²³⁶U/²³⁸U (Godoy *et al.*, 2009). La période du ²³⁶U est de 2,39.10⁶ ans entraînant une faible abondance massique, ce qui rend sa mesure plus difficile que celle de ²³⁸U en l'absence de couplage. ²³⁶U n'est pas présent à l'état naturel, l'augmentation du signal n'entraînera pas d'augmentation significative du bruit de fond pour cet isotope permettant ainsi d'abaisser sa limite de détection.

Tous types d'ICP-MS peuvent être utilisés pour réaliser ce genre de couplage que ce soient des appareils quadripolaires (Hang *et al.*, 2004; Godoy *et al.*, 2009) ou à secteur magnétique (Benkhedda *et al.*, 2005; Charlton *et al.*, 2013). Par contre, peu d'études ont été publiées avec les appareils à multi-collecteurs. Ceci peut être dû à la complexité d'utilisation de ce type d'instrument.

Suivant l'objectif, il est également possible d'utiliser une cellule de réaction pour encore améliorer les limites de détection que l'on souhaite atteindre. Cependant, les schémas de couplage proposés par les différents auteurs peuvent s'avérer complexes, particulièrement lors de l'utilisation de plusieurs colonnes ou encore de colonnes nécessitant de nombreuses étapes de conditionnement (Figure 22).

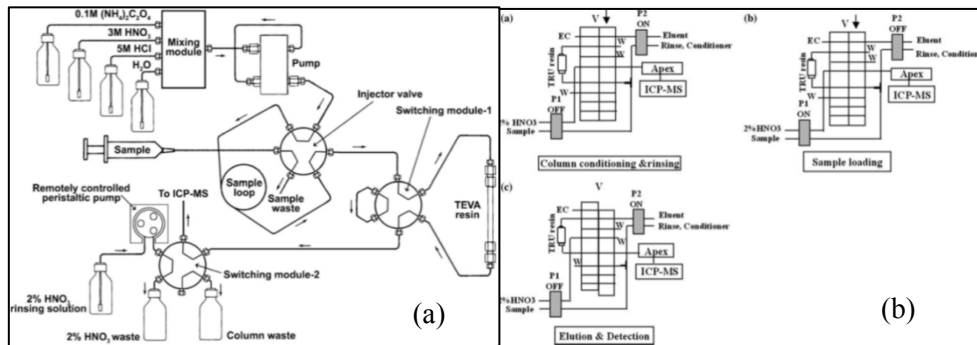


Figure 22 : Exemples de schémas de couplage issus de la littérature. (a) : Larivière et coll. (Larivière *et al.*, 2008) (b) Benkhedda et coll. (Benkhedda *et al.*, 2005)

Lors d'une analyse en ligne, avec un système de chromatographie liquide à pression atmosphérique, il est possible de réaliser l'injection dans la colonne en utilisant des systèmes de pompes péristaltiques (Epov *et al.*, 2005; Godoy *et al.*, 2009) ou des pompes isocratiques et/ou quaternaires (Hang *et al.*, 2004; Larivière *et al.*, 2008). Ces systèmes présentent chacun des avantages. En effet, Perkin Elmer et Agilent Technologies peuvent fournir des systèmes d'introduction en ligne à l'aide de pompes péristaltiques avec leurs ICP-MS. Ce type de montage est simple à mettre en œuvre, cependant il manque de latitude. Les systèmes de pilotage informatique sont souvent verrouillés et permettent peu de modifications dans le protocole du système de couplage. La mise en place de système de chromatographie externe à l'ICP-MS permet en revanche d'avoir cette marge de manœuvre. Le laboratoire dispose d'un système intégré à l'ICP-MS Agilent©, appelé ISIS (Integrated Sample Injection System), qui permet de réaliser une partie de l'étape de séparation en ligne. Ce système est composé d'une pompe péristaltique supplémentaire ainsi qu'une vanne 6 voies. Le système sera présenté en détail chapitre IV. Les optimisations seront réalisées sur ce dernier. Une fois ces paramètres chromatographiques établis, on cherchera à proposer un montage permettant une automatisation complète du système de couplage à l'aide d'un système de pompes et de vannes extérieur à l'ICP-MS.

Les paramètres géométriques de la colonne servant à la séparation ont tous leur importance dans l'abaissement de la limite de détection car ils interviennent dans la définition de la hauteur de plateau théorique (Eq. 10). Il est possible de jouer à la fois sur le diamètre et sur la longueur de colonne. Les diamètres des colonnes utilisés dans la littérature vont de 750 μm à 4,6 mm. Les longueurs varient de

3 cm à 150 cm. Peterson et collaborateurs (Peterson and Montoya, 2009), ont étudié l'impact de différentes géométries de colonnes sur l'efficacité d'extraction et de séparation de Th, U, Np, Pu, Am. Il apparaît que dans le cas de la résine TRU, un diamètre de 750 μm allié à une longueur de colonne de 100 cm permet une séparation sélective (en temps) à l'aide d'un gradient d'éluants. Ceci pourrait permettre de s'affranchir de certaines interférences notamment isobariques.

On peut noter les différences de volumes injectés et les différences dans la préparation des échantillons. Ainsi, si globalement les volumes injectés sont inférieurs à 100 mL, les volumes de départ des échantillons varient entre 5 mL (Godoy *et al.*, 2009) et 1 L (Lariviere *et al.*, 2008). Il en est de même pour les méthodes de préparation d'échantillons. Si certains choisissent de ne réaliser aucune préparation chimique préalable (Hang *et al.*, 2004), la plupart des études présente une étape de minéralisation. Plusieurs méthodes sont proposées avec pour vocation de limiter les effets de matrice lors de l'analyse ICP-MS : une dilution d'un volume d'urine fraîche (Tolmachyov *et al.*, 2004) ou encore une minéralisation au four à micro-ondes d'un faible volume d'urine (Benkhedda *et al.*, 2005). La plupart des études se contente cependant simplement de détruire (ou diluer la matière organique). Larivière et collaborateurs proposent, quant à eux, de réaliser une étape de pré-concentration par précipitation des alcalino-terreux à partir d'1 L d'urine (Lariviere *et al.*, 2008). Cette méthode permet non seulement d'éliminer la majeure partie de la matière organique présente dans l'urine mais également de concentrer les actinides présents. Le facteur de concentration obtenu (ici 100) permet d'améliorer d'autant la limite de détection.

Les débits d'extraction et d'élution ont également un impact sur les performances chromatographiques, car l'extraction des actinides sur la colonne peut être affectée par le débit de chargement des solutions. En effet, si celui-ci est trop rapide et que l'équilibre avec la phase stationnaire n'est pas atteint, l'extraction sera peu efficace. Les débits d'extraction sont habituellement de l'ordre de quelques millilitres par minute. Le débit d'élution, quant à lui, a un effet à la fois sur le rendement de récupération (rendement d'extraction x rendement d'élution) des actinides mais également sur la forme du pic chromatographique et de fait sur le nombre de plateaux théoriques. L'ordre de grandeur des débits d'élution s'étend de quelques centaines de microlitres au millilitre par minute. Ces débits sont tout à fait adaptés à une injection dans un ICP-MS car ils correspondent aux débits usuels de nébulisation.

Pour réaliser avec précision la mesure de 5 isotopes du plutonium (239, 240, 241, 242, 244) dans l'urine, Epov et collaborateurs (Epov *et al.*, 2005) ont proposé de coupler une colonne TRU à un ICP-MS pour une analyse en ligne. La colonne est ici utilisée à des fins de pré-concentration et d'élimination de la matrice urinaire. La contrainte majeure de ce type de mesure est la présence d'hydrures de plutonium. Par ailleurs, en présence d'uranium la sensibilité en abondance et la formation d'hydrure uranium peuvent également interférer ^{239}Pu . Pour s'affranchir de ces interférences, du CO_2 est ajouté à la cellule de réaction. On peut également constater que pour limiter ce type d'interférences, plusieurs auteurs utilisent un système de désolvatation (Benkhedda *et al.*,

2005; Epov et al., 2005; Charlton et al., 2013). Ce système utilise des membranes vibrantes qui permettent de travailler en plasma sec (donc en absence de H₂O).

Les limites de détection obtenues par Epov et collaborateurs (Epov *et al.*, 2005) sont toutes de l'ordre de 1 mBq.L⁻¹ sauf pour ²⁴¹Pu. Ceci n'est pas un inconvénient car le ²⁴¹Pu est un émetteur bêta, et sera mesuré par anthroporadiométrie ou par mesure bêta dans les urines en situation accidentelle. En utilisant les diagrammes TIARA (Ménétrier et al., 2007) (*cf.* annexe), les limites de détection atteintes pour ²³⁹Pu permettent d'affirmer que la dose reçue est bien inférieure à 200 mSv jusqu'à 20 jours après incorporation mais celle-ci peut être supérieure à 200 mSv, si la mesure est réalisée sur un échantillon prélevé passé ce délai.

Pour la mesure de ²³⁹Pu, Larivière et collaborateurs (Lariviere *et al.*, 2008) obtiennent une limite de détection à 2,1.10⁻¹ mBq.L⁻¹ avec la méthode dite « d'urgence », c'est-à-dire lorsque la mesure est réalisée sur une miction. Lorsque cette activité est ramenée à la dose en utilisant les abaques du « TIARA handbook » (Ménétrier et al., 2007), on constate que cette limite de détection permet d'affirmer que la dose est inférieure à 20 mSv, uniquement si cette activité est mesurée dans un échantillon prélevé 3 jours après l'incorporation. Passé ce délai et jusqu'à 10 jours après l'incorporation, la dose peut être supérieure à 20 mSv mais reste inférieure à 200 mSv. 10 jours après l'incorporation, la dose peut être supérieure à 200 mSv.

Ces auteurs, proposent une limite de détection abaissée par le fait de travailler sur un plus large échantillon (1 L) d'urine. Elle atteint alors 1,3.10⁻² mBq.L⁻¹. De plus, le plutonium est entraîné par précipitation de phosphate de calcium. Dans ce cas, si la mesure est réalisée 1 jour après l'incorporation la dose reçue est inférieure à 1 mSv, passé cette date la dose peut être supérieure à 1 mSv mais reste inférieure à 20 mSv.

Comme cela a été indiqué précédemment, les limites de détection atteintes pour les isotopes de l'américium grâce au couplage chromatographie liquide/ICP-MS ne devraient pas être affectées par l'augmentation du bruit de fond puisque ses isotopes ne sont pas présents à l'état naturel. Malheureusement on trouve relativement peu d'études consacrées à l'américium et pour lesquelles on dispose des limites de détection. Celles obtenues par Hang et collaborateurs (Hang *et al.*, 2004) restent cependant élevées (19,1 Bq.L⁻¹) ce qui correspond à des doses supérieures à 200 mSv, si la mesure est réalisée sur un échantillon urinaire prélevé le jour après l'incorporation, passé ce délai la dose peut être supérieure à 200 mSv. Pour abaisser ces limites de détection les auteurs proposent de réduire les volumes injectés par préparation chimique, ce qui augmenterait le facteur de concentration. Cependant cette étude est réalisée sur des urines non minéralisées, il pourrait donc être également intéressant de réaliser une étape de concentration des actinides par précipitation.

Même si pour l'uranium le bénéfice du couplage sera moindre car c'est un élément présent naturellement, les études montrent tout de même que le couplage permet d'atteindre des limites de

détection pour ^{238}U et ^{235}U entre $1,2 \cdot 10^{-4}$ et $2,5 \cdot 10^{-2}$ mBq.L⁻¹ et donc des niveaux de doses inférieurs à 1 mSv, à savoir la limite de dose pour le public en situation normale.

VIII.4. CONCLUSION

Les études sur le couplage chromatographie liquide-ICP-MS utilisées pour le couplage sont très diverses et résumées Tableau 10. Il est donc difficile de comparer les études entre elles car les auteurs utilisent différents types d'ICP-MS (secteur magnétique ou quadripôle) munis de différents équipements (nébuliseur désolvateur, cellule de collision-réaction). De plus, la préparation chimique et le volume d'échantillon urinaire injecté évoluent significativement d'une étude à l'autre. Par ailleurs, les limites de détection obtenues pour un même isotope peuvent varier jusqu'à quatre ordres de grandeur suivant le type d'appareil utilisé et le traitement chimique. Il est donc difficile de savoir quel paramètre a le plus d'impact sur ces limites de détection.

Ce travail de thèse a pour objectif la mise en place un système de couplage simple d'utilisation et qui se baserait sur une préparation chimique usuelle pour des analyses radiotoxicologiques.

Pour pouvoir répondre à cette problématique, on cherchera à coupler à un ICP-MS quadripolaire et une des colonnes calix[6]arènes développées au laboratoire. En effet, ce type d'appareillage nous a semblé le plus simple d'utilisation et le moins coûteux.

Pour ce faire, les différents paramètres chromatographiques seront étudiés (géométrie de la colonne, débits d'éluion, concentration des éluants) de manière à être optimisés tout en respectant les contraintes imposées par l'utilisation d'un ICP-MS. Un étalonnage sera réalisé afin de quantifier les actinides et les limites de détection seront déterminées (avec ou sans préparation chimique). De plus pour améliorer les limites de détection, une étape de minéralisation préalable de l'urine sera réalisée afin de concentrer une première fois les actinides avant la séparation et concentration sur la colonne.

Chapitre I : Etat de l'art

Auteurs	Type d'ICP-MS	Radioéléments : LD	Volume injecté	Colonne utilisée	Préparation de l'échantillon	Eluants	Taille de la colonne		Réutilisation
							Ø	longueur	
Benkhedda <i>et coll.</i> (Benkhedda <i>et al.</i> , 2005)	SF ³ + APEX ⁴	²³⁸ U : 2,48.10 ⁻⁴ mBq.L ⁻¹ ²³² Th : 1,23.10 ⁻³ mBq.L ⁻¹	10 mL	TRU	10 mL urine fraîche Digestion directe au four à micro-ondes	0,05 M oxalate d'ammonium	-	-	-
Charlton <i>et coll.</i> (Charlton <i>et al.</i> , 2013)	Q ⁵⁺ APEX	²³⁸ U, ²³² Th, ²³⁷ Np, ²⁴² Pu, ²⁴¹ Am :	15 mL	TRU	Urine synthétique Matière inorganique et organique (urée)	0,5 M acide oxalique + 0,3M HCl			
Larivière <i>et coll.</i> (Lariviere <i>et al.</i> , 2008) Protocole d'urgence:	SF	²³⁹ Pu : 2,1.10 ⁻¹ mBq.L ⁻¹ ²⁴⁰ Pu : 1,9.10 ⁻¹ mBq.L ⁻¹	50 mL	TEVA	30 mL d'urine fraîche dans HNO ₃ 3M Vf = 50 mL	0,032 M acide oxalique + 0,01M HCl	4,6 mm	5 cm	6 fois
Larivière <i>et coll.</i> (Lariviere <i>et al.</i> , 2008) Protocole de « routine »		²³⁹ Pu : 1,3.10 ⁻² mBq.L ⁻¹ ²⁴⁰ Pu : 1,5.10 ⁻² mBq.L ⁻¹	10 mL		1 L d'urine fraîche, co-précipitation par les phosphates de calcium, redissolution du précipité dans HNO ₃ , Vf = 10 mL (FC = 100)				

³ SF : Sector Field : Secteur magnétique

⁴ APEX : Nébuliseur désolvateur

⁵ Quadripole

Chapitre I : Etat de l'art

Tolmachyov <i>et coll.</i> (Tolmachyov <i>et al.</i> , 2004)	Q	^{235}U : $1,12 \cdot 10^{-4}$ mBq.L ⁻¹ ^{238}U : $6,20 \cdot 10^{-4}$ mBq.L ⁻¹ ^{232}Th : $4,88 \cdot 10^{-4}$ mBq.L ⁻¹	18 mL	UTEVA	5 mL d'urine fraîche diluée. Vf = 18 mL	0,025M acide oxalique	4,6 mm	3 cm	200 à 250 fois
Epov <i>et coll.</i> (Epov <i>et al.</i> , 2005)	Q + APEX + Cellule de collision Réaction avec CO ₂	^{239}Pu : 4,4 mBq.L ⁻¹ ^{240}Pu : 16 mBq.L ⁻¹ ^{241}Pu : $7,2 \times 10^3$ mBq.L ⁻¹ ^{242}Pu : 0,28 mBq.L ⁻¹ ^{244}Pu : $1,3 \cdot 10^{-3}$ mBq.L ⁻¹	10 mL	TRU	10 mL d'urine fraîche, digestion en milieu HNO ₃ /H ₂ O ₂ , évaporation à sec, reprise dans 10 mL.	0,02M EDTA	-	-	2 fois
Hang <i>et coll.</i> (Hang <i>et al.</i> , 2004)	Q	^{232}Th : 9,43 mBq.L ⁻¹ ^{238}U : 0,025 mBq.L ⁻¹ ^{237}Np : 0,52 mBq.L ⁻¹ ^{239}Pu : 343 mBq.L ⁻¹ ^{241}Am : 19,1 mBq.L ⁻¹	25 mL	TRU	Pas de traitement	0,032 M acide oxalique+ 0,01 HCl	4 mm	30 cm	-
Godoy <i>et coll.</i> (Godoy <i>et al.</i> , 2009)	Q	Rapport isotopique : précision $^{234}\text{U}/^{238}\text{U}$: 2,2 à 5,5 % $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$: 0,2 à 0,42 % $^{236}\text{U}/^{238}\text{U}$: 2,6 à 4,6 %	45 mL	TRU	5 mL mis à sec. Reprise dans 45 mL	0.05 M oxalate d'ammonium	-	-	200-250 fois
Perterson <i>et coll.</i> (Peterson <i>et al.</i> , 2007)	Q APEX	Th, U, Np, Pu, Am	200 µL	TRU	Echantillons synthétiques	Gradient : 3 M HNO ₃ 2M HCl (40 %), H ₂ C ₂ O ₄ (60 %) 2M HCl (0,5 %), H ₂ O (59,5 %) H ₂ C ₂ O ₄ (40 %)	4,6 mm 750 µm 750 µm 750 µm	30 cm 30 cm 100 cm 150 cm	-

Tableau 10 : Résumé des études réalisées par couplage entre la chromatographie liquide et l'ICP-MS

IX. CONCLUSION

Ce travail de thèse a pour objectif de mettre en œuvre un système d'analyse des actinides dans les urines en situation de crise, c'est-à-dire en moins de huit heures. Les protocoles d'analyses utilisés en routine et mettant en œuvre la spectrométrie alpha sont très performants en termes de limites de détection mais sont longs et complexes et sont de fait inadaptés aux situations d'urgence. C'est pourquoi, un système de couplage entre une colonne de chromatographie et un ICP-MS sera mis en place. Le couplage de ces deux méthodes a pour avantage d'abaisser considérablement les temps d'analyses (1h environ). L'ICP-MS étant un appareil de mesure de masse, le rapport entre les limites de détection et la période de l'élément analysé est inversement proportionnel tandis que ce phénomène n'est pas observable par spectrométrie alpha. Cette relation entraîne une disparité dans les limites de détection dont il faudra tenir compte pour améliorer les analyses.

Lors de la mise en place de ce système, nous nous attacherons à diminuer la durée du traitement de l'échantillon d'urine, à réduire la durée de la séparation des actinides et à en limiter la complexité, puis à coupler la colonne de chromatographie choisie à l'ICP-MS.

Pour ce faire, cette étude se découpe en deux parties distinctes :

Le choix de l'étape de minéralisation et la mise en place de la stratégie d'extraction permettant d'aboutir au choix de la colonne de calix[6]arène qui sera utilisée dans la suite des études (chapitre III).

Le développement du couplage de la colonne de calix[6]arène choisie et l'ICP-MS (et l'application de ce couplage à l'analyse radiotoxicologique (Chapitre IV).

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

I. SOLUTIONS

Toutes les solutions utilisées lors de cette étude ont été préparées avec de l'eau milliQ. Les solutions mères et les poudres sont de pureté analytique. Les pH des solutions sont mesurés systématiquement à l'aide d'un pH-mètre, puis ajustés au besoin.

I.1. URINES

Les urines fraîches sont issues de volontaires sains et non exposés aux actinides. Elles sont ensuite dopées en volume dans les proportions suivantes avant utilisation :

- $[^{238}\text{U}] = 0,12 \text{ ppb} = 5,0 \cdot 10^{-10} \text{ mol.L}^{-1} = 1,5 \text{ mBq.L}^{-1}$
- $[^{239}\text{Pu}] = 0,032 \text{ ppb} = 1,3 \cdot 10^{-10} \text{ mol.L}^{-1} = 73,1 \text{ Bq.L}^{-1}$
- $[^{243}\text{Am}] = 2,00 \cdot 10^{-4} \text{ ppb} = 8,2 \cdot 10^{-13} \text{ mol.L}^{-1} = 1,5 \text{ Bq.L}^{-1}$

Ces concentrations sont choisies pour représenter des proportions relatives, les unes par rapport aux autres, qui pourraient correspondre à celles retrouvées en cas d'accident nucléaire tout en restant adaptées à une analyse par ICP-MS après séparation sur des colonnes calix[6]arènes.

I.2. SOLUTIONS DE CONTAMINATION SYNTHÉTIQUES

Les solutions de contamination synthétiques sont des solutions de nitrate de sodium $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ dopées en actinides. Après le dopage, le pH des solutions est ajusté à 5,2 à l'aide d'eau ammoniacale.

Les concentrations en actinides correspondent à 10 fois les concentrations utilisées pour doper des urines fraîches, pour mimer le facteur de concentration dû à l'étape de minéralisation.

- $[^{238}\text{U}] = 1,2 \text{ ppb} = 5,0 \cdot 10^{-9} \text{ mol.L}^{-1} = 15 \text{ mBq.L}^{-1}$
- $[^{239}\text{Pu}] = 0,32 \text{ ppb} = 1,3 \cdot 10^{-9} \text{ mol.L}^{-1} = 731 \text{ Bq.L}^{-1}$
- $[^{243}\text{Am}] = 2,0 \cdot 10^{-3} \text{ ppb} = 8,2 \cdot 10^{-12} \text{ mol.L}^{-1} = 15 \text{ Bq.L}^{-1}$

II. IMPREGNATION DES CALIX[6]ARENES SUR LA RESINE DE POLYSTYRENE DIVINYLBENZENE

Deux calix[6]arènes ont été développés par le laboratoire de RadioChimie de l'IRSN : le 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂COOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène (calix[6]arène carboxylique) et le 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂CO-NHOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène (calix[6]arène hydroxamique).

Afin d'être utilisés sous forme de colonne de chromatographie, ces deux calix[6]arènes sont dissous dans l'heptanol puis imprégnés sur une résine en polystyrène divinylbenzène.

Ceci permet d'obtenir une résine CC composée de 44 mg de calix[6]arène carboxylique pour 1 g de polystyrène divinylbenzène et une résine CH composée de 22 mg de calix[6]arène hydroxamique pour 1 g de polystyrène divinylbenzène.

1 g de résine CC est donc composé de :

- 339 mg de polystyrène divinylbenzène
- 14,9 mg de 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂COOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène

- 0,74 mL d'heptanol

1g de résine CH est donc composé de :

- 342 mg de polystyrène divinylbenzène
- 7,56 mg de 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂CO-NHOH-*p-tert*-butylcalix[6]arène
- 0,79 mL d'heptanol

Après chaque préparation d'un lot de résine, son efficacité d'extraction vis-à-vis de U est vérifiée. 50 mL d'une solution de contamination synthétique dopée en ²³⁸U à 1,2 ppb sont injectés par gravité sur la colonne. Cette expérience est réalisée en dupliqua, si les rendements d'extraction sont supérieurs à 90 %, le lot de résine est considéré comme conforme.

III. UTILISATION DES RESINES

III.1. PREPARATION ET UTILISATION

Deux systèmes de chromatographie sont disponibles au laboratoire :

- des colonnes de chromatographie gravitaire Biorad en PTFE munies d'un fritté de 30 µm de porosité dans sa partie inférieure et surmontée d'un réservoir. Ces colonnes ne peuvent pas être utilisées pour le couplage à l'ICP-MS.
- des colonnes Omnifit© en verre borosilicaté avec un lit ajustable pouvant être montées en ligne avec une pompe péristaltique. Ces colonnes ont un volume de lit ajustable grâce à un piston dans la partie supérieure. Un fritté de 10 µm, dans la partie inférieure, permet de retenir la résine. Des tubulures peuvent être connectées à chacune des extrémités permettant de couplage de ces colonnes à l'ICP-MS.

Les colonnes de chromatographie sont remplies d'un gramme de résine sèche préalablement mouillée dans un mélange d'une solution de NaNO₃ 0,04 mol.L⁻¹ et de méthanol en proportion 80/20 volume à volume.

Mouillage de la résine et préparation des colonnes

Pour permettre une efficacité optimale de la résine dès sa première utilisation, il est nécessaire de la mouiller pour favoriser son interaction avec les phases mobiles qui seront injectées ultérieurement sur la colonne. Cela permet de limiter la création de chemins préférentiels dans le lit résine qui pourraient entraîner des variabilités de rendement de récupération. Pour cela 1 gramme de résine sèche est mis en contact avec 5 mL d'une solution MeOH/NaNO₃ 0,04 mol.L⁻¹ 20/80 (v/v) (appelée **solution de mouillage**). La résine est laissée en contact avec la solution de mouillage pendant au moins une semaine avant utilisation pour des raisons pratiques, cette durée peut être réduite à 72 h si nécessaire. Il a été remarqué expérimentalement que c'était le temps de mouillage minimum pour obtenir une extraction efficace sur la résine dès la première utilisation.

La mise en contact est réalisée directement dans le réservoir pour les colonnes gravitaires. La colonne est ensuite bouchée puis la résine et la solution de mouillage sont mélangées. Au moment de

l'utilisation le bouchon de pied de colonne est cassé et la colonne vidée de la solution de mouillage. Il n'y a pas de tassement particulier de la résine.

Les colonnes en verre n'ayant pas de réservoir, la résine est mouillée dans un pilulier. Juste avant utilisation, la résine est transvasée dans les colonnes Omnifit en tirant sous vide en pied de colonne et en injectant la résine en tête de celle-ci. Ceci permet un remplissage relativement homogène de la résine. La colonne est ensuite refermée et tassée manuellement.

Utilisation de la colonne

Plusieurs solutions successives sont injectées sur la colonne (Figure 23) :

- La solution de conditionnement (**notée C**) :
 - o 50 mL de NaNO_3 à $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ à une concentration de $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ à $\text{pH} \approx 5,2$
 - o 100 mL de tampon acétate $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$ à $\text{pH} \approx 6$ (mélange acide acétique $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$ /acétate de sodium $0,3 \text{ mol.L}^{-1}$)

L'objectif de cette étape est de s'assurer que la résine soit à un pH adapté à l'extraction ($\text{pH} \approx 5,2$). De plus cela permet un tassement plus homogène de la résine avant l'étape d'extraction.

- La solution d'extraction (**notée F**) :
 - o Soit 50 mL d'une solution de contamination synthétique (NaNO_3 à une concentration de $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$) à $5,2 < \text{pH} < 6,5$
 - o Soit une urine minéralisée à $\text{pH} = 5,2$ ($V \approx 70 \text{ mL}$)

Cette étape permet l'extraction des actinides par la colonne calix[6]arène.

- La solution de rinçage (**notée R**)
 - o 10 mL d'une solution de NaNO_3 à $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ à $\text{pH} \approx 5,2$

L'objectif est ici d'éliminer les ions qui se seraient potentiellement sorbés sur la colonne.

- La solution d'élution (**notée E**)
 - o 30 mL d'une solution dont la composition sera étudiée chapitre III
 - o Lors des études de couplage le volume d'élution est calculé en fonction de la base du pic chromatographique

Cette étape permet la désorption des actinides de la colonne.

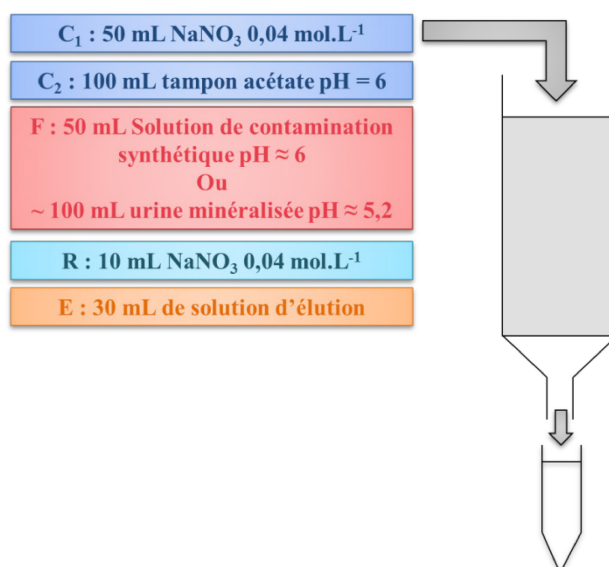


Figure 23 : Résumé des différentes étapes d'utilisation de la colonne

Ces différentes étapes seront utilisées à la fois lors d'études sur paillasse (études dites « hors-ligne ») mais seront également mises en œuvre lors du couplage.

III.2. CALCULS DES RENDEMENTS

Les calculs de rendement sont réalisés à partir des analyses par ICP-MS des différentes fractions récupérées après le passage des solutions sur la colonne.

Tout d'abord, chacune des fractions récupérées en pied de colonne est pesée pour ensuite déterminer son volume exact.

Pour les analyses par ICP-MS, chacune des fractions est ensuite diluée 10 fois, si la solution contient uniquement de l'uranium, ou 2 fois si la solution contient à la fois U, Pu et Am.

Pour chaque expérience sur colonne, un échantillon de référence ($T_{éch}$) est prélevé dans la solution d'extraction avant son passage sur colonne, pour déterminer le rendement d'extraction.

Une solution de référence pour l'élution ($T_{él}$) est préparée dans le même milieu que celui de la solution d'élution. Cette solution est dopée à la fois en ^{238}U , ^{239}Pu et ^{243}Am . Des solutions de blancs sont préparées dans l'acide nitrique ($w_t = 2\%$) pour les fractions F et la référence $T_{éch}$, dans le nitrate de sodium $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ pour les fractions R et dans la solution d'élution pour les fractions E et la référence $T_{él}$, ceci afin de tenir compte de la contribution des réactifs sur le signal ICP-MS des différentes solutions analysées.

Chaque échantillon est dopé avec $50 \mu\text{L}$ d'une solution de ^{209}Bi à 100 ppb afin de corriger les effets de matrice. Le signal (noté S dans les formules) des échantillons F et R est corrigé par rapport au signal de Bi obtenu dans l'échantillon $T_{éch}$. L'échantillon E est corrigé par rapport au signal en Bi obtenu dans l'échantillon $T_{él}$. Cette correction est effectuée comme suit :

$$f_{F \text{ ou } R} = \text{Facteur de correction (F, R)} = \frac{S_{Bi, F \text{ ou } R}}{S_{Bi, T_{éch}}}$$

$$f_E = \text{Facteur de correction (E)} = \frac{S_{Bi,E}}{S_{Bi,T_{\acute{e}l}}}$$

Le signal du blanc approprié est ensuite soustrait. Le signal corrigé est défini comme suit (avec x désignant la fraction F, R, ou E) :

$$S_{x,corr} = (S_x \times f_x) - S_{blanc}$$

Les rendements d'extraction sont calculés comme suit (avec V désignant le volume des différentes fractions) :

$$\text{Rendement F} = \frac{S_{F,corr}}{S_{T_{\acute{e}ch},corr}}$$

$$\text{Rendement R} = \frac{S_{R,corr} \times V_R}{S_{T_{\acute{e}ch},corr} \times V_F}$$

Ce qui donne pour rendement d'extraction :

$$\text{Rdt extraction} = 1 - \text{Rendement R} - \text{Rendement F}$$

Pour le rendement d'élution

$$\text{Rdt E} = \frac{\frac{S_{E,corr} [An]_{T_{\acute{e}l}}}{S_{T_{\acute{e}l}}}}{\text{Rdt extraction} \times [An]_{T_{\acute{e}ch}} \times V_F}$$

Avec $An = \text{actinides}$ et $[An]_{T_{\acute{e}l}} = [An]_i \frac{V_i}{V_F}$ pour les urines réelles, afin de tenir compte du facteur de concentration dû à l'étape de minéralisation. Pour les solutions de contamination synthétiques, les concentrations ont été données au paragraphe précédent.

Le rendement de récupération est défini par :

$$\text{Rendement de récupération} = \text{Rdt extraction} \times \text{Rdt E}$$

IV. TECHNIQUES D'ANALYSES UTILISEES

Les techniques présentées ici, sont les techniques utilisées pour la caractérisation chimique de la résine ou des différentes solutions. Les méthodes mises en place et développées lors de cette étude seront détaillées chapitre III pour la minéralisation et chapitre IV pour la mise en place du couplage.

IV.1. CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE

Les analyses GC-MS ont pour but de réaliser une séparation des molécules sous forme vapeur en amont d'une analyse par spectrométrie de masse. Les composés sont séparés en fonction de leur température d'ébullition et de leur affinité pour la colonne. Ainsi, une solution est injectée sous forme liquide dans la colonne sur laquelle un gradient de température est appliqué. Un débit d'hélium à $1,2 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ assure le transfert des composés dans la colonne. La ligne de transfert vers le spectromètre de masse est portée à 220°C pour éviter toute re-condensation. La source d'ions du

spectromètre de masse est un électrospray avec un faisceau d'électron 70 eV. Des radicaux et des ions moléculaires sont ainsi formés et un système optique focalise le faisceau d'ions pour le diriger vers un filtre de masse quadripolaire. Les ions d'intérêt sont transmis à un multiplicateur d'électrons où ceux-ci sont quantifiés.

Deux types de détection peuvent être utilisés : le Full Scan avec lequel toutes les masses sont mesurées, le SIM avec lequel seules les masses caractéristiques des éléments à analyser sont mesurées.

Les analyses GC-MS ont été réalisées sur un appareil ThermoScientific Focus GC couplé à un spectromètre de masse DSQII. Le choix de la colonne à utiliser et des paramètres opératoires seront développés chapitre III.

IV.2. SPECTROSCOPIE INFRA-ROUGE PAR REFLEXION TOTALE ATTENUÉE (IR-ATR)

Lors de cette étude, on utilisera un système de spectroscopie infra-rouge particulier : la réflexion totale atténuée (ATR). Dans le cas de l'ATR, un rayon infra-rouge est dirigé vers un cristal avec un fort indice de réfraction (ici ZnSe recouvert d'une couche de diamant), ainsi une onde évanescente IR est créée par la forte réflectance interne. Cette onde évanescente atténuée par l'échantillon déposé sur le cristal altère le rayonnement IR qui est renvoyé vers le détecteur (Figure 24). Ainsi, le spectre d'absorbance est créé.

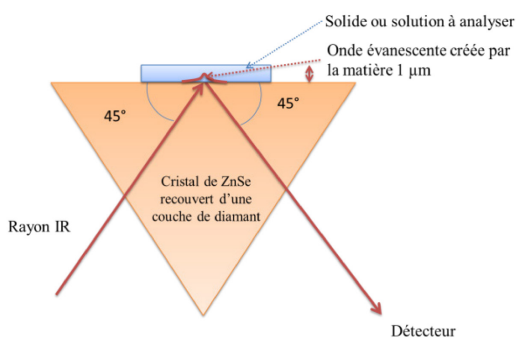


Figure 24 : Schéma de principe de la spectroscopie IR-ATR



Figure 25 : Spectromètre IR monté avec la platine ATR munie d'une presse

Les spectres sont enregistrés de 650 à 4000 cm^{-1} après mesure du « background » (mise à zéro du spectre) dans l'air.

L'appareil utilisé est un spectromètre IR ThermoScientific Nicolet 6700 muni d'une platine ATR monoreflexion avec un cristal ZnSe recouvert d'une couche de diamant (Figure 25). Le système est complété par une presse pour réaliser des analyses de solides.

IV.3. MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE

La microscopie électronique à balayage (ou MEB) est une méthode de microscopie qui consiste à balayer une surface avec un faisceau d'électrons. Les poudres sont déposées sur un plot recouvert d'un

scotch de graphite, puis l'échantillon est métallisé par dépôt sous vide d'une couche d'or. Une bande de cuivre est appliquée sur le plot pour dériver les électrons vers la terre.

Cela permet de réaliser des mesures semi-quantitatives, c'est-à-dire que non seulement il est possible d'observer une image mais également d'obtenir la localisation et les proportions relatives de différents éléments par mesure de leurs raies d'émission X. Ceci peut être particulièrement intéressant pour localiser des éléments tels l'uranium sur une surface.

L'appareil utilisé lors de ces études est un microscope Hitachi 3500 muni d'un détecteur EDS de chez Brücker.

IV.4. GRANULOMETRIE LASER

La granulométrie laser, permet la mesure de la taille de particules par diffusion dynamique de la lumière en se basant sur le principe de la diffraction. La variation angulaire de l'intensité du faisceau laser est mesurée quand celui-ci traverse un échantillon de particules dispersées. Les grosses particules diffusent la lumière à des petits angles tandis que les petites la diffusent à des angles plus grands. Ainsi, on peut obtenir la taille et la distribution en taille de particules en suspensions.

L'appareil utilisé lors de ces études est un granulomètre laser Beckman Coulter.

IV.5. MINERALISATION AU FOUR A MICRO-ONDES

La minéralisation au four à micro-ondes consiste à digérer un solide afin de détruire la matière organique qu'il contient. Les micro-ondes excitent les molécules d'eau présentes dans le milieu. Le récipient étant mis sous pression, la température atteinte, permet une destruction rapide de la matière organique et la dissolution des précipités présents dans l'échantillon, sous l'action d'un milieu acide et oxydant. Cette étape de minéralisation au four à micro-ondes, a été validée lors de cette étude. La solution de dissolution des précipités est un mélange 30 mL HNO₃ (w_t = 67 %) / 5 mL H₂O₂ (w_t = 30 %). Le programme de minéralisation utilisé est le suivant :

- 10 min T → 200°C
- 30 min T = 200°C

Le laboratoire est équipé d'un four à micro-ondes *EthosOne Milestone*. Les réacteurs et les bouchons en Téflon, sont placés dans des gangues en céramique. Des pastilles en céramique placées sur les bouchons des réacteurs peuvent se déformer en cas de surpression et ainsi éviter une explosion du système.

IV.6. MESURES IONIQUES DANS LES URINES

IV.6.1. Chromatographie ionique

Lors de ce travail de thèse, des études de chromatographie ionique ont été réalisées pour établir le profil anionique des urines avant et après minéralisation (chapitre III).

Le principe général de la chromatographie par échange d'ions a été décrit chapitre I.

Les échantillons d'urines fraîches et minéralisées sont aliquotés puis dilués au 1 000^{ème} dans l'eau. L'extraction des anions (Cl^- , NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}) est réalisée avec un volume de 20 μL par un instrument *Compact Ion chromatography 861 Metrohm*, muni d'une colonne Metrosep A supp 5. Le pH de l'échantillon doit être compris entre 2,5 et 7. L'élution est réalisée par une solution contenant un mélange 1 mmol.L^{-1} NaHCO_3 /3,2 mmol.L^{-1} Na_2CO_3 injectée à un débit de 0,7 mL.min^{-1} .

IV.6.2. Spectroscopie optique d'émission couplée à un plasma induit (ICP-OES)

Un ICP-OES permet la mesure élémentaire en se basant sur le même principe d'excitation atomique que l'ICP-MS (*cf.* chapitre I et annexe). La détection cependant est différente. Dans le plasma, les ions sont excités et un équilibre se crée entre la perte et la recombinaison des électrons de l'atome émettant des raies d'émission caractéristiques des différents éléments. La lumière émise par le plasma entre dans la chambre optique après avoir été refroidie. La lumière est ensuite séparée entre les différentes longueurs d'onde avant que l'intensité de chacune ne soit mesurée par un détecteur CCD.

Les échantillons d'urines fraîches et minéralisées sont dilués 100 fois dans HNO_3 ($w_t = 2\%$) pour l'analyse des alcalins (Na^+ et K^+) et 10 fois pour l'analyses des alcalino-terreux (Ca^{2+} et Mg^{2+}).

L'appareil utilisé lors de cette étude est un *I-CAP de ThermoScientific*. Les longueurs d'ondes utilisées sont 589,592 nm pour Na, 285,231 nm pour Mg, 422,673 pour Ca et 422,673 nm pour K.

IV.7. PYCNOMETRIE : MESURE DE DENSITE

La pycnométrie permet de réaliser la mesure du volume poral et ainsi d'en déduire la masse volumique de l'échantillon.

Cette technique est basée sur une application de la loi des gaz parfaits :

$$P.V = n.R.T \quad \text{Eq. 20}$$

Avec

- P : pression en Pa
- V : volume en m^3
- n : quantité de matière en mol
- R : constante des gaz parfait 8,314 $\text{J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$
- T : température du système en K

Un gaz inerte, ici l'hélium, est injecté dans le volume d'une cellule fermée (V_{cell}) contenant l'échantillon à caractériser ($V_{\text{éch.}}$) à pression P_1 . La chambre d'expansion est, elle, remplie d'hélium à pression atmosphérique. Après ouverture de la vanne, l'hélium va se détendre pour occuper la totalité du volume des deux enceintes (V_{exp}). La pression totale du système devient donc P_2 et l'équation des gaz parfait répond à l'Equation (3) définie dans la Figure 26.

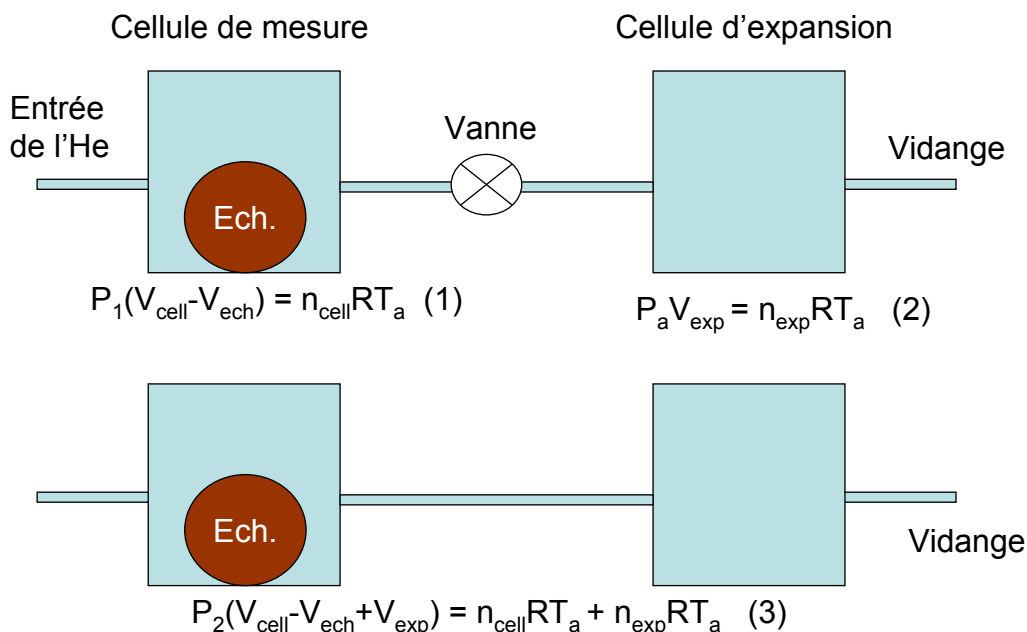


Figure 26 : Schéma de principe du pycnomètre © LT2S

Le volume de l'échantillon peut alors être déduit par l'Equation 21. Cette équation permet donc de déterminer le volume réel de l'échantillon (hors porosité fermée).

$$V_{\text{ech}} = V_{\text{cell}} - \frac{V_{\text{exp}}}{\left(\frac{P_1 - P_a}{P_2 - P_a}\right) - 1} \quad \text{Eq. 21}$$

Si la masse de l'échantillon (m_{ech}) est connue, il est possible de déterminer la masse volumique de l'échantillon définie par l'Equation 22.

$$\rho_{\text{ech}} = \frac{m_{\text{ech}}}{V_{\text{ech}}} \quad \text{Eq. 22}$$

L'appareil utilisé lors de cette étude est un pycnomètre AccuPyc 1340 de chez Micrometrics (Figure 27).



Figure 27 : Pycnomètre AccuPyc 1340 MICROMETRICS © LAME

Cette technique sera utilisée pour déterminer la masse volumique de la résine de polystyrène divinylbenzène mais aussi des résines de chromatographie imprégnées utilisées lors de cette étude (CH et CC).

IV.8. MESURES DE CARBONE ORGANIQUE TOTAL

Des mesures de carbone organique total sont réalisées lors de cette étude afin de valider la procédure de minéralisation mise en œuvre. Cette analyse repose sur la transformation du carbone en CO₂ dont la concentration est mesurée à l'aide un détecteur UV.

Une première fraction de l'échantillon est prélevée et calcinée, ainsi la totalité du carbone (organique et inorganique) (C_{tot}) présent dans les urines est transformé en CO₂. Une deuxième fraction est ensuite prélevée et acidifiée à l'aide d'acide phosphorique ainsi le carbone inorganique (C_{inorg}) est cette fois le seul transformé en CO₂ et détecté. On obtient la quantité de carbone organique total par différence :

$$C_{\text{org}} = C_{\text{tot}} - C_{\text{inorg}}$$

L'appareil utilisé lors de cette étude est un appareil VarioTOCCube.

CHAPITRE III : STRATEGIE D'EXTRACTION

I. INTRODUCTION

L'objectif de ce travail de thèse est de développer un couplage entre une colonne de chromatographie liquide à base de calix[6]arène imprégné et un ICP-MS pour l'analyse des actinides dans les urines. Le laboratoire a développé deux résines imprégnées spécifiques à l'extraction des actinides d'un milieu urinaire : la première est constituée de calix[6]arène hydroxamique (notée CH), la seconde de calix[6]arène carboxylique (notée CC). Ces résines sont utilisables sous forme de colonnes pour l'analyse radiotoxicologique.

Les études précédentes menées au laboratoire (Dinse *et al.*, 1997; Boulet *et al.*, 2006, 2007; Poriel *et al.*, 2007) ont permis de déterminer les constantes thermodynamiques d'extraction de l'uranium par ces deux calix[6]arènes en système liquide-liquide. L'efficacité de ces calix[6]arènes pour l'extraction des actinides a également pu être démontrée. Cependant, aucune étude n'a été menée jusqu'à présent pour caractériser physiquement les résines imprégnées qui servent de support chromatographique (CH et CC).

La première partie de ce chapitre sera consacrée à la caractérisation des résines de chromatographie CC et CH de manière à mieux appréhender le comportement de ces supports lors de leur utilisation. Une étude par spectroscopie infra-rouge sera réalisée pour tenter de comprendre les phénomènes se produisant lors de l'imprégnation. Le comportement de la résine dans la solution de mouillage sera étudié pour comprendre les phénomènes de déformulation du support imprégné pouvant avoir lieu. La résistance et le comportement du support vis-à-vis des solutions injectées sur la colonne seront quant à eux étudiés par microscopie (optique et électronique à balayage).

La seconde partie sera axée sur le choix de la méthode de minéralisation de l'urine en amont de la séparation sur colonne. Cette méthode est composée d'une étape de minéralisation par voie humide (étape 1), d'une étape de pré-concentration des actinides par co-précipitation (étape 2), puis d'une reprise du précipité et sa digestion au four à micro-ondes (étape 3). Dans cette partie, la modélisation de la spéciation de l'ion uranyle dans les urines permettra de définir la stratégie de co-précipitation à adopter. Puis la technique de digestion au four à micro-ondes sera validée de manière à la rendre adaptée à une utilisation en situation de crise (temps total d'analyse inférieur à 8 h, minéralisation incluse). Une fois la minéralisation validée le choix de la colonne sera arrêté. La modélisation de la spéciation sera cette fois réalisée dans les urines minéralisées, pour comprendre les phénomènes se produisant lors de l'extraction de l'ion uranyle par la colonne calix[6]arène. Ainsi, le profil ionique de l'urine aux différentes étapes de la minéralisation sera déterminé par chromatographie ionique et ICP-OES. Ces résultats permettront de définir les données d'entrées pour modéliser la spéciation de l'uranyle dans les urines minéralisées. Une fois le modèle théorique défini et validé, le protocole expérimental développé précédemment sera amélioré à l'aide des résultats obtenus par modélisation pour optimiser l'extraction de l'uranium par la colonne choisie.

II. CARACTERISATION DE LA RESINE

II.1. ETUDE STRUCTURALE

L'objectif de cette étude structurale est de tenter de comprendre la manière dont le calix[6]arène est imprégné sur la colonne. Le calix[6]arène est dissous dans le solvant d'imprégnation (heptanol) puis mis en contact sous vide poussé avec la résine de polystyrène divinylbenzène (PS-DVB).

Deux phénomènes pourraient se produire lors de cette étape : un film d'heptanol contenant le calix[6]arène dissous se déposerait à la surface de la résine ou bien la solution d'imprégnation pénétrerait dans les pores du calix[6]arène. Nous avons cherché à déterminer laquelle de ces hypothèses pouvait s'appliquer à notre système.

Pour comprendre ces phénomènes, une première étude par spectroscopie Infra-Rouge a été réalisée.

II.1.1. Etude par spectroscopie infra-rouge

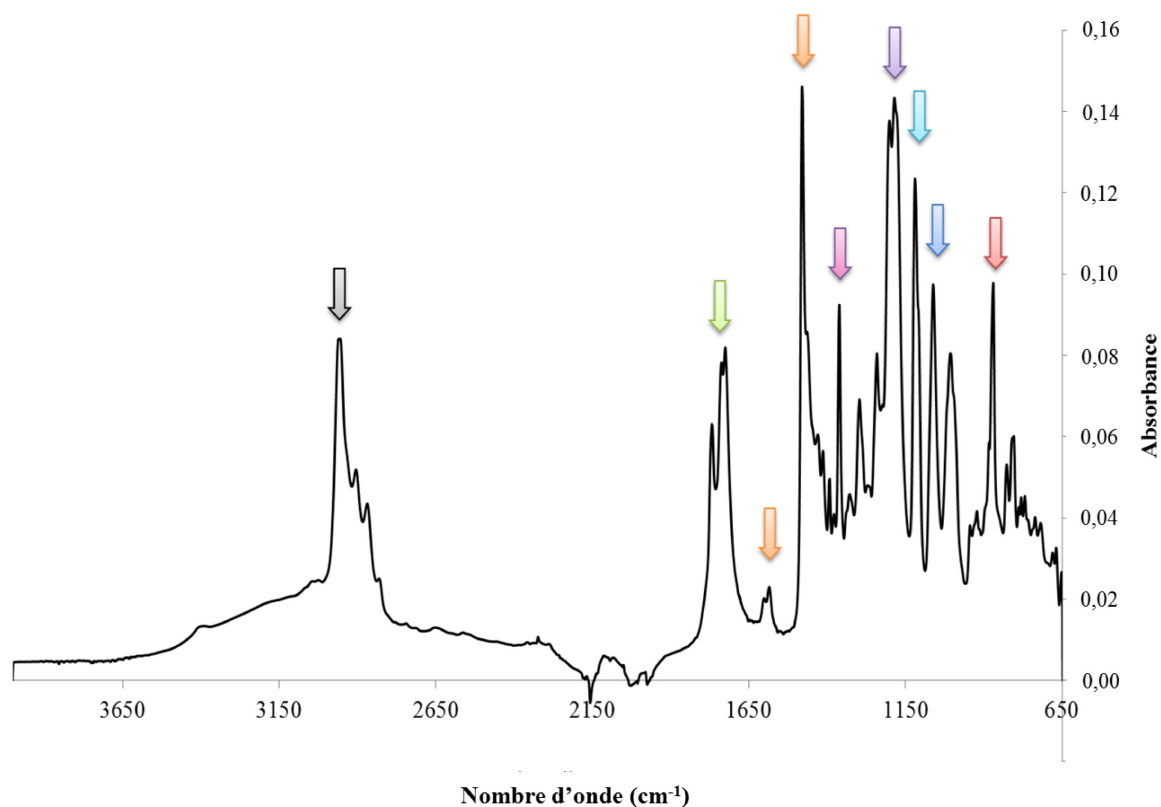
II.1.1.a. Méthode

Il existe deux types d'analyses IR : les analyses en transmission FT-IR (infra-rouge à transformée de Fourier) et les analyses ATR (Attenuated Total Reflectance). Les calix[6]arènes et les résines se présentent sous forme de poudre dont la granulométrie sera déterminée ultérieurement. Ils ont donc été analysés avec une platine ATR monoréflexion composée d'un cristal de ZnSe recouvert d'une couche de diamant et munie d'une presse. Ce système permet d'analyser les poudres directement déposées sur le cristal. Le mode de fonctionnement ATR a été décrit chapitre II.

II.1.1.b. Analyses

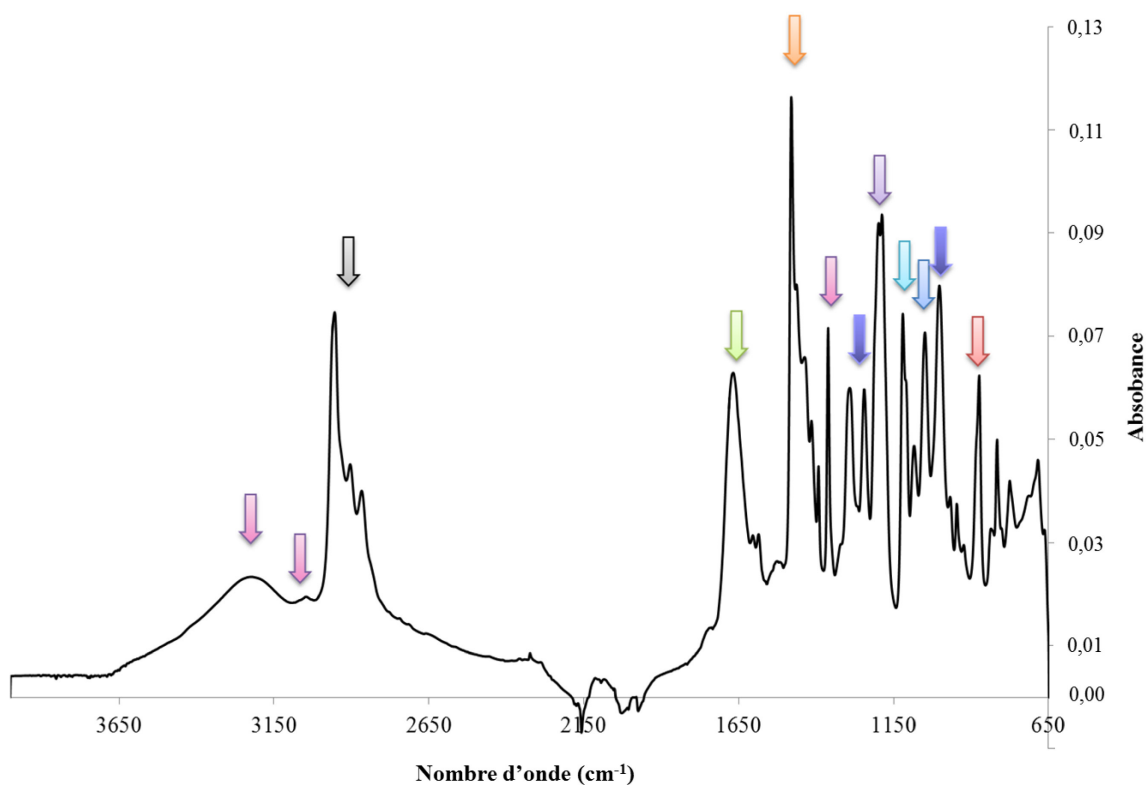
L'objectif de cette analyse est d'étudier comment les calix[6]arènes sont imprégnés sur la résine de PS-DVB. Cependant, des études antérieures réalisées par FT-IR sur des résines imprégnées composées de Kelex-100 (une 8 hydroxyquinoline substituée) sous forme liquide imprégné sur une résine de polystyrène divinylbenzène montrent qu'il est difficile de réaliser ces analyses à cause de la faible concentration du réactif liquide sur la résine organique (Bokobza and Cote, 1985; Cote *et al.*, 1987).

La première étape a été d'enregistrer les spectres ATR sous presse des deux molécules de calix[6]arène développées par le LRC, puis de les interpréter afin de déterminer les bandes caractéristiques propres à chacune (Figure 28, Figure 29).



870 cm^{-1}	ν -(C-H) aromatique isolé	
1060 cm^{-1} 1242 cm^{-1}	ν -(CH ₂ -O-C)	
1118 cm^{-1}	ν (C-O) acide carboxylique	
1184 cm^{-1}	ν (C-O-CH ₃)	
1360 cm^{-1}	δ (O-H) acide carboxylique	
1480 cm^{-1} 1583 cm^{-1}	ν -(C=C) aromatique	
1728 cm^{-1}	ν -(C=O)	
2953 cm^{-1}	ν -(CH ₃)	
3000 cm^{-1} Bande large	ν -(O-H)	

Figure 28: Spectre en absorbance Infra-Rouge ATR et attribution des bandes d'absorption associées dans le cas du 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂COOH-*p*-*tert*-butylcalix[6]arène



870 cm ⁻¹	v -(C-H) aromatique isolé	
1000 cm ⁻¹ 1118 cm ⁻¹	v -(C-N)	
1047 cm ⁻¹ 1243 cm ⁻¹	v -(CH ₂ -O-C)	
1184 cm ⁻¹	v (C-O-CH ₃)	
1360 cm ⁻¹	δ (O-H) acide hydroxamique	
1480 cm ⁻¹	v -(C=C) aromatique	
1665 cm ⁻¹	v -(C=O)	
2953 cm ⁻¹	v -(CH ₃)	
3035 cm ⁻¹	v -(N-H)	
3230 cm ⁻¹	v -(OH) acide hydroxamique	

Figure 29: Spectre en absorbance Infra-Rouge ATR et attribution des bandes d'absorption associées dans le cas du 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂CONHOH-*p*-*tert*-butylcalix[6]arène

Tout d'abord, les bandes observables à environ 2150 cm^{-1} correspondent aux bandes du cristal de ZnSe.

Les bandes caractéristiques qui pourraient être utilisées pour identifier le calix[6]arène dans les spectres des résines imprégnées sont celles des groupements carbonyle. En effet, ces bandes sont totalement absentes du spectre du polystyrène divinylbenzène contrairement aux bandes correspondant aux liaisons (C=C) des cycles aromatiques.

Une fois cette étude réalisée, nous avons cherché à observer si l'imprégnation des calix[6]arènes sur le polystyrène divinylbenzène impactait le spectre infra-rouge et donc si l'imprégnation impactait les propriétés extractantes des calix[6]arènes.

Les différents spectres obtenus en ATR sont présentés et superposés Figure 30 : le polystyrène divinylbenzène (CG 3000), les deux calix[6]arènes et les deux résines CH et CC. Compte tenu de la densité des pics aux bas nombres d'ondes le spectre a été grossi (Figure 31) pour faciliter la discussion.

Tout d'abord, on peut noter la faible intensité du spectre du polystyrène divinylbenzène. En effet, cette poudre est pulvérulente, ce qui rend difficile son dépôt et donc limite sa quantité sur la platine ATR.

Par ailleurs, on peut noter que les spectres de la résine CH et de la résine CC se superposent quasi-parfaitement, indiquant qu'ils sont sûrement majoritairement composés des bandes imputables au polystyrène divinylbenzène. Les bandes caractéristiques, $\nu(\text{C}=\text{O})$ des deux calix[6]arènes à 1728 et 1665 cm^{-1} ne sont pas détectables sur les spectres correspondant aux résines imprégnées (CH et CC). Ceci peut s'expliquer par la faible concentration du calix[6]arène dans la résine. Cependant, on peut noter l'apparition d'une bande large à 3320 cm^{-1} . Celle-ci peut être attribuée à la bande $\nu(\text{OH})$ de l'heptanol. En effet, la bande hydroxyle de l'acide hydroxamique est moins intense et décalée (3230 cm^{-1}), et celle de l'acide carboxylique est plus diffuse et moins bien déterminée. Ce type de bande est donc caractéristique d'un alcool.

Les bandes fines apparaissant à 3000 cm^{-1} correspondent à la bande $\nu(-\text{CH}_3)$. Ces bandes sont présentes sur tous les spectres obtenus. Elles ne peuvent donc être caractéristiques d'aucune des molécules.

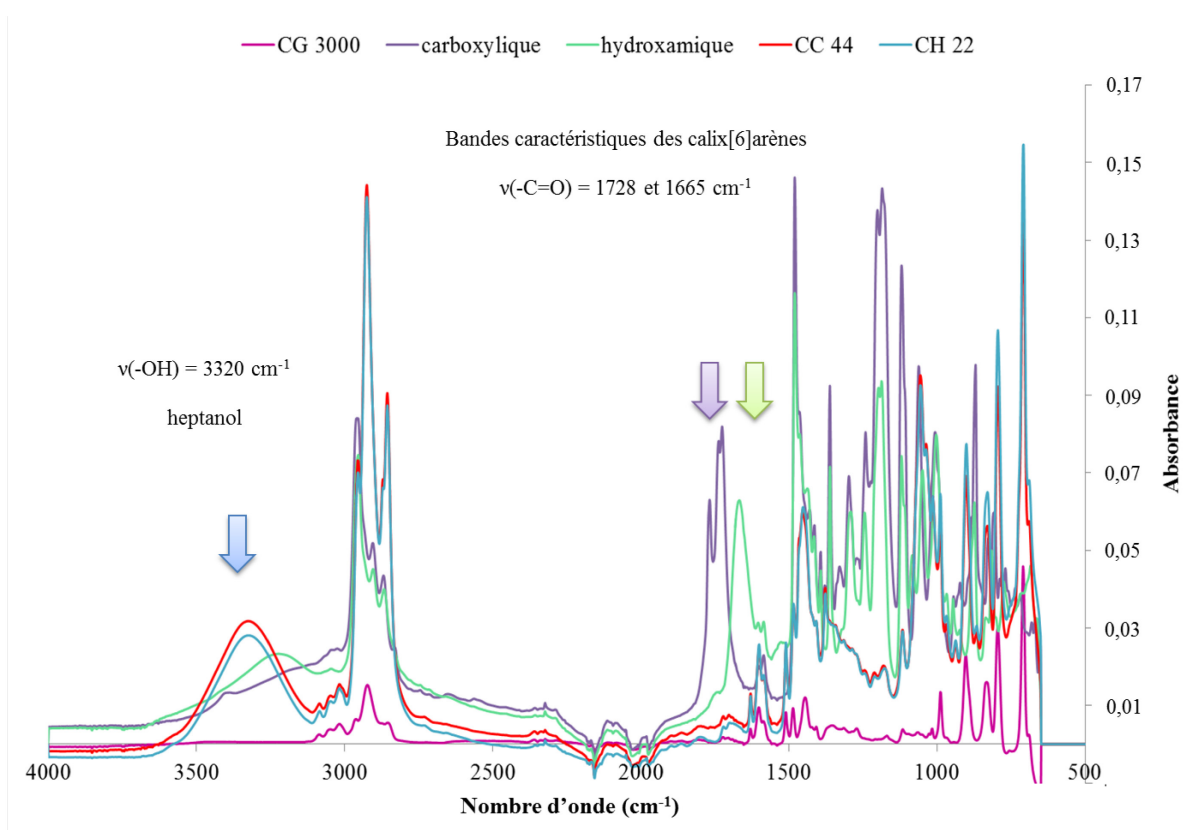


Figure 30 : Spectre Infrarouge en absorbance par ATR du polystyrène divinylbenzène (CG3000), des calix[6]arènes carboxyliques et hydroxamiques, et des résines imprégnées CH et CC

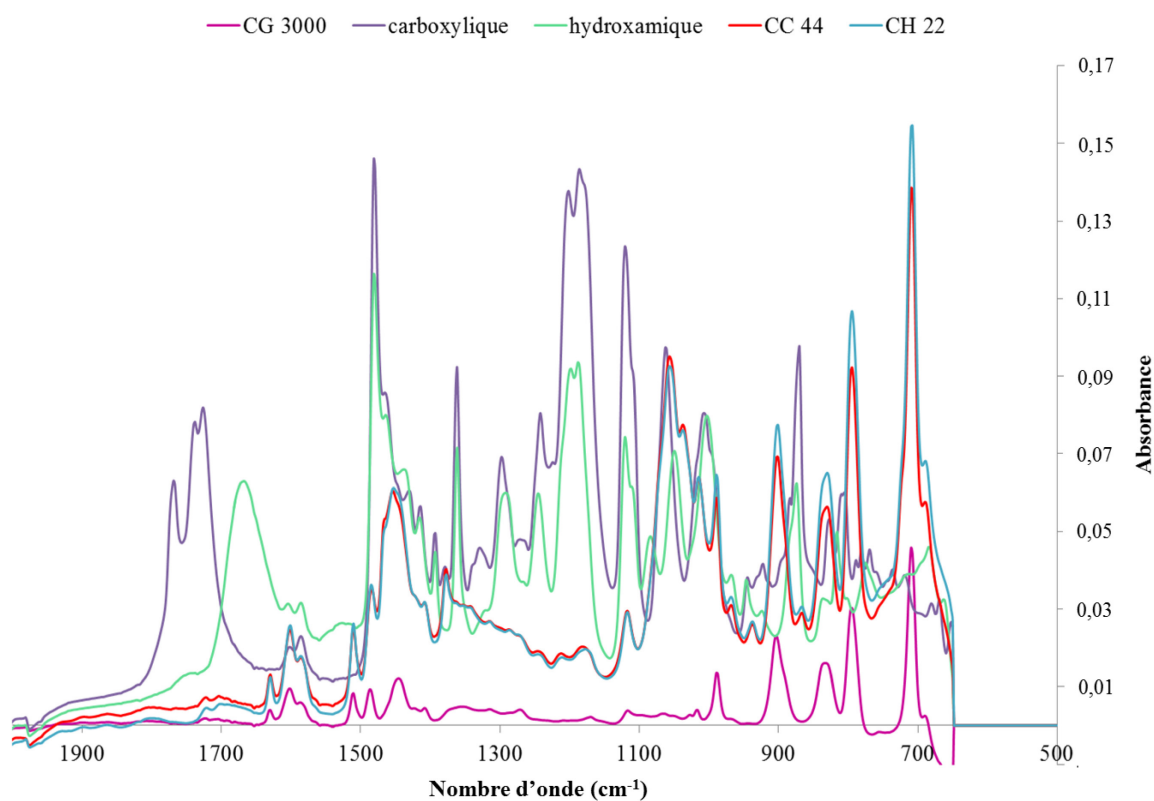


Figure 31 : Grossissement de la Figure 30 de 2000 à 500 cm⁻¹

Les pics sont trop nombreux, y compris sur le grossissement du spectre, et les décalages observés ne peuvent pas permettre de conclure sur le comportement des calix[6]arène sur la résine. De plus, les

deux bandes les plus caractéristiques pour chacun des calix[6]arènes, c'est-à-dire les bandes des liaisons (C=O) à 1660 cm^{-1} disparaissent sur les spectres des résines CC et CH. Ceci laisse à penser que les calix[6]arènes sont trop dilués dans la résine pour qu'on puisse distinguer leur structure en IR.

Les analyses infrarouges nous ont permis de déterminer les spectres caractéristiques des molécules de calix[6]arène du LRC. Ces spectres caractéristiques ont par la suite servi pour tenter de discriminer les bandes caractéristiques des molécules de calix[6]arène lors de l'analyse des résines imprégnées et ainsi espérer conclure sur leur comportement lors de l'imprégnation sur le polystyrène divinylbenzène. Cependant, ces calix[6]arènes sont, en effet, bien trop dilués dans le PS-DVB pour être détectés. Ainsi, il n'est pas possible de conclure quant à leur comportement lors de l'imprégnation. En effet, la seule variation majeure entre les spectres de différentes résines et le spectre du polystyrène divinylbenzène est l'apparition d'une bande caractéristique des alcools à $\nu(-OH) = 3400\text{ cm}^{-1}$ attribuable à l'heptanol (le solvant d'imprégnation utilisé).

II.1.2. Caractéristiques physiques de la résine

Par la suite, nous avons déterminé certaines caractéristiques physiques de ces résines notamment leur granulométrie et leur densité. Nous avons réalisé ces analyses à la fois sur le polystyrène divinylbenzène pur puis sur les résines CH et CC.

La granulométrie laser permet d'obtenir la taille moyenne et ainsi de déterminer le diamètre des billes des différentes poudres analysées ainsi que leur dispersion en taille. Le principe a été développé chapitre II. Les résultats obtenus pour les différentes résines analysées sont présentés Tableau 11. La distribution statistique de la taille des particules permet de montrer la dispersion en taille. A titre d'exemple la Figure 32 montre un pic obtenu par granulométrie laser et les différentes zones de tailles de la distribution.

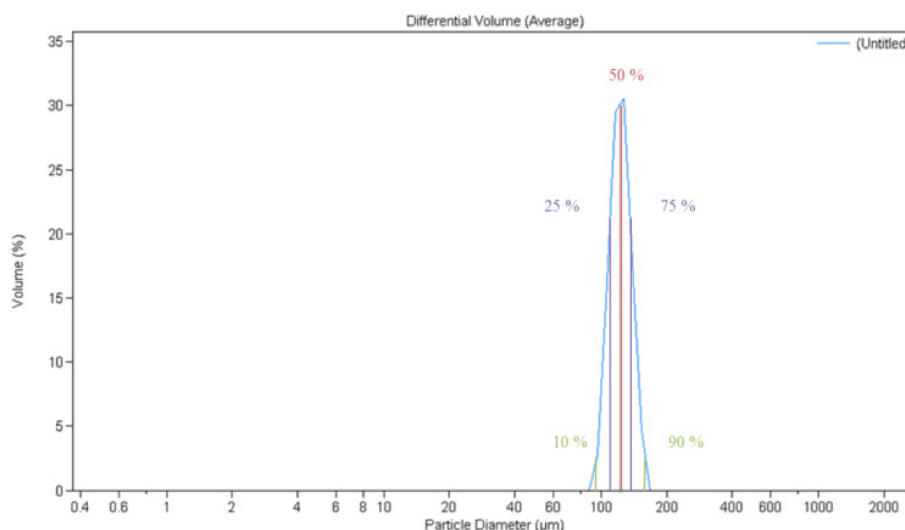


Figure 32 : Représentation d'un spectre de résine obtenu par granulométrie laser

	Diamètre moyen des particules (μm)	Distribution statistique (μm) <				
		10 %	25 %	50%	75%	90%
PS-DVB	126,2	105,1	113,3	123,7	136,2	150,0
CH	123,7	106,03	113,8	123,0	132,8	142,9
CC	123,2	106,2	113,8	122,7	132,0	141,6

Tableau 11 : Granulométrie des différentes résines

La distribution statistique en taille ne semble pas être différente entre les différentes résines.

Des études de densité sous hélium ont été réalisées à la fois sur le polystyrène support et sur les résines imprégnées (Tableau 12). Le principe de ces mesures a été détaillé chapitre II.

Masse volumique ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	
PS-DVB	$1,12 \pm 0,02$
CH	$0,941 \pm 0,001$
CC	$0,936 \pm 0,001$

Tableau 12 : Masses volumiques des différentes résines

La masse volumique du polystyrène divinylbenzène permet de recalculer les masses volumiques des différentes résines par rapport à leur composition (*cf.* chapitre II). Ainsi, si on assimile la masse volumique des calix[6]arènes à 1, on obtient une masse volumique de $0,95 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ pour la résine CC ce qui s'écarte de la valeur mesurée de 1 %. Pour la résine CH, la masse volumique théorique est de $0,91 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ce qui s'écarte de la valeur expérimentale de 4 %.

Ces études de caractérisation permettent difficilement de conclure sur le comportement du calix[6]arène sur la résine de polystyrène. Cependant, on peut supposer que le solvant d'imprégnation (heptanol) remplit le volume poral lors du séchage sous Rotavap® compte tenu de la variation de la masse volumique.

II.2. ETUDE DE LA DEFORMULATION DU SUPPORT CHROMATOGRAPHIQUE

Les résines de calix[6]arènes (CH et CC) ont pour vocation d'être utilisées pour un couplage chromatographie liquide/ICP-MS. Pour ce faire, la résine est mouillée avant utilisation en milieu méthanol/nitrate de sodium $0,04 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (20/80, v/v) pendant une semaine. Cette étape permet d'homogénéiser la résine et ainsi de limiter l'apparition de chemins préférentiels lors du passage des solutions d'extraction et des solutions d'élution lors de la première utilisation des résines CH et CC. Une fois la résine mouillée, les solutions (conditionnement, urine minéralisée, rinçage, élution) sont injectées sur la colonne à débit constant à l'aide d'une pompe péristaltique. Nous avons voulu vérifier que la résine ne se déformait pas lors du mouillage, à savoir que l'heptanol n'était pas redissous par le mélange $\text{MeOH}/\text{NaNO}_3$ lors de cette étape. En effet, il a été constaté expérimentalement que les

solutions de mouillage récupérées en pied de colonne après une semaine de contact présentaient une odeur d'heptanol, pouvant laisser supposer une déformulation de ce dernier.

Par ailleurs, le polymère utilisé pour l'imprégnation du calix[6]arène (PS-DVB) étant organique, il a également été vérifié que les milieux acides utilisés en particulier pour l'élution des actinides avec lesquels il était mis en contact ne le dégradait pas.

II.2.1. Déformulation lors du mouillage de la résine

La résine imprégnée est mise en contact avec une solution de mouillage composée de MeOH/NaNO₃ 0,04 mol.L⁻¹ (20/80, v/v) (cf. chapitre II) une semaine avant l'utilisation. La mise en contact de cette solution avec la résine pourrait entraîner la dissolution de l'heptanol et donc du calix[6]arène. Un gramme de résine sèche CC contient 0,74 mL d'heptanol et une résine CH 0,79 mL.

Des études, dans l'eau montre sa très faible solubilité (Góral, 2006) avec une fraction minimum d'heptanol soluble dans l'eau de $3,35 \cdot 10^{-4}$.

Pour étudier la déformulation de l'heptanol, une étude par GC-MS a été réalisée. En effet, les alcools peuvent facilement être analysés ainsi. Cependant, la solution de mouillage est majoritairement aqueuse (nitrate de sodium 0,04 mol.L⁻¹). L'heptanol dissous dans cette phase ne peut donc pas être analysé directement par GC-MS car les solutions aqueuses ont tendance à endommager les colonnes. Ainsi, une première étape d'extraction de l'heptanol en système liquide-liquide est nécessaire, de manière à pouvoir analyser une phase organique. C'est pourquoi, le dodécane a été choisi comme phase d'extraction.

Pour faire en sorte de contrôler le comportement des échantillons lors de l'analyse, un étalon interne, l'octanol, a été choisi car sa masse et sa température d'ébullition sont proches de celles de l'analyte. Les molécules à analyser sont donc l'heptanol (C₇H₁₆O, M = 116 g.mol⁻¹, Téb = 176 °C), un étalon interne l'octanol (C₈H₁₈O, M = 130 g.mol⁻¹, Téb = 196°C), le dodécane (C₁₂H₂₄, M = 168g.mol⁻¹, Téb = 215-217°C).

Pour choisir la colonne d'analyse à utiliser, des essais ont été réalisés sur des solutions synthétiques d'heptanol dissous dans du dodécane. Compte tenu de la faible polarité de l'analyte, du solvant et du standard interne, la séparation s'effectuera sur une colonne faiblement polaire. Le temps de rétention du dodécane étant supérieur à celui de l'heptanol, il est indispensable de s'assurer que les pics respectifs de l'heptanol et du dodécane sont bien séparés afin d'éviter tout phénomène d'étalement du pic du dodécane sur celui de l'heptanol. Le choix de la longueur de la colonne est donc crucial. En GC-MS, plus la colonne est longue, meilleure est la séparation. La colonne utilisée lors de cette étude sera donc une colonne peu polaire « CP Sil 8 » de dimensions 60 m x 0,25 mm x 0,25 µm. L'analyse est réalisée avec une rampe de température : 50°C (1 min) puis 10°C.min⁻¹ jusqu'à 210°C (5 min). Cela permet de faire en sorte que tous les composés soient bien vaporisés. Les analyses sont réalisées en SIM sur les masses 55 et 56 uma, 59 uma et 70 uma qui sont caractéristiques respectivement de l'heptanol, de l'octanol et du dodécane. Un exemple de chromatogramme est donné Figure 33.

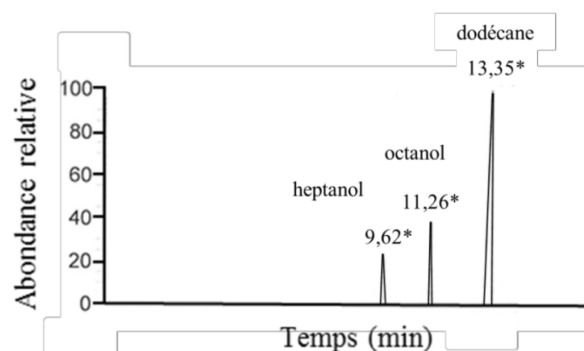


Figure 33 : Exemple de chromatogramme obtenu sur la colonne CP Sil 8.* temps de rétention

Le dodécane étant le solvant d'extraction utilisé, il a été nécessaire de valider ce choix, vérifiant qu'après trois extractions successives l'extraction de l'heptanol est quantitative.

Un rapport de volumes des phases $\left(\frac{V_{aq}}{V_{org}}\right) = 10$ a été choisi arbitrairement. 5 mL d'heptanol ont été mis en contact avec 50 mL d'eau afin de la saturer. 20 mL de cette solution contenant l'heptanol dissous ont été mis en contact avec 2 mL de dodécane. Le système a ensuite été agité à 120 agitations par minute pendant une heure en utilisant un agitateur linéaire (Thermoshake Gerhardt-Fisher Scientific). La solution a ensuite été centrifugée à 3000 tr.min^{-1} pendant 10 min, puis le dodécane a été récupéré et analysé par GC-MS dans les conditions développées précédemment. Cette extraction a ensuite été réalisée deux fois supplémentaires, chaque aliquote a ensuite été analysé séparément. Les résultats obtenus sont présentés Figure 34.

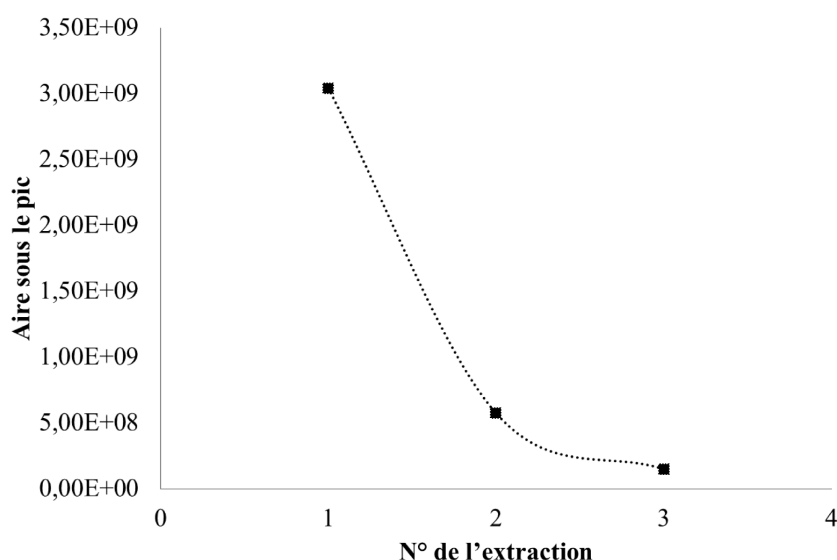


Figure 34 : Extractions successives de l'heptanol dissous dans l'eau par du dodécane.

La Figure 34 montre que le signal de l'aire sous le pic de l'heptanol décroît de 90 % entre la première et la troisième extraction. On peut donc considérer que l'extraction de l'heptanol est quantitative après trois extractions successives dans le dodécane.

Une fois la méthode d'extraction de l'heptanol validée, nous l'avons utilisée pour doser l'heptanol dans des échantillons de solutions de mouillage provenant des différentes résines, nous avons procédé

comme suit : un gramme de résine CH ou CC a été mouillée par 5mL de la solution MeOH/NaNO₃ (20/80, v/v) pendant une semaine dans une colonne Poly-Prep Biorad munie d'un fritté de 30 µm. La solution de mouillage a ensuite été récupérée en totalité. L'extraction en système liquide-liquide de l'heptanol est alors réalisée par ajout de 500 µL de dodécane pour conserver un rapport de volume des phases de 10. La solution a été agitée à 25 °C à 120 agitations par minute pendant 1 h en utilisant un agitateur linéaire. Cette opération a été réalisée 3 fois puis les phases organiques (dodécane) ont été récupérées, rassemblées et analysées par GC-MS. Afin de quantifier l'heptanol dissous dans la solution de mouillage, deux méthodes ont été utilisées : un étalonnage externe et une analyse par ajouts dosés. L'étalonnage externe ne nous a pas permis d'obtenir des résultats reproductibles ainsi seule la méthode des ajouts dosés a été retenue pour la suite de l'étude. La méthode générale pour les ajouts dosés est présentée en annexe.

Les optimisations des ajouts dosés ont été réalisées sur la résine CC. En effet, il est nécessaire de contrôler les concentrations ajoutées pour deux raisons : la première est de limiter les incertitudes en ajoutant une concentration suffisante pour que deux ajouts consécutifs soient significativement différents. Il est d'usage de doubler la concentration entre deux ajouts consécutifs. La deuxième est d'éviter tout phénomène de saturation de la colonne de GC-MS qui pourrait fausser la mesure.

Les ajouts d'heptanol sont également réalisés sur chaque aliquote par pesée pour limiter les incertitudes sur le résultat final. Les expériences complètes ont été dupliquées pour chacune des colonnes et les résultats sont présentés Figure 35.

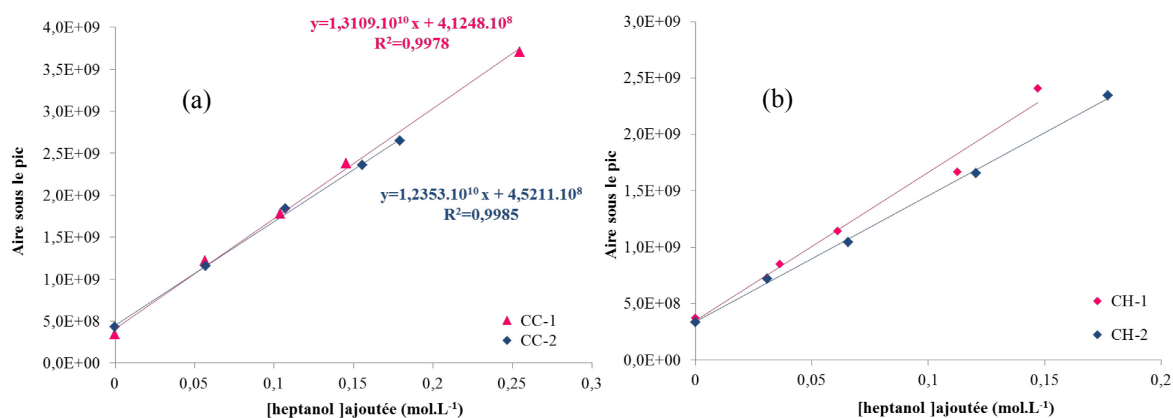


Figure 35 : Analyses par ajouts dosés de l'heptanol contenu dans les solutions de mouillage en contact avec les résines CC (a) et CH (b)

Les résultats obtenus permettent de remonter à la concentration de l'heptanol dans la phase aqueuse en tenant compte du rapport du volume des phases entre la phase organique totale d'extraction (dodécane) et la phase «aqueuse» de mouillage. Le pourcentage d'heptanol éliminé lors de l'étape de mouillage avec la solution de MeOH/NaNO₃ est exprimé par l'Equation 23.

$$\% \text{ heptanol éliminé} = \frac{\frac{b}{a} \times M}{V_{\text{heptanol dans la résine}} \times \rho_{\text{heptanol}}} \quad \text{Eq. 23}$$

- b : ordonnée à l'origine, a : pente, obtenues par les droites des ajouts dosés (Figure 35)
- V : rapport des volumes des phases aqueuse/organique, $V \approx 10$
- M : masse molaire de l'heptanol (116 g.mol^{-1})
- ρ_{heptanol} : masse volumique de l'heptanol ($0,822 \text{ g.mL}^{-1}$)
- $V_{\text{heptanol dans la résine, CC}} = 0,74 \text{ mL}$, $V_{\text{heptanol dans la résine, CH}} = 0,79 \text{ mL}$

Les résultats obtenus montrent que moins de 5 % de l'heptanol présent dans la résine est dissous par le mélange MeOH/NaNO₃ lors de l'étape de mouillage, que ce soit pour les résines CH ou CC. Ainsi, il est possible d'affirmer que ces résines ne sont pas déformulées lors de cette étape.

Nous supposons que si la solution de mouillage mise en contact pendant une semaine n'a pas entraîné de déformulation des résines, les phases aqueuses injectées ultérieurement à pH > 6 et à débit constant sur les colonnes n'en auront pas non plus. Par ailleurs, il a été vérifié à l'aide d'analyses HPLC, lors d'études précédentes, l'absence de molécules de calix[6]arène dans les phases aqueuses, ayant percolée à travers les résines. Ceci est tout à fait cohérent avec le fait que les deux calix[6]arènes utilisés lors de cette étude sont très peu solubles en phase aqueuse.

II.2.2. Comportement de la résine en milieu acide

Les calix[6]arènes permettent l'extraction des actinides en se déprotonant. Un des moyens utilisés pour l'élution de ces derniers est donc de faire percoler des solutions acides afin de reprotoner les calix[6]arènes. Dans la perspective de réutiliser les résines pour plusieurs analyses, nous avons étudié le comportement physique de la résine en milieu acide par microscopie optique. De précédentes études sur des solutions synthétiques ayant montré que l'acide nitrique 1 mol.L^{-1} pouvait être un éluant efficace de U, la stabilité des résines dans cet éluant sera investiguée ici.

Ainsi, une colonne a été mouillée en milieu MeOH/NaNO₃, puis les étapes de conditionnement, extraction, rinçage et élution ont été réalisées. L'extraction a été réalisée sur une solution d'extraction synthétique (NaNO₃ $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ à pH = 5,2) dopée en uranium ([U] = 1,2 ppb).

Une fraction de la résine mouillée, puis de la résine après élution (t_0) a été déposée sur une plaque de microscopie. La résine a ensuite été récupérée puis laissée en contact avec de l'acide nitrique 1 mol.L^{-1} pendant 24 h, sous agitation. Des aliquotes de résine ont été récupérés et déposés sur des lames de microscopie à $t_0+30 \text{ min}$, $t_0+1 \text{ h}$, $t_0+24 \text{ h}$.

Les observations réalisées sont présentées Figure 36. On note qu'après conditionnement, des sphères sont observées avec un diamètre du même ordre de grandeur que celui obtenu lors des mesures de granulométries (Tableau 11). Le chargement successif des différentes solutions sur la colonne ne semble pas affecter la résine au premier abord. Cependant, lorsque la résine est laissée en contact avec

la solution d'acide nitrique on observe que celle-ci se désagrège au cours du temps. A $t = t_0 + 24$ h, les billes ne sont plus observables et un amas de polymère apparaît.

Lors d'une utilisation des résines CH et CC, le débit d'élution est contrôlé ainsi la solution d'élution n'est pas laissée stagnante en contact avec la résine. Ceci nous permet d'affirmer qu'après une seule utilisation, la résine ne sera pas affectée pas la dégradation de la colonne. Cependant, après seulement 30 min de contact avec HNO_3 1 mol.L^{-1} et jusqu'à 24 h, celle-ci commence à se désagréger. Ceci peut laisser penser qu'à terme cette résine ne pourra servir que pour un nombre de fois limité. En effet, le volume moyen d'élution est de 30 mL à un débit d'environ $1,1 \text{ mL.min}^{-1}$ lors des analyses dites hors ligne et $0,325 \text{ mL.min}^{-1}$ lors des analyses en ligne, ce qui donne un temps d'élution de 27 min environ pour les analyses hors-ligne. Le choix de ces débits sera étudié chapitre III. Le temps d'élution est fixé arbitrairement à 30 min pour les analyses en ligne. Trop d'utilisations successives pourraient mener à une dégradation de la résine. Ainsi, nous chercherons à limiter la concentration en acide lors de la mise au point de la solution d'élution qui sera utilisée dans le protocole de séparation mettant en œuvre les colonnes calix[6]arènes.

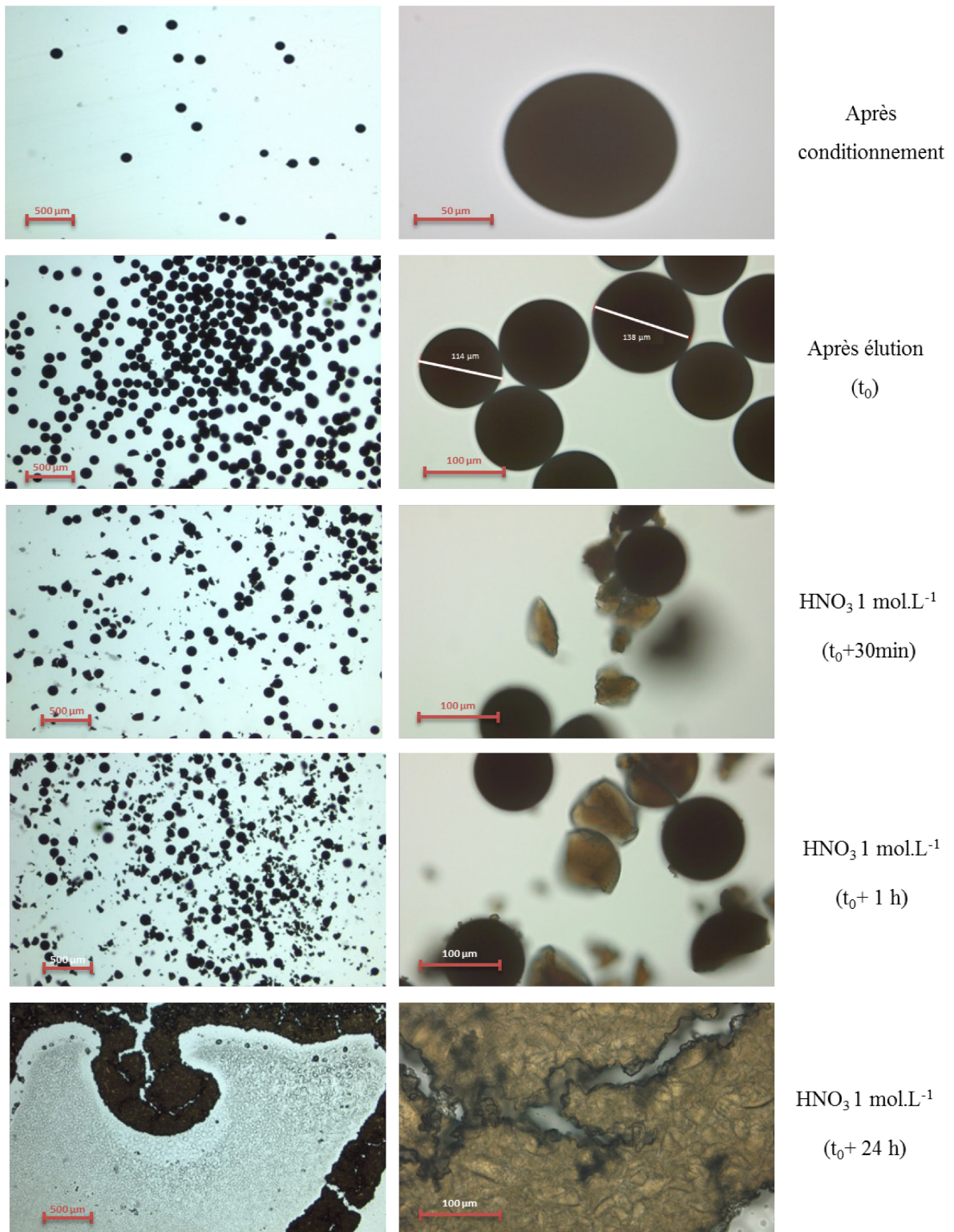


Figure 36 : Clichés obtenus par microscopie optique sur une résine imprégnée CC

II.2.3. Comportement de la résine sous pression

A terme, l'objectif est d'utiliser les colonnes de calix[6]arène couplées à un ICP-MS. Deux systèmes ont été développés dans cette étude : le système semi-automatisé et le système automatisé qui seront décrits en détail chapitre IV. Le système automatisé permet de compenser la perte de charge due à la colonne, en augmentant la pression afin de conserver un débit d'écoulement constant. Nous avons voulu vérifier ici que la résine de chromatographie n'était pas affectée par des pressions supérieures à la pression atmosphérique. Ainsi, nous avons analysé la résine par microscopie électronique à balayage (MEB) après avoir appliqué des pressions de 20 bars sur la résine en injectant 100 mL d'une solution de nitrate de sodium $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ (à $\text{pH} = 5,2$) dopée en uranium, à l'aide d'une pompe isocratique (Figure 37). Les résultats ne montrent pas d'effet de la pression sur la résine de polystyrène. En effet, aucune déformation des sphères de polystyrène imprégnées n'est observée en MEB.

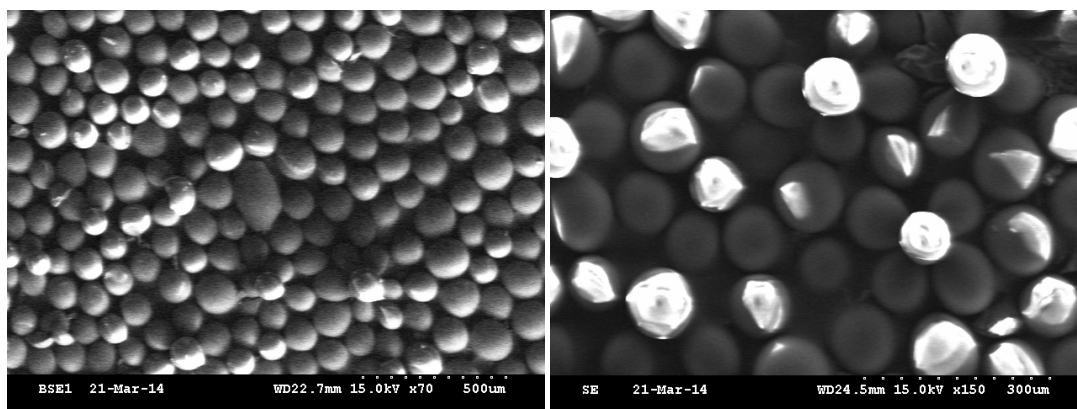


Figure 37 : Images MEB de la résine CH après avoir été soumise à une pression de 20 bars

II.3. CONCLUSION

Ces analyses de caractérisation nous ont permis de déterminer certains paramètres physico-chimiques des résines imprégnées telles que la granulométrie ou la masse volumique. Les mesures de masses volumiques nous ont permis de supposer que l'heptanol et donc le calix[6]arène qu'il solubilise remplissaient les pores du polystyrène divinylbenzène lors du processus d'imprégnation.

Par ailleurs, les analyses par GC-MS des solutions de mouillage laissent à penser que la colonne de calix[6]arène pourrait être réutilisée car aucune déformulation de l'heptanol et donc du calix[6]arène n'est observé. Cependant, l'utilisation ne peut pas être répétée un trop grand nombre de fois à cause de la faible résistance du support chromatographique à l'acidité. Cette contrainte sera prise en compte dans la mise au point du protocole et en particulier lors de l'étape d'éluion des actinides.

III. STRATEGIE D'EXTRACTION DES ACTINIDES PAR LES COLONNES CALIX[6]ARENES

Le laboratoire de Radiochimie de l'IRSN a développé deux colonnes de calix[6]arènes imprégnées CH et CC utilisées pour les analyses radiotoxicologiques dans les urines. L'objectif de cette partie est de choisir et optimiser les méthodes de préparation de l'échantillon (co-précipitation des actinides et minéralisation), puis d'arrêter le choix de la colonne qui sera à terme couplée à l'ICP-MS.

III.1. MISE EN PLACE DU PROTOCOLE DE MINERALISATION

Pour réaliser des analyses radiotoxicologiques, les protocoles de routine nécessitent de travailler sur 1 L d'urine. Une première étape, appelée de minéralisation par voie humide et qui correspond à une première attaque acide, doit donc être réalisée, avec pour objectif de détruire une grande partie de la matière organique. Elle est suivie d'une étape de co-précipitation des actinides afin de les concentrer. Pour faciliter la lecture de ce chapitre un résumé des différentes étapes du protocole optimisé de minéralisation en amont de l'extraction des actinides sur la colonne calix[6]arène est présenté Figure 38.

Comme mentionné chapitre I, de nombreuses méthodes de co-précipitation ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, HTiO , MnO_2) des actinides dans les urines sont décrites dans la littérature (Kimura and Kobayashi, 1985; Chou and Moffatt, 2000; Zoriy *et al.*, 2004; Dai and Kramer-Tremblay, 2010; Gagne *et al.*, 2013; Qiao *et al.*, 2013). Afin d'arrêter le choix de la méthode, la spéciation de U et de certains ions d'intérêt dans l'urine fraîche a été modélisée, pour comprendre les phénomènes se produisant lors de cette étape. A cette fin, le logiciel de spéciation Medusa (Puigdomenech, 1999) et la base de donnée HYDRA fournie et implémentée avec les constantes proposées par Guillaumont et collaborateurs (Guillaumont *et al.*, 2003) ont été utilisés. Compte tenu de l'impact des constantes thermodynamiques sur la modélisation de la spéciation, le choix de celles utilisées sera discuté dans ce chapitre.

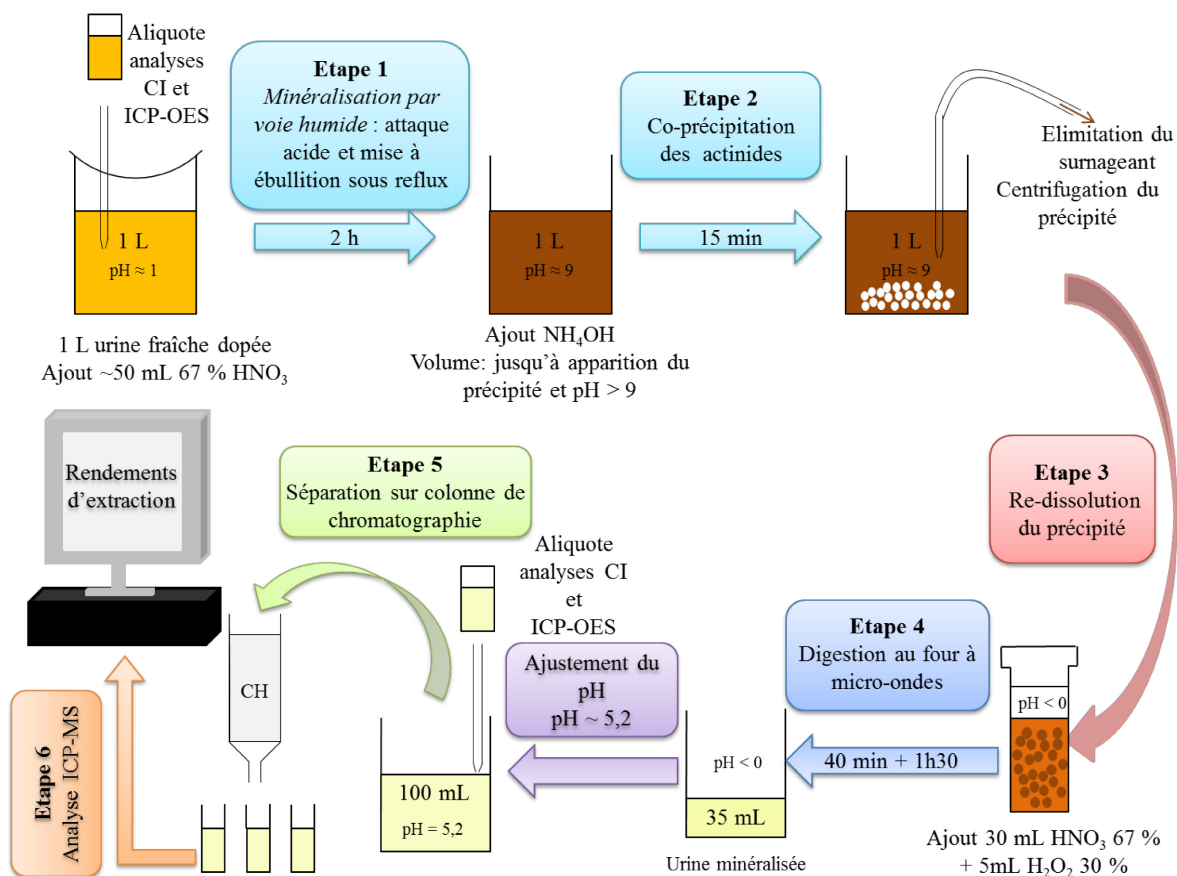


Figure 38 : Protocole de minéralisation

III.1.1. Composition des urines fraîches et impact des données thermodynamiques sur la spéciation dans les urines

III.1.1.a. Composition des urines

Plusieurs études traitent de la spéciation des actinides dans les urines. En 2003, Sutton et Burastero ont proposé une composition inorganique théorique des urines pour étudier la spéciation du béryllium dans les fluides biologiques (Sutton and Burastero, 2003). Il est à noter dans cette composition que la concentration en ions carbonate est élevée. Le pH de l'urine est acide pendant l'étape de minéralisation par voie humide (étape 1 Figure 38), les carbonates dissous peuvent avoir été éliminés sous forme de CO_2 . Cependant, le temps de décantation lors de l'étape de co précipitation (étape 2 Figure 38) peut être suffisant pour carbonater à nouveau les urines. Ainsi, la concentration en carbonates sera conservée égale à $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ pour modéliser la spéciation dans les urines fraîches.

Cations	mol.L^{-1}	Anions	mol.L^{-1}
Na^+	$1,74.10^{-1}$	F^-	$8,42.10^{-5}$
K^+	$6,49.10^{-2}$	Cl^-	$1,67.10^{-1}$
Mg^{2+}	$4,68.10^{-3}$	CO_3^{2-}	$1,00.10^{-2}$
Ca^{2+}	$5,29.10^{-3}$	SO_4^{2-}	$9,94.10^{-2}$
U(VI)	$1,00.10^{-6}$	PO_4^{3-}	$5,74.10^{-2}$

Tableau 13 : Composition typique des urines selon Sutton et Burastero (Sutton and Burastero, 2003)

Cette composition a été reprise par les mêmes auteurs en 2004 pour étudier la spéciation de l'uranium dans un milieu urinaire exempt de matière organique (Sutton and Burastero, 2004). Cette étude montre que l'espèce majoritaire entre $\text{pH} = 3$ et $\text{pH} = 10$ est $\text{UO}_2(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$.

III.1.1.b. Validation de la base de données

Des constantes manquent dans la base de données HYDRA. Le *Laboratoire de biogéochimie, biodisponibilité et transferts des radionucléides* de l'IRSN réalise une veille sur ces données et les constantes manquantes ont été ajoutées afin de compléter la base de données. Ces données seront détaillées en annexe.

Nous avons pu constater que ces espèces manquantes avaient un impact non négligeable sur les résultats des calculs de spéciation. Nous avons étudié plus particulièrement l'impact qu'avaient les valeurs des constantes des complexes ternaires carbonates/alcalino-terreux/uranyle.

En 2013, Osman et collaborateurs (Osman *et al.*, 2013) ont modélisé la spéciation de l'uranium en milieu urinaire organique et inorganique d'après la composition donnée Tableau 13. Dans ce modèle, les auteurs ont utilisé les constantes thermodynamiques des complexes ternaires proposées par Bernhard et collaborateurs $\log \beta^0 = 30,54 \pm 0,25$ et $\log \beta^0 = 25,4 \pm 0,25$ respectivement pour $\text{Ca}_2(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3$ et $\text{Ca}(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3^{2-}$ (Bernhard *et al.*, 2001). Ils ont également considéré que les concentrations permettaient de rester sous le seuil de saturation et donc d'éviter les phénomènes de précipitation. Ainsi, si seules les espèces solubles de l'uranyle sont considérées dans le modèle, la spéciation montre que : UO_2HPO_4 est majoritaire entre $3,5 < \text{pH} < 6$ et $\text{Ca}(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3^{2-}$ (le complexe 113 mentionné chapitre I) est majoritaire entre $6 < \text{pH} < 9$. Ces espèces sont particulièrement importantes car elles apparaissent dans le domaine de pH usuellement utilisé dans la littérature pour précipiter les phosphates d'alcalino-terreux.

L'historique et les améliorations apportées à ces constantes ont été discutés chapitre I. Afin d'étudier l'impact qu'avaient leurs valeurs de constantes sur la spéciation dans les urines, nous avons modélisé la spéciation de l'uranium dans les urines en utilisant la même composition inorganique que celle proposée par Sutton et Burastero (Tableau 13) en ne tenant compte que des espèces solubles.

III.1.1.b.i. Utilisation des constantes ternaires proposées par Bernardt et collaborateurs

Dans un premier temps, nous avons implémenté les constantes des complexes ternaires $\text{Ca}_2(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3$ et $\text{Ca}(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3^{2-}$ de Bernardt et collaborateurs et tenté de reproduire les résultats décrits par Osman et collaborateurs. Les auteurs indiquent qu'une force ionique de $0,7 \text{ mol.L}^{-1}$ est utilisée. Les calculs de spéciation réalisés avec la base de données que nous utilisons ne nous ont pas permis de reproduire les résultats de spéciation obtenus par Osman et collaborateurs. En revanche, si les calculs sont réalisés à force ionique nulle (Figure 39), les résultats des calculs se rapprochent plus de ceux obtenus dans cette étude.

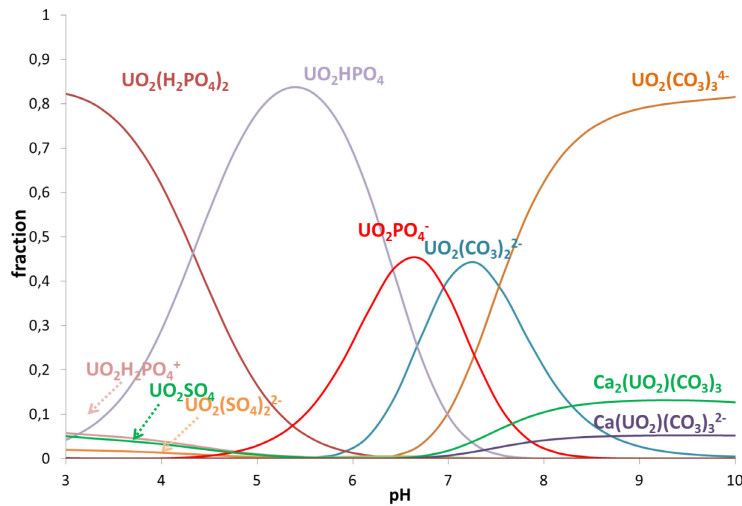


Figure 39 : Spéciation dans les urines en utilisant les constantes de Bernhard et coll. A $I = 0 \text{ mol.L}^{-1}$

Dans ces conditions de force ionique (I) nulle, on note que les complexes ternaires de calcium 113 et 213 apparaissent à $\text{pH} > 6$. En effet, les espèces carbonatées sont les espèces majoritaires dans ce domaine de pH . A $\text{pH} < 6$ les complexes de phosphates d'uranyle sont prépondérants tels que UO_2HPO_4 et $\text{UO}_2(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ présents tous deux à 82 % à $\text{pH} = 3$ et $\text{pH} = 5,2$ respectivement.

Afin de reproduire exactement les calculs d'Osman et collaborateurs, il est apparu qu'il était nécessaire de supprimer toutes les espèces qui ne contenaient pas d'ion uranyle. En effet, il semblerait que les constantes de formation des espèces secondaires telles que les phosphates d'alcalino-terreux ou d'alcalins ne sont pas prises en compte dans le modèle. Ainsi, il ne nous a pas semblé judicieux d'utiliser le modèle proposé par ces auteurs.

La force ionique réelle du milieu modélisé est égale à $I = 0,47 \text{ mol.L}^{-1}$. Afin, de vérifier que les calculs de modélisation peuvent bien être extrapolés à $I = 0 \text{ mol.L}^{-1}$, les calculs de modélisation ont donc été réalisés dans un deuxième temps à cette force ionique en utilisant les équations de Davies pour déterminer les coefficients d'activité (Figure 40).

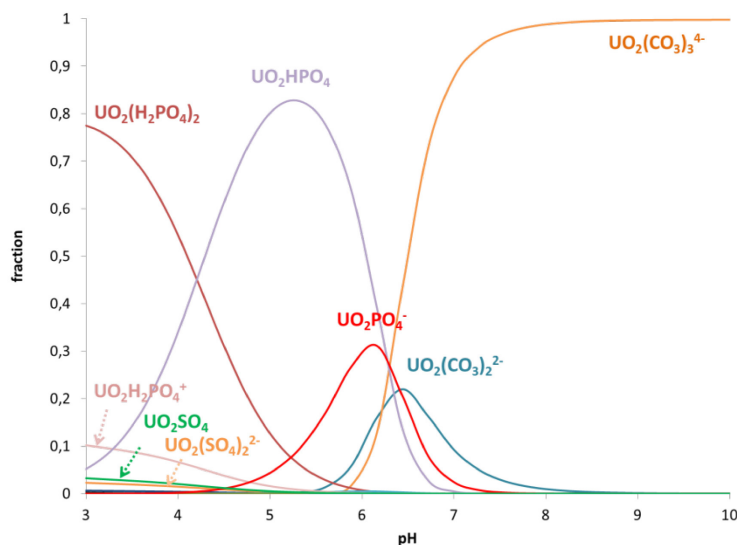


Figure 40 : Spéciation dans les urines en utilisant les constantes de Bernhard et coll. A $I = 0,47 \text{ mol.L}^{-1}$

Ces résultats montrent la disparition des complexes ternaires de la spéciation à $\text{pH} > 6$, en contrepartie $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ est alors présent à 99 %. Cela peut être expliqué par le fait que les espèces les plus chargées tendent donc à être les plus favorisées par l'augmentation de la force ionique. Son impact sur les calculs ne peut donc pas être négligé. Par la suite, les calculs de spéciation dans cette composition urinaire seront réalisés à $I = 0,47 \text{ mol.L}^{-1}$.

III.1.1.b.ii. Utilisation des constantes ternaires proposées par Dong et Brooks

Les constantes thermodynamiques des complexes ternaires 213, 113 ont été ensuite modifiées afin de travailler avec les valeurs obtenues par Dong et Brooks (Dong and Brooks, 2006) respectivement $\log \beta^0 = 30,70 \pm 0,05$ et $\log \beta^0 = 27,18 \pm 0,06$. Ces constantes ont été déterminées par échange ionique (cf. chapitre I) et sont entachées d'une incertitude plus faible que celles de Bernhard et collaborateurs. On constate Figure 41 qu'avec ce jeu de constantes, le complexe ternaire 113 réapparaît à $\text{pH} > 7$ (8 %), la proportion de $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ est maintenant réduite à 92 %. Ces constantes seront retenues pour la suite des calculs.

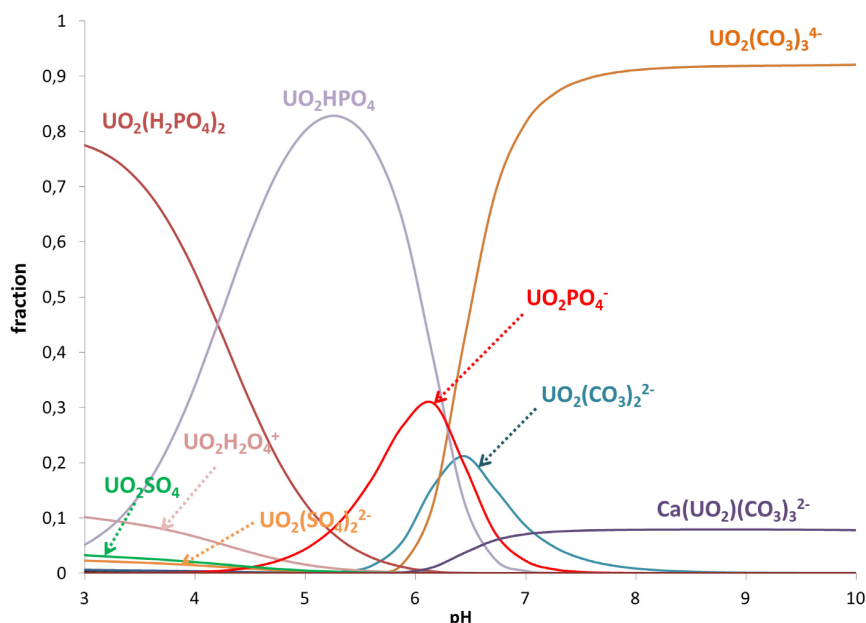


Figure 41 : Spéciation dans les urines en utilisant les constantes de Dong et Brooks. A $I = 0,47 \text{ mol.L}^{-1}$

Finalement, la constante du complexe 113 $\text{Mg}(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3^{2-}$ ($\log \beta^0 = 26,11 \pm 0,04$) (Dong and Brooks, 2006) a été ajoutée dans le calcul pour étudier son impact sur la spéciation (Figure 42). Cette espèce ne peut être négligée lors des calculs de spéciation. Elle apparaît à $\text{pH} > 6$ à hauteur de 10 % impactant la proportion de $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$, qui atteint lors de l'ajout de cette espèce 82 %.

Des constatations similaires ont été réalisées lors d'études de spéciation de l'uranium dans des eaux de rivière (Vercouter *et al.in press.*). Ces études mettent notamment en avant l'impact de ces complexes ternaires sur la spéciation de l'uranium quel que soit le milieu. Ceci montre une fois de plus, l'importance du choix et de la cohérence des données utilisées lors des études de spéciation.

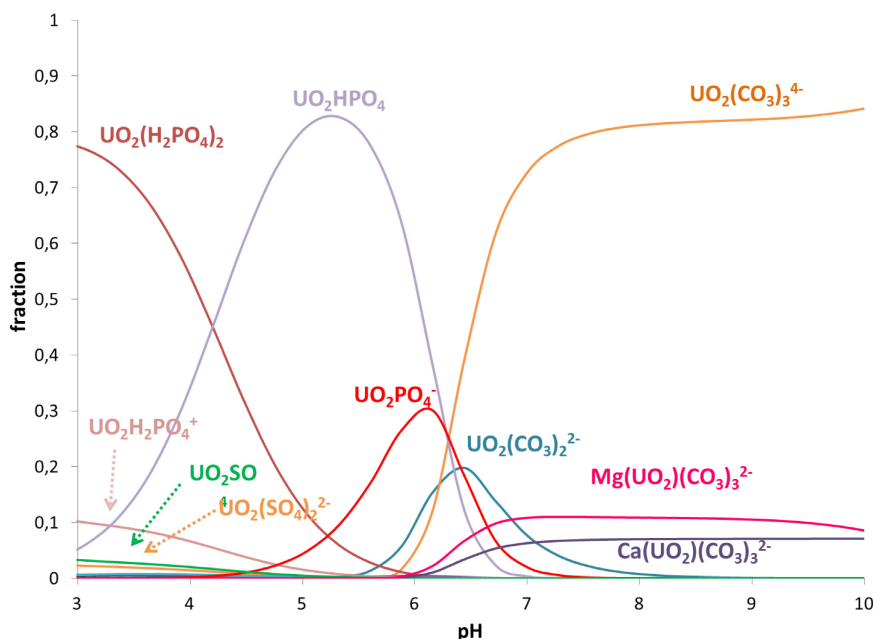


Figure 42 : Spéciation dans les urines en utilisant les constantes de Dong et Brook après ajout de $\text{Mg}(\text{UO}_2)(\text{CO}_3)_3^{2-}$. A $I = 0,47 \text{ mol.L}^{-1}$

La base de données complétée et le choix des constantes arrêté, les solides ont à nouveau été pris en compte dans les calculs de spéciation afin de comprendre les phénomènes se produisant lors de l'étape de précipitation (étape 3, Figure 38) et de choisir la méthode à utiliser.

En résumé, les calculs de spéciation dans les urines fraîches seront réalisés à $I = 0,47 \text{ mol.L}^{-1}$. Les constantes thermodynamiques utilisées seront celles de la base de données OCDE-NEA (Grenthe et al., 1992; Guillaumont et al., 2003). Les constantes des complexes ternaires calcium/uranyle/phosphate et magnésium/uranyle/phosphate proposées par Dong et Brooks seront utilisées.

III.1.2. Choix de la méthode de co-précipitation (Etape 3 Figure 38)

La co-précipitation est une technique qui permet d'entraîner des éléments présents à l'état de traces en précipitant d'autres éléments présents en quantité pondérable.

La méthode choisie doit permettre d'entraîner quantitativement à la fois U, Pu et Am depuis la matrice urinaire. Parmi les méthodes décrites dans la littérature, la précipitation de phosphates d'alcalino-terreux à $\text{pH} > 9$ est la plus souvent utilisée. Cette méthode a pour avantage de ne pas nécessiter l'ajout d'ions absents du milieu. La composition des urines montre qu'à la fois les alcalino-terreux et les phosphates y sont présents naturellement (Tableau 13). Pour valider ce choix, les calculs de spéciation ont été réalisés sur toute la gamme de pH en incluant cette fois les solides.

La modélisation de la spéciation de l'ion uranyle (Figure 43 (a)) montre qu'à $4 < \text{pH} < 6$ l'uranium précipite sous forme $(\text{UO}_2)_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$. Or, la concentration en uranium dans les urines est de l'ordre de $5 \cdot 10^{-10} \text{ mol.L}^{-1}$ dans notre étude. La quantité de précipité produit serait donc trop faible pour que celui-ci puisse être récupéré. A $\text{pH} > 11$, deux espèces cristallisées ($\text{Na}_2\text{U}_2\text{O}_7$ (c) et CaUO_4 (c))

apparaissent également, mais la même conclusion peut être tirée quant à la quantité de précipité récupéré.

Ce diagramme peut également montrer le risque de précipitation de l'uranium lors de la conservation des échantillons car le pH naturel des urines est compris entre 3 et 10. C'est pour cela que lors d'analyses radiotoxicologiques, il est recommandé de conserver les urines en milieu acide.

Pour valider notre hypothèse qu'à $\text{pH} > 9$, les phosphates d'alcalino-terreux tendent à précipiter, nous avons également modélisé la spéciation du phosphate (Figure 43 (b)), du calcium (Figure 43 (c)) et du magnésium (Figure 43 (d)).

Les calculs de spéciation du calcium et du magnésium montrent que ceux-ci précipitent totalement à $\text{pH} > 9$ sous formes phosphates pour le calcium et sous différentes formes (carbonates, phosphates et hydroxydes) pour le magnésium. Par contre, la spéciation des phosphates montre que les ions phosphate libres sont majoritaires ($\% \text{H}_2\text{PO}_4^- > 80 \%$) sur toute la gamme de pH. Cela permet d'affirmer que la précipitation est limitée par la concentration en alcalino-terreux dans les urines.

Cette étude a donc été complétée en modélisant la spéciation de Pu et Am dans les urines pour appréhender leur comportement. Dans l'urine, le plutonium serait probablement sous forme Pu(IV), alors que l'américium est stable sous forme Am(III). Ainsi, nous avons modélisé la spéciation de ces deux espèces dans les urines afin d'étudier leurs comportements. En effet, on constate un phénomène de précipitation totale à la fois pour l'américium et le plutonium. Ces deux actinides ne seraient pas entraînés mais bel et bien précipités. Contrairement à l'uranium, la question de la quantité de précipité récupéré ne se pose pas ici. En effet, les précipités de plutonium et d'américium seraient présents en même temps que celui de phosphate de calcium (non illustré). Ceci expliquerait que Am(III) puisse être retrouvé dans le précipité alors qu'il n'est pas de même charge que les alcalino-terreux. Il en va de même pour Pu(IV).

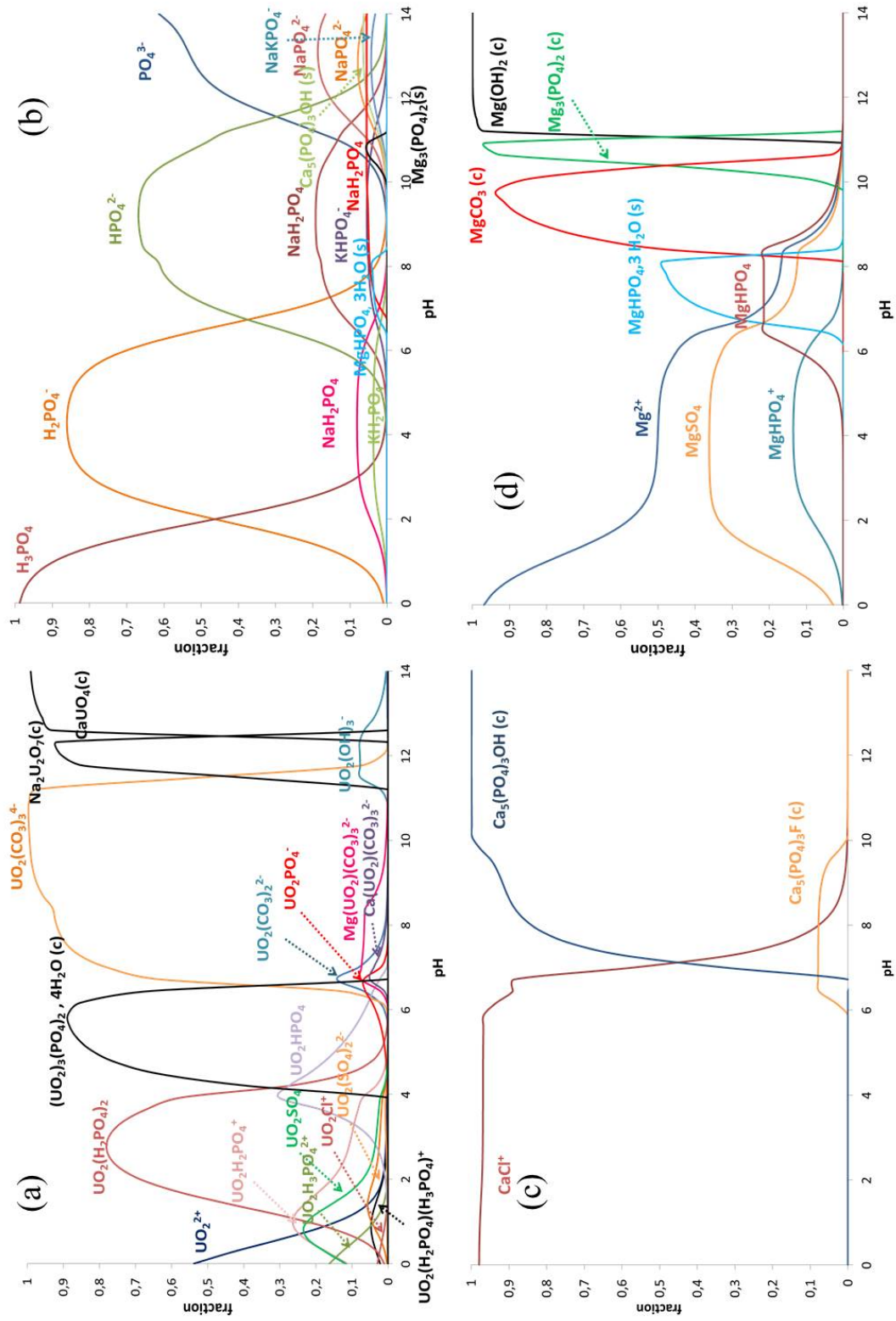


Figure 43 : Spéciation dans les urines à $I = 0.47 \text{ mol.L}^{-1}$. (a) UO_2^{2+} , (b) PO_4^{3-} , (c) Ca^{2+} , (d) Mg^{2+}

Cette étude de modélisation de la spéciation a finalement été confortée par une étude expérimentale. Après la minéralisation par voie humide (étape 1, Figure 38) le pH de l'urine est augmenté à l'aide d'eau ammoniacale ($w_i = 20\%$). Une fois que le pH de la solution est supérieur à 9, un précipité blanc de phosphate d'alcalino-terreux apparaît, puis la solution est laissée à décanter.

Pour vérifier si cette précipitation est bien efficace pour concentrer les trois actinides, nous avons réalisé une analyse du surnageant par ICP-MS. Celui-ci a été prélevé au bout de 2 h de décantation et analysé après une dilution 20. Les rendements de précipitation obtenus sont de 99 % pour l'uranium, le plutonium et l'américium confirmant l'efficacité de la précipitation des alcalino-terreux pour la pré-concentration des actinides.

Usuellement, le temps de décantation utilisé est de deux heures. Pour une utilisation en situation de crise, avec une contrainte de temps importante (analyse en moins de 8 h minéralisation incluse), il peut être intéressant de réduire la durée de cette étape. Ainsi, nous avons voulu déterminer le temps minimum de décantation. Sur 1 L d'urine et après la minéralisation par voie humide, les phosphates d'alcalino-terreux ont été précipités et le surnageant prélevé régulièrement entre 5 min et 2 h. Compte tenu de la teneur en sel et en matière organique du surnageant, il était nécessaire de l'analyser en dilution 20 par ICP-MS pour limiter les effets de matrice. Ainsi, la concentration en américium a été multipliée par 10 lors de cette expérience, afin de faciliter la mesure. Les résultats obtenus sont représentés Figure 44.

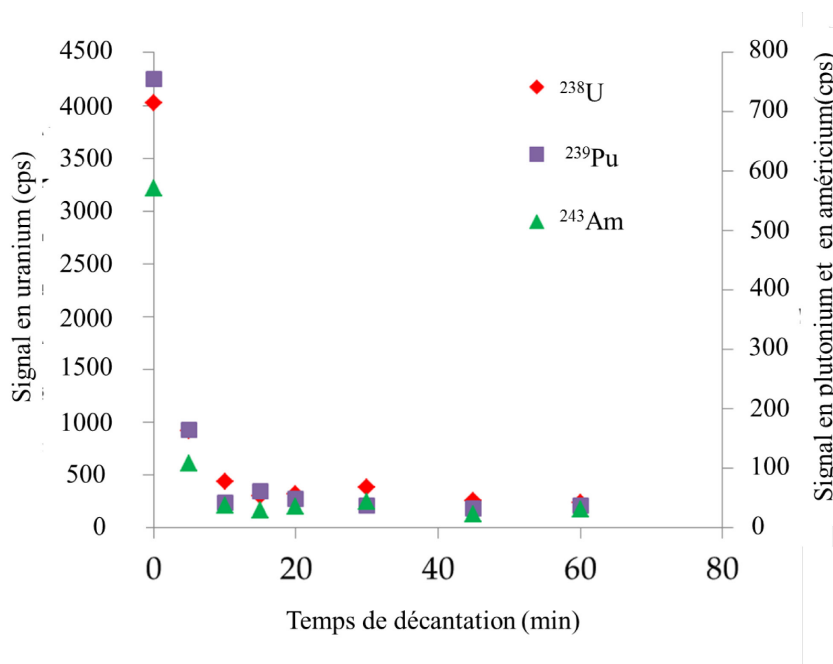


Figure 44 : Signaux des actinides dans le surnageant en fonction du temps de décantation

On constate qu'après seulement 10 minutes, les actinides ont disparu du surnageant. 99 % de l'uranium et 96 % du plutonium et de l'américium sont ainsi co-précipités ou entraînés. Expérimentalement, pour faciliter la récupération du précipité il est nécessaire d'attendre 15 min. Cela permet de réduire significativement la durée de décantation du précipité d'alcalino-terreux contenant les actinides de 2 h à 15 min.

Les protocoles de minéralisation classiques nécessitent de récupérer ce précipité sur un filtre dit « sans cendre » puis de le calciner au four à moufle. Bien qu'efficace, cette calcination peut prendre jusqu'à 14 heures. Cette durée n'est pas adaptée à une analyse en situation de crise pour laquelle il serait nécessaire de rendre un résultat d'analyse en moins de 8 heures, minéralisation incluse. C'est pourquoi, nous avons mis au point une étape de minéralisation du précipité au four à micro-ondes.

III.2. REPRISE DU PRECIPITE ET MINERALISATION AU FOUR A MICRO-ONDES (ETAPES 3 ET 4)

III.2.1. Protocoles

Pour reprendre le précipité, le surnageant est aspiré, puis le précipité et le surnageant sont centrifugés à 4000 tr.min⁻¹ pendant 16 min. Seul le précipité est conservé.

L'objectif de la reprise du précipité est de détruire la matière organique qui aurait pu être entraînée lors de la co-précipitation.

Le protocole utilisé consiste à reprendre le précipité avec 30 mL de HNO₃ 67 % et 5 mL de H₂O₂ 30%. La digestion au four à micro-ondes est réalisée à 200 °C pendant 30 min après une montée en température de 10 min. Le temps de refroidissement est d'environ 1 h 30 pour atteindre une température pour laquelle les réacteurs peuvent être ouverts en toute sécurité.

III.2.2. Validation par la mesure de COT

Afin de valider cette étape de digestion, il est nécessaire de vérifier que cette méthode est aussi efficace qu'une calcination au four à moufle et donc que la matière organique est bien détruite. Pour comparer les deux techniques, des mesures de Carbone Organique Total (COT) (*cf.* chapitre II) ont été réalisées à la fois sur des urines fraîches puis sur les mêmes urines après leur minéralisation soit au four à moufle soit au four à micro-ondes.

Les résultats sont présentés en masse en considérant un volume de 1 L pour les urines fraîches et 100 mL pour les urines minéralisées (Tableau 14).

Moyenne	calcination au four à moufle (mg) (N=3)	digestion au four à µ-onde (mg) (N=5)
Urines fraîches	5336 ± 739	6497 ± 626
Urines minéralisées	1,6 ± 4	9,7 ± 16

Tableau 14 : Mesures de Carbone Organique Total sur des urines fraîches et minéralisées

Ces résultats montrent que la calcination au four à moufle et la digestion au four à micro-ondes permettent toutes deux de détruire plus de 99 % de la matière organique présente avant la minéralisation. La grande dispersion des résultats s'explique par le caractère biologique des échantillons. C'est pourquoi, pour la suite de cette étude, les précipités récupérés seront digérés au four à micro-ondes, cette méthode permettant de réduire l'étape de minéralisation du précipité d'alcalino-terreux de 14 h à 2 h 10.

En conclusion de cette partie, la durée de minéralisation a été réduite de 23 h à 4 h 30 min. Le protocole adopté est le suivant : après minéralisation par voie humide (étape 1, Figure 38), le pH de la solution est augmenté jusqu'à atteindre un $\text{pH} > 9$ (étape 2, Figure 38/co-précipitation des actinides) puis le précipité est laissé à décanter pendant 15 min (étape 2, Figure 38), sans perte de rendement d'entraînement (99 % pour U, 96 % pour Pu et Am). Le précipité est ensuite récupéré et minéralisé au four à micro-ondes pendant 40 minutes (étape 4, Figure 38) ce qui détruit la matière organique résiduelle présente dans l'échantillon à 99 %.

Le paragraphe suivant sera consacré à la discussion du comportement oxydo-réducteur des actinides dans le milieu de redissolution du précipité, appelé urine minéralisée. En effet, la minéralisation précède l'étape de séparation sur la colonne calix[6]arène dont l'efficacité a été prouvée pour U(VI), Pu(IV), Am(III).

III.2.3. Impact de la minéralisation sur les états d'oxydation des actinides

La minéralisation au four à micro-ondes est réalisée en milieu acide nitrique concentré/eau oxygénée. Cette partie est consacrée à la discussion des états d'oxydation de U, Pu et Am à l'issue de cette étape. En effet, pour une extraction optimale par les colonnes calix[6]arènes, les états d'oxydation requis pour chaque actinide sont : U(VI), Pu(VI) ou (IV) et Am (III). Il est donc nécessaire de s'assurer que la minéralisation au four à micro-ondes permet d'obtenir les conditions optimales à l'extraction des actinides.

Les potentiels standard de l'eau oxygénée sont $E^\circ(\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}) = 1,776 \text{ V/ESH}$ et $E^\circ(\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}_2) = 0,68 \text{ V/ESH}$. Tous les potentiels des différents DO de l'uranium sont inférieurs à $E^\circ(\text{U(V)}/\text{U(IV)}) = 0,446 \text{ V/ESH}$. La solution est majoritairement de l'acide nitrique qui peut également réagir en tant qu'oxydant ($E^\circ(\text{NO}_3^-/\text{NO}_2) = 0,80 \text{ V/ESH}$). Ainsi, le peroxyde d'hydrogène jouera le rôle d'oxydant vis-à-vis de l'uranium. A force ionique et potentiels élevés, celui-ci devrait être retrouvé sous forme UO_2^{2+} dans l'urine minéralisée ce qui favoriserait son extraction sur les colonnes calix[6]arènes. En revanche, les potentiels du plutonium sont tous compris entre les deux couples redox du peroxyde d'hydrogène. Il pourra à la fois agir en tant qu'oxydant et réducteur. A des potentiels élevés et à $\text{pH} = 0$, le plutonium peut à la fois être retrouvé sous trois formes Pu^{3+} , Pu^{4+} , PuO_2^{2+} . En présence de peroxyde d'hydrogène, Pu(III) devrait être oxydé en Pu(VI) et Pu(IV), le Pu(V) n'étant pas stable à ces pH. Les études précédentes ont montré que l'extraction de Pu(IV) par le calix[6]arène hydroxamique était favorisée. Toutefois, PuO_2^{2+} pourrait être également extrait de façon similaire à UO_2^{2+} . Dans ces conditions de pH et de potentiels de l'urine minéralisée, l'américium est stable sous forme Am^{3+} . On peut donc s'attendre à ce que les conditions redox de l'étape de minéralisation au four à micro-ondes soient favorables à l'extraction des actinides par les colonnes calix[6]arènes.

III.3. CHOIX DE LA RESINE D'EXTRACTION ET DES CONDITIONS OPERATOIRES (ETAPE 5 FIGURE 38)

Cette partie sera consacrée au choix de la résine d'extraction qui sera utilisée pour concentrer les actinides et les séparer de la matrice urinaire (étape 5 Figure 38).

Deux résines de chromatographie ont été développées par le Laboratoire de RadioChimie. La résine CC à base de calix[6]arène carboxylique plus favorable à l'extraction de U et Am à partir de pH = 5,2 et la résine CH à base de calix[6]arène hydroxamique plus favorable à l'extraction de Pu à partir de pH = 2. L'objectif étant d'extraire simultanément U, Pu et Am sur une seule colonne, le pH d'extraction choisi est 5,2. Pour favoriser l'extraction, le pH n'est pas choisi plus élevé à cause des risques de réprécipitation de phosphates d'alcalino-terreux. Des essais sur des urines réelles contenant U, Pu et Am ont été réalisés sur les deux types de résine. Les urines ont été minéralisées au four à micro-ondes après co-précipitation des actinides par les phosphates d'alcalino-terreux puis le pH de la solution a été ajusté à 5,2 avant de la charger sur la colonne. Des colonnes gravitaires Biorad© sont remplies d'un gramme de résine qui est ensuite conditionné puis utilisé suivant la procédure décrite au chapitre II.

Les différentes fractions sont collectées puis analysées par ICP-MS avec une dilution 10 pour U et Pu et 2 pour Am. Une aliquote de l'urine de départ sert de référence. L'élution est réalisée en milieu acide nitrique 1 mol.L⁻¹. Les calculs de rendements sont explicités chapitre II.

Les concentrations utilisées ici sont adaptées à une mesure par ICP-MS mais pourrait correspondre en proportion à ce qui pourrait être retrouvé lors d'un accident et ont été décrites chapitre II.

III.3.1. Résine CC

Les premiers essais ont été réalisés sur la résine CC à pH d'extraction égal à 5,2. Les résultats moyens obtenus sont de 44 % pour U, 43 % pour Pu et 49 % pour Am. Cependant, ces résultats ne sont répétables pour aucun des actinides d'intérêt présentant une variabilité d'environ 100 %. Les essais réalisés en parallèle sur des colonnes CH montrant des résultats plus prometteurs, les colonnes CC ont donc été rapidement abandonnées.

III.3.2. Résine CH

Les essais réalisés sur les colonnes CH donnent des rendements d'extraction de (91 ± 2)% pour Pu et (88 ± 3) % pour Am. Cependant, ceux de l'uranium sont moins bons et ne sont pas reproductibles. En effet, les résultats (Tableau 15) montrent que l'extraction de l'uranium est efficace (c'est-à-dire supérieure à 50 %) dans moins de 40 % des expériences. La moyenne obtenue pour les colonnes efficaces est de (58 ± 4) %. De plus, on note que dans près de 40 % des urines testées, l'extraction de l'uranium est nulle.

Expérience n°	Rendement d'extraction (%)		
	U	Pu	Am
1	0	94,9	88,1
2	0	90,1	78,8
3	0	89,9	59,9
4	0	90,6	79,9
5	0	71,5	85,8
6	11,2	98,0	88,5
7	34,8	94,6	100,0
8	44,2	94,5	86,5
9	51,5	99,4	93,1
10	52,9	89,8	95,6
11	54,8	90,7	96,5
12	64,3	79,7	92,0
13	68,2	97,6	100,0
Moyenne	48 ± 18*	91 ± 2	88 ± 3

Tableau 15 : Rendement d'extraction sur les colonnes CH.* moyenne sur les rendements non nuls

Ce manque d'efficacité et de reproductibilité ont entraîné la nécessité de comprendre les phénomènes mis en jeu limitant les rendements d'extraction de l'uranium. Ainsi, nous allons établir le profil ionique des urines à travers le processus de minéralisation, afin de mieux appréhender l'effet de la matrice urinaire sur l'extraction de U par la colonne CH.

III.4. COMPOSITION IONIQUE ET INTERFERENCES

III.4.1. Protocoles

De nouvelles expériences sur des urines réelles dopées en U ont ainsi été réalisées, utilisant la précipitation des alcalino-terreux et la digestion du précipité au four à micro-ondes mises en place précédemment. Le pH de l'urine minéralisée est ensuite ajusté à 5,2. Des aliquotes ont été prélevés à chaque étape de la minéralisation (urine fraîche, surnageant et urine minéralisée). Pour éviter les phénomènes de précipitation des échantillons, de l'acide nitrique leur est ajouté afin de les conserver avant leur analyse. Les ions présents dans les urines ont pu être ainsi quantifiés par chromatographie ionique et ICP-OES (*cf.* chapitre II). Les urines minéralisées sont ensuite injectées sur une colonne CH pour extraire U et les rendements d'extractions ont été déterminés par analyse des fractions par ICP-MS (*cf.* chapitre II).

III.4.2. Comportement ionique à travers la minéralisation

Les résultats de ces expériences sont présentés Tableau 16. Les écarts-types ont été calculés et présentent des valeurs élevées qui sont dues au caractère biologique des échantillons analysés.

Cations	Urine fraîche mol.L ⁻¹ **	Urine minéralisée mol.L ⁻¹	Taux de transfert de l'urine fraîche à minéralisée
Na ⁺	(9,2 ± 4,1).10 ⁻²	(9,0 ± 7,0).10 ⁻³	1 %
K ⁺	(4,0 ± 0,8).10 ⁻²	(7,3 ± 4,8).10 ⁻³	2 %
Mg ²⁺	(2,1 ± 1,2).10 ⁻³	(1,4 ± 0,9).10 ⁻²	67 %
Ca ²⁺	(5,3 ± 1,1).10 ⁻³	(1,6 ± 0,8).10 ⁻²	30 %
Cl ⁻	(1,0 ± 0,3).10 ⁻¹	(8,1 ± 5,9).10 ⁻³	0,8 %
SO ₄ ²⁻	(1,4 ± 0,4).10 ⁻²	(1,6 ± 1,1).10 ⁻³	1 %
PO ₄ ³⁻	(1,8 ± 1,1).10 ⁻²	(2,3 ± 1,5).10 ⁻²	13 %
NO ₃ ⁻	0,2*	0,2*	-

Tableau 16 : Composition ionique moyenne des urines fraîches et minéralisées. *Concentrations calculées. ** Le facteur de concentration n'est pas appliqué

Les résultats ont tout d'abord été interprétés du point de vue de l'évolution des concentrations ioniques entre l'urine fraîche et l'urine minéralisée. Un facteur de concentration de 10 doit être appliqué aux urines fraîches pour les comparer aux urines minéralisées. En effet, la minéralisation puis l'ajustement de pH avant passage sur colonne réduisent le volume d'1 L d'urine fraîche à 100 mL d'urine minéralisée. Ainsi, on peut observer la composition ionique qui montre que la majorité de la charge saline des urines n'est pas transférée à l'urine minéralisée lors de l'étape de co-précipitation.

Moins de 3 % des alcalins présents dans les urines fraîches sont entraînés lors de l'étape de co-précipitation (étape 2 Figure 38). Comme attendu, la plus grande partie des alcalino-terreux sont retrouvés dans les urines minéralisées (30 à 70 %). Ces résultats sont en accord avec les observations de Gray et collaborateurs (Gray *et al.*, 2012) lors de la concentration de l'uranium par précipitation des alcalino-terreux. Si on analyse les compositions urinaires de chacune des urines (non représentées), il ne semble pas y avoir de lien de causalité entre les concentrations en cations et les rendements d'extraction en uranium.

Concernant les anions, moins de 2 % des sulfates et des halogénures sont entraînés par la précipitation des alcalino-terreux. On pourra remarquer les quantités très élevées d'ions nitrate dans la composition ionique. L'acide nitrique étant utilisé à toutes les étapes de la minéralisation et pour la conservation des échantillons, sa concentration ne correspond ici en aucun cas aux concentrations en ions nitrate présents réellement dans les urines. De plus, malgré ces concentrations élevées, il ne semble pas y avoir de lien entre les rendements d'extraction de l'uranium et les concentrations en nitrates. Les carbonates ne sont pas observables. En effet, la minéralisation ainsi que la conservation sont faites en milieu acide et la minéralisation est réalisée dans un réservoir sous pression. On peut donc supposer que les carbonates ont été transformés en CO₂ et dégazés. Ainsi, pour modéliser la spéciation de l'ion uranyle dans les urines minéralisées, on considèrera que la concentration en carbonates est nulle.

Les phosphates quant à eux se comportent comme attendu et sont retrouvés en proportion significative dans les urines minéralisées. A la différence des cations et des nitrates, on constate ici un lien entre la concentration en phosphates et le rendement d'extraction de l'uranium. En effet, plus la concentration

en phosphate est basse dans l'urine minéralisée, meilleure est l'extraction de l'uranium par la colonne (Figure 45).

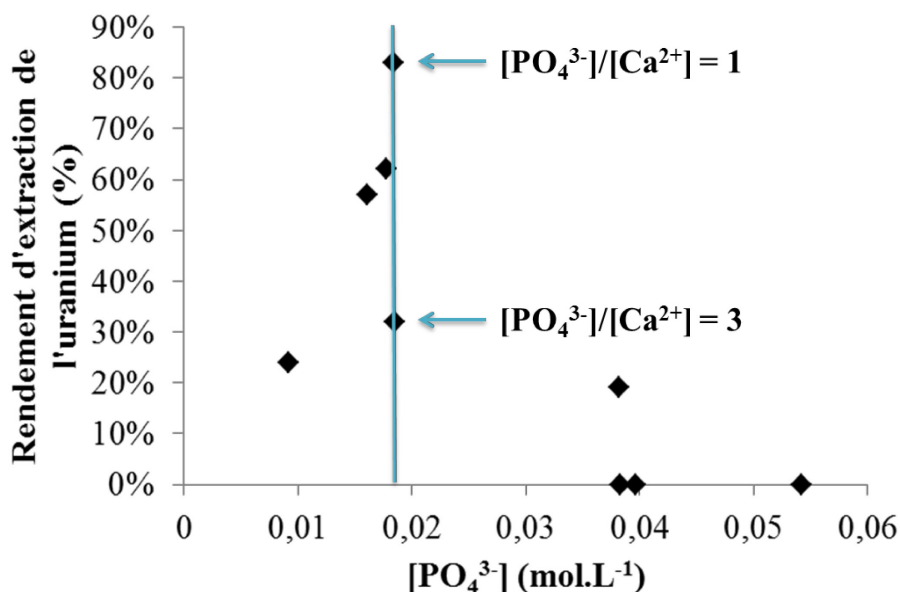


Figure 45: Evolution de l'efficacité de l'extraction de l'uranium sur les colonnes CH en fonction de la concentration en phosphates dans les urines minéralisées

III.4.3. Spéciation de l'uranium en milieu urine minéralisée

Afin, de comprendre pourquoi la concentration en phosphates a un impact sur l'extraction de l'uranium, la spéciation de ce dernier dans les urines minéralisées a été étudiée. Le Tableau 17 représente la composition ionique de quatre des urines minéralisées analysées. Elles sont représentatives de la variabilité d'extraction de l'uranium par la colonne CH. Ces urines minéralisées seront utilisées pour la suite de l'étude. La concentration en nitrate de $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ a été imposée car la concentration mesurée n'est pas représentative de la concentration réelle dans le milieu.

Concentration (mol.L ⁻¹)	Urine minéralisée 1	Urine minéralisée 2	Urine minéralisée 3	Urine minéralisée 4
Rendement expérimental d'extraction de l'uranium à pH ≈ 5,2	15 %	21 %	41 %	57 %
Na ⁺	$5,8 \cdot 10^{-3}$	$5,4 \cdot 10^{-3}$	$4,5 \cdot 10^{-3}$	$8,7 \cdot 10^{-4}$
K ⁺	$4,5 \cdot 10^{-3}$	$4,9 \cdot 10^{-3}$	$1,7 \cdot 10^{-2}$	$2,6 \cdot 10^{-3}$
Mg ²⁺	$1,5 \cdot 10^{-2}$	$1,1 \cdot 10^{-2}$	$2,0 \cdot 10^{-2}$	$7,4 \cdot 10^{-3}$
Ca ²⁺	$2,0 \cdot 10^{-2}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$	$2,8 \cdot 10^{-2}$	$5,9 \cdot 10^{-3}$
Cl ⁻	$4,2 \cdot 10^{-3}$	$5,0 \cdot 10^{-3}$	$4,8 \cdot 10^{-3}$	$1,9 \cdot 10^{-2}$
NO ₃ ⁻	0,2*	0,2*	0,2*	0,2*
PO ₄ ³⁻	$7,8 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-2}$	$1,2 \cdot 10^{-2}$	$1,6 \cdot 10^{-2}$
SO ₄ ²⁻	$1,6 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \cdot 10^{-3}$	$1,6 \cdot 10^{-3}$	$2,6 \cdot 10^{-3}$
I (mol.L ⁻¹)	0,22	0,21	0,27	0,22

Tableau 17 : Détails des concentrations de 4 urines minéralisées utilisées lors de cette étude. * Concentrations calculées

La spéciation de l'uranyle pour l'urine 1 et pour l'urine 4 ont été tracées (Figure 46). Les calculs ont été réalisés en présence de solides car ici il n'est pas possible de considérer que la solution est

sous la saturation. Ces résultats montrent qu'au pH d'extraction (5,2), l'espèce majoritaire est un hydrogénophosphate d'uranyle pour les deux urines minéralisées (90 %). Cela semble corroborer le fait que la concentration en ions phosphate ait un impact sur l'extraction de l'uranium. Les phosphates présents en trop grande quantité créeraient un effet de masse, déplaçant les équilibres vers la formation de UO_2HPO_4 plutôt que vers la formation du complexe $L_{hyd}HUO_2$. L'équilibre d'extraction de UO_2^{2+} par le calix[6]arène hydroxamique est défini par l'Equation 24.

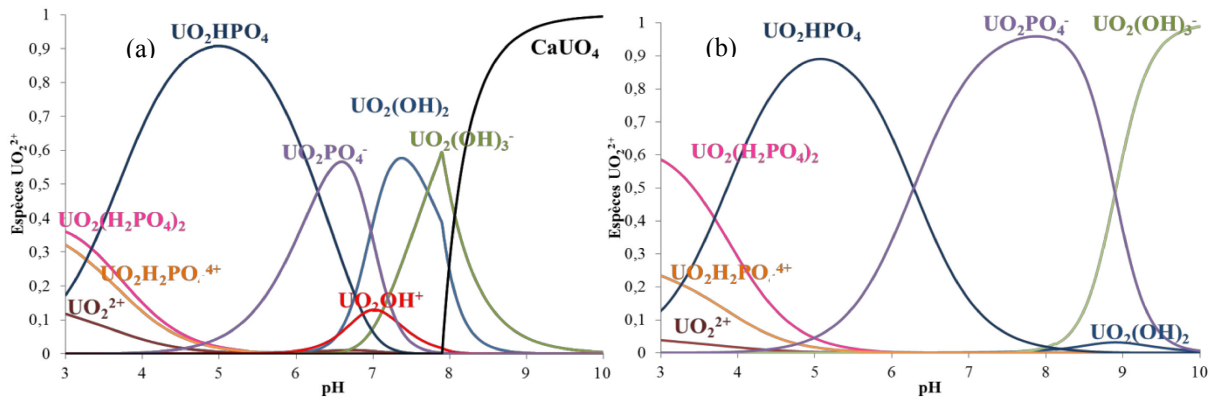
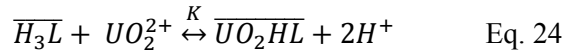


Figure 46: Spéciation de l'ion uranyle dans une urine minéralisée (a) urine 1 (b) urine 4

Pour comprendre la différence de rendement d'extraction de l'uranium entre les deux urines, la spéciation des phosphates a été modélisée dans les mêmes conditions que celle de l'ion uranyle (non illustrée).

La majorité des espèces phosphates sont sous forme $H_2PO_4^-$ (90 %), les 10 % restant sont répartis entre $CaH_2PO_4^+$ et $MgH_2PO_4^+$. La stœchiométrie de ces deux complexes donne un rapport théorique phosphates/alcalino-terreux de 1. Si on reprend la Figure 45, on remarque que pour une concentration d'environ $1,8 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ en phosphates (droite bleue) le rapport phosphate/calcium, pour les urines pour lesquelles l'extraction est efficace, est égal à 1 et est d'environ 3 quand l'extraction n'est pas efficace. Cela pourrait expliquer la grande dispersion des rendements d'extractions de U pour cette concentration en phosphate. Nous pouvons donc supposer que ce n'est pas la concentration en phosphate seule qui impacte l'extraction de l'uranium par la colonne CH mais plutôt le rapport phosphate/calcium. Le même phénomène n'est pas observé pour le magnésium. Ainsi, il pourrait être intéressant d'augmenter la concentration en calcium dans le milieu afin de diminuer la proportion en dihydrogénophosphate dans le milieu.

III.4.4. Contrôle du rapport phosphate/calcium

En raison de la formation de complexe phosphate, pour contrôler le rapport phosphate/calcium, il est possible d'augmenter la concentration en calcium dans le milieu. Pour la vérifier, nous avons donc modélisé la spéciation d'une urine minéralisée pour laquelle l'extraction n'était pas efficace (urine 1, Tableau 17) dans laquelle nous avons augmenté la concentration en calcium. Les résultats sont présentés Figure 47. Lorsque la concentration en calcium augmente, ils montrent que la diminution de

la proportion de dihydrogénophosphate libre s'accompagne d'une augmentation de la proportion d'uranyle libre. Ainsi, ajouter une quantité connue de calcium aux urines minéralisées libérant les ions uranyle devrait favoriser leur extraction.

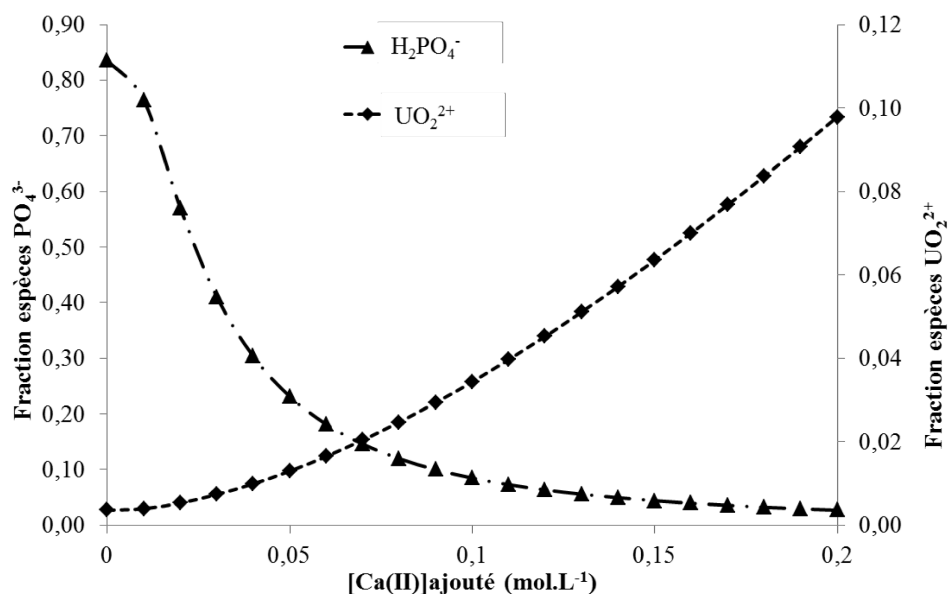


Figure 47 : Evolution des fractions de dihydrogénophosphates libres et d'uranyle libre (*i.e.* non complexé par les phosphates) en fonction de la concentration en calcium ajouté dans l'urine minéralisée 1 à $\text{pH} \approx 5,2$

Un aspect des calculs de spéciation qui n'a pas été mentionné précédemment montre l'apparition de phénomènes de précipitation d'espèces d'alcalino-terreux mais également de phosphate d'uranium au pH d'extraction. Nous avons pu observer expérimentalement ces phénomènes de précipitation qui entraînent les actinides. La dilution des urines dans le calcul permet de se placer dans de bonnes conditions permettant de rester sous la saturation. Ainsi, diluer les urines minéralisées avant l'augmentation du pH et le passage sur colonne permettrait de limiter leur occurrence.

Les calculs ont été réalisés jusqu'à présent, sans prendre en compte la constante d'extraction de U par le calix[6]arène hydroxamique. Ainsi, pour la suite de ces calculs, nous nous attacherons à la déterminer expérimentalement. Puis, elle sera validée en confrontant les résultats expérimentaux à ceux obtenus par le calcul et cette valeur sera utilisée pour déterminer la concentration de calcium optimale à ajouter pour améliorer l'extraction.

III.4.5. Prise en compte de la constante d'extraction de U par le 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂CONHOH-*p*-tert-butylcalix[6]arène

III.4.5.a. Détermination de la constante d'extraction

Pour déterminer la constante d'extraction de l'uranium par le 1,3,5-OCH₃-2,4,6-OCH₂CONHOH-*p*-tert-butylcalix[6]arène imprégné (H_3L), nous avons mis en contact 1 gramme de résine CH pendant 24 heures sous agitation magnétique (pour s'assurer que l'équilibre est bien atteint) avec une solution d'uranium en milieu nitrate de sodium. Deux séries d'expériences ont donc été réalisées.

La première a consisté à étudier l'influence de la concentration en ion uranyle sur l'extraction, la deuxième à étudier l'influence du pH . Ainsi, la première a nécessité de faire varier la concentration en

uranium, la deuxième de faire varier le pH. Des solutions de 50 mL de NaNO_3 $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ ont été préparées : à $\text{pH} = 6$ et avec des concentrations en U comprises entre $5.10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ et $1,3.10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ pour la première série d'expériences, à $5,7 < \text{pH} < 9,0$ et à une concentration en U de $1,0.10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ pour la deuxième série. Les concentrations en uranium en phase aqueuse ont été déterminées par ICP-MS en dilution 10 000.

La constante d'extraction K est exprimée comme suit :

$$\overline{H_3L} + \text{UO}_2^{2+} \overset{K}{\leftrightarrow} \overline{\text{UO}_2HL} + 2\text{H}^+$$

$$K = \frac{[\overline{\text{UO}_2HL}]_{eq} [\text{H}^+]_{eq}^2}{[\overline{H_3L}]_{eq} [\text{UO}_2^{2+}]_{eq}}$$

Avec

- $[\overline{H_3L}]_{eq}$ la concentration en calix[6]arène à l'équilibre (constante)
- $[\overline{\text{UO}_2HL}]_{eq}$ la concentration en complexe à l'équilibre
- $[\text{H}^+]_{eq}$ la concentration en ion oxonium à l'équilibre
- $[\text{UO}_2^{2+}]_{eq}$ la concentration en ion uranyle à l'équilibre

Cette loi d'action de masse sur la concentration en uranium total ([U]) en phase aqueuse peut donc être exprimée ainsi :

$$[\text{U}] = [\text{UO}_2^{2+}](1 + \alpha)$$

$$\text{avec } \alpha = \sum \frac{[\text{espèces d'uranium}]}{[\text{UO}_2^{2+}]}$$

Par ailleurs, le bilan de masse donne l'équation suivante :

$$m_{org}[\overline{\text{UO}_2HL}]_{eq} = V_{aq}([\text{U}]_i - [\text{U}]_{eq})$$

Avec :

- m_{org} la masse de résine
- V_{aq} le volume de phase aqueuse
- $[\text{U}]_i$ concentration en uranium à l'état initial en mole par kg de résine
- $[\text{U}]_{eq}$ concentration en uranium à l'état l'équilibre (mesurée par ICP-MS) en mole par kg de résine

La constante K est donc être réécrite sous la forme de l'Equation 25 avec $V = \frac{V_{aq}}{m_{org}}$

$$K = \frac{V([\text{U}]_i - [\text{U}]_{eq})[\text{H}^+]_{eq}^2(1+\alpha)}{[\overline{H_3L}]_{eq}[\text{U}]_{eq}} \quad \text{Eq. 25}$$

Pour déterminer le paramètre $(1+\alpha)$, la spéciation de l'uranyle en milieu nitrate de sodium a été tracée dans les conditions expérimentales. La fraction d'uranyle $\frac{[\text{UO}_2^{2+}]}{\Sigma[\text{espèces d'uranium}]}$ a été déterminée au pH de chaque expérience pour calculer le paramètre $(1+\alpha)$.

Les résultats sont présentés Tableau 18 et les droites obtenues Figure 48. Deux calculs ont été réalisés pour déterminer K. La constante a été déterminée pour chaque point expérimental grâce à l'Equation

25, mais également par la méthode des pentes en traçant $[U]_{eq} = f([U]_i - [U]_{eq})$ pour les études faisant varier la concentration initiale en uranium (variation $[U]_i$) et $\frac{[U]_{eq}}{[U]_i - [U]_{eq}} = f([H^+]^2(1 + \alpha))$, pour celles faisant varier le pH.

Les résultats obtenus sont cohérents entre eux. La valeur et l'écart-type à la moyenne donnent $\log K = -4.90 \pm 0,03$.

	$[U]_i$ (mol.kg ⁻¹)	$[U]_{eq}$ (mol.kg ⁻¹)	V (V _{aq} /m _{org})	pH à t = 24 h	1+ α	K	log(K)
Variation pH	1,04.10 ⁻⁷	1,04.10 ⁻⁹	4,12.10 ¹	5,77	5,34	1,19.10 ⁻⁵	-4,92
	1,04.10 ⁻⁷	4,41.10 ⁻¹⁰	4,14.10 ¹	6,05	8,57	1,27.10 ⁻⁵	-4,89
	1,01.10 ⁻⁷	6,68.10 ⁻¹⁰	4,69.10 ¹	8,86	5,75.10 ⁶	1,49.10 ⁻⁵	-4,83
Moyenne						1,32.10 ⁻⁵	-4,88
Détermination des pentes						1,20.10 ⁻⁵	-4,92
Variation [U] _i	5,00.10 ⁻⁸	2,45.10 ⁻¹⁰	4,54.10 ¹	6,1	8,57	9,68.10 ⁻⁶	-5,01
	9,22.10 ⁻⁸	4,28.10 ⁻¹⁰	4,48.10 ¹	5,9	5,34	1,58.10 ⁻⁵	-4,80
	1,33.10 ⁻⁷	6,70.10 ⁻¹⁰	4,95.10 ¹	5,9	5,34	1,61.10 ⁻⁵	-4,79
	1,69.10 ⁻⁷	8,64.10 ⁻¹⁰	5,59.10 ¹	5,9	5,34	1,79.10 ⁻⁵	-4,74
	Moyenne						1,52.10 ⁻⁵
Détermination des pentes						1,49.10 ⁻⁵	-4,82

Tableau 18 : Résultats de la détermination de la constante d'extraction

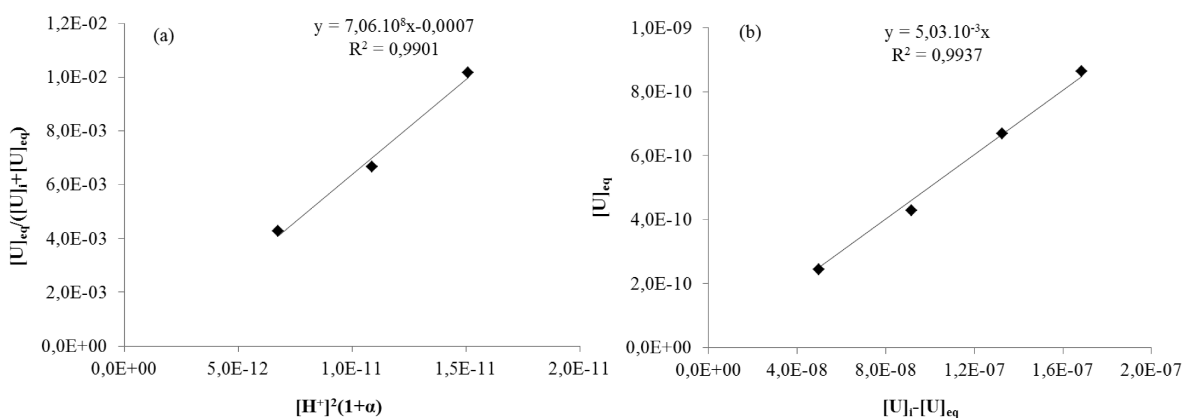


Figure 48 : Droites obtenues pour la détermination de la constante d'extraction K (a) variation de pH (b) variation de concentration en U

III.4.5.b. Calculs des rendements théoriques et validation de la constante

La valeur de la constante a été déterminée par des expériences en batch sous agitation. Cependant, lors des analyses de radiotoxicologie, les résines sont utilisées sous forme de colonne de chromatographie. Il est donc nécessaire de vérifier que la constante déterminée est bien transposable à ce type de système dynamique. Afin de vérifier la validité de cette constante, le paramètre (1+ α) a été déterminé au pH d'extraction pour la composition de trois urines minéralisées (urines 2,3 et 4, Tableau 17).

Ce paramètre a ensuite été utilisé pour déterminer la valeur $[U]_{eq}$ à l'aide de l'Equation 26.

$$[U]_{eq} = \frac{(v[U]_i[H^+]_{eq}{}^2(1+\alpha))}{K [\overline{H_3L}]_{eq} + v[H^+]_{eq}{}^2(1+\alpha)} \quad \text{Eq. 26}$$

Finalement cette concentration $[U]_{eq}$ permet de définir le rendement théorique d'extraction de l'uranium par la colonne CH (Equation 27).

$$\text{Rendement théorique} = 1 - \frac{[U]_{eq}}{[U]_i} \quad \text{Eq. 27}$$

Les résultats obtenus sont présentés Tableau 19 et montrent que la constante déterminée précédemment en batch représente bien l'extraction par la colonne CH, les résultats théoriques étant cohérents avec les résultats expérimentaux.

Rendement d'extraction expérimental de l'uranium	$1+\alpha$	$[U]_i$ (mol.kg ⁻¹)	$[U]_{eq}$ (mol.kg ⁻¹)	Rendement d'extraction théorique de l'uranium
21 %	588	5,75.10 ⁻⁹	4,50.10 ⁻⁹	22 %
41 %	108	5,26.10 ⁻⁹	3,51.10 ⁻⁹	33 %
57 %	160	5,95.10 ⁻⁹	2,88.10 ⁻⁹	51 %

Tableau 19 : Calcul des rendements théoriques d'extraction de l'uranium

La validité de cette constante étant étendue aux expériences sur colonne, elle sera maintenant utilisée pour déterminer la concentration de calcium qu'il est nécessaire d'ajouter pour améliorer le rendement d'extraction de l'uranium par la colonne CH. Pour cela, le paramètre $(1+\alpha)$, permettant de déterminer le rendement théorique, a été calculé pour une composition d'urine minéralisée (urine 1 Tableau 17) pour laquelle le rendement d'extraction de U par la colonne CH est de 15 % ($[PO_4^{3-}] = 7,8.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). Pour cette même composition, la concentration en calcium a été augmentée progressivement. Le rendement théorique a été tracé en fonction de la concentration en calcium ajouté dans l'urine minéralisée (Figure 49).

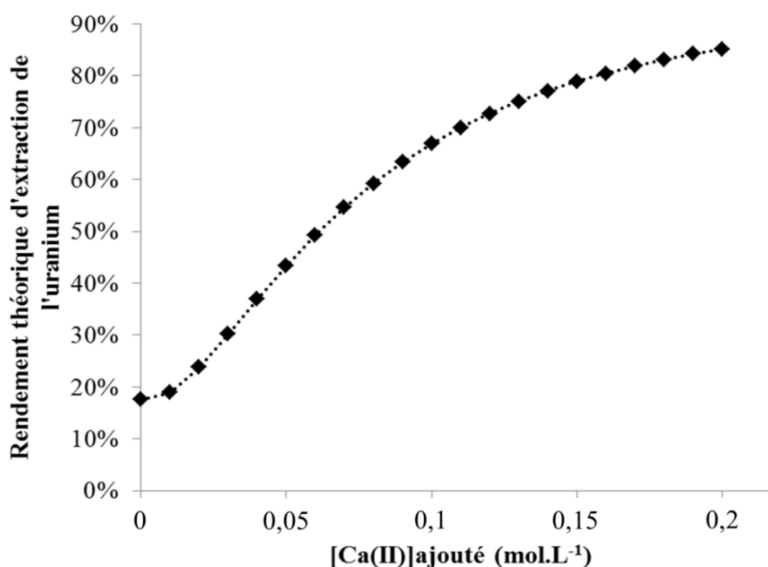


Figure 49 : Rendement théorique d'extraction de l'uranium en fonction de la concentration en calcium

Le rendement d'extraction de U devient supérieur à 75 % quand $[Ca^{2+}] > 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Les mêmes calculs ont également été réalisés avec le magnésium, mais lorsque la concentration en magnésium est augmentée, l'amélioration du rendement est bien moindre (passage de 15 à 40 %, non illustré).

L'ajout de calcium à une concentration de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ à une solution pour laquelle l'extraction d'uranium est nulle et de concentration en phosphate de $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ permettrait d'atteindre un rendement théorique 75 %.

Ces résultats théoriques vont nous permettre de proposer un protocole de minéralisation complet optimisé.

III.5. OPTIMISATION DU PROTOCOLE DE MINERALISATION

Les résultats de spéciation montrent que l'ajout de calcium au minéralisat permettrait d'améliorer les rendements d'extraction de l'uranium en limitant la présence de phosphates libres. Afin d'étudier ce paramètre, les expériences suivantes ont été réalisées sur des pools de 3 L d'urines dopées en U, dans un premier temps, puis redivisés en trois pour l'expérience, de manière à avoir un échantillon témoin et à effectuer un ajout de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ en calcium dans le deuxième et de $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ dans le troisième échantillon. Les résultats obtenus sont présentés Tableau 20.

Expérience n°	Echantillon témoin	Concentration en calcium ajouté	
		$0,1 \text{ mol.L}^{-1}$	$0,25 \text{ mol.L}^{-1}$
1	15 %	45 %	55 %
2	21 %	63 %	Précipitation
3	36 %	93 %	91 %

Tableau 20 : Rendement d'extraction de l'uranium sur la colonne CH en fonction de la concentration en calcium ajouté

On peut constater que l'ajout de calcium améliore significativement le rendement d'extraction de l'uranium sur la colonne CH. Cependant, la concentration qu'il est possible d'ajouter semble être limitée par la saturation de l'urine minéralisée qui provoquerait la précipitation d'un phosphate de calcium qui entraîne l'uranium.

Ainsi, il est conseillé d'utiliser une concentration en $CaCl_2$ ajoutée de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Même si cet ajout ne permet pas de s'affranchir totalement de la variabilité des rendements d'extraction de U, cela permet de ne pas avoir d'échantillon urinaire pour lequel le rendement d'extraction de U sera nul. La variabilité des résultats sera, elle, maîtrisée par l'ajout d'un traceur interne à l'échantillon, en quantité connue, qui subira les mêmes transformations chimiques permettant ainsi de déterminer son rendement chimique.

L'ajout de $CaCl_2$ à concentration de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, a été validé sur des urines dopées avec les trois actinides d'intérêt : U, Pu et Am. Les résultats obtenus sur deux urines minéralisées sont présentés Tableau 21.

		Témoin	Ajout 0,1 mol.L ⁻¹ CaCl ₂
1	U	36 %	93 %
	Pu	94 %	98 %
	Am	69 %	53 %
2	U	78 %	81 %
	Pu	79 %	68 %
	Am	102 %	83 %

Tableau 21 : Effet de l'ajout de chlorure de calcium à 0,1 mol.L⁻¹ sur le rendement d'extraction des actinides par les colonnes CH

Ces résultats montrent que les rendements d'extraction du plutonium semblent peu affectés par l'ajout de chlorure de calcium. Cependant, une légère diminution apparaît sur le rendement d'extraction de l'américium. Ce phénomène devra être investigué ultérieurement. Néanmoins, les rendements restent élevés (supérieur à 70 %), ces variations ne devraient donc pas affecter significativement les limites de détection de Pu et Am en revanche, celle de l'uranium devraient être améliorées. Ces résultats devront être validés sur un grand nombre d'urines.

Finalement, l'ajout de calcium à l'urine minéralisée, nécessite de vérifier que celui-ci n'a pas été retenu sur la colonne CH. Ainsi, une analyse de l'urine minéralisée avant et après passage sur la colonne CH, avec une dilution 10 000 dans HNO₃ (w_t = 2 %), a montré que moins de 1 % du calcium a été retenu sur celle-ci. La matrice urinaire a donc bien été éliminée efficacement à la fois par la co-précipitation (une partie de la charge saline et de la matière organique), la digestion au four à micro-ondes (matière organique) puis l'extraction actinides sur colonne (restant de la charge saline).

IV. CONCLUSION

Ce chapitre a été à la fois consacré à la caractérisation de la résine et au choix de la stratégie d'extraction des actinides par la résine calix[6]arène. La difficulté de la première partie a résidé dans le fait que le calix[6]arène est présent en faible concentration dans la résine. Ainsi, nous avons pu conclure sur le remplissage des pores du PS-DVB par l'heptanol lors de l'imprégnation mais pas sur le comportement du calix[6]arène. Par ailleurs, nous avons pu déterminer les propriétés physiques de la résine telles que la masse volumique et la granulométrie. Il a également été possible de démontrer que la résine n'était pas déformulée lors de l'étape de mouillage et que le contact prolongé avec une solution acide attaquait l'intégrité de la résine organique (polystyrène divinylbenzène).

La deuxième partie a été consacrée au choix de la stratégie d'extraction et à l'optimisation de l'étape de minéralisation de manière à promouvoir l'extraction des actinides sur la colonne tout en optimisant les différentes étapes pour les rendre appropriées à une utilisation en situation de crise.

La précipitation des phosphates d'alcalino-terreux a été choisie du fait du fort rendement de récupération des actinides : 99 % pour U et 96 % pour Pu et Am. Il a également été possible de réduire le temps de décantation des alcalino-terreux de 2 h à 15 min, sans perte de rendement de récupération des actinides. La calcination au four à moufle du précipité récupéré a ensuite été remplacée par une digestion au four à micro-ondes. Ceci a permis une réduction significative du temps de minéralisation tout en restant aussi efficace du point de vue de la destruction de la matière organique (> 99 %).

Puis la colonne CH a été choisie pour extraire simultanément les trois actinides de l'urine minéralisée. Alors que l'extraction de Pu et Am était quantitative (respectivement 91 % et 88 %), celle de U s'est avérée plus problématique.

Grâce à une étude de spéciation et en complément des résultats expérimentaux, il a été montré que la présence de phosphates libres dans les urines minéralisées rend l'extraction ultérieure de l'uranium sur la colonne CH à pH = 5,2 non reproductible. Plus précisément, le rapport phosphate/calcium semble impacter cette extraction.

Afin de proposer une modélisation de l'extraction de l'uranium par la colonne CH, nous avons déterminé et validé la constante d'extraction de l'uranium par le calix[6]arène hydroxamique immobilisé sur la résine de PS-DVB :

$$\log K = -4,90 \pm 0,03$$

Nous avons donc pu développer une modélisation de l'extraction de l'ion uranyle par la colonne de calix[6]arène. Cela nous a conduits à proposer une amélioration du protocole de minéralisation avant extraction, consistant à ajouter du CaCl₂ de manière à complexer les phosphates libres et libérer les ions uranyle qui seront ainsi disponibles pour une extraction par la colonne calix[6]arène. Ainsi,

l'ajout de calcium à une concentration de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ permet la complexation des phosphates libres et rend l'extraction de l'uranium quantitative.

Cette étude nous a permis de proposer une étape de minéralisation réalisable en 4 h 30 avec une extraction efficace de U, Pu et Am sur la colonne CH tout en éliminant efficacement la matrice urinaire. La durée de ce protocole est maintenant tout à fait acceptable pour une utilisation en situation de crise.

CHAPITRE IV : COUPLAGE

I. INTRODUCTION

L'objectif premier de cette thèse est de mettre en place un système de couplage entre une des colonnes calix[6]arène développée au LRC et un ICP-MS, permettant l'analyse en ligne des actinides (U, Pu, Am) dans les urines en situation de crise. L'avantage d'utiliser un ICP-MS est la rapidité de la mesure par rapport à la technique d'analyse utilisée en routine pour les actinides, c'est à dire la spectrométrie alpha. Cependant, la détection par ICP-MS, reposant sur une analyse atomique, a pose quelques difficultés en termes de limites de détection (en Bq.L^{-1}) pour la mesure des actinides à période inférieure à 10 000 ans (*cf.* chapitre I).

Le chapitre précédent a permis de mettre au point une méthode d'extraction efficace pour les trois actinides d'intérêt (U, Pu, Am). Ce chapitre vise à mettre au point le système de couplage en lui-même qui permettra leur élution directement dans l'ICP-MS.

Mettre en place un système de couplage devrait permettre d'obtenir un pic chromatographique lors de l'élution. Ainsi, on analysera un signal qui atteindra un maximum et non le signal correspondant à la concentration moyenne de l'éluat en sortie de colonne et les limites de détection devraient être abaissées de manière plus significative pour les éléments non ou peu présents à l'état naturel tels l'américium ou le plutonium. En effet, le bruit de fond chimique de ces éléments est faible, et le rapport signal sur bruit sera augmenté. Cependant, pour des éléments naturels comme l'uranium, le bruit de fond pourrait augmenter avec le signal. Ainsi, le gain sur les limites de détection serait moindre, mais cela ne constitue pas une difficulté majeure car les limites de détection obtenues pour ce type d'élément sont déjà suffisamment basses lors d'analyses en direct par ICP-MS (*cf.* chapitre I). Le rendement de récupération des actinides (*cf.* chapitre II) devra être le plus élevé possible car celui-ci impacte directement la limite de détection. Il faut donc choisir un éluant le plus efficace possible qui doit être injecté directement dans l'ICP-MS. Ceci imposera deux contraintes : une concentration en acide inférieure à 10 % et une concentration en sels inférieure à 1 g.L^{-1} .

Chronologiquement, cette partie de l'étude a été réalisée en parallèle des études de spéciation. Ainsi, la colonne utilisée pour le couplage est la colonne CH (hydroxamique) choisie précédemment. En revanche, les expériences ont été menées sur des solutions de contamination synthétiques afin de maîtriser l'extraction des actinides sur la colonne CH. Cette étude a été découpée en plusieurs étapes.

Tout d'abord, des études dites « hors-ligne » ont été effectuées. Sur paillasse, à l'aide d'une pompe péristaltique, les solutions ont été injectées dans la colonne. La solution d'élution a été ainsi optimisée en fonction de sa capacité à désextraire simultanément les trois actinides. En parallèle de cette étude « hors-ligne », la colonne a été couplée à l'ICP-MS Agilent 7700x à l'aide du système ISIS (Integrated Sample Injection System). Les paramètres chromatographiques et les performances analytiques ont pu ainsi être déterminés. Dans l'optique d'automatiser complètement le protocole, un autre système de couplage a été proposé utilisant une pompe isocratique, une pompe quaternaire, une vanne 6 voies et une vanne 12 voies. Les premières études réalisées avec ce système seront présentées.

II. OPTIMISATIONS « HORS-LIGNE »

II.1. PRESENTATION DU SYSTEME

Pour étudier l'impact des débits sur l'extraction des actinides, un système mettant en œuvre une pompe péristaltique Ismantech© 12 palettes a été proposé. Une colonne Omnifit© en verre borosilicatée est montée en ligne pour pousser les solutions sur la colonne (Figure 50). Le temps d'écoulement est chronométré et la solution collectée en pied de colonne pesée afin de déterminer le débit moyen de passage de la solution sur la colonne.

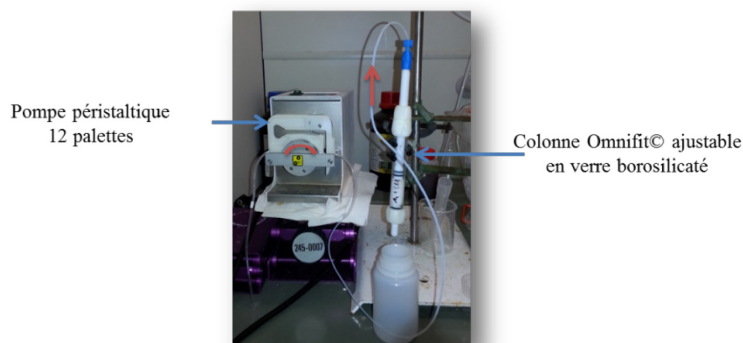


Figure 50 : Schéma du montage dit « hors-ligne »

Les expériences de ce chapitre ont été réalisées en parallèle de l'étude du comportement de l'uranium sur la résine CH (*cf.* chapitre III). L'extraction de l'uranium à partir d'un échantillon urinaire n'était pas encore parfaitement maîtrisée. Afin de ne tenir compte que des paramètres étudiés ici (composition de l'éluant et débits d'éluion), les études hors-ligne ont été réalisées sur des solutions de contamination synthétiques avec $[U] = 1,2$ ppb à $\text{pH} = 6,0$ (*cf.* chapitre II).

II.2. DEBITS D'EXTRACTION

Maxwell et collaborateurs ont montrés l'importance de l'utilisation d'un débit contrôlé pour une extraction optimale des actinides par les colonnes Eichrom (Maxwell, 2007) tant pour limiter la durée d'extraction que pour extraire quantitativement les actinides du milieu.

Ainsi, une étude de l'impact du débit d'extraction a tout d'abord été réalisée sur des solutions de contamination synthétiques (NaNO_3 à $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$) dopée en U à 1,2 ppb. Elles sont chargées sur des colonnes CH préparées comme décrit au chapitre II, afin de s'affranchir de la variabilité de la composition urinaire. Différents débits d'extraction ont donc été testés : entre $0,43 \text{ mL.min}^{-1}$ et $7,7 \text{ mL.min}^{-1}$. Dans ces conditions, aucun effet du débit n'a été observé. Le rendement moyen d'extraction de l'uranium pour ces débits est de $(99 \pm 2) \%$.

Pour étudier l'effet de la charge saline de la solution de contamination synthétique, la concentration en nitrate de sodium a été augmentée à $1,4 \text{ mol.L}^{-1}$, pour tenter de représenter la charge saline d'une urine minéralisée (Figure 51). Cette concentration en sels correspond à la charge saline maximale qui pourrait être atteinte si la totalité de la charge saline de l'urine fraîche était transférée à l'urine minéralisée lors de l'étape de précipitation des alcalino-terreux (étape 3 Figure 38).

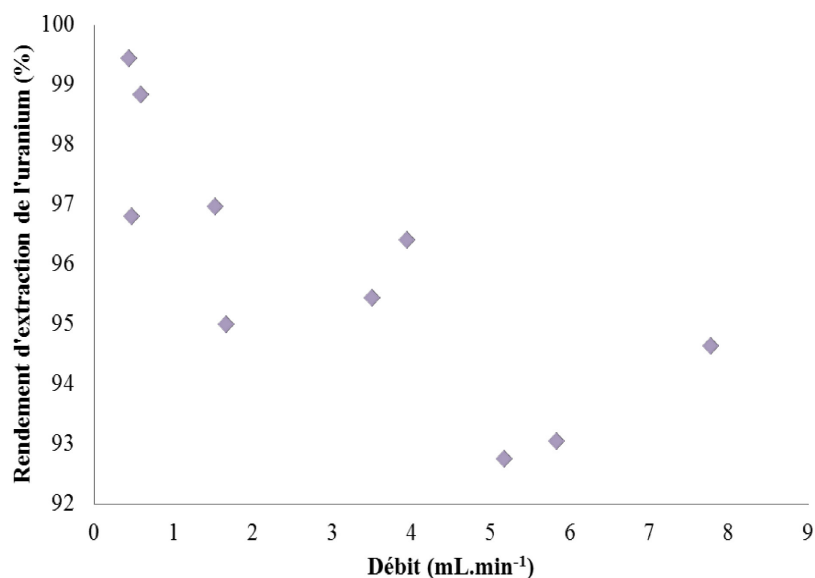


Figure 51 : Evolution du rendement d'extraction de l'uranium en milieu NaNO_3 $1,40 \text{ mol.L}^{-1}$ en fonction du débit d'extraction à $\text{pH} = 5,2$, sur des colonnes CH

Là, nous pouvons observer une légère baisse des rendements d'extraction, cependant les résultats restent supérieurs à 90 % quel que soit le débit. De plus, la charge saline d'une urine minéralisée est en réalité de l'ordre de $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$. Nous allons donc choisir un compromis entre rapidité et rendement. Ainsi, le débit d'extraction sera fixé pour le reste de l'étude à 5 mL.min^{-1} . Le volume d'urine minéralisée injectée sur la colonne après minéralisation (étape 5 Figure 38) est d'environ 100 mL. Le temps de chargement de la solution sur la colonne est donc de 20 min environ.

II.3. STRATEGIE D'ELUTION

L'extraction des actinides sur la colonne est liée à la déprotonation du calix[6]arène. La réaction d'extraction de l'uranium sur la colonne CH a été décrite au chapitre précédent.

Pour éluer ces actinides, trois types de réaction peuvent être mises en œuvre. On peut procéder en reprotonant le calix[6]arène, donc en se plaçant en milieu suffisamment acide, mais il peut être également utile de forcer la désorption des actinides de la colonne CH en les complexant en phase aqueuse. Une autre possibilité est de tenir compte des propriétés redox des actinides et de la capacité des colonnes CH à extraire U(VI), Pu(IV) et Am(III). Ainsi, il pourrait aussi être intéressant de réduire U et Pu pour favoriser leur élution.

Dans le but d'obtenir une élution efficace, on pourra utiliser soit une seule de ces propriétés soit un mélange des trois. Il est cependant nécessaire de respecter deux conditions imposées par l'utilisation en ligne avec un ICP-MS : une concentration en matière totale dissoute inférieure à 1 g.L^{-1} et en acide inférieure à 10 %. Le choix d'une co-élution des trois actinides a été décidé afin de simplifier le protocole. Il sera cependant vérifié, que ce choix n'entraîne pas d'interférences au niveau de l'analyse par ICP-MS.

De manière à comparer les solutions d'élution entre elles, l'extraction doit être reproductible. Pour cela, les solutions de contamination synthétiques seront préparées en diluant de l'uranium à

[U] = 1,2 ppb dans une solution de nitrate de sodium à 0,04 mol.L⁻¹. 50 mL de cette solution dont le pH a été ajusté à 5,2 par ajout d'eau ammoniacale, sera injecté sur les colonnes CH (après les étapes de mouillage et conditionnement décrites chapitre II). Les éluions seront ensuite réalisées après le rinçage par 30 mL de la solution d'éluion testée. La totalité de la fraction d'éluion sera récupérée pour déterminer le rendement (*cf.* chapitre II).

Les valeurs des facteurs de capacité seront déterminées afin de comparer les éluants entre eux d'un point de vue chromatographique. Pour l'éluion, plus ce facteur de capacité est faible, plus l'éluant utilisé est efficace. Le facteur de capacité a été défini ici par l'Equation 6 rappelée ci-dessous.

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} = \frac{C_s V_s}{C_m V_m}$$

avec :

- Cs : concentration de l'analyte dans la phase stationnaire après récupération de la fraction (Cs = rdt F x Cinitiale)
- Vs : le volume de lit de résine
- Cm : concentration de l'analyte dans la phase mobile déterminée par mesure ICP-MS
- Vm : volume de la phase mobile = 30 mL

Pour des raisons de radioprotection, les essais ont tout d'abord été réalisés sur des solutions de contamination synthétiques dopées en U puis validés sur des urines minéralisées dopées avec U, Pu et Am.

Les différents éluants qui ont été testés lors de ce travail de thèse ont tout d'abord été choisis en fonction de leur utilisation dans la littérature par exemple l'acide oxalique est souvent utilisé seul ou en milieu acide (Benkhedda *et al.*, 2005). On retrouve également l'acide nitrique (Bouvier-Capely *et al.*, 2009) qui a été utilisé pour l'éluion des actinides des colonnes calix[6]arènes dans de précédentes études. Des éluants comme l'acide phosphorique ont été testés à cause de leurs fortes affinités connues pour les actinides.

II.3.1. Elution par reprotonation du calix[6]arène par HNO₃ 1 mol.L⁻¹

L'acide nitrique est un acide fort qui va reprotoner le calix[6]arène. Les rendements d'éluion de U avec l'acide nitrique à une concentration supérieure à 1 mol.L⁻¹ (soit 4,5 % en acide, pH < 0,1) tendent vers un rendement d'éluion de U de 94 %. Les complexes formés par les nitrates et l'ion uranyle sont faibles et leur formation ne permet pas de créer de compétition suffisamment forte avec le calix[6]arène pour provoquer la dés extraction. Ainsi, la dés extraction de l'uranium résulte uniquement de la reprotonation du calix[6]arène.

II.3.2. Elution par l'action combinée de la reprotonation du calix[6]arène et de la complexation de l'uranium

II.3.2.a. Acide étidronique (HEDPA)

L'HEDPA (acide 1-hydroxyéthane-1,1-diphosphonique) ou acide étidronique (M = 206 g.mol⁻¹) est un diacide phosphonique dont la molécule est représentée Figure 52. Les pKa de cette molécule sont pKa₁ = 1,56 et pKa₂ = 2,20.

L'acide étidronique est connu comme un bon complexant des actinides, il est notamment utilisé dans le procédé de recyclage du combustible notamment pour l'américium (Symposium, 1994).

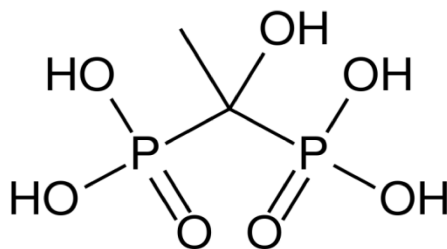


Figure 52 : Acide 1-hydroxyéthane-1,1-diphosphonique ou HEDPA

Les rendements d'élution de U obtenus avec cet éluant sont de 75 % pour une concentration de 1 g.L⁻¹ (0,005 mol.L⁻¹) et de 74 % pour 2 g.L⁻¹ (0,01 mol.L⁻¹) ce qui n'est pas totalement satisfaisant. De plus même si les concentrations en acide sont relativement basses, la concentration en matière totale dissoute est trop élevée (> 1g.L⁻¹) pour une utilisation de routine en couplage avec l'ICP-MS. Ces concentrations associées aux rendements d'élution de l'uranium légèrement faibles nous ont amenés à ne pas approfondir les études avec cet éluant.

II.3.2.b. Acide phosphorique (H₃PO₄)

L'acide phosphorique est un acide faible (pK_{a1} = 2,15 pK_{a2} = 7,20 pK_{a3} = 12,42). Lors de sa mise en solution il peut donc reprotoner le calix[6]arène. Une autre propriété intéressante de cet acide est la tendance des espèces phosphate à former des complexes stables avec l'ion uranyle mais aussi avec le plutonium et américium (*cf.* chapitre III).

Différentes réactions de complexation peuvent donc se produire dans le milieu. L'acide phosphorique étant un triacide le pH de la solution favorisera certains complexes par rapport à d'autres.

Les solutions éluantes étudiées ici sont à différentes concentrations en acide phosphorique :

- 1 mol.L⁻¹, pH = 1,1 (I)
- 0,5 mol.L⁻¹, pH = 1,25 (II)
- 0,25 mol.L⁻¹, pH = 1,58 (III)
- 0,1 mol.L⁻¹, pH = 1,79 (IV)

Compte tenu du pH de ces solutions, il semblerait que seule la première acidité permette la reprotonation du calix[6]arène. Pour vérifier cette hypothèse le diagramme de prédominance de l'acide phosphorique a été tracé (Figure 53). Ce diagramme confirme que le pH des solutions d'élution étudiées serait donc dans le domaine de coexistence de H₃PO₄ et H₂PO₄⁻.

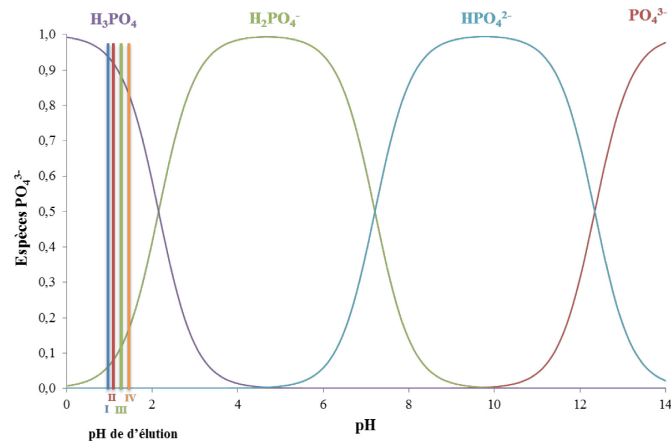


Figure 53 : Diagramme de prédominance de l'acide phosphorique. Les droites représentent les pH d'éluion. Pour vérifier au pH d'éluion, quelles réactions de complexation pouvaient se produire entre l'ion uranyle et les espèces phosphate, la spéciation de l'ion uranyle en milieu acide phosphorique a été tracée aux différentes concentrations. Les résultats obtenus montrent que les complexes majoritaires aux différents pH d'éluion sont $\text{UO}_2(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ (~80%), $\text{UO}_2\text{H}_2\text{PO}_4^+$ (~15%), $\text{UO}_2(\text{H}_2\text{PO}_4\text{H}_3\text{PO}_4)^+$ (~5%). Par ailleurs, on peut constater sur les différents diagrammes de spéciation que la proportion des complexes n'évolue pas sur le domaine de pH d'éluion étudié. L'utilisation de l'acide phosphorique devrait ainsi permettre à la fois la reprotonation du calix[6]arène et la complexation de l'ion uranyle.

Les résultats obtenus pour l'éluion par l'acide phosphorique montrent un maximum d'éluion à $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ soit à $\text{pH} = 1,58$ (Figure 54). Par contre, au-delà, on observe une chute du rendement d'éluion ce qui est surprenant car l'augmentation de la concentration de H_3PO_4 , et donc l'abaissement du pH, devrait favoriser d'autant plus la reprotonation du calix[6]arène et la complexation de l'ion uranyle. Que le rendement d'éluion diminue quand la concentration en acide augmente, et donc quand le pH diminue, peut être dû à la force ionique élevée du milieu.

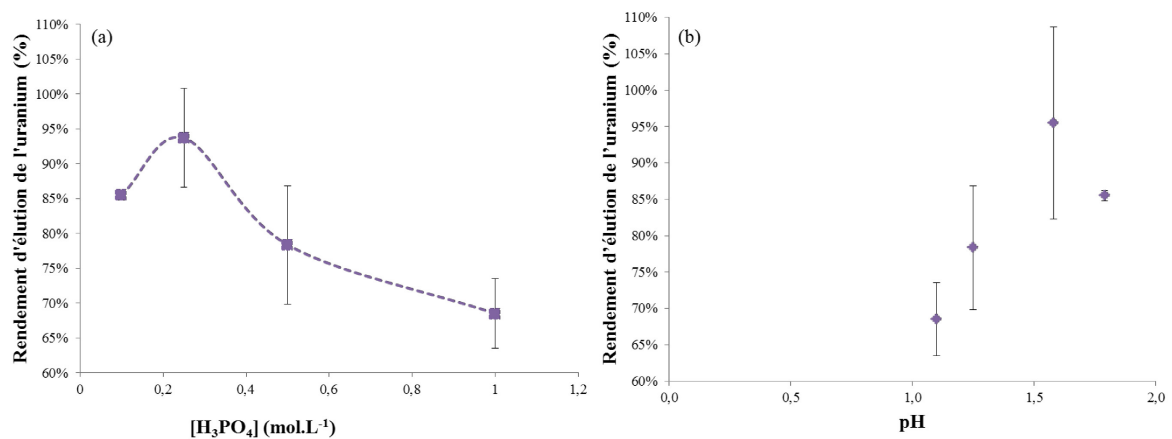


Figure 54 : Variation du rendement d'éluion en fonction (a) de la concentration en acide phosphorique (b) du pH

II.3.2.c. Acide oxalique (H₂C₂O₄) en milieu HCl

L'acide oxalique est un diacide faible de pK_{a1} = 1,2 et pK_{a2} = 4,3. Lors de sa mise en solution, plusieurs effets entrent en jeu. Le calix[6]arène peut être reprotoné, l'uranyle peut également être complexé par les oxalates. Le diagramme de prédominance de l'acide oxalique est présenté Figure 55.

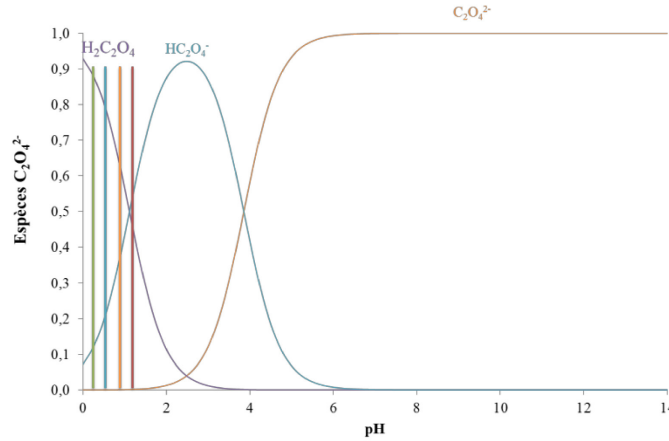


Figure 55 : Diagramme de prédominance de l'acide oxalique. Les droites représentent les pH d'éluion. L'acide oxalique est généralement utilisé en milieu acide chlorhydrique (Lariviere *et al.*, 2008). Plusieurs mélanges (Tableau 22) ont donc été testés pour étudier l'effet de la concentration en acide oxalique (à concentration en acide chlorhydrique constante) et vice-versa. Il a été également vérifié que l'acide oxalique ne pouvait pas être utilisé seul.

La spéciation de l'ion uranyle en milieu acide oxalique a été tracée avec ou sans présence d'acide chlorhydrique, la composition à chaque pH d'intérêt est également indiquée dans le tableau.

[HCl] \ [H ₂ C ₂ O ₄]	0,005 mol.L ⁻¹ (0,45 g.L ⁻¹)	0,01 mol.L ⁻¹ (0,9 g.L ⁻¹)	0,025 mol.L ⁻¹ (2,25 g.L ⁻¹)
0 mol.L ⁻¹			pH = 1,7 UO ₂ C ₂ O ₄ (43 %)/UO ₂ (C ₂ O ₄) ₂ (57 %)
0,1 mol.L ⁻¹			pH = 1 UO ₂ C ₂ O ₄ (85 %)/UO ₂ (C ₂ O ₄) ₂ (10 %)/UO ₂ ²⁺ (5 %)
0,2 mol.L ⁻¹	pH = 0,7	pH = 0,7	pH = 0,7 UO ₂ C ₂ O ₄ (85 %)/UO ₂ (C ₂ O ₄) ₂ (5 %)/UO ₂ ²⁺ (10 %)
0,3 mol.L ⁻¹			pH = 0,5 UO ₂ C ₂ O ₄ (78 %)/UO ₂ ²⁺ (22 %)

Tableau 22 : Concentration testée pour les essais de concentration en acide oxalique et les pH des différentes solutions utilisées

La Figure 56 résume les résultats obtenus lors de l'étude de l'acide oxalique comme éluant.

La concentration en acide chlorhydrique est tout d'abord fixée à 0,2 mol.L⁻¹ et on a fait varier la concentration en acide oxalique (Figure 56(a)). On constate que l'augmentation de la concentration en acide oxalique entraîne l'augmentation du rendement d'éluion de l'uranium de la colonne CH. Le maximum d'éluion est atteint pour une concentration de 0,025 mol.L⁻¹ en acide oxalique. Elle est ensuite fixée à 0,025 mol.L⁻¹ et l'effet de la concentration en acide chlorhydrique est étudié. L'acide oxalique seul permet une éluion de 58 % de l'uranium de la colonne CH. Quand la concentration en acide chlorhydrique augmente, le rendement évolue de la même façon. Cependant, le meilleur rapport

rendement d'éluion/répétabilité est obtenu pour une concentration en HCl de 0,2 mol.L⁻¹. Ainsi, l'éluant optimal serait un mélange H₂C₂O₄/HCl 0,025 mol.L⁻¹/0,2 mol.L⁻¹ avec un rendement moyen de (90 ± 3) %.

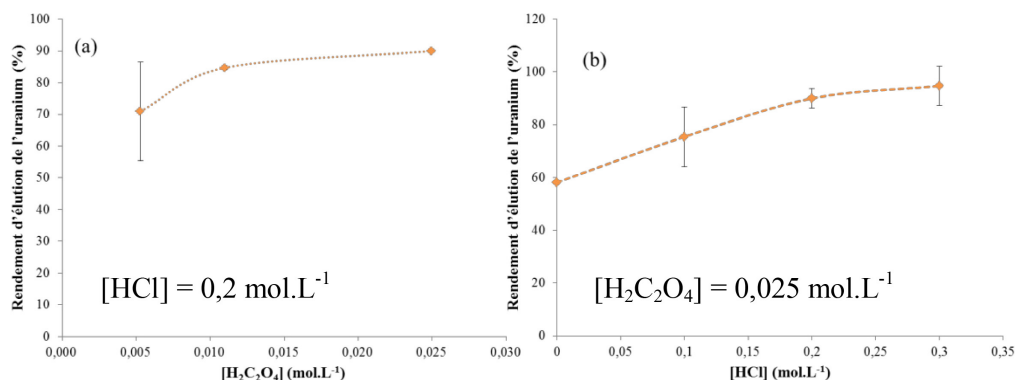


Figure 56 : Etude de l'éluion avec de l'acide oxalique (a) variation de la concentration en acide oxalique (b) variation de la concentration en acide chlorhydrique

On peut constater ici que deux types de réaction se produisent dans le milieu : à la fois la réaction de reprotonation du calix[6]arène, et celle de complexation de l'uranium par les oxalates.

Les bons résultats obtenus par cet éluant sont contrebalancés par le fait que la concentration optimale en acide oxalique, et donc en matière totale dissoute dans l'éluant, est élevée. Pour une utilisation par ICP-MS, sa concentration devrait être limitée à 1 g.L⁻¹, or, ici elle est de 2,5 g.L⁻¹, il ne sera donc pas recommandé de l'utiliser pour le couplage.

II.3.3. Elution par l'action combinée de la reprotonation du calix[6]arène et de la réduction de l'uranium : chlorure d'hydroxylammonium en milieu HCl

L'utilisation d'un mélange chlorure d'hydroxyle ammonium en milieu HCl permet de jouer sur trois tableaux également : la reprotonation du calix[6]arène, la complexation de l'ion uranyle et la réduction de U(VI) (Greis *et al.*, 2007).

Les différentes concentrations en chlorure d'hydroxylammonium et en acide chlorhydrique testées sont données Tableau 23 :

[NH ₄ OHCl] mol.L ⁻¹	0,025 (1,73 g.L ⁻¹)	0,036 (2,5 g.L ⁻¹)	0,050 (3,4 g.L ⁻¹)	0,1 (6,95 g.L ⁻¹)	0,2 (13,9 g.L ⁻¹)	0,25 (17,4 g.L ⁻¹)
[HCl]						
0,2 mol.L ⁻¹	pH = 0,70	pH = 0,70	pH = 0,70	pH = 0,70	pH = 0,70	pH = 0,70
1 mol.L ⁻¹		0				
2 mol.L ⁻¹		pH < 0				
3 mol.L ⁻¹		pH < 0				

Tableau 23 : Concentrations en chlorure d'hydroxylammonium et en HCl étudiées en mélange et les pH correspondant de ces différentes solutions

Les résultats obtenus sont présentés Figure 57.

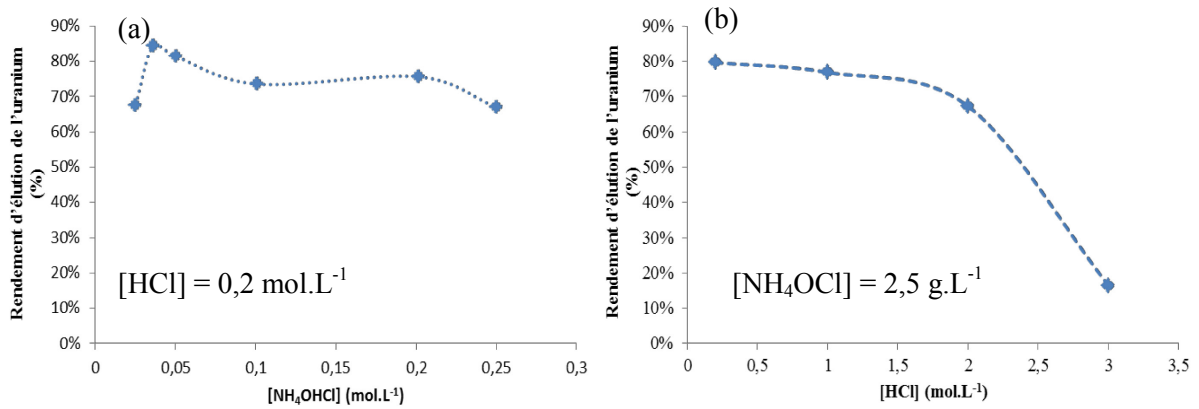


Figure 57 : Variation du rendement d'élution de l'uranium en fonction de la (a) concentration en chlorure d'hydroxylammonium ($[\text{HCl}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$) (b) concentration en acide chlorhydrique ($[\text{NH}_4\text{OCl}] = 2,5 \text{ g.L}^{-1}$)

On observe un maximum d'élution de l'ion uranyle de la colonne CH pour une concentration de $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ en acide chlorhydrique et $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ en chlorure d'hydroxylammonium. On peut également noter que contrairement à l'acide oxalique le rendement ne semble pas être amélioré par l'augmentation de la concentration en acide chlorhydrique. Cela peut être expliqué par le fait que ces concentrations sont particulièrement élevées (jusqu'à 3 mol.L^{-1}) ce qui tend à augmenter la force ionique dans le milieu. La présence d'ion chlorure en trop grande quantité pourrait avoir un impact négatif sur le rendement d'élution compte tenu de sa contribution à l'augmentation de la force ionique.

On peut également observer que les concentrations en chlorure d'hydroxylammonium pour obtenir des rendements supérieurs à 80 %, sont toutes supérieures à 1 g.L^{-1} . Ainsi, malgré les bons résultats obtenus par ce type d'éluant, ces concentrations en matière totale dissoute le rendent difficilement utilisable pour une analyse en ligne par ICP-MS.

II.3.4. Conclusion

Pour finir, les facteurs de capacité ont été déterminés afin d'établir une comparaison chromatographique objective entre les différents éluants testés (Figure 58). Plus le facteur de capacité de l'éluant est faible, plus l'éluant est efficace.

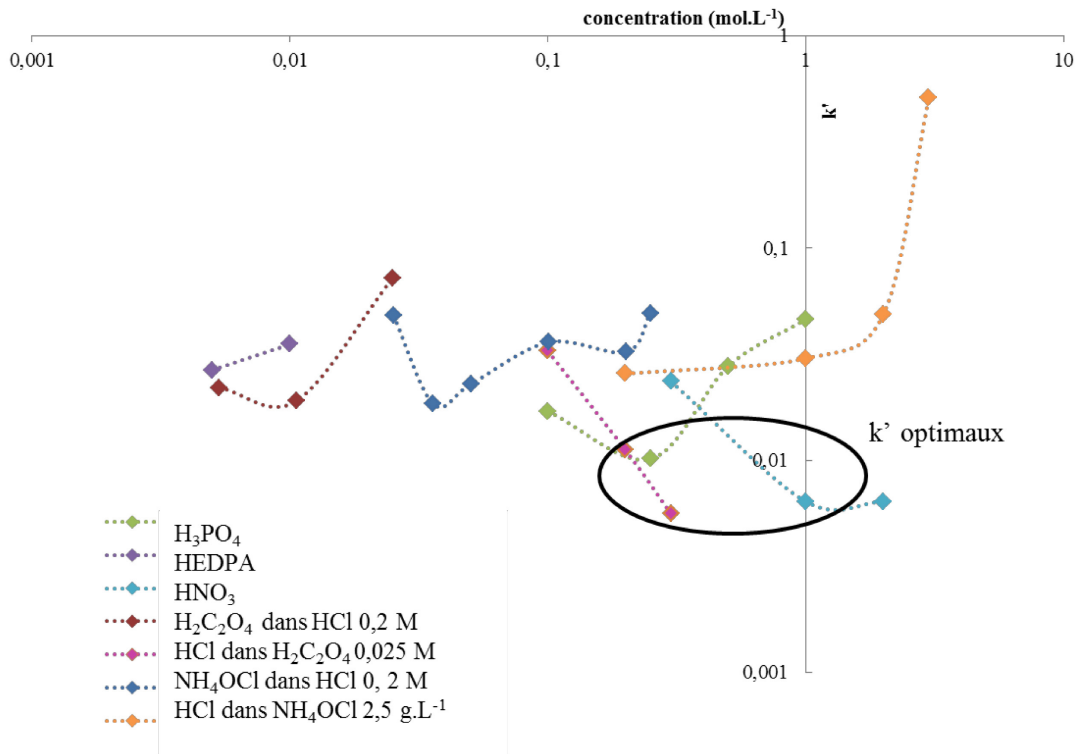


Figure 58 : Variation des facteurs de capacité avec la concentration des éluants

On constate que l'acide oxalique $0,025 \text{ mol.L}^{-1}$ en milieu acide chlorhydrique $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$ est le plus efficace ($k' = 0,0056$), cependant l'acide phosphorique $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ et l'acide nitrique 1 mol.L^{-1} présentent des valeurs de k' relativement basses ($k' = 0,011$ et $k' = 0,0064$). L'avantage de l'acide phosphorique et de l'acide nitrique sur le mélange acide oxalique/acide chlorhydrique est l'absence de matière organique dissoute dans la solution. Cela les rend plus adaptés à une utilisation en ligne avec l'ICP-MS.

Les essais d'éluion ayant été réalisés sur des solutions de contamination synthétiques, pour affiner le choix entre l'acide phosphorique et l'acide nitrique, des essais complémentaires ont été réalisés sur des urines réelles dopées en U, Pu et Am dans les concentrations usuelles (respectivement $0,12 \text{ ppb}$, $0,0037 \text{ ppb}$, $0,0002 \text{ ppb}$). Ces urines ont été minéralisées et le protocole de séparation appliqué (cf. chapitre II). Les rendements d'éluion obtenus pour l'acide phosphorique à une concentration de $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ et l'acide nitrique à une concentration de 1 mol.L^{-1} sont donnés Tableau 24.

	$\text{H}_3\text{PO}_4 \text{ } 0,25 \text{ mol.L}^{-1}$	$\text{HNO}_3 \text{ } 1 \text{ mol.L}^{-1}$
U	$(79 \pm 3) \%$	$(56 \pm 5) \%$
Pu	$(81 \pm 7) \%$	$(76 \pm 12) \%$
Am	$(97 \pm 3) \%$	$(70 \pm 23) \%$

Tableau 24 : Comparaison des rendements d'éluion des actinides à partir des colonnes CH dans les urines minéralisées en utilisant l'acide phosphorique $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ et l'acide nitrique 1 mol.L^{-1} comme éluants

Le choix de l'éluant s'est donc arrêté sur l'acide phosphorique à 0,25 mol.L⁻¹. Il présente à la fois l'avantage de reprotoner le calix [6]arène et aussi de complexer fortement l'uranium mais également Pu et Am. Il est ainsi possible d'éluer quantitativement les trois actinides d'intérêt. De plus, la concentration optimale est tout à fait adaptée à une utilisation en couplage ICP-MS.

III. COUPLAGE "SEMI AUTOMATISE" A L'AIDE DU SYSTEME ISIS (INTEGRATED SAMPLE INJECTION SYSTEM)

III.1. PRESENTATION DU SYSTEME

III.1.1. Montage

En parallèle de ces études « hors-ligne », le système de couplage entre la colonne CH et l'ICP-MS a été développé. Un schéma et une photographie du système sont présentés Figure 59 et les différentes étapes sont décrites Tableau 25.

Le schéma de couplage proposé est dit « semi-automatisé » car les étapes de conditionnement de la colonne CH et de chargement de la solution de contamination (ou de l'urine minéralisée) sur la colonne ont été réalisées « hors-ligne ». En effet, le logiciel Mass Hunter qui pilote l'ICP-MS et le système ISIS imposent le fonctionnement de la vanne V1. Or, il n'est pas possible de réaliser plusieurs chargements de solutions consécutifs avec cette vanne en position chargement. Ainsi, il n'est pas possible de charger les solutions de conditionnement, d'éluion et de rinçage à la suite sans intervenir manuellement. Il n'a pas été possible de modifier le logiciel pour l'adapter à nos besoins. Par la suite, les étapes de rinçage et d'éluion sont, quant à elles, réalisées en ligne.

Le système ISIS est donc composé d'une vanne six voies (V₁) pouvant passer d'une position « chargement » à une position « injection » et vice-versa. Une pompe péristaltique (A) placée après la colonne permet le chargement des solutions sur la colonne. Le rinçage est effectué en position chargement : les solutions sont injectées sur la colonne puis rejetées vers la poubelle. En effet, ces solutions sont fortement salines (3,4 g.L⁻¹) et ne doivent pas être injectées dans l'ICP-MS au risque de créer des dépôts de sels et de boucher le nébuliseur. En parallèle, la vanne V₁ permet également d'injecter à l'ICP-MS une solution composée d'acide nitrique (w_t= 2 %) dite « carrier » de manière à avoir une injection continue de solution dans l'instrument, sans que cette solution acide soit en contact avec la colonne.

La vanne V₁ passe ensuite en position injection pour l'étape d'éluion des actinides préalablement fixés sur la colonne CH. La solution d'éluion est injectée sur la colonne puis dirigée cette fois vers l'ICP-MS grâce à la pompe péristaltique (B) de l'appareil. En parallèle, le système en amont de la vanne (qui est maintenant découplé de la colonne) peut être alors rincé.

Etat du système		Etat de la vanne V ₁	Etape du protocole	Solution injecté	Volume injecté
Manuel		Chargement	Conditionnement	NaNO ₃	50 mL
				Tampon Acétate	100 mL
			Extraction	Solution d'extraction	Synthétique : 50 mL Urine minéralisée : 50 mL < V < 100 mL
En ligne	t = 0	Chargement	Rinçage	NaNO ₃	10 mL
	t = 180 s	Injection	Elution	Solution d'élution	-
	t = 1980 s		Fin de l'acquisition		

Tableau 25 : Protocole d'extraction en utilisant le système ISIS

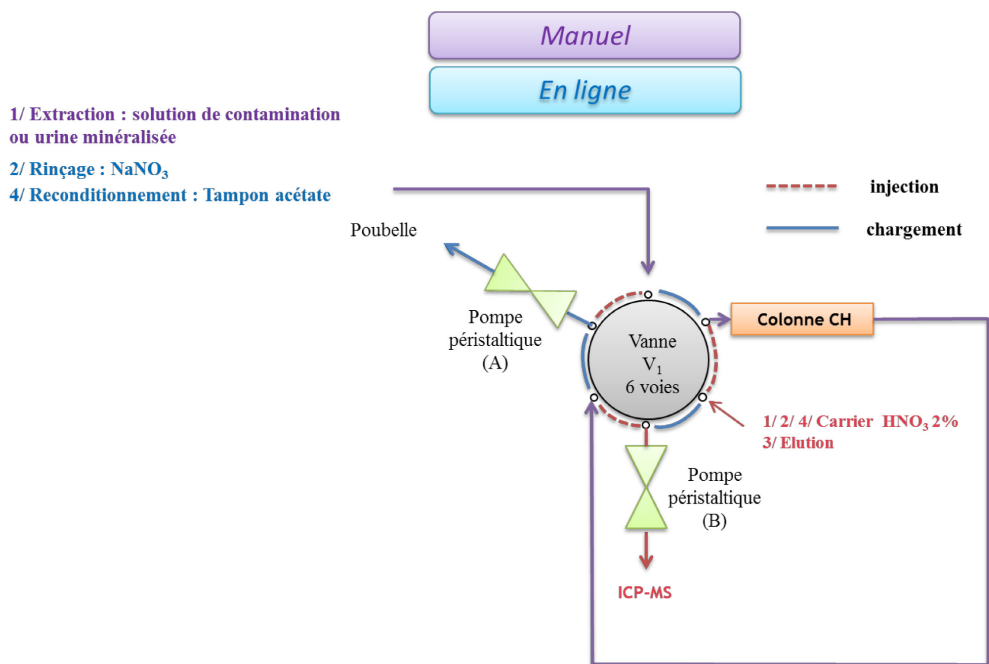
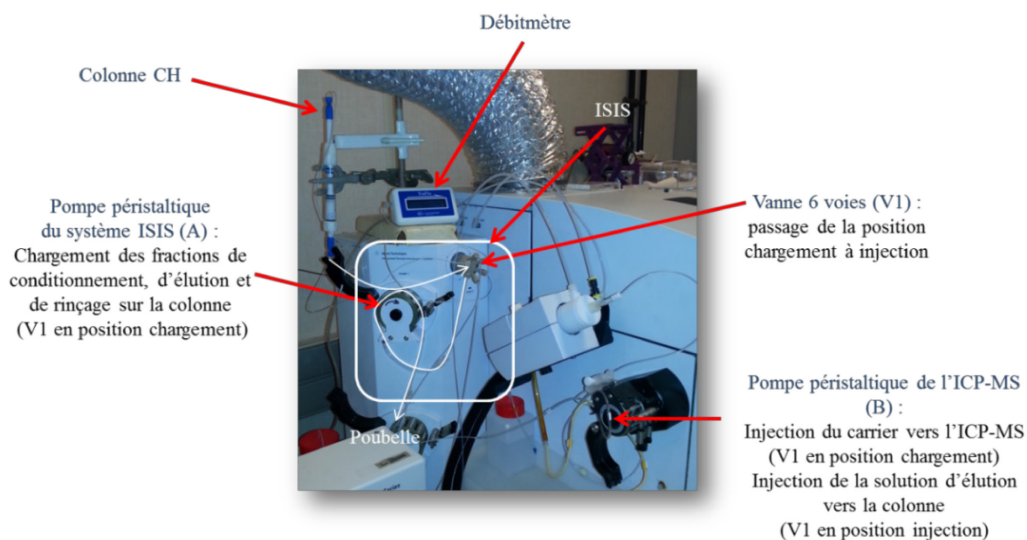


Figure 59 : Schéma du système ISIS pour l'extraction des actinides en ligne par la colonne CH

III.1.2. Validation du système

Le système proposé ici est piloté par le logiciel de l'ICP-MS (Mass Hunter ©) et l'analyse d'un signal transitoire permet l'observation d'un pic chromatographique. Le protocole utilisé est décrit Tableau 25. Ce protocole a été utilisé pour réaliser l'optimisation des paramètres chromatographiques. Auparavant, nous avons voulu le valider. Pour cela, nous avons vérifié que nous obtenions bien un signal pour U et que le temps d'analyse implémenté était suffisant pour observer le pic chromatographique, c'est-à-dire que pour chacune des étapes, les volumes morts étaient bien pris en compte. Pour l'étape de rinçage, le volume de la solution de NaNO_3 à $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ est de 10 mL. Pour cela, avant chaque expérience, lors de l'étape de conditionnement, le temps nécessaire à la récupération de 10 mL en pied de colonne est chronométré. Il est possible d'ajuster le temps de rinçage pour correspondre au passage d'au moins 10 mL de solution. Cette durée est en moyenne de 180 s. Pour l'étape d'élution, le temps de rétention moyen est de 9,5 min et peut s'étaler de 9 à 11 min pour un débit de $0,325 \text{ mL.min}^{-1}$. La durée de l'élution est imposée à 30 min pour faire en sorte d'observer le retour du signal à la ligne de base.

En effet, malgré un remplissage des colonnes en tirant sous vide, le tassage de la résine peut parfois être irrégulier créant ainsi des chemins préférentiels non reproductibles, modifiant ainsi les temps de rétention. Il pourrait être possible de s'affranchir de ces phénomènes par un remplissage industriel, c'est-à-dire en remplissant la colonne en tirant puis en tassant la résine et en répétant l'opération plusieurs fois (Peterson *et al.*, 2007). Pour certains systèmes, il est parfois proposé de faire vibrer la colonne pendant son remplissage de résine afin d'améliorer celui-ci (McCall, 2004).

III.2. OPTIMISATION DES PARAMETRES CHROMATOGRAPHIQUES

III.2.1. Protocole

En parallèle du choix de l'éluant « hors-ligne », nous avons optimisé certains paramètres chromatographiques, à savoir le diamètre de la colonne à utiliser et le débit de l'élution. Pour des raisons de radioprotection, ces paramètres ont été optimisés uniquement sur l'uranium et à partir de solutions de contamination synthétiques, afin d'avoir une extraction reproductible de l'uranium sur la colonne CH.

Pour cela, des solutions de contamination synthétiques dopées avec $[\text{U}] = 1,2 \text{ ppb}$ ont été injectées en ligne sur des colonnes CH conditionnées comme décrit au chapitre II. L'élution a été réalisée en milieu acide nitrique 1 mol.L^{-1} , ces optimisations ayant été réalisées avant que le choix de l'éluant n'ait été arrêté (*cf.* chapitre III). Les pieds d'extraction, de rinçage et d'élution ont ensuite été récupérés afin de déterminer les rendements chimiques de chacune de ces étapes, en réalisant les analyses habituelles (*cf.* chapitre II). Techniquement, pour les fractions d'extraction et de rinçage, les solutions qui sont retrouvées au niveau de la poubelle sont récupérées. Pour la fraction d'élution (qui est injectée directement dans l'ICP-MS), le prélèvement est plus contraignant. Lors d'une analyse par ICP-MS, seul un faible pourcentage de la solution injectée dans le nébuliseur atteint en réalité le plasma (*cf.* annexe). Le reste de la solution est éliminé par le drain de la chambre de nébulisation

(chambre de Scott). Ainsi, il a été possible de récupérer cette solution en débranchant ce dernier. Cependant, utiliser cette méthode a nécessité de s'assurer qu'un effet mémoire dû à la chambre de Scott de l'ICP-MS Agilent 7700x ne créait pas d'interférences au niveau de la mesure. Pour cela, une injection d'acide nitrique ($w_i = 2\%$) a été réalisée dans l'ICP-MS pendant toute la phase de conditionnement de la colonne et d'extraction de la solution (soit pendant 1 h environ) à un débit de $0,325 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pour chacune des fractions récupérées, le rendement en U a été déterminé. Le rendement de récupération moyen est d'environ $(51 \pm 3) \%$ comparé à une analyse réalisée entièrement hors-ligne.

Les pics chromatographiques analysés permettront de déterminer la hauteur de plateau théorique (pour le diamètre) et le nombre de plateaux théoriques (pour le débit). Pour cela, nous utiliserons les équations présentées chapitre I.

III.2.2. Diamètre de la colonne

Nous avons à notre disposition trois types de colonnes Omnifit© de diamètres 6 mm, 10 mm et 15 mm. Ces colonnes sont remplies de 1 g de résine CH et conditionnées comme décrit au chapitre II, entraînant des hauteurs moyennes de lits de colonne de respectivement 9 cm, 3 cm et 1,5 cm. Le débit d'élution est fixé arbitrairement à $1,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La sensibilité est déterminée avant chaque analyse en couplage par l'analyse d'une solution, en direct par ICP-MS (hors-couplage), contenant 1 ppb d'uranium dans HNO_3 ($w_i = 2\%$), afin de normaliser les résultats et ainsi pouvoir les comparer les uns par rapport aux autres. En effet, cette intensité peut varier d'un jour à l'autre suivant l'encrassement de l'appareil. Cette mesure sera par la suite appelée « tune ».

Dans cette étude, les colonnes étant de géométries différentes, il est nécessaire de calculer la hauteur de plateau théorique pour les différents diamètres de colonnes étudiés, afin de les comparer entre elles. De plus, les résultats obtenus doivent être normalisés par rapport à la mesure de « tune » et au rendement de récupération de l'uranium (rendement d'extraction x rendement d'élution). Plus la hauteur de plateau théorique est faible, plus la colonne est efficace.

Les résultats obtenus sont présentés Figure 60.

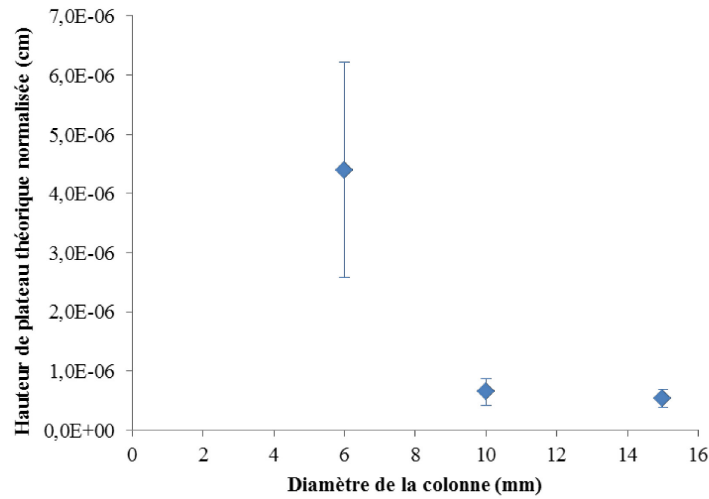


Figure 60 : Variation de la hauteur de plateau théorique normalisée en fonction du diamètre de la colonne

On peut constater que la hauteur de plateau théorique décroît quand le diamètre de la colonne augmente. Les diamètres de 10 et 15 mm donnent les meilleurs résultats tant du point de vue de la hauteur de plateaux théoriques que de la répétabilité. Pour arrêter notre choix quant à la taille de la colonne, nous avons également étudié l'impact qu'avaient ces deux colonnes sur la hauteur du pic chromatographique. Un exemple de chromatogramme obtenu est présenté Figure 61.

Les hauteurs des pics chromatographiques obtenus pour les différents diamètres de colonnes testés sont données Tableau 26. On note ici que pour les différentes géométries étudiées, la hauteur de pic maximale est atteinte pour une colonne de 10 mm de diamètre.

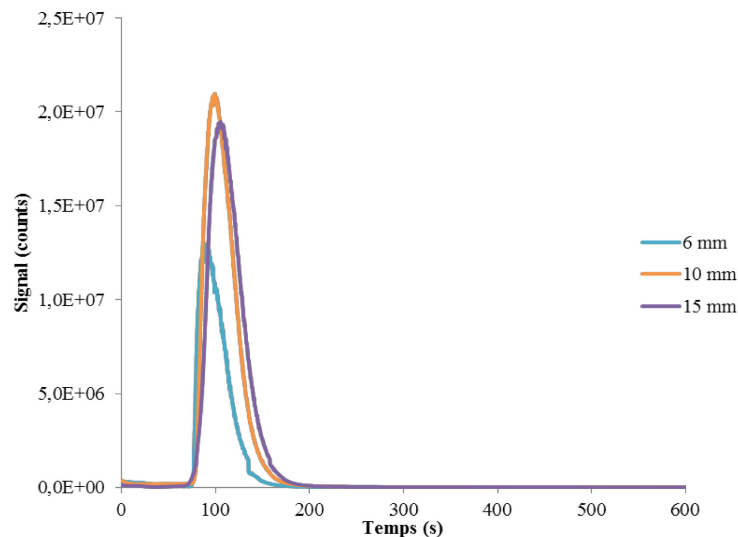


Figure 61 : Exemple de chromatogramme obtenu pour les différents diamètres étudiés. Débit = 1,3 mL.min⁻¹

Diamètre de la colonne	Hauteur de pic normalisée	Ecart-type
6	25	10
10	32	11
15	29	9

Tableau 26 : Variation de la hauteur de pic en fonction de la taille de la colonne

Les temps de rétention obtenus pour un débit de $1,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ sont en moyenne de $(1,5 \pm 0,2) \text{ min}$ pour les différentes géométries étudiées, montrant que ceux-ci sont faiblement impactés par la géométrie de la colonne.

Ainsi, notre choix s'est arrêté sur la colonne de 10 mm de diamètre. On peut observer pour celle-ci, la meilleure intensité de signal ainsi qu'une hauteur de plateau théorique normalisée de 10^6 cm .

III.2.3. Débit d'élution

Une fois la colonne choisie, le débit d'élution doit être optimisé. Dans cette étude, la géométrie des colonnes étant identique le nombre de plateaux théoriques sera calculé pour choisir le débit approprié. Plus ce nombre est important, plus la colonne est efficace.

Les débits utilisés lors de cette étude sont contrôlés à l'aide d'un débitmètre (Glass expansion) monté en aval de la colonne et en amont de l'ICP-MS. Le système est donc composé d'une colonne CH de 10 mm de diamètre conditionnée comme décrit au chapitre II. 50 mL d'une solution de contamination synthétique composée de nitrate de sodium à $0,04 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ et $[\text{U}] = 1,2 \text{ ppb}$ à $\text{pH} = 5,2$, est injectée. L'élution est ensuite réalisée en milieu acide nitrique $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

Un exemple de chromatogramme est présenté Figure 62.

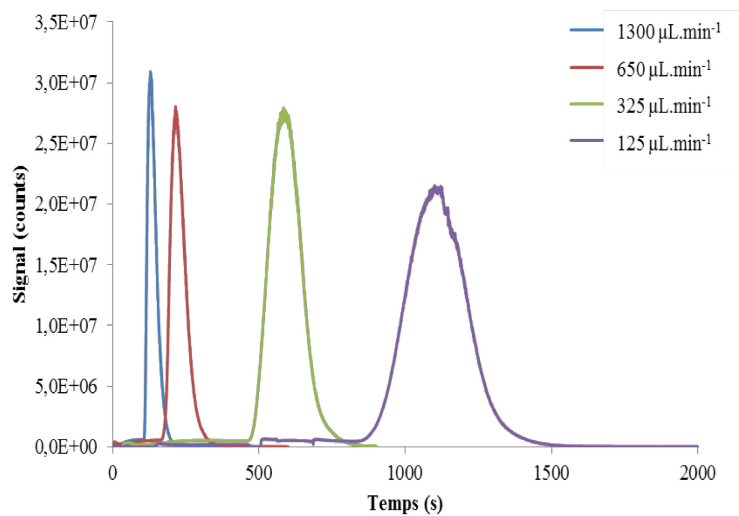


Figure 62 : Effet de la variation du débit d'élution de l'uranium sur la géométrie du pic. $\varnothing_{\text{colonne}} = 10\text{mm}$

L'Equation 9 (rappelée ci-dessous) tient compte d'un facteur d'asymétrie du pic chromatographie qui a lui-même été déterminé pour chacun des débits (Figure 63). Ces résultats montrent que plus le débit augmente moins le pic chromatographique est symétrique. Ainsi, il semblerait au premier abord qu'un débit de $0,125 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ soit le plus adapté.

$$N = 41,7 \frac{\left(\frac{t_R}{\delta}\right)^2}{T + 1,25}$$

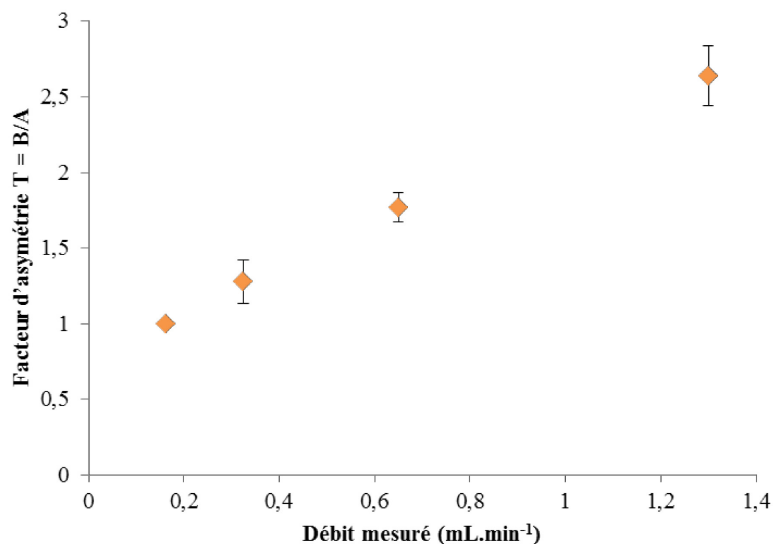


Figure 63 : Facteur d'asymétrie des pics chromatographiques en fonction du débit d'élution de l'uranium. L'effet des débits d'élution sur l'efficacité de la colonne CH a été investigué en calculant le nombre de plateaux théoriques pour chacun des débits d'élution de l'uranium étudié (Figure 64).

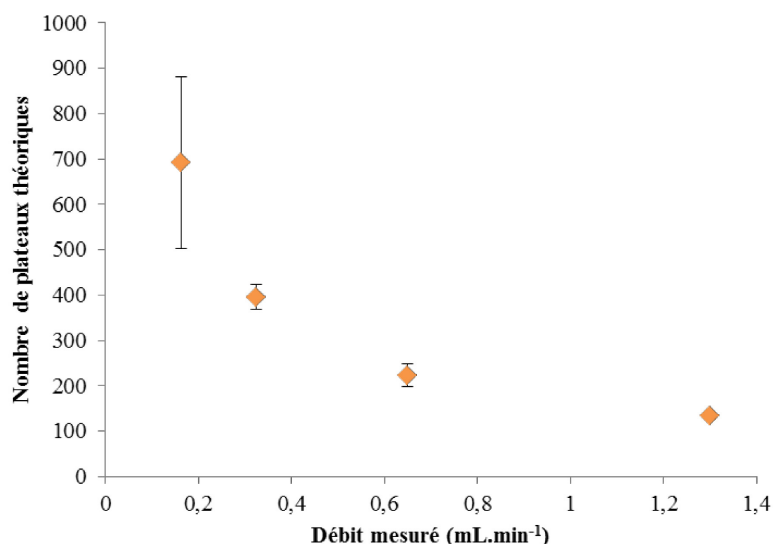


Figure 64 : Variation du nombre de plateaux théoriques en fonction du débit d'élution de l'uranium.

On observe ici que plus le débit diminue plus le nombre de plateaux théoriques augmente. Cependant, on peut également observer une perte de répétabilité pour le débit le plus faible (0,125 mL.min⁻¹). Les débits étant contrôlés par la pompe péristaltique de l'ICP-MS, la question de la compatibilité des débits avec l'analyse ne se pose pas. De plus, nous avons vérifié que dans cette gamme, le débit d'élution n'a pas d'impact sur le rendement d'élution.

Le choix du débit d'élution a été effectué de manière à trouver un compromis entre la durée et l'efficacité de l'analyse. Notre choix s'est porté sur un débit d'élution à 0,325 mL.min⁻¹. Ce débit correspond à un débit usuel de nébulisation utilisé lors des analyses de routine hors-ligne en ICP-MS. Il permet à la fois d'avoir un nombre de plateaux théoriques élevé (400) et un facteur d'asymétrie

proche de 1 (1,28). Ainsi, le temps de rétention moyen de l'uranium sur une colonne de 10 mm de diamètre et pour une élution réalisée à un débit de 0,325 mL.min⁻¹ est de 9 min.

III.2.4. Validation sur U, Pu, Am en solution de contamination synthétique

Les optimisations ont été réalisées précédemment sur des solutions de contamination synthétiques ne contenant que de l'uranium. Ainsi, il est nécessaire de vérifier que celles-ci peuvent être transposées aux deux autres actinides d'intérêt (Pu et Am).

Pour cela, des solutions de contamination synthétiques ont été préparées contenant les trois actinides dans les proportions suivantes:

- [²³⁸U] = 1,2 ppb
- [²³⁹Pu] = 0,37 ppb
- [²⁴³Am] = 0,002 ppb

Les temps de rétention obtenus sont pour U, Pu et Am respectivement de 9,7 min, 9,8 min et 9,4 min pour un débit d'élution de 0,325 mL.min⁻¹ indiquant que les trois actinides ne peuvent pas être discriminés en fonction de leur temps de rétention. La séparation des actinides est donc seulement réalisée au moment de l'analyse par le spectromètre de masse. Un exemple de chromatogramme est représenté Figure 65.

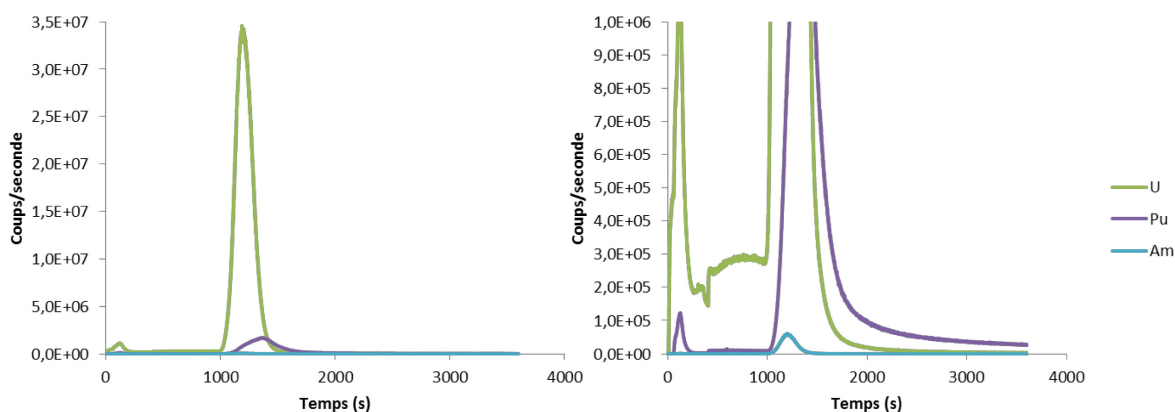


Figure 65 : Exemple de chromatogramme obtenu lors de la co-élution de U, Pu, Am

Les essais réalisés (Tableau 27) permettent d'observer une augmentation du signal d'environ 21 pour l'uranium, de 13 pour le plutonium et de 18 pour l'américium avec les paramètres chromatographiques optimisés, lorsqu'on compare la hauteur des pics chromatographiques au signal mesuré lors de l'analyse d'une solution d'élution obtenue hors-ligne.

	Hauteur de pic chromatographique (cps)	Analyse « hors-ligne » de la fraction d'élution (cps)	Amélioration du signal
U	34 200 918	1 632 217	x 21
Pu	1 644 879	139 276	x 13
Am	51 991	2956	x 18

Tableau 27 : Amélioration du signal apportée par la chromatographie en ligne

L'amélioration du signal est moindre pour Pu que pour U et Am. Ceci, pourrait être expliqué par le fait que les solutions de contamination synthétiques injectées ne permettent pas d'ajuster le état d'oxydation du plutonium. En effet, il a pu être observé lors de ces études que ce dernier présentait un rendement plus faible ($(75 \pm 5) \%$) dans ces solutions synthétiques que dans les urines minéralisées. Une étude de ce phénomène a été réalisée et montre que l'ajout de nitrite de sodium (qui permet la stabilisation du état d'oxydation IV du plutonium dans des solutions de contamination synthétiques) favorisait le rendement d'extraction. Cependant, ce phénomène ne se produit que sur des solutions synthétiques comme cela a été montré chapitre III, l'étape de minéralisation des urines favorisant très probablement la présence de Pu(IV). Le rendement d'extraction du plutonium d'urines réelles par la résine CH est de l'ordre de 91 %.

Il est à noter ici que le rapport des intensités $^{239}\text{Pu}^+ / ^{238}\text{U}^+$ est de l'ordre de $5 \cdot 10^{-2}$. Cela confirme que dans ces proportions la mesure de $^{239}\text{Pu}^+$ n'est pas interférée par la formation de $^{238}\text{UH}^+$. En effet, le rapport $^{238}\text{UH}^+ / ^{238}\text{U}$ est de l'ordre de 10^{-6} .

Le système de couplage semi-automatisé a été optimisé sur l'uranium à l'aide de solutions de contamination synthétiques. L'optimisation des paramètres chromatographiques a permis de choisir le diamètre optimal de la colonne, 10 mm, le débit d'élution, $0,325 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Puis ces paramètres ont finalement été validés pour l'analyse de Pu et Am. Dans ces conditions analytiques, les temps de rétention des trois actinides sont quasiment identiques et leur séparation est donc réalisée par le filtre de masse. La durée totale de la séparation sur la colonne CH est maintenant d'environ 2 heures, en tenant compte du chargement des solutions de conditionnement, d'extraction, de rinçage sur la colonne et en prenant une durée d'élution de 30 min environ. Ce système « semi-automatisé est donc adapté pour réaliser le couplage entre la colonne calix[6]arène CH et l'ICP-MS pour une analyse en situation de crise. Combinée à l'étape de minéralisation développée au chapitre III, la durée totale de cette méthode d'analyse est d'environ 6 h 30 min. Le critère d'analyse en moins de 8 heures est donc respecté.

III.3. CHOIX DE LA METHODE D'ETALONNAGE

Afin de proposer un protocole utilisable en situation de crise nucléaire, il est nécessaire de disposer d'une méthode d'étalonnage qui limite les incertitudes tout en respectant la limite de temps imposée par la situation (durée totale d'analyse inférieure à 8 h minéralisation incluse).

Deux méthodes d'étalonnage peuvent être utilisées dans ces circonstances (cf. chapitre I) :

- L'étalonnage externe est une méthode qui consiste à réaliser la séparation sur colonne pour différentes solutions de concentrations connues. La matrice doit être proche de celle de l'échantillon. Ainsi, pour les solutions de contamination synthétiques, la gamme d'étalonnage peut être réalisée en préparant les solutions étalons dans du NaNO_3 $0,04 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Par contre, pour les urines minéralisées, il n'est pas possible d'avoir une matrice identique à celle de l'échantillon, mais celle-ci peut être simulée en minéralisant une urine non contaminée et en la

dopant avec les actinides. Cette méthode est facile à mettre en œuvre mais peut être entachée d'incertitudes importantes pour la quantification dans les urines, à cause de la difficulté à reproduire la matrice urinaire.

- L'étalonnage à l'aide d'un étalon interne consiste à ajouter dans l'échantillon une quantité connue d'un isotope (appelé traceur) de l'analyte à doser qui n'est pas présent dans l'échantillon. Le traceur peut être ajouté dans l'échantillon urinaire, avant l'étape de minéralisation. Il subira les mêmes transformations chimiques et permettra donc de tenir compte du rendement chimique global (minéralisation et séparation sur la colonne CH), mais aussi de la sensibilité de la mesure ICP-MS. Usuellement, les traceurs utilisés sont ^{233}U pour l'uranium, ^{242}Pu pour le plutonium et ^{243}Am pour l'américium. Cependant des raisons de radioprotection nous ayant contraint à limiter les activités de l'urine, on utilisera ^{243}Am pour doper les échantillons et ^{241}Am pour les tracer.

III.3.1. Etalonnage externe

Un étalonnage externe est réalisé de la façon suivante: 5 solutions de contamination synthétiques étalons à pH = 5,2 sont préparées par pesée avec des concentrations en uranium de 0 ppb, 0,24 ppb, 0,36 ppb, 0,51 ppb, 0,63 ppb. Ces solutions sont ensuite injectées sur des colonnes CH préparées comme décrit au chapitre II. Cette étude ayant été réalisée en parallèle de la détermination de la solution d'élution, celle-ci a été réalisée en milieu chlorure d'hydroxyle ammonium 2,5 g.L⁻¹ [HCl] = 0,2 mol.L⁻¹.

L'intensité des pics chromatographiques est relevée puis normalisée par rapport à la mesure de la solution « tune ». Pour rappel, le « tune » est réalisé hors-ligne par la mesure d'une solution d'uranium [^{238}U] = 1 ppb dans de l'acide nitrique ($w_t = 2\%$) avant chaque analyse en couplage.

La droite d'étalonnage obtenue est présentée Figure 66.

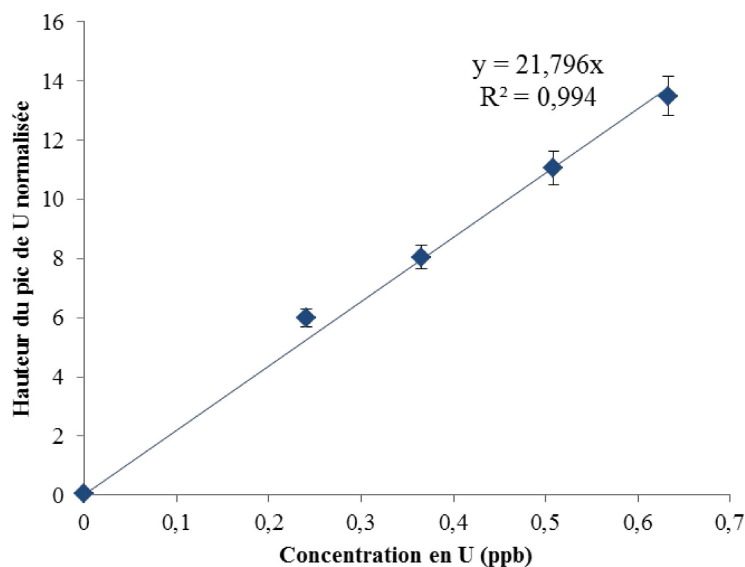


Figure 66 : Etalonnage chromatographique en milieu nitrate de sodium 0,04 mol.L⁻¹

Afin de vérifier la validité de cet étalonnage, une solution de contamination synthétique contenant 0,48 ppb d'uranium a été analysée avec cet étalonnage.

Le signal obtenu en hauteur de pic est de 805 158 coups ce qui, ramené à la sensibilité, donne une hauteur de pic normalisée de 13,71. Cela correspond à une concentration mesurée de 0,63 ppb en uranium. Cette valeur s'écarte de la valeur vraie de 33 %, ce qui représente un biais relativement important. Ce résultat n'est pas satisfaisant. Pour étalonner par la méthode d'étalonnage externe, il est nécessaire de supposer que le rendement de récupération de l'analyse est identique entre les solutions étalons et l'échantillon. Des difficultés d'étalonnage peuvent donc survenir si ce rendement n'est pas parfaitement reproductible ce qui est le cas sur la colonne CH.

Par ailleurs, pour disposer d'un étalonnage externe correct, il est nécessaire de réaliser l'analyse en moyenne de cinq solutions étalons. Le passage de chacune de ces solutions étalons sur le système de couplage semi-automatisé prend deux heures, ce qui donne une durée totale d'analyse de 10 h pour réaliser l'étalonnage uniquement. De plus, les urines étant des matrices complexes, les effets de matrice sont importants et impactent la justesse du résultat final. Cette méthode est donc inadaptée aux situations de crise. Cependant, elle sera utilisée pour déterminer les limites de détection instrumentales en milieu NaNO_3 0,04 mol.L⁻¹ dans le paragraphe suivant.

III.3.2. Etalonnage interne

Pour réaliser un étalonnage interne, une solution de contamination synthétique de 50 mL a été dopée en ²³⁸U (analyte) et ²³³U (traceur) de concentrations respectives [²³⁸U] = 1,14 ppb et [²³³U] = 0,48 ppb. L'objectif est de déterminer la concentration en ²³⁸U à l'aide de la concentration du traceur ²³³U. La solution mère d'uranium-233 est certifiée en isotopie (Tableau 28).

Isotope	²³⁴ U	²³⁵ U	²³³ U	²³⁸ U
pourcentage	0,48060%	0,01797%	98,38317%	1,11826%

Tableau 28 : Extrait du certificat de la solution de ²³³U

Le protocole de séparation optimisé précédemment a été utilisé pour réaliser cette expérience, exceptée l'étape d'élution qui a été également réalisée en milieu chlorure d'hydroxyle ammonium 2,5 g.L⁻¹ [HCl] = 0,2 mol.L⁻¹.

Le chromatogramme obtenu est présenté Figure 67.

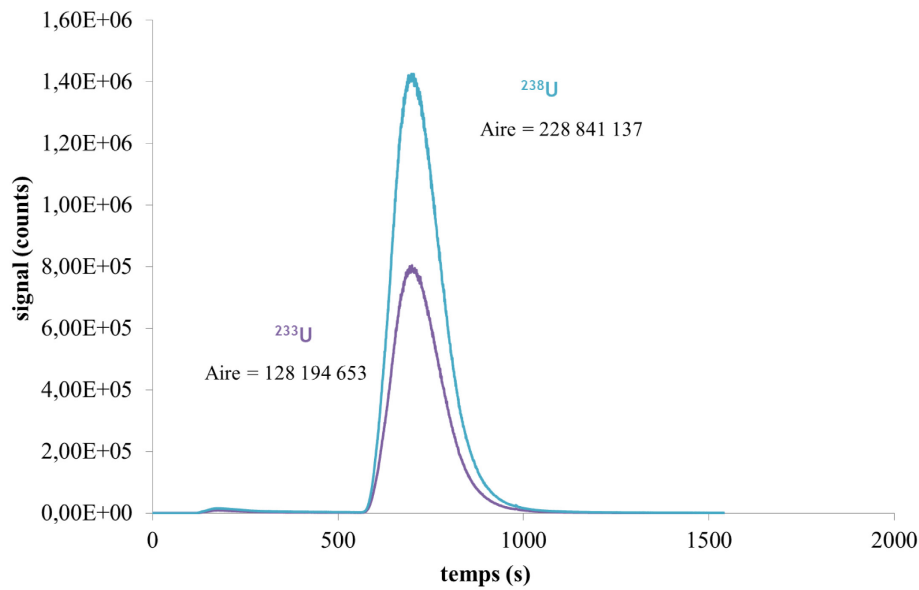


Figure 67 : Chromatogramme obtenu lors de l'analyse d'une solution de contamination synthétique dopée ^{238}U (analyte) et ^{233}U (traceur)

Le rapport $^{238}\text{U}/^{233}\text{U}$ est tout d'abord corrigé de la contribution de ^{238}U apportée par la solution de traceur ^{233}U (Tableau 28), puis du biais en masse. Celui-ci a été déterminé par l'analyse « hors-ligne » d'une solution d'uranium enrichi d'isotopie certifiée (Equation 16). La concentration en ^{238}U obtenue après le calcul est de 1,11 ppb et ne s'écarte de la valeur vraie que de 2,5 %, ce qui est tout à fait acceptable.

Cette méthode permet de réaliser la quantification en ligne des analytes. Ainsi, il n'est pas nécessaire d'analyser d'autres solutions, ce qui permet de conserver un temps total d'analyse inférieur à 8 heures (4 h 30 de minéralisation et 2 h d'analyse par couplage entre la colonne CH et l'ICP-MS).

III.4. LIMITE DE DETECTION INSTRUMENTALES EN ^{238}U

Pour déterminer la limite de détection instrumentale en ^{238}U , une solution de nitrate de sodium $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ à $\text{pH} = 5,2$, non dopée en U est injectée sur une colonne CH (préalablement préparée de manière habituelle). Cette étude ayant été menée en parallèle de celle destinée à choisir la solution d'élution, celle-ci a été réalisée en milieu chlorure d'hydroxyle ammonium $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ $[\text{HCl}] = 0,2 \text{ mol.L}^{-1}$.

La procédure a été répétée 10 fois en changeant la colonne à chaque expérience et le signal mesuré à $m/z = 238 \text{ uma}$, de manière à mesurer la moyenne des 10 mesures de blanc et son écart-type (σ).

La hauteur des pics chromatographiques est relevée puis normalisée à l'aide de la mesure de la solution de « tune ».

Les résultats de l'écart-type sur le blanc donnent : $3\sigma = 0,033$ après normalisation. La limite de détection est calculée à l'aide de l'Equation 28 (MacDougall *et al.*, 1980).

$$LD = \frac{3\sigma}{\text{pente}} \quad \text{Eq. 28}$$

On obtient donc $LD = 1,2 \cdot 10^{-3} \mu\text{g.L}^{-1} = 1,8 \cdot 10^{-2} \text{mBq.L}^{-1}$. Bien qu'il soit difficile de comparer ces deux analyses tant du point de vue de la matrice utilisée que de l'absence de préparation chimique, on peut tout de même noter que les performances brutes de l'appareil permettent d'obtenir une limite de détection pour ^{238}U du même ordre de grandeur que celle obtenue par la méthode d'analyse par ICP-MS après séparation (Figure 20) (Bouvier-Capely *et al.*, 2004).

Le gain obtenu par cette méthode pour les isotopes à vie les plus longues ($T > 10\,000$ ans) ne semble pas significatif par rapport aux mesures par ICP-MS usuelles. Cela peut être dû au fait que pour certains éléments, présents naturellement dans les urines, l'augmentation du signal s'accompagne également d'une augmentation du bruit de fond. Les limites de détection pour l'uranium sont cependant suffisamment basses pour une utilisation en situation de crise. De plus ces résultats pourraient être comparés également à ceux obtenus par Hang et collaborateurs (Hang *et al.*, 2004), malgré le fait que les matrices ne soient pas identiques. En effet, ces auteurs n'utilisent pas de préparation chimique des urines avant l'injection sur la colonne. Ils obtiennent pour un volume d'injection de 25 mL, une limite de détection en ^{238}U égale à $2,5 \cdot 10^{-2} \text{mBq.L}^{-1}$. Les résultats obtenus ici sont du même ordre de grandeur.

Cependant cette limite de détection ne tient pas compte de la préparation chimique, les limites de détection de la méthode complète seront développées au chapitre suivant afin d'être comparées aux données de la littérature.

III.5. CONCLUSION

La limite de détection instrumentale déterminée en milieu NaNO_3 $0,04 \text{mol.L}^{-1}$ pour l'uranium-238 et obtenue en couplant la colonne CH à un ICP-MS est de $1,8 \cdot 10^{-2} \text{mBq.L}^{-1}$.

Cette étude a permis de valider l'étalonnage interne. C'est une méthode d'étalonnage adaptée à une utilisation en situation de crise car celle-ci ne nécessite que l'analyse de l'échantillon urinaire auquel on a rajouté au préalable un traceur isotopique de l'analyte recherché qui n'est pas présent dans l'échantillon. De plus la justesse de cette méthode d'étalonnage a pu être déterminée lors de l'analyse d'une solution de contamination synthétique dopée à la fois en quantité connues de ^{233}U et ^{238}U . La concentration en ^{238}U dans la solution ainsi déterminée par la mesure présentait un écart à la valeur cible de 2,5 %.

L'étalonnage externe, quant à lui, est utile pour la détermination des limites de détection, mais présente l'inconvénient majeur de nécessiter au moins 2 heures par point d'étalonnage. Par ailleurs il dépend du rendement de récupération de l'analyte, ce qui le rend peu fiable. Il doit de plus être adapté à la matrice de l'échantillon dans lequel est réalisée la mesure. Ainsi, pour l'analyse d'échantillons urinaires, celui-ci doit être réalisé dans une urine dite « blanche », c'est-à-dire exempte de tout actinide qui sera dopée avec les actinides puis minéralisée avant son passage sur le système de couplage pour son analyse en ligne par l'ICP-MS. Ce n'est donc pas une méthode adaptée à une situation de crise et à l'analyse de matrices complexes.

IV. APPLICATION AUX ANALYSES RADIOTOXICOLOGIQUES

IV.1. LIMITES DE DETECTION DE LA METHODE

Afin de déterminer les limites de détection de la méthode complète, des solutions appelées «blancs réactifs» ont été préparées afin de prendre en compte la contribution des réactifs utilisés pour la minéralisation des échantillons urinaires. Pour cela, le protocole de minéralisation (*cf.* annexe) est modifié en remplaçant l'urine par de l'eau milliQ. Celle-ci étant totalement déionisée, une modification est apportée au protocole pour pouvoir précipiter des phosphates de calcium. Des ions Ca^{2+} et PO_4^{3-} ont donc été ajoutés avant l'étape de co-précipitation (étape 3, Figure 38). La minéralisation par voie humide est dans ce cas réalisée sans reflux jusqu'à réduire le volume à 200 mL environ, puis 500 μL de H_3PO_4 ($w_t = 85\%$) et 10 mL de CaCl_2 (88 g.L^{-1}) sont ajoutés à la solution. Le pH est ensuite remonté à $\text{pH} \approx 9$ à l'aide d'eau ammoniacale ($w_t = 20\%$) pour précipiter les phosphates de calcium. Le protocole de minéralisation usuel est repris à partir de ce point (étapes 4 et 5, Figure 38). Ce protocole est réalisé 10 fois de manière à pouvoir déterminer l'écart-type sur ces blancs réactifs.

Pour déterminer les limites de détection dans les urines en U, Pu et Am, un étalonnage externe dans une matrice urinaire est réalisé en préparant des étalons à partir d'un mélange d'urines non contaminées, redivisé en échantillons de 1 L qui vont subir la totalité du protocole de minéralisation. Les urines minéralisées sont rassemblées afin d'être homogénéisées puis redivisées en aliquotes de 35 mL. Pour éviter les risques de variabilité sur les concentrations des étalons, les aliquotes sont alors dopés avec différentes concentrations en actinides, puis laissés à agiter pendant 24 h, afin de stabiliser leur états d'oxydation et notamment celui de Pu et ainsi s'affranchir des risques de variabilité des rendements. Chaque étalon est ensuite dilué deux fois dans de l'eau milliQ puis le pH est ajusté à environ 5,2 avec de l'eau ammoniacale avant d'être injecté sur le système de couplage pour l'analyse. La pente obtenue permet de déterminer la sensibilité du signal ICP-MS en U, Pu et Am dans une matrice urinaire. Les droites d'étalonnages ont été réalisées dans les urines pour tenir compte de la sensibilité dans ce milieu.

Le signal obtenu en hauteur de pic est normalisé par rapport au signal de la solution «tune». Les étalonnages réalisés, les moyennes et écarts types sur les blancs sont présentés Tableau 29.

Equations des droites d'étalonnage	Moyenne de la hauteur du pic du blanc	3σ normalisé
$S(^{238}\text{U}) = 31,102 \times [^{238}\text{U}]$ $R^2 = 0,9837$	348 374	5,84
$S(^{239}\text{Pu}) = 21,164 \times [^{239}\text{Pu}]$ $R^2 = 0,9834$	410	$1,06 \cdot 10^{-2}$
$S(^{243}\text{Am}) = 92,9524 \times [^{243}\text{Am}]$ $R^2 = 0,9909$	18	$2,04 \cdot 10^{-4}$

Tableau 29 : Résultats obtenus lors de la mesure des blancs réactifs pour déterminer les limites de détection dans les urines minéralisées

En utilisant l'Equation 28, les limites de détection obtenues sont donc :

- $LD(^{238}\text{U}) = 7,4 \cdot 10^{-4} \mu\text{g.L}^{-1} = 9,2 \cdot 10^{-3} \text{mBq.L}^{-1}$
- $LD(^{239}\text{Pu}) = 1,7 \cdot 10^{-6} \mu\text{g.L}^{-1} = 3,8 \text{mBq.L}^{-1}$
- $LD(^{243}\text{Am}) = 7,8 \cdot 10^{-9} \mu\text{g.L}^{-1} = 5,7 \cdot 10^{-2} \text{mBq.L}^{-1}$

Compte tenu du signal obtenu en américium-243 sur les blancs, on peut supposer que le signal en américium-241 est similaire. Ainsi, pour pouvoir discuter, les limites de détection en américium, les LD massiques obtenues en ^{243}Am seront converties en activités à l'aide de l'activité spécifique en ^{241}Am . On considèrera donc que :

- $LD(^{241}\text{Am}) = 7,8 \cdot 10^{-9} \mu\text{g.L}^{-1} = 9,9 \cdot 10^{-1} \text{mBq.L}^{-1}$

Le Tableau 30 résume les analyses réalisées par couplage LC-ICP-MS pour des analyses d'actinides dans les urines et les limites de détection obtenues.

Uranium-238

Pour l'uranium, ces limites de détection sont du même ordre de grandeur que celles obtenues avec un système de couplage similaire, c'est-à-dire utilisant simplement un ICP-MS quadripolaire (Hang *et al.*, 2004). On peut cependant noter que celles-ci peuvent être abaissées avec l'utilisation d'un appareil à secteur magnétique (Benkhedda *et al.*, 2005). Tolmachyov et collaborateurs (Tolmachyov *et al.*, 2004), proposent une méthode qui n'utilise que 5 mL d'urines fraîches diluées dans l'eau pour un volume final de 18 mL et un ICP-MS quadripolaire pour la mesure. Les limites de détection présentées sont inférieures à celles obtenues par notre méthode. Cela peut être expliqué par le fait que notre méthode met en œuvre de nombreux produits chimiques qui peuvent augmenter le bruit de fond chimique et donc augmenter la limite de détection.

Plutonium-239

Pour le plutonium-239, trois cas de figure se présentent. Les limites de détection obtenues par la méthode mise en œuvre ici sont soit du même ordre de grandeur que celles de littérature (Epov *et al.*, 2005), soit inférieures (Hang *et al.*, 2004), soit supérieures (Lariviere *et al.*, 2008).

Epov et collaborateurs (Epov *et al.*, 2005) proposent une limite de détection du même ordre de grandeur que celle obtenue lors notre étude. Dans ce cas, les auteurs ont utilisé un appareil à secteur magnétique et ont combiné son utilisation à un désolvateur (APEX) à celle de la chambre de collision réaction avec du CO_2 . L'intérêt d'utiliser un désolvateur permet non seulement de limiter l'interférence $^{238}\text{UH}^+ / ^{239}\text{Pu}^+$ mais également d'exacerber le signal. Cette interférence est également limitée par l'emploi du CO_2 dans la cellule de collision/réaction. Cependant, l'emploi d'un volume de 10 mL d'urine fraîche a un impact négatif sur la limite de détection.

La méthode mise en place dans notre étude donne des limites de détection inférieures à celles obtenues par Hang et collaborateurs (Hang *et al.*, 2004). L'instrument de mesure utilisé est le même (ICP-MS quadripolaire) mais un volume de 25 mL d'urine non traitée est injecté sur la colonne ne permettant

pas de tenir compte du facteur de concentration lié à la préparation chimique. Cela démontre donc toute l'importance du rôle de la préparation chimique dans l'abaissement des limites de détection.

Finalement, Larivière et collaborateurs (Lariviere *et al.*, 2008) ont présentés deux limites de détection qui sont inférieures à celles obtenues dans notre étude. Dans ce troisième cas, l'appareil utilisé est un appareil à secteur magnétique. Le protocole de couplage développé dans cette thèse peut être comparé à la méthode dite « opérationnelle ». Les résultats montrent l'impact direct de l'appareillage employé (SF-ICP-MS) pour abaisser les limites de détection.

Cette disparité entre les résultats obtenus est due à la différence d'appareillage et de préparation d'échantillon. Cette comparaison montre une fois de plus l'importance et le rôle de cette préparation chimique pour abaisser les limites de détection. Cependant, comme il a été mentionné au chapitre I l'utilisation d'un appareil à secteur magnétique est difficile en situation de crise, à cause de sa complexité d'utilisation et du coût initial de l'appareil.

Américium-241

La limite de détection obtenue dans cette étude est inférieure à celle obtenue par Hang et collaborateurs (Hang *et al.*, 2004). Cependant, ces auteurs injectent 25 mL d'une urine fraîche, ils ne tiennent donc pas compte d'un facteur de concentration lié à un phénomène de précipitation qui pourrait expliquer cette différence.

Les limites de détection obtenues par les méthodes rapides utilisant la spectrométrie alpha (Maxwell and Culligan, 2009; Li *et al.*, 2010; Shi *et al.*, 2011) pour tous les isotopes mesurés, sont supérieures à celles obtenues par les méthodes de couplage LC-ICP-MS y compris celles obtenues lors de cette étude. Ainsi, cela montre l'intérêt de cette méthode de couplage pour une analyse en situation de crise.

IV.2. DETERMINATION DE LA DOSE ASSOCIEE AUX LIMITES DE DETECTION

Pour vérifier que le système mis en place ici est bien utilisable en situation de crise deux critères doivent être respectés : la durée (< 8 heures) et des limites de doses correspondant aux activités mesurées dans les urines. La première contrainte a été respectée grâce à la réduction du temps de minéralisation et le choix de l'étalonnage interne. Ainsi, pour valider ces résultats les diagrammes TIARA (Ménétrier *et al.*, 2007) (présentés chapitre I et représentés en annexe) vont être utilisés. Ce choix a été fait car le « TMT handbook » (Rojas-Palma *et al.*, 2009) les recommande en situation de crise. Les diagrammes TIARA, prennent en compte le modèle d'inhalation et mettent en œuvre à la fois l'hypothèse la plus pénalisante et la plus favorable, en ce qui concerne la composition des particules (diamètre, solubilité, ...).

Si on prend une valeur moyenne d'excrétion journalière de 1,4 L d'urine, on peut convertir les limites de détection obtenues en activités détectables dans les échantillons d'urine, avec notre méthode de couplage :

- $LD(^{238}\text{U}) = 1,0 \times 10^{-3} \mu\text{g}\cdot\text{j}^{-1} = 1,3 \cdot 10^{-1} \text{mBq}\cdot\text{j}^{-1}$
- $LD(^{239}\text{Pu}) = 2,4 \times 10^{-6} \mu\text{g}\cdot\text{j}^{-1} = 5,3 \text{mBq}\cdot\text{j}^{-1}$
- $LD(^{241}\text{Am}) = 1,1 \times 10^{-8} \mu\text{g}\cdot\text{j}^{-1} = 1,4 \text{mBq}\cdot\text{j}^{-1}$

Les limites de détection obtenues pour ^{238}U sont donc tout à fait acceptables pour une analyse en situation de crise. En effet, quelle que soit la date de prélèvement de l'échantillon urinaire après l'incorporation, la dose reste inférieure à 1 mSv.

Pour le plutonium, les doses correspondant aux LD sont élevées. En effet, si la mesure est réalisée sur des urines prélevées une journée après incorporation, les doses peuvent déjà être supérieures à 20 mSv mais sont inférieures à 200 mSv. Passé ce délai, la dose peut être supérieure à 200 mSv. Il serait donc nécessaire de chercher à abaisser les limites de détection pour le plutonium-239.

En ce qui concerne l'américium, ^{241}Am est l'isotope qui pose le plus de problème du point de vue de la radioprotection : si le prélèvement est réalisé jusqu'à un mois après l'incorporation la dose reçue est inférieure à 200 mSv mais celle-ci peut être supérieure à 20 mSv.

IV.3. CONCLUSION

Les limites de détection obtenues avec le système de couplage semi-automatisé sont inférieures à celles obtenues par les méthodes rapides mettant en œuvre des temps de comptage courts par spectrométrie alpha (Maxwell and Culligan, 2009; Dai and Kramer-Tremblay, 2011).

En ce qui concerne la dose reçue, pour l'uranium celle-ci est inférieure à la limite de dose pour le public, en situation normale. Pour l'américium, les doses sont inférieures à 200 mSv et nécessiteraient, en situation de crise, d'effectuer un calcul de dose plus précis. Même si en termes de limites de détection en activité, le gain du couplage est significatif par rapport aux mesures rapides par spectrométrie alpha; biologiquement celles-ci peuvent être supérieures à la limite de linéarité des effets stochastiques et à la limite de ce que les équipes américaines appellent la limite de traitement soit 0,1 Sv (Li et al., 2010).

Pour le plutonium la dose reçue associée aux limites de détection est encore trop élevée pour correspondre aux limites imposées par la législation. Il serait nécessaire de calculer les doses exactes avec un scénario défini, pour savoir dans quelles proportions ces LD devraient encore être améliorées. Cependant ces limites de détection pourraient correspondre à un critère de référence, si les doses étaient inférieures à la limite de traitement médical (0,1 Sv).

Chapitre IV : Couplage

Auteurs	Type d'ICP-MS	Options	Radioéléments : LD	Volume injecté	Colonnes utilisée	Préparation de l'échantillon
Benkhedda <i>et coll.</i> (Benkhedda <i>et al.</i> , 2005)	SF ⁶	APEX ⁷	²³⁸ U : 2,48.10 ⁻⁴ mBq.L ⁻¹ ²³² Th : 1,23.10 ⁻³ mBq.L ⁻¹	10 mL	TRU	10 mL urine fraîche Digestion directe au four à micro-ondes
Charlton <i>et coll.</i> (Charlton <i>et al.</i> , 2013)	Q ⁸	APEX	²³⁸ U, ²³² Th, ²³⁷ Np, ²⁴² Pu, ²⁴¹ Am :	15 mL	TRU	Urine synthétique Matière inorganique et organique (urée) 30 mL d'urine fraîche dans HNO ₃ 3M Vf = 50 mL
Larivière <i>et coll.</i> (Lariviere <i>et al.</i> , 2008) :	« urgence » SF « routine »	-	²³⁹ Pu : 2,1.10 ⁻¹ mBq.L ⁻¹ ²⁴⁰ Pu : 1,9.10 ⁻¹ mBq.L ⁻¹ ²³⁹ Pu : 1,3.10 ⁻² mBq.L ⁻¹ ²⁴⁰ Pu : 1,5.10 ⁻² mBq.L ⁻¹	50 mL 10 mL	TEVA	1 L d'urine fraîche, co-précipitation par les phosphates de calcium, redissolution du précipité dans HNO ₃ Vf = 10 mL (FC = 100)
Tolmachyov <i>et coll.</i> (Tolmachyov <i>et al.</i> , 2004)	Q	-	²³⁵ U : 1,12.10 ⁻⁴ mBq.L ⁻¹ ²³⁸ U : 6,20.10 ⁻⁴ mBq.L ⁻¹ ²³² Th : 4,88.10 ⁻⁴ mBq.L ⁻¹ ²³⁹ Pu : 4,4 mBq.L ⁻¹ ²⁴⁰ Pu : 16 mBq.L ⁻¹	18 mL	UTEVA	5 mL d'urine fraîche diluée. Vf = 18 mL
Epov <i>et coll.</i> (Epov <i>et al.</i> , 2005)	Q	+APEX + Cellule de collision Réaction avec CO ₂	²⁴¹ Pu : 7,2x10 ³ mBq.L ⁻¹ ²⁴² Pu : 0,28 mBq.L ⁻¹ ²⁴⁴ Pu : 1,3.10 ⁻³ mBq.L ⁻¹	10 mL	TRU	10 mL d'urine fraîche, digestion en milieu HNO ₃ /H ₂ O ₂ , évaporation à sec, reprise dans 10 mL.
Hang <i>et coll.</i> (Hang <i>et al.</i> , 2004)	Q	-	²³² Th : 9,43 mBq.L ⁻¹ ²³⁸ U : 0,025 mBq.L ⁻¹ ²³⁷ Np : 0,52 mBq.L ⁻¹ ²³⁹ Pu : 343 mBq.L ⁻¹ ²⁴¹ Am : 19,1 Bq.L ⁻¹	25 mL	TRU	Pas de traitement
Notre étude	Q	-	²³⁸ U : 9,2.10 ⁻³ mBq.L ⁻¹ ²³⁹ Pu : 3,8 mBq.L ⁻¹ ²⁴¹ Am : 9,9.10 ⁻¹ mBq.L ⁻¹	~100 mL	CH	1 L d'urine fraîche, co-précipitation par les phosphates de calcium, redissolution du précipité dans HNO ₃ /H ₂ O ₂ . Vf ≈ 100 mL (FC _{chimique} = 10)

Tableau 30 : Résumé des différentes études de couplage comparables à ces travaux de thèse

⁶ SF : Sector Field : Secteur magnétique

⁷ APEX : Nébuliseur désolvateur

⁸ Quadripole

V. DEVELOPPEMENT DU SYSTEME AUTOMATISE

V.4. MISE EN PLACE ET PRESENTATION DU SYSTEME

En situation de crise, il serait préférable de travailler avec un système complètement automatisé de manière à limiter les interventions de l'opérateur. Dans cette perspective un nouveau schéma de couplage a été proposé afin de permettre l'automatisation de la totalité des étapes du protocole de séparation sur la colonne CH (conditionnement, extraction, rinçage, élution). Le système développé est composé d'une pompe isocratique et d'une pompe quaternaire, d'une vanne douze voies jouant le rôle de passeur d'échantillons et d'une vanne 6 voies-2 positions (chargement/injection). Le schéma de principe est présenté Figure 68.

Bien qu'il existe de nombreux systèmes entre un système HPLC et un ICP-MS, un appareil du commerce n'a pas pu être mis en œuvre ici. En effet, dans cette étude, les volumes injectés sur la colonne CH, lors des phases de conditionnement, de rinçage et d'extraction (*cf.* chapitre III) sont compris entre 10 et 100 mL. Or, le passeur d'échantillon d'une chaîne HPLC limite le volume à quelques millilitres, ce qui n'est pas compatible avec les volumes envisagés dans notre étude.

La vanne 12 voies (V_1), joue le rôle de passeur d'échantillons. Les voies 11 et 12 de cette vanne sont prévues pour l'injection respectivement de solutions de nitrate de sodium $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$ (C et R, chapitre II,) et de tampon acétate (C). Les voies 1 à 10 sont reliées chacune à un échantillon urinaire différent. La pompe isocratique (P_1) permet l'injection successive des solutions de conditionnement à débit constant puis des urines minéralisées et enfin de la solution de rinçage sur la colonne.

La vanne 6 voies (V_2) est une vanne 2 positions (injection ou chargement). La première position permet de charger les solutions C, F et R sur la colonne CH, la sortie étant connectée à la poubelle. En effet, ces solutions sont chargées en sels, cela permet d'éviter un encrassement de l'ICP-MS. Pendant ce temps, la pompe quaternaire (P_2) injecte la solution carrier (HNO_3 $w_t = 2\%$) directement dans l'ICP-MS (voie A). La position injection permet de réaliser l'élution des actinides extrait par la colonne CH dont la sortie est, cette fois, connectée à l'ICP-MS à l'aide de la pompe P_2 afin de réaliser l'analyse en ligne. En parallèle, le système en amont de la vanne V_2 est rincé pour limiter les effets mémoire lors de l'analyse suivante. Si cela est nécessaire, la pompe quaternaire (P_2) peut permettre de réaliser un gradient d'élution.

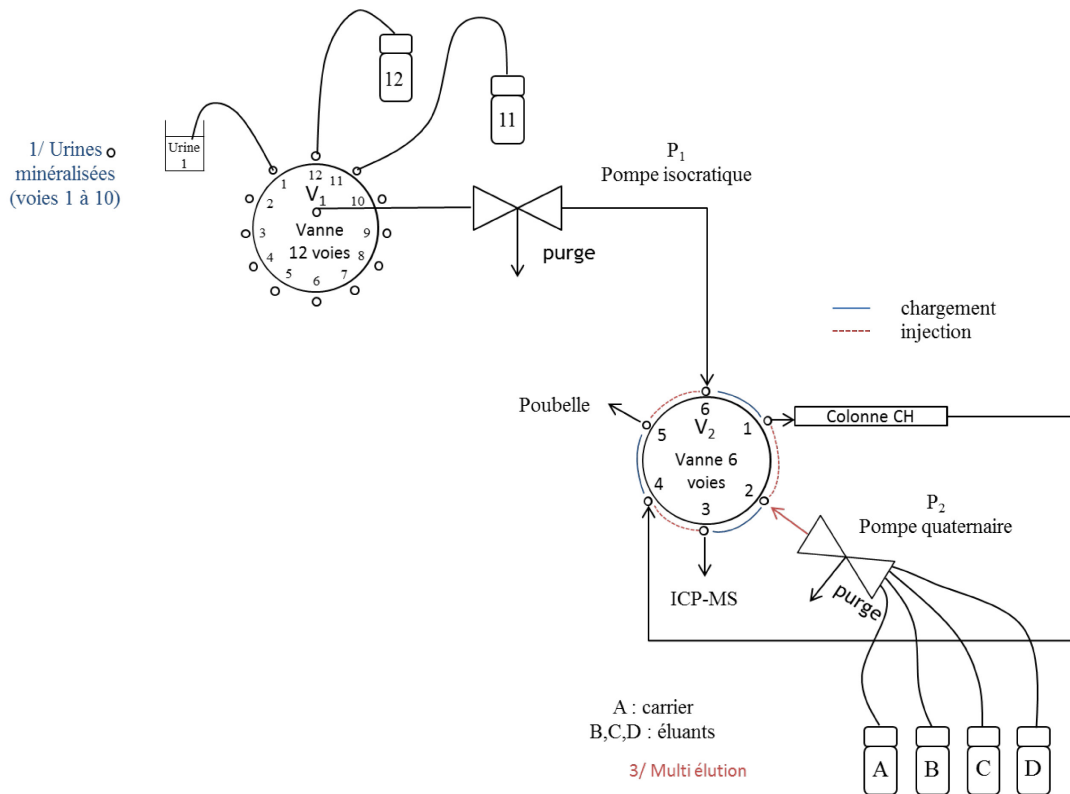


Figure 68 : Schéma du montage complètement automatisé

Les différentes étapes du protocole d'utilisation de ce système automatisé entre la colonne CH et l'ICP-MS sont décrites Tableau 31. Les volumes morts ont été déterminés de façon à ajuster les durées des étapes du protocole.

t (min)	Etape du protocole	Vanne 1	Vanne 2	Pompe 1	Pompe 2
0	Conditionnement	11	Chargement	5 mL.min ⁻¹	A : 0,325 mL.min ⁻¹
20		12	Chargement	5 mL.min ⁻¹	A : 0,325mL.min ⁻¹
40	Chargement de l'urine	1	Chargement	5 mL.min ⁻¹	A : 0,325 mL.min ⁻¹
60	Rinçage	11	Chargement	5 mL.min ⁻¹	B : 0,325 mL.min ⁻¹
90	Elution	11	Injection	1 mL.min ⁻¹	B : 0,325 mL.min ⁻¹
120	Fin de l'acquisition				

Tableau 31 : Proposition de protocole pour le couplage automatisé

V.5. ETUDES PRELIMINAIRES

Afin de valider ce protocole automatisé, nous avons voulu vérifier que les paramètres chromatographiques optimisés sur le système semi-automatisé pouvaient être transposés au système automatisé.

Nous avons donc reproduit dans les mêmes conditions, l'expérience d'optimisation du diamètre de la colonne. Les résultats obtenus sont représentés Figure 69, chaque expérience ayant été dupliquée.

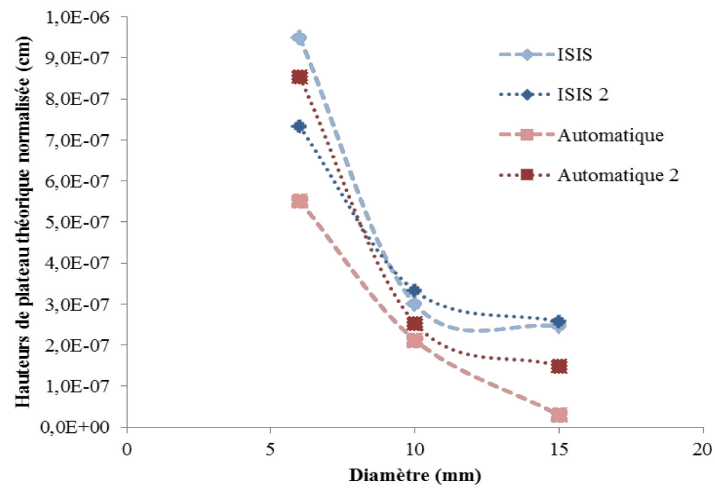


Figure 69 : Comparaison des hauteurs de plateaux théoriques normalisée entre le système automatisé et semi-automatisé

On peut constater que les optimisations obtenues sur le système semi-automatisé sont transposables au système complètement automatisé. Ainsi, une colonne de 10 mm de diamètre permet la meilleure répétabilité, pour une hauteur de plateau théorique similaire aux études précédentes.

VI. CONCLUSION

Cette étude a permis de mettre en œuvre un système d'analyse en ligne des actinides par couplage entre une colonne calix[6]arène et un spectromètre de masse à plasma induit. Ainsi, les temps d'analyses de solutions synthétiques a été réduit à 2 h. En effet, si on réalise un étalonnage interne, les actinides présents dans la solution peuvent être quantifiés. L'évaluation de la justesse de cette méthode a montré un biais de 2,5 % à la valeur vraie en ^{238}U . Sur un échantillon de solution de contamination synthétique (NaNO_3 $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$). Les limites de détection obtenues avec ce système pour l'uranium sont du même ordre de grandeur que lors d'une analyse par ICP-MS après séparation hors-ligne ($0,31.10^{-3} \text{ mBq.L}^{-1}$). La comparaison reste cependant difficile entre ces deux techniques car les matrices sont différentes et la limite de détection obtenue ne tient pas compte d'une préparation chimique. Cela montre bien que la mesure de l'uranium est impactée par une augmentation du bruit de fond car il est naturellement présent dans l'environnement.

Les limites de détection de l'analyse complète de U, Pu, Am par le couplage semi-automatisé, ont été déterminées, après le traitement chimique de l'urine. Pour ^{238}U et ^{243}Am , celles-ci sont inférieures à celles obtenues par les analyses de routine utilisant la spectrométrie alpha Pour ^{239}Pu , les limites de détection restent cependant supérieures à celles des analyses de routine. Ainsi, on a pu convertir les limites de détection massiques en activité, en tenant compte de l'activité spécifique des différents isotopes. Pour l'américium la conversion a été effectuée avec celle de ^{241}Am car celui-ci est le plus pénalisant au niveau radioprotection tout en ayant un comportement similaire à celui de ^{243}Am . Les activités ont ensuite été converties en doses grâce aux diagrammes TIARA montrant que pour ^{238}U les limites de détection obtenues permettaient non seulement de répondre à une situation de crise mais aussi de respecter les limites de doses nécessaires pour des analyses de routine. Pour ^{239}Pu et ^{241}Am les doses obtenues restent élevées ($> 20 \text{ mSv}$ potentiellement) et nécessiteraient un calcul plus approfondi, en situation de crise. Il sera nécessaire de chercher à abaisser ces limites de détection.

Ces résultats nous permettent de proposer un protocole global d'une durée d'environ 6 heures (dont 4 h 30 de minéralisation), dont les performances montrent que ce type de couplage permettrait de répondre plus rapidement à une situation de crise où de nombreuses personnes pourraient être potentiellement contaminées.

Les premières études visant à entièrement automatiser le protocole ont été réalisées et montrent que les optimisations réalisées sur le système ISIS pouvaient y être transposées. Elles devront par la suite être vérifiées sur le protocole global et les limites de détection validées.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

En cas d'acte de malveillance ou de crise nucléaire, des actinides pourraient être relâchés dans l'atmosphère ou contaminer le réseau d'eau potable. La population risquerait donc de les inhaler ou les ingérer. Devant le grand nombre de victimes potentielles, il est donc nécessaire de disposer d'une méthode d'analyse rapide qui permette de détecter ces actinides dans les urines car les émetteurs alpha sont difficilement analysables par des mesures *in vivo*.

Ainsi, cette thèse avait pour objectif de mettre au point un système de couplage entre une colonne, à base de dérivés de calix[6]arène, développée au Laboratoire de Radiochimie de l'IRSN, et l'ICP-MS pour l'analyse en ligne de l'uranium, du plutonium et de l'américium dans les urines. Afin de pouvoir répondre à une situation de crise, la durée totale de traitement de l'échantillon et de l'analyse ne devrait pas excéder 8 heures.

Tout d'abord, nous avons cherché à déterminer les caractéristiques physico-chimiques de la résine afin de mieux comprendre son comportement lors des différentes phases de son utilisation. Ainsi, nous avons pu mesurer la masse volumique ainsi que la granulométrie des résines CH et CC disponibles au laboratoire. Ces résultats ont permis de mettre en évidence que la solution d'imprégnation contenant le calix[6]arène pénétrait très probablement les pores du polystyrène divinylbenzène. Par ailleurs, nous avons tenté d'appréhender, par spectroscopie infra-rouge, le comportement du calix[6]arène lorsque celui-ci est dissous dans l'heptanol puis imprégné sur le polystyrène divinylbenzène pour former la résine de chromatographie. Si nous avons pu obtenir et discuter les spectres des calix[6]arènes seuls, la faible concentration de ceux-ci sur la résine a entraîné l'impossibilité de conclure sur le comportement de ces derniers lors de l'imprégnation. Le comportement des résines lors de leur utilisation est de prime importance, afin de déterminer s'il sera possible à terme de les réutiliser. Ainsi, nous avons étudié la déformulation du solvant d'imprégnation (l'heptanol) lors de la phase de mouillage de la résine avec le milieu MeOH/NaNO₃ 0,04 mol.L⁻¹ par une étude par GC-MS et le comportement de la résine vis-à-vis des solvants d'élution par microscopie optique et électronique à balayage. Cela nous a conduits à conclure que l'heptanol n'était pas déformulé lors de l'étape de mouillage de la résine. Cependant, nous avons pu constater que l'acide nitrique à une concentration de 1 mol.L⁻¹, utilisé comme solution d'élution, pouvait avoir un effet sur l'intégrité de la résine, si le temps de contact en batch entre l'acide et la résine était supérieur à 1 heure. Cette contrainte a donc été prise en compte lors de l'optimisation de l'étape d'élution, notamment en limitant à la fois la concentration en acide de la solution d'élution (< 1 mol.L⁻¹) et la durée de contact entre celle-ci et la résine de chromatographie (< 1h).

Nous avons ensuite optimisé l'étape de traitement de l'échantillon urinaire qui est nécessaire avant l'extraction des actinides sur la colonne calix[6]arène qui serait ensuite couplée à l'ICP-MS.

En effet, il est judicieux de travailler sur un volume de 1 litre d'urine, pour abaisser les limites de détection de la méthode d'analyse ; cependant ce volume est trop important pour l'injecter directement sur la colonne calix[6]arène. Ainsi, une étape de précipitation des actinides permet de les concentrer et

de réduire le volume d'échantillon. Il est également nécessaire de détruire la matière organique présente dans l'échantillon qui pourrait interférer avec l'extraction des actinides sur la colonne calix[6]arène et leur mesure dans la fraction d'élution.

La minéralisation classique a une durée d'environ 23 heures et consiste en une première étape de minéralisation par voie humide (attaque acide en portant l'urine à reflux), puis de précipitation des actinides afin de les concentrer. Le précipité obtenu est ensuite récupéré et calciné au four à moufle. Nous avons démontré que cette méthode est efficace du point de vue de la destruction de la matière organique (par mesure du carbone organique total) mais bien trop longue pour une utilisation en situation de crise. Ainsi, des études de spéciation des actinides et notamment de l'uranium dans les urines fraîches, nous ont permis de valider le choix de la méthode de précipitation des phosphates d'alcalino-terreux afin d'entraîner les actinides après l'étape de minéralisation par voie humide. Expérimentalement, il a été démontré que ce précipité entraînait 99 % de l'uranium, et 96 % du plutonium et de l'américium. Il a ensuite été récupéré puis une méthode de digestion au four à micro-ondes a été utilisée. Celle-ci a permis de réduire significativement la durée de minéralisation de 23 h à 4 h 30, sans impacter l'efficacité de la minéralisation du point de vue de la destruction de la matière organique.

Puis, nous avons travaillé sur l'étape d'extraction des actinides contenus dans l'urine minéralisée sur la colonne de chromatographie. L'extraction des actinides devait être réalisée sur une seule colonne afin de coupler ultérieurement celle-ci à l'ICP-MS. Ainsi, il a été nécessaire de définir la colonne calix[6]arène parmi celles développées au LRC offrant la meilleure efficacité ainsi que le pH de la solution permettant d'extraire simultanément les trois actinides. A pH = 5,2, U, Pu et Am peuvent être extraits par la colonne CH (colonne à base de calix[6]arène hydroxamique). Si l'efficacité d'extraction du plutonium et de l'américium est respectivement de $(91 \pm 2) \%$ et $(88 \pm 3) \%$ et de $(29 \pm 30) \%$ pour l'uranium. Seuls environ 50 % des urines permettent une extraction non nulle de l'uranium. L'utilisation d'un traceur interne permettrait de s'affranchir de cette variabilité.

Le profil ionique des urines au cours de la minéralisation a été établi par des analyses de chromatographie ionique et ICP-OES indiquant que les ions phosphate et d'alcalino-terreux étaient retrouvés majoritairement dans les urines minéralisées. De nouvelles études de spéciation, sur les urines minéralisées cette fois, nous ont permis de mettre au jour l'impact du rapport phosphate/calcium sur l'extraction de l'uranium des urines minéralisées par la colonne CH. Afin de modéliser l'extraction de l'uranium, la constante apparente d'extraction de l'ion uranyle par la résine CH a été déterminée par des études en batch. La constante ainsi obtenue ($K_{app} = -4,90 \pm 0,03$) a été appliquée à une utilisation en système dynamique, telle une colonne de chromatographie, en déterminant les rendements d'extraction de l'ion uranyle par la colonne CH pour différentes compositions d'urines minéralisées et en les confrontant aux résultats expérimentaux. La bonne adéquation des résultats théoriques et expérimentaux a permis de valider l'utilisation de cette constante pour prédire l'extraction de U par la colonne CH. Il a alors été possible de formuler, par le

calcul, l'hypothèse que l'ajout de calcium pour complexer les ions phosphate libres présents dans l'urine minéralisée devrait permettre d'améliorer le rendement d'extraction de l'uranium sur la colonne. Il a été vérifié expérimentalement que l'ajout de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de chlorure de calcium à l'urine minéralisée permettait une amélioration du rendement d'extraction de l'uranium par la colonne. L'extraction reste encore peu répétable mais ceci peut être compensé par l'ajout d'un traceur interne en concentration connue. L'ajout de calcium semble avoir peu d'effet sur l'extraction du plutonium et de l'américium. Ces résultats devront être validés sur un grand nombre d'urines afin de déterminer la répétabilité et la reproductibilité de l'étape d'extraction, évaluant ainsi la robustesse du processus. Il a été vérifié que l'extraction simultanée sur une seule colonne permettait une séparation quantitative des actinides de la matrice urinaire.

Une fois l'étape d'extraction sur la colonne CH optimisée, il a été nécessaire de déterminer les conditions optimales d'élution des trois actinides d'intérêt de la colonne. Le calix[6]arène hydroxamique extrayant les actinides en se déprotonant, la solution d'élution devait posséder des propriétés acides afin de pouvoir reprotoner celui-ci. Par ailleurs, des éluants présentant des propriétés complexantes ou oxydo-réductrices vis-à-vis des actinides pourraient également favoriser leur désorption. Les optimisations ont été réalisées sur diverses solutions d'élution après l'extraction sur la colonne CH de l'uranium présent dans des solutions de contamination synthétiques afin de s'affranchir de la variabilité de l'extraction. Ces expériences ont abouti à la sélection de deux éluants permettant une désorption quantitative de l'uranium (HNO_3 1 mol.L^{-1} et H_3PO_4 $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$). Puis ces résultats ont été validés sur des urines réelles dopées avec U, Pu et Am montrant qu'une solution d'acide phosphorique $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ était le meilleur éluant avec des rendements d'élution de $(79 \pm 3) \%$ pour U, $(81 \pm 7) \%$ pour Pu et $(97 \pm 3) \%$ pour Am. Là encore, ces résultats devront être validés sur un grand nombre d'urines afin de déterminer la répétabilité et la reproductibilité de l'étape d'élution pour en évaluer la robustesse. Les proportions dans lesquelles sont présents les actinides dans cette étude font en sorte que la formation d'hydrure d'uranium n'interfère pas avec la mesure du plutonium. Cependant, il sera nécessaire de vérifier jusqu'à quelle concentration en uranium-238, la mesure du plutonium-239 n'était pas impactée par la formation de cette interférence.

En parallèle de ces études, un système de couplage semi-automatisé entre la colonne CH et l'ICP-MS a été développé avec le système ISIS disponible sur l'appareil Agilent 7700x. Les paramètres chromatographiques (le diamètre de la colonne et les débits d'extraction et d'élution) ont été optimisés sur des solutions de contamination synthétiques dopées en uranium. Ainsi, l'extraction est optimale à un débit de 5 mL.min^{-1} ce qui permet de charger l'urine minéralisée ($V \approx 100 \text{ mL}$) en environ 20 min. L'élution est quant à elle optimale pour un diamètre de colonne de 10 mm et un débit de $0,325 \text{ mL.min}^{-1}$. Ainsi, le temps de rétention des trois actinides est d'environ 9,5 min. Nous avons cependant pu constater que ce temps de rétention semblait dépendant du remplissage de la colonne. Un remplissage des colonnes avec un système permettant une meilleure homogénéité devrait permettre d'améliorer ces paramètres. Avec les débits d'extraction et d'élution optimisés, le temps total de la

séparation sur la colonne CH est de 1 heure 30 portant la durée totale de l'analyse à 6 heures minéralisation de l'urine incluse.

Deux méthodes d'étalonnages ont été étudiées sur des solutions de contamination synthétiques dopées avec une quantité connue d'uranium. L'étalonnage externe a été rapidement éliminé car il nécessite la préparation de plusieurs solutions étalons qui doivent subir la totalité du protocole sur la colonne CH. Ceci augmente la durée de l'analyse de 1 h 30 par point d'étalonnage, rendant cette méthode inutilisable en situation de crise. Par contre, l'étalonnage interne ne nécessite aucune analyse supplémentaire si ce n'est la mesure par ICP-MS du traceur isotopique ajouté. Ainsi, la totalité de l'analyse est réalisée en 6 h ce qui permet de respecter la contrainte de 8 heures que nous nous étions imposés.

La limite de détection instrumentale obtenue par cette méthode pour l'uranium-238 est de 1,2 ppt soit $1,8 \cdot 10^{-2} \text{ mBq} \cdot \text{L}^{-1}$. Celle-ci est tout à fait satisfaisante car elle correspond à une dose inférieure à 1 mSv quelle que soit la date de prélèvement de l'échantillon.

Pour obtenir les limites de détection du protocole d'analyse complet, les limites de détection ont été déterminées pour des blancs réactifs en réalisant un étalonnage dans l'urine, pour tenir compte de la sensibilité dans ce milieu.

Les limites de détection sont inférieures à celles obtenues lors des analyses réalisées avec les méthodes rapides utilisant la spectrométrie alpha pour ^{238}U , ^{239}Pu et ^{241}Am . Pour ^{238}U . Elles atteignent des niveaux inférieurs à celles obtenues lors des analyses de routine. Les limites de détection et de quantification devront être validées sur des échantillons d'urines dopées avec des concentrations proches des limites de quantification.

La robustesse de la méthode développée lors de ce travail de thèse devra être étudiée sur un grand nombre d'échantillons. Il sera par la suite, nécessaire de la valider par l'analyse d'échantillons « certifiés » issus de circuits d'intercomparaison.

Pour finir, un schéma de protocole complètement automatisé a été proposé afin de limiter l'intervention d'un opérateur en situation de crise et il a été vérifié que les paramètres chromatographiques optimisés avec le système ISIS pouvaient être transposés à celui-ci.

L'élution sur la colonne n'étant pas toujours quantitative, pour faire en sorte de l'améliorer, il sera nécessaire de comprendre quels phénomènes entrent en jeu et. Dans le cas contraire, il serait également possible d'étudier la capacité de régénération de la colonne et de déterminer le nombre maximum de réutilisations possibles tout en vérifiant l'absence de contaminations croisées. Si cette régénération de colonne ou une élution quantitative sont impossibles, il sera nécessaire de proposer un schéma de couplage avec plusieurs colonnes en parallèle.

Ce travail de thèse a donc permis de mettre en place un protocole permettant l'analyse des actinides dans les urines en moins de huit heures. Ce système pourrait donc être utilisé en situation de crise sous

réserve d'évaluer sa robustesse. Par ailleurs, une étude théorique a permis de comprendre une partie des phénomènes entrant en jeu lors de l'extraction de l'ion uranyle par la colonne CH.

BIBLIOGRAPHIE

Aldstadt, J. H.; Kuo, J. M.; Smith, L. L.; Erickson, M. D. Determination of Uranium by Flow Injection Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **1996**, *319*, 135–143.

Allen, J. The Detection of Single Positive Ions, Electrons and Photons by a Secondary Electron Multiplier. *Phys. Rev.* **1939**, *55*, 966–971.

Ansoborlo, E.; Prat, O.; Moisy, P.; Den Auwer, C.; Guilbaud, P.; Carriere, M.; Gouget, B.; Duffield, J.; Doizi, D.; Vercouter, T.; et al. Actinide Speciation in Relation to Biological Processes. *Biochimie* **2006**, *88*, 1605–1618.

Ansoborlo, É.; Paquet, F.; Den Auwer, C.; Moulin, V.; Gilbin, R.; Van der Meeren, A.; Bérard, P. Plutonium. In *Toxicologie nucléaire environnementale et humaine*; Ménager, M.-T.; Garnier-Laplace, J.; Goyffon, M., Eds.; Lavoisier, 2009.

Appelblad, P. K.; Rodushkin, I.; Baxter, D. C. Sources of Uncertainty in Isotope Ratio Measurement by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2911.

Areva. *Nucleopedia : Essentials in Nuclear Engineering*; 2009.

ASN. *Guide National - Intervention Médicale En Cas D'événement Nucléaire Ou Radiologique*; v3.6, 2008; Vol. v3.6.

Baglan, N.; Dinse, C.; Cossonnet, C.; Abidi, R.; Asfari, Z.; Leroy, M.; Vicens, J. Investigation of U(VI) Extraction with Calixarene. Application to Analysis of Urine Sample. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **1997**, *226*, 261–265.

Bassez, M.-P. Les calixarènes <http://chemphys.u-strasbg.fr/mpb/teach/calixarenes/calixarenes.html> (accessed Oct 27, 2014).

Beauchemin, D.; Berman, S. S. Determination of Trace Metals in Reference Water Standards by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with on-Line Preconcentration. *Anal. Chem.* **1989**, *61*, 1857–1862.

Becker, J. S. *Inorganic Mass Spectrometry*; Wiley.; Hoboken, 2007.

Beltrami, D.; Mokhtari, H.; Courtaud, B.; Moyer, B. A.; Chagnes, A. Recovery of Uranium from Wet Phosphoric Acid by Solvent Extraction Processes. *Chem. Rev.* **2014**, *2014*, 12002.

Benkhedda, K.; Epov, V. N.; Evans, R. D. Flow-Injection Technique for Determination of Uranium and Thorium Isotopes in Urine by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *381*, 1596–1603.

Bennouna, L.; Vicens, J.; Asfari, Z.; Yahyaoui, A.; Burgard, M. Synthesis and Extraction Properties of 1,3,5-O-Trimethyl-2,4,6-Tri-O-Hydroxamic Acid P-Tert-Butyl Calix[6]arene. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* **2001**, *40*, 95–98.

Bernhard, G.; Geipel, G.; Brendler, V.; Nitsche, H. Speciation of Uranium in Seepage Waters of a Mine Tailing Pile Studied by Time-Resolved Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy (TRLFS). *Radiochim. Acta* **1996**, *74*, 87–92.

Bernhard, G.; Geipel, G.; Reich, T.; Brendler, V.; Amayri, S.; Nitsche, H. Uranyl(VI) Carbonate Complex Formation: Validation of the $\text{Ca}_2\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3(\text{aq})$ Species. *Radiochim. Acta* **2001**, *89*, 511–518.

- Bion, L.; Ansoborlo, E.; Reiller, P.; Collins, R.; Gilbin, R.; Perrier, T.; Denison, F.; Marcoule, C. E. A.; Cetama, D. E. N. D.; Cèze, B.; et al. Influence of Thermodynamic Database on the Modelisation of Americium (III) Speciation in a Simulated Biological Medium. *Radiochim. Acta* **2005**, *93*, 715–718.
- Bleise, A.; Danesi, P. R.; Burkart, W. Properties, Use and Health Effects of Depleted Uranium (DU): A General Overview. *J. Environ. Radioact.* **2003**, *64*, 93–112.
- Bokobza, L.; Cote, G. Spectroscopic Investigation of Adsorbed 7-(4-Ethyl-1-Methyloctyl)-8-Quinolinol (kelex 100) and of Its gallium(III) Complex: Comparison with the Behaviours Observed in Solvent Extraction Systems. *Polyhedron* **1985**, *4*, 1499–1505.
- Boulet, B.; Bouvier-Capely, C.; Cossonnet, C.; Cote, G.; Bouvier-Capely, C. Solvent Extraction of U(VI) by calix[6]arenes. *Solvent Extr. Ion Exch.* **2006**, *24*, 319–330.
- Boulet, B.; Bouvier-Capely, C.; Cote, G.; Poriel, L.; Cossonnet, C. Selective Extraction of Pu(IV) by a calix[6]arene Bearing Hydroxamic Groups. *J. Alloys Compd.* **2007**, *444-445*, 526–528.
- Boulet, B.; Bouvier-Capely, C.; Cossonnet, C.; Le Strat, C.; Duval, R. E. Para-Tertio-butylcalix[6]arenes Portant Des Fonctions Triacides En Positions 2,4 et 6, Membranes Liquides Supportées et Matériaux Supports Les Comportants et Leurs Utilisations. 05 04944, 2008.
- Bouvier-Capely, C.; Ritt, J.; Baglan, N.; Cossonnet, C. Potentialities of Mass Spectrometry (ICP-MS) for Actinides Determination in Urine. *Appl. Radiat. Isot.* **2004**, *60*, 629–633.
- Bouvier-Capely, C.; Manoury, A.; Legrand, A.; Bonthonneau, J. P.; Cuenot, F.; Rebiere, F. The Use of calix[6]arene Molecules for Actinides Analysis in Urine and Drinking Water: An Alternative to Current Procedures. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2009**, *282*, 611–615.
- Caude, M.; Jarly, A. *Chromatographie En Phase Liquide Théorie et Méthodes de Séparation; Techniques de l'ingénieur*: Paris, 1994.
- Charlton, J. J.; Sepaniak, M. J.; Sides, A. K.; Schaaff, T. G.; Mann, D. K.; Bradshaw, J. a.; Schaff, T. G. The Automation and Optimization of Solid Phase Extraction Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Analysis for the High Throughput Determination of Aqueous Levels of U, Th, Np, Pu, and Am. *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, *28*, 711.
- Chou, C. L.; Moffatt, J. D. A Simple Co-Precipitation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Method for the Determination of Uranium in Seawater. *Fresenius' J. Anal. Chem.* **2000**, *368*, 59–61.
- Cote, G.; Laupretre, F.; Chassagnard, C. Magic-Angle Carbon-13 NMR Investigation of Solvent-Impregnated Resins: Application to 7-(4-Ethyl-1-Methyloctyl)-8-Quinolinol (Kelex 100) Adsorbed on Amberlite XAD-7. *React. Polym. Ion Exch. Sorbents* **1987**, *5*, 141–150.
- Crespo, M. T. A Review of Electrodeposition Methods for the Preparation of Alpha-Radiation Sources. *Appl. Radiat. Isot.* **2012**, *70*, 210–215.
- Dai, X.; Kramer-Tremblay, S. Rapid Bioassay Methods for Actinides in Urine. *ASME Conf. Proc.* **2010**, *2010*, 719–721.
- Dai, X.; Kramer-Tremblay, S. An Emergency Bioassay Method for Actinides in Urine. *Health Phys.* **2011**, *101*, 144–147.

- Dai, X.; Christl, M.; Kramer-Tremblay, S.; Synal, H.-A. Ultra-Trace Determination of Plutonium in Urine Samples Using a Compact Accelerator Mass Spectrometry System Operating at 300 kV. *J. Anal. At. Spectrom.* **2012**, *27*, 126–130.
- Davies, C. W. *Ion Association*; Butterworths: London, 1962.
- Dinse, C. Etude de L'extraction Des Actinides Par Les Calixarenes : Application a L'analyse Radiotoxicologique, Université de Strasbourg 1, 1999.
- Dinse, C.; Cossonnet, C.; Baglan, N.; Asfari, Z.; Vicens, J. Selective Extraction of Actinides: Application to Radiotoxicological Analysis. *Radioprotection* **1997**, *32*, 659–671.
- Dong, W.; Brooks, S. C. Determination of the Formation Constants of Ternary Complexes of Uranyl and Carbonate with Alkaline Earth Metals (Mg 2+ , Ca 2+ , Sr 2+ , and Ba 2+) Using Anion Exchange Method. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 4689–4695.
- Dong, W.; Brooks, S. C. Formation of Aqueous MgUO₂(CO₃)₃²⁻ Complex and Uranium Anion Exchange Mechanism onto an Exchange Resin. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 1979–1983.
- Eith, C.; Kolb, M.; Seubert, A.; Viehweger, K. *Pratique de La Chromatographie Ionique*; 2002.
- Ejnik, J. W.; Todorov, T. I.; Mullick, F. G.; Squibb, K.; McDiarmid, M. a; Centeno, J. a. Uranium Analysis in Urine by Inductively Coupled Plasma Dynamic Reaction Cell Mass Spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **2005**, *382*, 73–79.
- Epov, V. N.; Benkhedda, K.; Cornett, R. J.; Evans, R. D. Rapid Determination of Plutonium in Urine Using Flow Injection on-Line Preconcentration and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2005**, *20*, 424–430.
- Filipy, R. E.; Toohey, R. E.; Kathren, R. L.; Dietert, S. E. Deterministic Effects of ²⁴¹Am Exposure in the Hanford Americium Accident Case. *Health Phys.* **1995**, *69*, 338–345.
- Foley, J. P.; Dorsey, J. G. Equations for Calculation of Chromatographic Figures of Merit for Ideal and Skewed Peaks. *Anal. Chem.* **1983**, *55*, 730–737.
- Fry, F. A.; NoBke, D.; Piechowski, J.; Phipps, A. W.; J.C., N. *CIPR 1997 : Surveillance Individuelle de L'exposition Interne Des Travailleurs*; 1997.
- Gagne, A.; Surette, J.; Kramer-Tremblay, S.; Dai, X.; Didychuk, C.; Lariviere, D. A Bioassay Method for Americium and Curium in Feces. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2013**, *295*, 477–482.
- Geipel, G.; Bernhard, G. Alkaline Earth Uranyl Compounds—from Solution to Mineral Phases. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2006**, *70*, A196.
- Godoy, M. L. D. P.; Julião, L. M. Q. C.; Godoy, J. M. Uranium Isotopic Ratio Determination in Urine Using Flow-Injection ICP-MS: A Tool for Emergency Monitoring. *Radiat. Prot. Dosimetry* **2009**, *133*, 234–239.
- Góral, M. Recommended Liquid–Liquid Equilibrium Data. Part 4. 1-Alkanol–Water Systems. *J. Phys. Chem. Ref. Data* **2006**, *35*, 1391.
- Gourgiotis, A.; Granet, M.; Isnard, H.; Nonell, A.; Gautier, C.; Stadelmann, G.; Aubert, M.; Durand, D.; Legand, S.; Chartier, F. Simultaneous Uranium/plutonium Separation and Direct Isotope Ratio

- Measurements by Using CO₂ as the Gas in a Collision/reaction Cell Based MC-ICPMS. *J. Anal. At. Spectrom.* **2010**, *25*, 1939.
- Gray, P. J.; Zhang, L.; Xu, H.; McDiarmid, M.; Squibb, K.; Centeno, J. A. Determination of ²³⁶U/²³⁸U and ²³⁵U/²³⁸U Isotope Ratios in Human Urine by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Microchem. J.* **2012**, *105*, 94–100.
- Greis, C.; Karlsson, S.; Düker, A.; Pettersson, H.; Allard, B. Determination of Plutonium in Environmental Samples with Quadrupole ICP-MS. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2007**, *275*, 55–70.
- Grenthe, I.; Fuger, J.; Lemire, R. J.; Canada, M.; Muller, A. B.; Wanner, H.; Forest, I. *Chemical Thermodynamics of Uranium*; Wanner, H.; Forest, I., Eds.; OECD Publications: Paris, 1992.
- Grenthe, I.; Mompean, F.; Spahiu, K.; Wanner, H. *Guidelines for the Extrapolation to Zero Ionic Strength*; Issy-les Moulineaux, 2013.
- Guenther, A.; Steudtner, R.; Schmeide, K.; Bernhard, G. Luminescence Properties of uranium(VI) Citrate and uranium(VI) Oxalate Species and Their Application in the Determination of Complex Formation Constants. *Radiochim. Acta* **2011**, *99*, 535–541.
- Guillaumont, R.; Fanghanel, T.; Fuger, J.; Grenthe, I.; Neck, V.; Palmer, D. A.; Rand M.H. Update of the Chemical Thermodynamics of Uranium, Neptunium, Plutonium, Americium and Technetium. In *Vol.5*; OECD Publications: Paris, 2003.
- Gutsche, C. D.; Muthukrishnan, R. Calixarenes. 1. Analysis of the Product Mixtures Produced by the Based-Catalyzed Condensation of Formaldehyde with Para-Substituted Phenols. *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4905–4906.
- Hang, W.; Zhu, L.; Zhong, W.; Mahan, C. Separation of Actinides at Ultra-Trace Level from Urine Matrix Using Extraction Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, *19*, 966–972.
- Harduin, J. C.; Peleau, B.; Levavasseur, D. Détermination Analytique Des Actinides Dans Les Milieux Biologiques. *Radioprotection* **1996**, *31*, 229–245.
- Harrison, J. J.; Zawadzki, A.; Chisari, R.; Wong, H. K. Y. Separation and Measurement of Thorium, Plutonium, Americium, Uranium and Strontium in Environmental Matrices. *J. Environ. Radioact.* **2011**, *102*, 896–900.
- Helgeson, H. C.; Kirkham, D. H.; Flowers, G. C. Theoretical Prediction of the Thermodynamic Behavior of Aqueous Electrolytes by High Pressures and Temperatures; IV, Calculation of Activity Coefficients, Osmotic Coefficients, and Apparent Molal and Standard and Relative Partial Molal Properties to 600 D. *Am. J. Sci.* **1981**, *281*, 1249–1516.
- Horwitz, E. P.; Dietz, M. L.; Chiarizia, R.; Diamond, H.; Maxwell, S. L.; Nelson, M. R. Separation and Preconcentration of Actinides by Extraction Chromatography Using a Supported Liquid Anion Exchanger: Application to the Characterization of High-Level Nuclear Waste Solutions. *Anal. Chim. Acta* **1995**, *310*, 63–78.
- IAEA. Nuclear Data Center database <https://www-nds.iaea.org/relnsd/vcharthtml/VChartHTML.html>.
- IAEA. *Generic Procedures for Medical Response during a Nuclear or Radiological Emergency*; 2005.

- ICRP. *Limits for Intakes of Radionuclides by Workers. ICRP Publication 30 (Part 1)*; 1979.
- ICRP. *Human Respiratory Tract Model for Radiological Protection. ICRP Publication 66*; 1994.
- ICRP. *Age-Dependent Doses to the Members of the Public from Intake of Radionuclides - Part 5 Compilation of Ingestion and Inhalation Coefficients. ICRP Publication 72*; 1995.
- ICRP. *Human Alimentary Tract Model for Radiological Protection. ICRP Publication 100*; 2006.
- Ingri, N.; Kakolowicz, W.; Sillén, L. G.; Warnqvist, B. High-Speed Computers as a Supplement to Graphical methods—VI Haltafall, a General Program for Calculating the Composition of Equilibrium Mixtures. *Talanta* **1967**, *14*, 1261–1286.
- Kalmykov, S. N.; Choppin, G. R. Mixed $\text{Ca}^{2+}/\text{UO}_2^{2+}/\text{CO}_3^{2-}$ Complex Formation at Different Ionic Strengths. *Radiochim. Acta Int. J. Chem. Asp. Nucl. Sci. Technol.* **2000**, *88*, 603.
- Karpas, Z.; Lorber, A.; Sela, H.; Paz-Tal, O.; Hagag, Y.; Kurttio, P.; Salonen, L. Measurement of the $^{234}\text{U}/^{238}\text{U}$ Ratio by MC-ICPMS in Drinking Water, Hair, Nails, and Urine as an Indicator of Uranium Exposure Source. *Heal. Phys.* **2005**, *89*, 315–321.
- Kimura, T.; Kobayashi, Y. Coprecipitation of Uranium and Thorium with Barium Sulfate. *J. Radioanal. Nucl. Chem. Artic.* **1985**, *91*, 59–65.
- Klaproth, M. H. Chemische Untersuchung Des Uranits, Einer Neuentdeckten Metallischen Substanz. *Chem. Ann.* **1789**, *2*, 387–403.
- Kumar, R.; Yadav, J. R.; Rao, D. D.; Chand, L. Determination of Uranium Isotopes in Urine Samples from Radiation Workers Using ^{232}U Tracer, Anion-Exchange Resin and Alpha-Spectrometry. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2009**, *279*, 787–790.
- Kurosaki, H.; Tucker, A. a.; Iden, S. E.; Sexton, S. M.; Gonzalez, B. D.; Rao, G. R. Use of Chromatographic Pre-Concentration for Routine Uranium Bioassay Analysis by ICP-MS. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2013**, *298*, 1017–1022.
- Langham, W. H.; Basset, S. H.; Payne, S. H.; Carter, R. E. Distribution and Excretion of Plutonium Administered Intravenously to Man. *Health Phys.* **1980**, *38*, 1031.
- Lariviere, D.; Cumming, T. a.; Kiser, S.; Li, C.; Cornett, R. J.; Larivière, D. Automated Flow Injection System Using Extraction Chromatography for the Determination of Plutonium in Urine by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 352.
- Van der Lee, J. *Thermodynamic and Mathematical Concepts of Chess*; Ecole des Mines de Paris: Paris, 1998.
- Leggett, R. W.; Pellmar, T. C. The Biokinetics of Uranium Migrating from Embedded DU Fragments. *J. Environ. Radioact.* **2003**, *64*, 205–225.
- Leggett, R. W.; Eckerman, K. F.; Khokhryakov, V. F.; Suslova, K. G.; Krahenbuhl, M. P.; Miller, S. C. Mayak Worker Study : An Improved Biokinetic Model for Reconstructing Doses from Internally Deposited Plutonium. *Radiat. Res.* **2005**, *164*, 111–122.

- Li, C.; Lariviere, D.; Kiser, S.; Moodie, G.; Falcomer, R.; Elliot, N.; Burchart, L.; Paterson, L.; Epov, V.; Evans, D.; et al. Method Intercomparison for the Analysis of $^{239/240}\text{Pu}$ in Human Urine. *J. Anal. At. Spectrom.* **2008**, *23*, 521–526.
- Li, C.; Vlahovich, S.; Dai, X.; Richardson, R. B.; Daka, J. N.; Kramer, G. H. Requirements for Radiation Emergency Urine Bioassay Techniques for the Public and First Responders. *Health Phys.* **2010**, *99*, 702–707.
- MacDougall, D.; Amore, F. J.; Cox, G. V.; Crosby, D. G.; Estes, F. L.; Freeman, D. H.; Gibbs, W. E.; Gordon, G. E.; Keith, L. H.; Langner, R. R.; et al. Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry. *Anal. Chem.* **1980**, *52*, 2242–2249.
- Maxwell, S. L. Rapid Analysis of Emergency Urine and Water Samples. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2007**, *275*, 497–502.
- Maxwell, S. L.; Jones, V. D. Rapid Determination of Actinides in Urine by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Alpha Spectrometry: A Hybrid Approach. *Talanta* **2009**, *80*, 143–150.
- Maxwell, S. L.; Culligan, B. K. Rapid Separation Method for Emergency Water and Urine Samples. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2009**, *279*, 901–907.
- Maxwell, S. L.; Culligan, B. K.; Noyes, G. W. Rapid Separation Method for Actinides in Emergency Air Filter Samples. *Appl. Radiat. Isot.* **2010**, *68*, 2125–2131.
- Maxwell, S. L.; Culligan, B. K.; Jones, V. D.; Nichols, S. T.; Noyes, G. W.; Bernard, M. a. Rapid Determination of (^{237}Np) and Plutonium Isotopes in Urine by Inductively-Coupled Plasma Mass Spectrometry and Alpha Spectrometry. *Health Phys.* **2011**, *101*, 180–186.
- Maxwell, S. L.; Culligan, B. K.; Hutchison, J. B.; Utsey, R. C.; McAlister, D. R. Rapid Determination of Actinides in Seawater Samples. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2014**, *300*, 1175–1189.
- McCall, J. P. A Twist on Packing Analytical Columns for Reversed Phase Liquid Chromatography, 2004.
- McNaught, A. D.; Wilkinson, A. *IUPAC Compendium of Chemical Terminology*; Nič, M.; Jiráč, J.; Košata, B.; Jenkins, A.; McNaught, A., Eds.; IUPAC: Research Triangle Park, NC, 2009.
- Ménétrier, F.; Bérard, P.; Joussineau, S.; Morcillo, M.-A.; Cebrian, D.; List, F.; Hodgson, A.; Stradling, N.; Peile, W.; Holt, D. C. B.; et al. *TIARA Report : Dose Assesment of Inhaled Radionulides in Emergency Situations*; 2007.
- Métivier, H. Intakes of Radionuclides. In *Occupational and Public Exposure*; Métivier, H.; Kaul, A.; Menzel, H.-G.; Stather, J. W., Eds.; 1998.
- Métivier, H. *L'uranium : De l'Environnement À l'Homme*; EDP Scienc.; IPSN, 2001.
- NCRP. *Limitation of Exposure to Ionizing Radiation. NCRP Report No. 116*; 1993.
- NCRP. *Development of a Biokinetic Model for Radionuclide-Contaminated Wounds for Their Assessment, Dosimetry and Treatment- NCRP Report 156*; 2006.
- Nénot, J.-C.; Brenot, J.; Laurier, D.; Rannou, A.; Thierry, D. *Recommandations 2007 de La Commission Internationale de Protection Radiologique*; 2007.

- Nilchi, a.; Dehaghan, T. S.; Garmarodi, S. R. Solid Phase Extraction of Uranium and Thorium on Octadecyl Bonded Silica Modified with Cyanex 302 from Aqueous Solutions. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2012**, *295*, 2111–2115.
- Nour, S.; LaRosa, J.; Inn, K. G. W. Emergency Radiobioassay Preparedness Exercises through the NIST Radiochemistry Intercomparison Program. *Health Phys.* **2011**, *101*, 170–175.
- O'Hara, M. J.; Carter, J. C.; MacLellan, J. a; Warner, C. L.; Warner, M. G.; Addleman, R. S. Investigation of Magnetic Nanoparticles for the Rapid Extraction and Assay of Alpha-Emitting Radionuclides from Urine: Demonstration of a Novel Radiobioassay Method. *Health Phys.* **2011**, *101*, 196–208.
- Ohtsuka, Y.; Takaku, Y.; Kimura, J.; Hisamatsu, S.; Inaba, J. Development of Rapid Plutonium Analysis for Environmental Samples by Isotope Dilution / Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with On-Line Column. *Anal. Sci.* **2005**, *21*, 240–243.
- Olesik, J. W. *Inorganic Mass Spectrometry: Fundamentals and Applications*; Barshick, C. M.; Duckworth, D. C.; Smith, D. H., Eds.; CRC Press: Boca Raton, 2000.
- Osman, A. a. a.; Geipel, G.; Bernhard, G. Interaction of uranium(VI) with Bioligands Present in Human Biological Fluids: The Case Study of Urea and Uric Acid. *Radiochim. Acta* **2013**, *101*, 139–148.
- Otsuka, H.; Araki, K.; Shinkai, S. Syntheses of All Possible calix[6]arene Derivatives with MeO- and ROCOCH₂O- Substituents and Their Metal Binding Properties. *Tetrahedron* **1995**, *51*, 8757–8770.
- Pappas, R. S.; Ting, B. G.; Paschal, D. C. Rapid Analysis for Plutonium-239 in 1 ML of Urine by Magnetic Sector Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with a Desolvating Introduction System. *J. Anal. At. Spectrom.* **2004**, *19*, 762–766.
- Paquet, F.; Frelon, S.; Cote, G.; Madic, C. The Contribution of Chemical Speciation to Internal Dosimetry. *Radiat. Prot. Dosimetry* **2003**, *105*, 179–184.
- Paquet, F.; Adam-Guillermin, C.; Ansoborlo, E.; Beaugelin-Seiller, K.; Carrière, M.; Dublineau, I.; Taran, F.; Vidaud, C. Uranium. In *Toxicologie nucléaire environnementale et humaine*; Ménager, M.-T.; Garnier-Laplace, J.; Goyffon, M., Eds.; Lavoisier: Cachan, 2009; pp. 411–443.
- Parkhurst, D. L.; Appelo, C. A. J. *Description of Input and Examples for PHREEQC Version 3 — A Computer Program for Speciation, Batch-Reaction, One-Dimensional Transport, and Inverse Geochemical Calculations Chapter 43 of*; USGS, 2013.
- Paul, W.; Steinwedel, H. Apparatus for Separating Charged Particles of Different Specific Charges. 2939952, June 7, 1960.
- Peterson, D. S.; Montoya, V. M. Separation of Actinides Using Capillary Extraction Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.* **2009**, *47*, 545–548.
- Peterson, D. S.; Plionis, A. A.; Gonzales, E. R. Optimization of Extraction Chromatography Separations of Trace Levels of Actinides with ICP-MS Detection. *J. Sep. Sci.* **2007**, *30*, 1575–1582.
- Poriel, L.; Boulet, B.; Cossonnet, C.; Bouvier-Capely, C. Study of the U/Am Separation with Supported calix[6]arene in the Aim of Urinary Actinides Analysis. *Radiat. Prot. Dosim.* **2007**, *127*, 273–276.

- Puigdomenech, I. MEDUSA: Make Equilibrium Diagrams Using Sophisticated Algorithms, version 2. . <http://www.kth.se/en/che/medusa/downloads-1.386254> (accessed Oct 22, 2014).
- Putnam, D. F. *Composition and Concentrative Properties of Human Urine*; 1971.
- Qiao, J.; Hou, X.; Roos, P.; Miró, M. Bead Injection Extraction Chromatography Using High-Capacity Lab-on-Valve as a Front End to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Urine Radiobioassay. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 2853–2859.
- Quétel, C. R.; Vogl, J.; Prohaska, T.; Nelms, S.; Taylor, P. D. P.; De Bièvre, P. Comparative Study of ICP Mass Spectrometers by Means of U Isotopic Measurements. *Fresenius' J. Anal. Chem.* **2000**, *368*, 148–155.
- Rojas-Palma, C.; Liland, A.; Jerstad, A. N.; Etherington, G.; del Rosario Perez, M.; Rahola, T.; Smith, K. *TMT Handbook : Triage, Monitoring and Treatment of People Exposed to Ionising Radiation Following a Malevolent Act*; NRPA.; 2009.
- Roques, J.; Veilly, E.; Simoni, E. Periodic Density Functional Theory Investigation of the Uranyl Ion Sorption on Three Mineral Surfaces: A Comparative Study. *Int. J. Mol. Sci.* **2009**, *10*, 2633–2661.
- Safi, S.; Creff, G.; Jeanson, A.; Qi, L.; Basset, C.; Roques, J.; Solari, P. L.; Simoni, E.; Vidaud, C.; Den Auwer, C. Osteopontin: A Uranium Phosphorylated Binding-Site Characterization. *Chem. - A Eur. J.* **2013**, *19*, 11261–11269.
- Sakai, K. Reference Levels in the Context of Fukushima and Related Lessons Learned. *Health Phys.* **2013**, *105*, 466–468.
- Shi, Y.; Dai, X.; Collins, R.; Kramer-Tremblay, S. Rapid Determination of Uranium Isotopes in Urine by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. *Health Phys.* **2011**, *101*, 148–153.
- Silva, R. J.; Bidoglio, G.; Rand, M. H.; Robouch, P. B.; Wanner, H.; Puigdomenech, I. *Chemical Thermodynamics of Americium*; 1995.
- Souane, R.; Hubscher, V.; Asfari, Z.; Arnaud, F.; Vicens, J. Synthesis of Mono-, Di-, and Trinitro Tricarboxymethyl calix[6]arenes for the Complexation of uranium(VI). *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 9061–9064.
- Squibb, K. S.; Leggett, R. W.; McDiarmid, M. A. Prediction of Renal Concentrations of Depleted Uranium and Radiation Dose in Gulf War Veterans with Embedded Shrapnel. *Heal. Phys* **2005**, *89*, 267–273.
- Sutton, M.; Burastero, S. R. Beryllium Chemical Speciation in Elemental Human Biological Fluids. *Chem. Res. Toxicol.* **2003**, *16*, 1145–1154.
- Sutton, M.; Burastero, S. R. Uranium(VI) Solubility and Speciation in Simulated Elemental Human Biological Fluids. *Chem. Res. Toxicol.* **2004**, *17*, 1468–1480.
- Symposium, A. C. S. *Chemical Pretreatment of Nuclear Waste for Disposal*; Springer Science & Business Media, 1994.
- Tanimizu, M.; Sugiyama, N.; Ponzevera, E.; Bayon, G. Determination of Ultra-Low ²³⁶U/²³⁸U Isotope Ratios by Tandem Quadrupole ICP-MS/MS. *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, *28*, 1372.

Tolmachyov, S.; Kuwabara, J.; Noguchi, H. Flow Injection Extraction Chromatography with ICP-MS for Thorium and Uranium Determination in Human Body Fluids. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2004**, *261*, 125–131.

Unsworth, E. R.; Cook, J. M.; Hill, S. J. Determination of Uranium and Thorium in Natural Waters with a High Matrix Concentration Using Solid-Phase Extraction Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **2001**, *442*, 141–146.

US Department of health an human service. *TOXICOLOGICAL PROFILE FOR AMERICIUM*; 2004.

Vais, V.; Li, C.; Cornett, J. Separation of Plutonium from Uranium Using Reactive Chemistry in a Bandpass Reaction Cell of an Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *380*, 235–239.

Vajda, N.; Kim, C.-K. Determination of ²⁴¹Am Isotope: A Review of Analytical Methodology. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **2010**, *284*, 341–366.

Vercouter, T.; Reiller, P. E.; Ansoborlo, E.; Février, L.; Gilbin, R.; Lomenech, C.; Philippini, V. A Modelling Exercise on the Importance of Ternary Alkaline Earth Carbonate Species of uranium(VI) in the Inorganic Speciation of Natural Waters. *Appl. Geochemistry*.

Vitorge, P. *Chimie Des Actinides*; 1999.

Zoriy, M. V.; Pickhardt, C.; Ostapczuk, P.; Hille, R.; Becker, J. S. Determination of Pu in Urine at Ultratrace Level by Sector Field Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *232*, 217–224.

Code Du Travail Art. R4451-1.

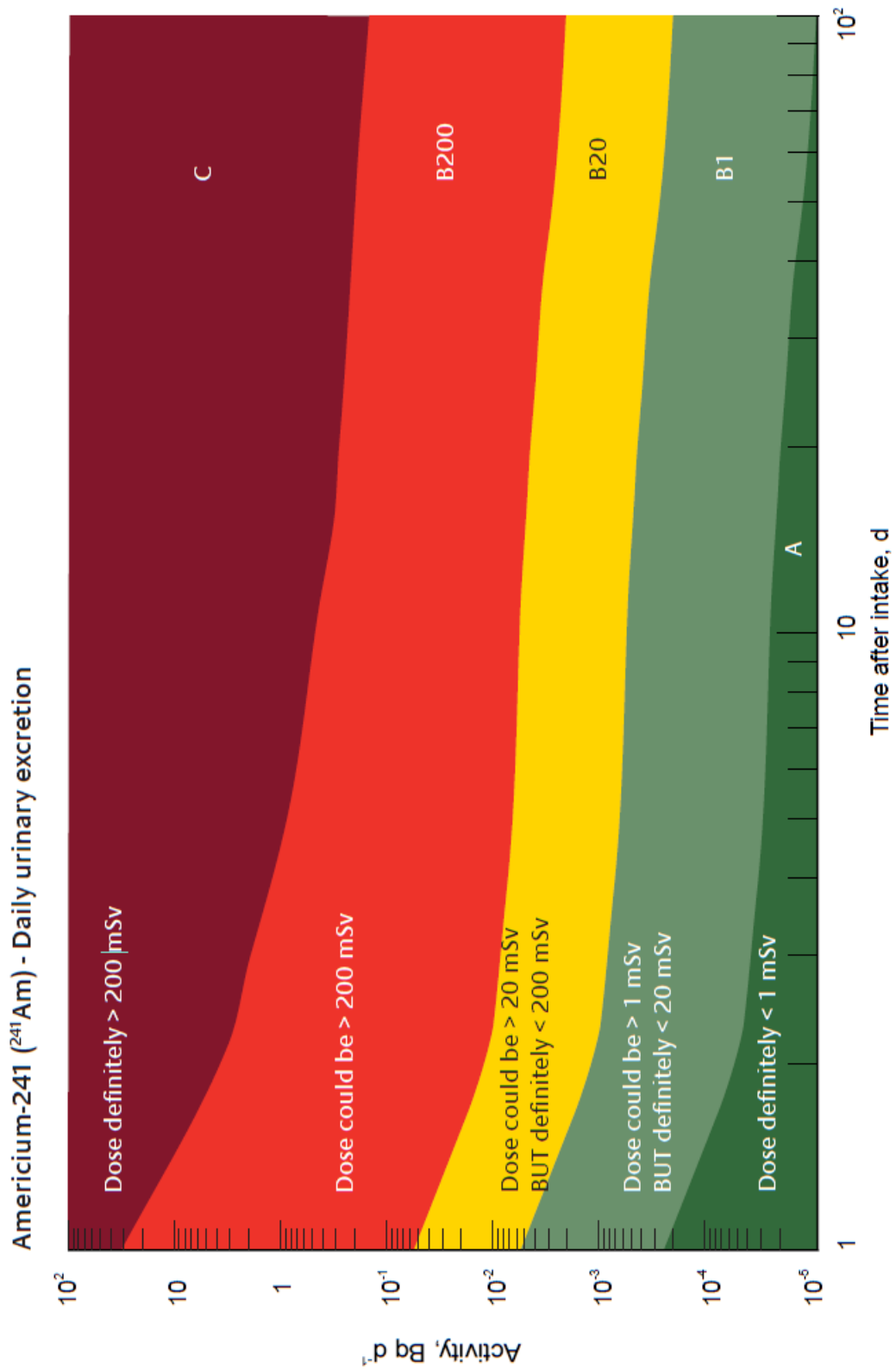
ANNEXES

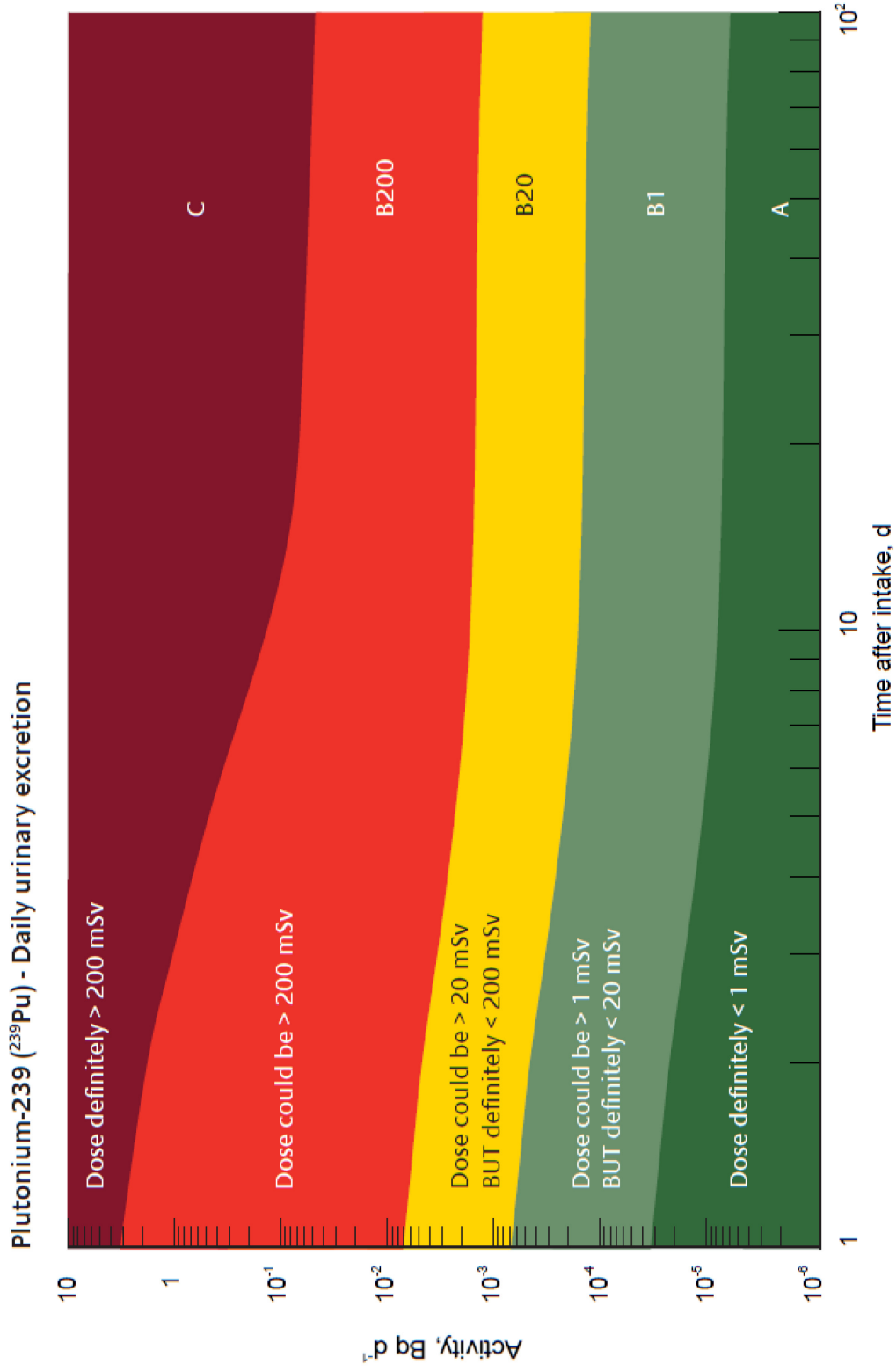
I. COMPOSITION PARTIELLE DES URINESComposants de l'urine humaine excédant 10 mg.L⁻¹ (Putnam, 1971)

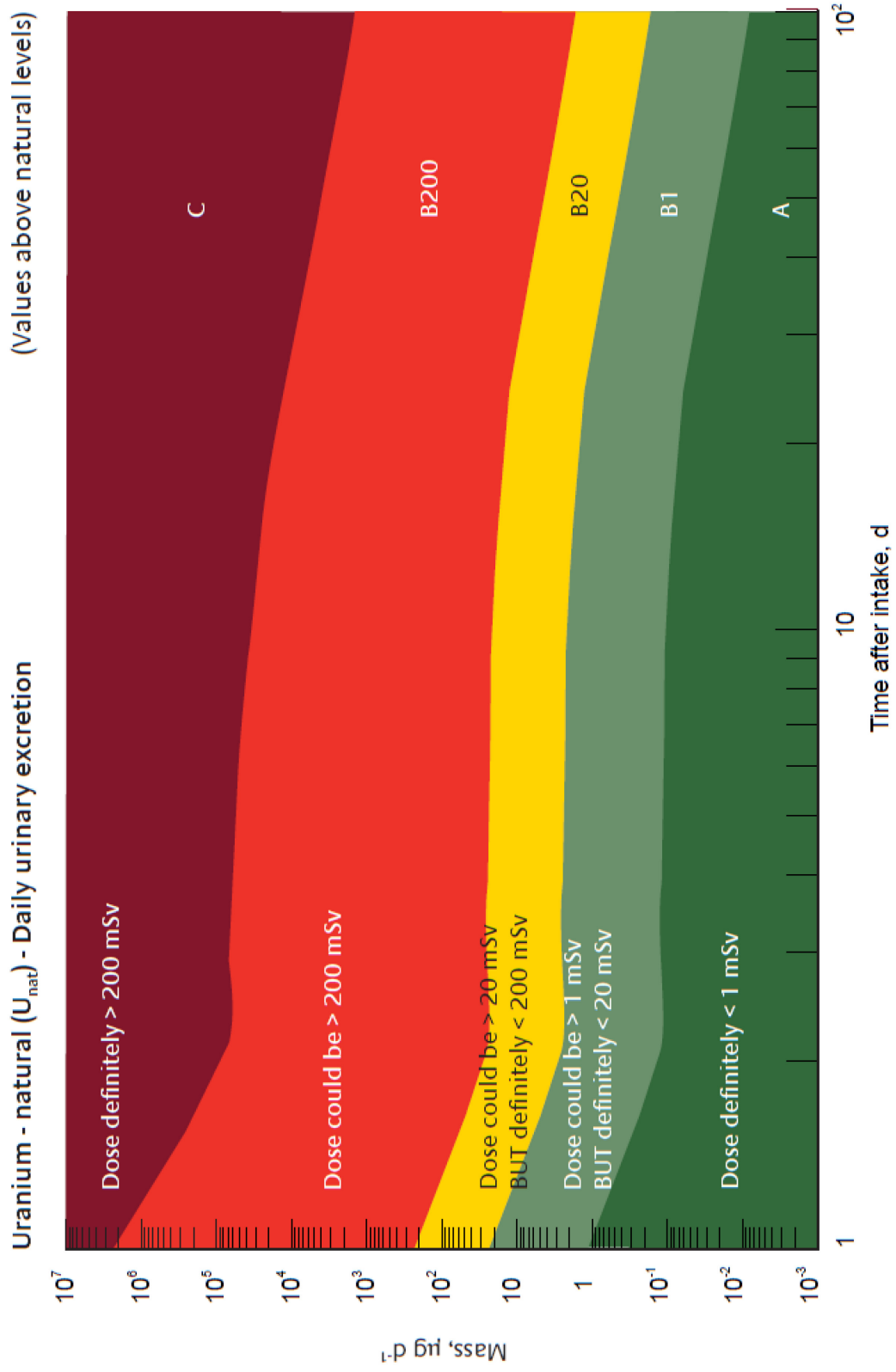
Les ions inorganiques sont indiqués en gras

Composés	Gamme (mg.L ⁻¹)	
	36 700	46 700
Matière dissoute totale		
Urea	9 300	23 300
Chlorure	1,870	8 400
Sodium	1 170	4 390
Potassium	750	2 610
Créatinine	670	2 150
Sulfure inorganique	163	1 800
Acide hippurique	50	1 670
Phosphore total	470	1 070
Acide citrique	90	930
Acide glucuronique	70	880
Ammoniaque	200	730
Acide urique	40	670
Uropepsine (Tyrosine)	70	560
Bicarbonate	20	560
Créatine	0	530
Sulfure organique	77	470
Glycine	90	450
Phénols	130	420
Acide lactique	30	400
Calcium	30	390
Histidine	40	330
Acide glutamique	<7	320
Androsterone	2	280
1-methylhistidine	30	260
Magnésium	20	205
Imidazole	90	200
Glucose	30	200
Taurine	5	200
Acide aspartique	<7	170
Carbonates	100	150
Cystine	7	130
Citrulline	0	130
Threonine	10	120
Lysine	5	110
Acide indoxysulfurique	3	110
Acide m-Hydroxyhippuric	1	100
p-Hydroxyphenyl-Hydrocrylic Acid	1	100
Acid Aminoisobutyrique	3	120
Inositol	5	100
Acid Formique	20	90
Urobiline	7	90
Tyrosine	10	70
Acid Pyruvique	2	70
Albumine	7	70
Asparagine	20	70
Tryptophane	5	60
Cétones	10	50
Serine	20	50
Alanine	1	50
Bases Purine s	0	50
Glycoamine	15	45
Proline	<7	40
Arginine	<7	40
Acid ascorbique	3	40
Acid oxalique	1	30
Bilirubine	3	30
Valine	<7	30
Phenylamine	6	30
Allantoine	2	25
Acid Oxoglutarique	13	25
Leucine	8	25
Acid Guanidinoaceticque	9	25
Isoleucine	4	22
Urobilinogene	0	17
Ethanolamine	3	15
Guanidine	7	13
Methionine Sulfoxide	0	13
Acide Dehydroascorbique	3	13

II. EXEMPLES D'ABAQUES DU RAPPORT TIARA (Ménétrier et al., 2007)







Zone A : La dose efficace est inférieure à 1 mSv

Approprié pour assurer au public que la dose n'entraîne qu'un risque minimum sur la santé.

Zone B1 : La dose efficace peut être supérieure à 1 mSv mais est inférieure 20 mSv

Un calcul de dose plus précis doit être effectué. Aucun traitement de doit être considéré.

Zone B20 : La dose efficace peut être supérieure à 20 mSv mais est inférieure 200 mSv

Un calcul de dose plus précis doit être effectué. Le traitement est laissé au choix du corps médical. Même si des effets cliniques sont peu probables, l'efficacité d'un traitement à court terme doit être considérée.

Zone B200 : La dose efficace peut être supérieure à 200 mSv

Un traitement doit être considéré. Cependant, les facteurs psychologiques et l'efficacité d'un traitement préventif ou à long terme doivent être considérés.

Zone C : La dose efficace est supérieure à 200 mSv

Un traitement doit être considéré. Cependant, les facteurs psychologiques et l'efficacité d'un traitement préventif ou à long terme doivent être considérés.

III. THERMODYNAMIQUE

III.1. MODELISATION DES COEFFICIENTS D'ACTIVITE

Il existe tout d'abord des modèles basés uniquement sur la prise en compte des interactions longue distance :

- Un premier modèle a été proposé par Debye et Hückel en 1923 (Équation 1). Ce modèle considère que tous les ions de même charge auront le même coefficient d'activité. Il est basé sur le principe que l'ion central est représenté par une charge ponctuelle c'est-à-dire qu'il n'a pas de rayon, et que les autres ions suivent une répartition Gaussienne autour. Par ailleurs, le potentiel électrique de chaque ion dans un électrolyte est considéré comme négligeable. Ce modèle n'est donc valable que pour des solutions très diluées donc proches de l'idéalité ($C < 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$).

$$\log \gamma_i = -Az_i^2 \sqrt{I}$$

Équation 1 : Modèle de Debye-Hückel. A 25°C A=0,51

- De manière à prendre en compte le rayon de l'ion central, la loi de Debye-Hückel a été étendue (Équation 2). Le modèle considère cette fois-ci que celui-ci a un rayon fini. Le paramètre a représente ce rayon (en cm) et $B=0,33.10^{-8}$ à 25°C. Le domaine d'application de ce modèle a été étendu à $C < 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$.

$$\log \gamma_i = -Az_i^2 \frac{\sqrt{I}}{1 + Ba\sqrt{I}}$$

Équation 2 : Loi de de Debye-Hückel étendue. A 25°C A=0,51

- D'autres lois ont été dérivées de la première loi de Debye-Hückel. C'est le cas de l'équation de Davies (Équation 3) (Davies, 1962). Ce modèle est basé sur des observations empiriques et permet de modéliser des coefficients d'activité pour des concentrations pouvant aller jusqu'à 0,5 mol.L⁻¹

$$\log \gamma_i = -Az_i^2 \left\{ \frac{\sqrt{I}}{(1 + \sqrt{I})} - 0,3I \right\}$$

Équation 3 : Loi de Davies. A 25°C A=0,51

- Le modèle de Helgeson (Helgeson *et al.*, 1981) (Équation 4) quant à lui permet de tenir compte des effets de la température. Il implémente les paramètres A, B et b qui varient en fonction de la température de la solution (Tableau 32).

$$\log \gamma_i = -Az_i^2 \frac{\sqrt{I}}{1 + B\sqrt{I}} - \log(1 + 0,018 I) + bI$$

Équation 4 : Modèle d'Helgeson

T(°C)	A	B	b
0	0,491	1,21	0,041
25	0,509	1,22	0,064
50	0,534	1,24	0,074
100	0,600	1,27	0,076

Tableau 32 : Paramètres d'Helgeson

La théorie des interactions spécifiques (SIT), elle aussi dérivée de la loi de Debye-Hückel, permet de travailler à des valeurs de concentrations (ou de molalité) bien plus élevées, de l'ordre de 3-4 M. Elle a tout d'abord été proposée par Brønsted en 1921, et fut affinée par Scatchard puis Guggenheim en 1955. Ce modèle permet, en effet, de tenir compte des interactions à courtes distances, par là même permettant de s'éloigner de l'idéalité et d'améliorer la représentation d'un système réel. Elle nécessite l'introduction de coefficients d'interactions spécifiques $\varepsilon_{(i,k,l_m)}$ qui représentent les interactions entre les ions i et j à une force ionique donnée. Ces coefficients sont nuls entre deux espèces de même signe ou pour des espèces neutres.

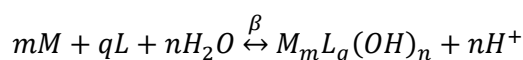
$$\log \gamma_i = -Az_i^2 \frac{\sqrt{I}}{1 + Ba\sqrt{I}} + \sum \varepsilon_{(i,k,l_m)} \times m_k$$

Équation 5 : Modèle des Interactions Spécifiques (SIT)

avec m_k la molalité.

III.2. CONSTANTES THERMODYNAMIQUES ET EXTRAPOLATION

Pour un équilibre défini comme suit :



La constante d'équilibre est décrite par :

$$\beta = \frac{(a_{H^+})_{eq}^n (a_{M_m L_q (OH)_n})_{eq}}{(a_M)_{eq}^m (a_L)_{eq}^q (a_{H_2O})_{eq}^n}$$

Équation 6 : définition générale de la constante d'équilibre

En solution diluée les activités peuvent être assimilées aux concentrations et les coefficients d'activités sont égaux à un. En revanche, tout écart à l'idéalité nécessite une extrapolation des constantes à $I = 0 \text{ mol.L}^{-1}$ en utilisant un des différents modèles pour le calcul de coefficient d'activité. La formule d'extrapolation est indiquée par l'Équation 7.

$$\log \beta_{q,n,m} = \log \beta_{q,n,m}^\circ + m \log \gamma_M + q \log \gamma_L + n \log a_{H_2O} - \log \gamma_{q,n,m} - n \log \gamma_H$$

Équation 7 : Equation d'extrapolation à $I = 0 \text{ M}$ (Grenthe *et al.*, 2013)

Avec β : la constante à I et β° la constante à $I = 0 \text{ mol.L}^{-1}$

III.3. CONSTANTES THERMODYNAMIQUES

Les constantes de formations des phosphates sont définies à partir des réactions avec HPO_4^{2-} , les autres constantes sont définies à partir des espèces totalement déprotonées

Espèce	Log K°	Espèce	Log K°	Espèce	Log K°
$(\text{UO}_2)_2(\text{OH})_2^{2+}$	-5,7	CO_2	16,829	NaHSO_4	1,29
$(\text{UO}_2)_2(\text{OH})_2(\text{SO}_4)_2^{2-}$	-0,69	$\text{H}_3\text{P}_2\text{O}_7$	12,319	NaKPO_4^-	2,719
$(\text{UO}_2)_2(\text{OH})_3^+$	-2,7	K_2HPO_4	13,409	$\text{NaNO}_{3(\text{aq})}$	-0,75
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_{10}^{4-}$	-62,4	K_2PO_4^-	2,179	NaPO_4^{2-}	1,399
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_4^{2+}$	-11,9	K_2SO_4	0,96	NaSO_4^-	0,81
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_4(\text{SO}_4)_4^{6-}$	-6	KH_2PO_4	19,779	$\text{UO}_2(\text{H}_2\text{PO}_4)(\text{H}_3\text{PO}_4)^+$	44,988
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_5^+$	-15,59	KHPO_4^-	13,169	$\text{UO}_2(\text{H}_3\text{PO}_4)_2$	44,838
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_7^-$	-30,18	KHSO_4	-1,3	$\text{UO}_2(\text{OH})^+$	-5,36
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_7(\text{SO}_4)_4^{6-}$	-19,01	$\text{KOH}_{(\text{aq})}$	-14,39	$\text{UO}_2(\text{OH})_2$	-11,75
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_8^{2-}$	-32,4	KPO_4^{2-}	1,359	$\text{UO}_2(\text{OH})_3^-$	-19,6
$(\text{UO}_2)_4(\text{OH})_7^+$	-21,9	KSO_4^-	0,86	$\text{UO}_2(\text{OH})_4^{2-}$	-34,23
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	39,918	$\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	40,588	$\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2^{2-}$	4,14
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)\text{HPO}_4^-$	35,028	$\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)\text{HPO}_4^-$	35,358	$\text{UO}_2(\text{SO}_4)_3^{4-}$	2,62
$\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2^{2-}$	27,678	$\text{Mg}(\text{HPO}_4)_2^{2-}$	27,678	UO_2Cl^+	0,17
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2_{(\text{aq})}$	0,22	MgCl^+	0,31	$\text{UO}_2\text{Cl}_2_{\text{aq}}$	-1,1
$\text{Ca}(\text{OH})^+$	-13,86	MgF^+	1,82	UO_2F^+	5,06
$\text{Ca}(\text{OH})_{2(\text{aq})}$	-26,01	MgF_2	0,107	UO_2F_2	8,59
$\text{Ca}(\text{PO}_4)_2^{4-}$	5,598	$\text{MgH}_2\text{PO}_4^+$	20,929	UO_2F_3^-	10,86
CaCl^+	0,12	MgHPO_4	15,179	UO_2F_4^-	11,7
CaF^+	0,94	MgOH	-11,78	$\text{UO}_2\text{H}_2\text{PO}_4^+$	22,749
CaF_2	10,6	MgPO_4^-	4,849	$\text{UO}_2\text{H}_3\text{PO}_4^{2+}$	22,429

$\text{CaH}_2\text{PO}_4^+$	20,719	MgSO_4	2,27	UO_2HPO_4	19,619
$\text{CaH}_2\text{PO}_4\text{HPO}_4^-$	35,028	Na_2HPO_4	13,289	UO_2NO_3^+	0,3
CaHPO_4	14,939	Na_2PO_4^-	2,559	UO_2PO_4^-	13,199
CaHSO_4^+	3,068	Na_2SO_4	0,81	UO_2SO_4	3,15
CaNO_3^+	0,63	$\text{NaCl}_{(\text{aq})}$	0,78		
CaPO_4^-	4,899	NaH_2PO_4	19,669		
CaSO_4	2,32	NaHPO_4^-	13,289		

pK_a (acide phosphorique) = 2,148/7,198/12,319

Les constantes des espèces non solubles ont été définies par Guillaumont et collaborateurs (Guillaumont *et al.*, 2003).

IV. LES METHODES D'ETALONNAGE

Il existe différentes méthodes d'étalonnage. Les principales sont l'étalonnage externe, les ajouts dosés et l'étalonnage interne ou dilution isotopique.

L'**étalonnage externe** consiste à préparer une gamme de solutions de concentrations connues en éléments d'intérêts. Une droite d'étalonnage (Figure 70) du signal (S) en fonction de la concentration (C) est ainsi tracée, une solution de concentration inconnue est ensuite analysée et sa concentration déterminée. Il existe deux façons de tracer une droite d'étalonnage externe. La première consiste à utiliser un point de gamme avec $C_{\text{analyte}} = 0$, cette méthode donne une droite d'étalonnage ayant pour ordonnée à l'origine le signal du blanc (relation 1). La seconde consiste à retrancher le signal du blanc à tous les points de la gamme obtenant ainsi une droite passant par 0 (relation 2).

Cette méthode a pour avantage d'être facile à mettre en œuvre mais elle nécessite d'utiliser des solutions étalons dont la matrice est identique ou proche de celle des analytes.

L'**étalonnage externe** par ICP-MS nécessite de s'affranchir des effets de matrices. Pour ce faire, il est nécessaire de la représenter au mieux. C'est une méthode bien adaptée aux matrices simples et diluées. Comme mentionné au chapitre I, des effets de matrice peu importants peuvent être compensés par l'ajout d'un standard interne. C'est une méthode d'analyse rapide car une seule droite d'étalonnage permet d'analyser tous les échantillons de concentrations et de matrices similaires.

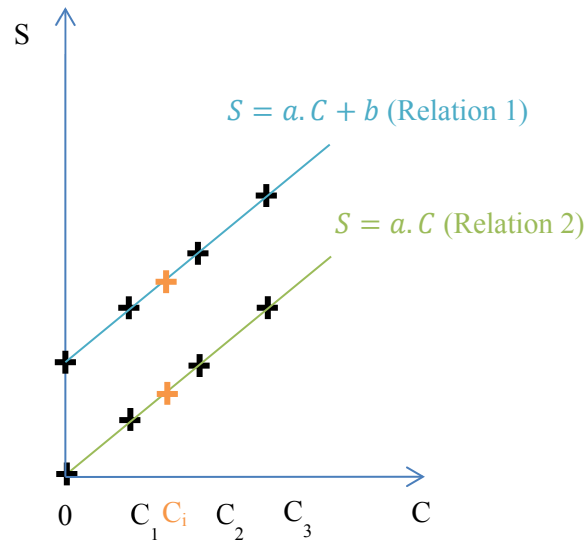


Figure 70 : Droite d'étalonnage externe

La méthode des **ajouts dosés** consiste à ajouter une quantité connue variable de l'analyte à la solution à analyser. La droite d'étalonnage (Figure 71) est ainsi réalisée directement dans la solution permettant de s'affranchir des effets de matrice. La quantité d'analyte dans la solution initiale est obtenue par extrapolation de la droite à $S = 0$.

Cette méthode est particulièrement efficace et permet de limiter les effets de matrice. En revanche, elle nécessite une quantité plus importante d'échantillon. En effet, l'étalonnage doit être répété pour chaque échantillon et pour chaque élément. En revanche, cela a pour avantage de rendre la méthode plus juste que l'étalonnage externe notamment en s'affranchissant des problèmes d'effets de matrice.

De manière à abaisser les incertitudes, une première mesure est réalisée sur l'échantillon afin d'établir une concentration approximative qui permettra d'ajuster les ajouts. De plus, c'est une méthode peu adaptée au traitement d'un grand nombre d'échantillons un étalonnage pour chaque échantillon.

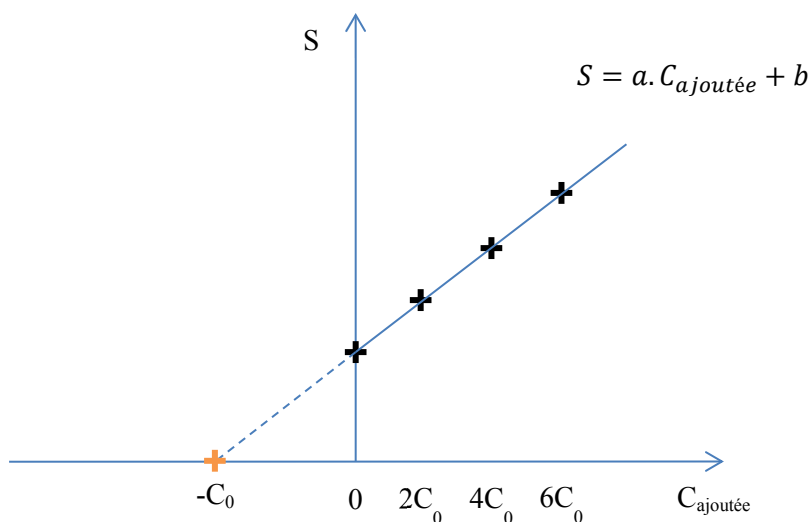


Figure 71 : Droite d'étalonnage par ajouts dosés

La **dilution isotopique** est quant à elle une méthode qui permet de déterminer également les concentrations de l'échantillon en s'affranchissant des effets de matrice tout en limitant les incertitudes. Le fait que l'élément à analyser doit posséder plusieurs isotopes est un prérequis indispensable. Deux protocoles existent pour mettre en place cette méthode : on ajoute soit un isotope absent de l'échantillon en quantité connue, soit un mélange des isotopes présents mais dans des proportions différentes de celles de l'échantillon.

Pour ce faire, il est nécessaire de disposer de traceurs d'isotopies certifiées ($R_T = \frac{T_1}{T_2}$) qui sera ajouté en quantité connue à l'échantillon. L'échantillon en quantité connue sans traceur est analysé ($R_E = \frac{E_1}{E_2}$), le biais en masse estimé et enfin l'échantillon après ajout de traceur ($R_M = \frac{N_E E_1 + N_T T_1}{N_E E_2 + N_T T_2}$) est également mesuré. La concentration est définie Équation 8

$$C_E = C_T \times \frac{m_T}{m_E} \times \frac{M_E}{M_T} \times \frac{T_2}{E_2} \times \frac{R_T - R_M}{R_M - R_E}$$

Équation 8 : Formule générale de la dilution isotopique

Avec :

- C_E : concentration massique dans l'échantillon
- C_T : concentration massique dans le traceur
- M_E : masse molaire de l'échantillon
- M_T : masse molaire du traceur
- E_2 : % isotope 2 dans l'échantillon
- T_2 : % isotope 2 dans le traceur
- R_M : rapport corrigé du biais en masse dans le mélange
- R_E : rapport corrigé du biais en masse dans l'échantillon
- R_T : rapport corrigé du biais en masse dans le traceur

C'est une méthode qui peut être assez difficile à mettre en œuvre, en revanche elle permet une grande exactitude. Elle peut être considérée comme une variation de l'étalonnage interne et sera utilisée de cette façon lors dans cette étude. Par ailleurs, la dilution isotopique est considérée en métrologie comme un étalonnage primaire car elle permet de certifier un échantillon par rapport à un étalon primaire.

V. PROTOCOLE DE MINERALISATION OPTIMISE

Sur 1 L d'urine :

- A. Minéralisation par voie humide
 1. Ajouter 50 mL environ d'acide nitrique $w_t = 67\%$
Aliquoter 8mL de chaque solution de départ
 2. Agiter
 3. Porter à ébullition puis laisser chauffer à 250°C pendant 2 h
- B. Précipitation des phosphates d'alcalino-terreux
 1. Arrêter l'agitation
 2. Ajouter NH_4OH concentré jusqu'à précipitation et $\text{pH} > 9$ (vérification au papier pH)

3. Laisser décanter pendant 15 min
4. Aspirer le surnageant en tirant sous vide
Aliquoter 8mL de surnageant
5. Verser le précipité dans un tube à centrifuger (utiliser un peu de NH₃ si besoin pour tout récupérer)
6. Centrifuger pendant 16 min
7. Vider le surnageant restant
8. Reprendre le précipité avec 30mL d'acide nitrique w_t = 67 % et 5mL d'eau oxygénée w_t = 30 %
9. Micro-ondes
10 min T → 200°C
30 min T = 200°C
10. Ajouter 780 mg de CaCl₂·2H₂O agiter jusqu'à observer le changement de couleur
11. Ajouter la solution obtenue à environ de même volume d'eau milliQ
12. Augmenter le pH de la solution à environ 5,2 avant le passage sur colonne à l'aide d'eau ammoniacale
Aliquoter 8mL de solution

VI. FONCTIONNEMENT D'UN SPECTROMETRE DE MASSE A PLASMA INDUIT

Les analyses par ICP-MS permettent la mesure de trace (mg.L⁻¹) voire d'ultra-trace (µg.L⁻¹ à ng.L⁻¹). Le potentiel d'ionisation des éléments représente leur facilité à être ionisés et donc analysés. La Figure 72 représente la classification périodique des éléments en considérant les limites de détection qui peuvent être atteinte par mesure ICP-MS.

Tableau Périodique des Eléments

1	1,008
H	Hydrogène
2	4,003
He	Hélium
3	6,941
Li	Lithium
4	9,012
Be	Béryllium
5	10,81
B	Bore
6	12,01
C	Carbone
7	14,01
N	Azote
8	16,00
O	Oxygène
9	19,00
F	Fluor
10	20,18
Ne	Néon
11	22,99
Na	Sodium
12	24,31
Mg	Magnésium
13	26,98
Al	Aluminium
14	28,09
Si	Silicium
15	30,97
P	Phosphore
16	32,07
S	Soufre
17	35,45
Cl	Chlore
18	39,95
Ar	Argent
19	39,10
K	Potassium
20	40,08
Ca	Calcium
21	44,96
Sc	Scandium
22	47,87
Ti	Titane
23	50,94
V	Vanadium
24	52,00
Cr	Chrome
25	54,94
Mn	Manganèse
26	55,85
Fe	Fer
27	58,93
Co	Cobalt
28	58,69
Ni	Nickel
29	63,55
Cu	Cuivre
30	65,41
Zn	Zinc
31	69,72
Ga	Gallium
32	72,64
Ge	Germanium
33	74,92
As	Arsenic
34	78,96
Se	Sélénium
35	79,90
Br	Brome
36	83,80
Kr	Krypton
37	85,47
Rb	Rubidium
38	87,62
Sr	Strontium
39	88,91
Y	Yttrium
40	91,22
Zr	Zirconium
41	92,91
Nb	Niobium
42	95,94
Mo	Molybdène
43	(98)
(98)	
44	101,1
Ru	Ruthénium
45	102,9
Rh	Rhodium
46	106,4
Pd	Palladium
47	107,9
Ag	Argent
48	112,4
Cd	Cadmium
49	114,8
In	Indium
50	118,7
Sn	Étain
51	121,8
Sb	Antimoine
52	127,6
Te	Tellure
53	126,9
I	Iode
54	131,3
Xe	Xénon
55	132,9
Cs	Césium
56	137,3
Ba	Barium
57-71	L
72	178,5
Hf	Hafnium
73	180,9
Ta	Tantale
74	183,8
W	Tungstène
75	186,2
Re	Rhénium
76	190,2
Os	Osmium
77	192,2
Ir	Iridium
78	195,1
Pt	Platine
79	197,0
Au	Or
80	200,6
Hg	Mercure
81	204,4
Tl	Thallium
82	207,2
Pb	Plomb
83	209,0
Bi	Bismuth
84	(209)
Po	Polonium
85	(210)
At	Astato
86	(222)
Rn	Radon
87	(223)
Fr	Francium
88	(226)
Ra	Radium
89-103	A
57	138,9
L	Lanthanides
58	140,1
Ce	Cérium
59	140,9
Pr	Praseodyme
60	144,2
Nd	Néodyme
61	(145)
Pm	Prométhium
62	150,4
Sm	Samarium
63	152,0
Eu	Europium
64	157,3
Gd	Gadolinium
65	158,9
Tb	Terbium
66	162,5
Dy	Dysprosium
67	164,9
Ho	Holmium
68	167,3
Er	Erbium
69	168,9
Tm	Thulium
70	173,0
Yb	Ytterbium
71	175,0
Lu	Lutétium
89	(227)
A	Actinides
90	(227)
Ac	Actinium
91	231,0
Pa	Protactinium
92	238,0
U	Uranium
93	(237)
Np	Neptunium
94	(239)
Pu	Plutonium
95	(243)
Am	Americium
96	(247)
Cm	Curium
97	(247)
Bk	Berkélium
98	(251)
Cf	Californium
99	(252)
Es	Einsteinium
100	(257)
Fm	Fermium
101	(258)
Md	Mendelevium
102	(259)
No	Nobelium
103	(262)
Lr	Lawrencium

Figure 72 : Limites de détection et potentiels d'ionisation des éléments chimiques (UT2A)

Un ICP-MS (Figure 73) est composé de trois parties : l'introduction de l'échantillon, l'ionisation, la séparation et la détection.

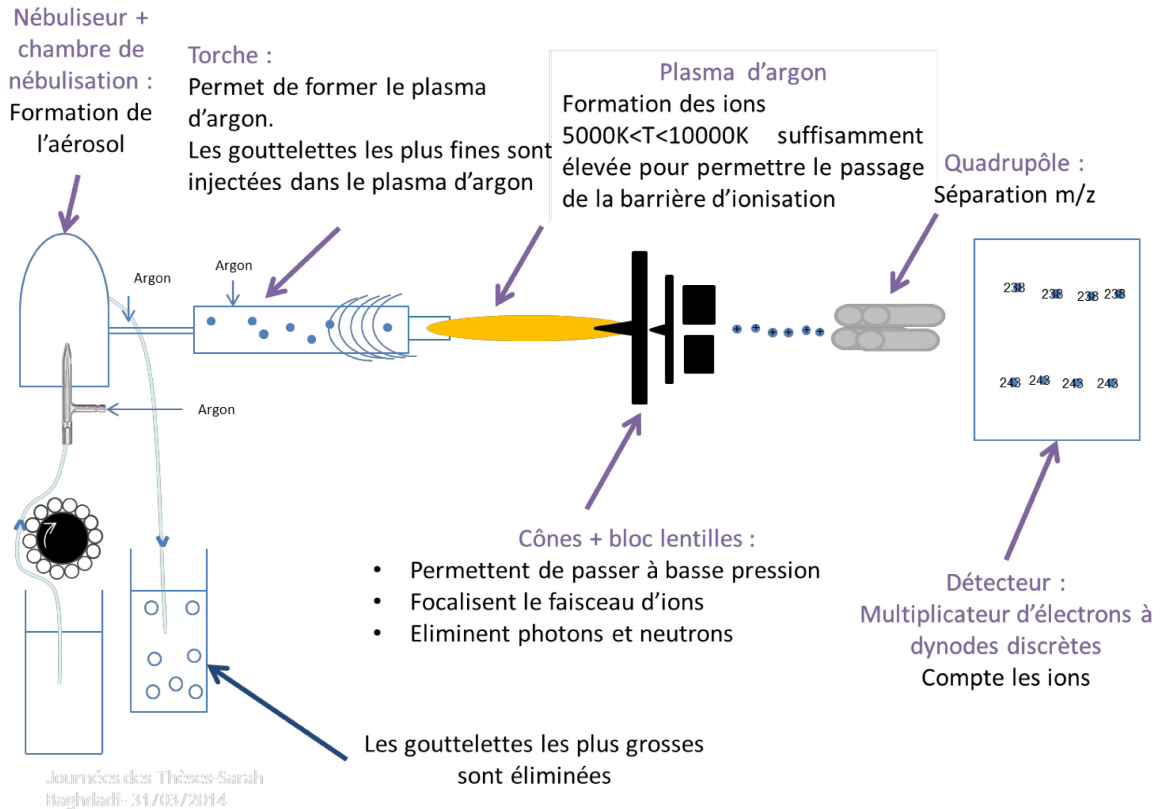


Figure 73 : Schéma de principe d'un ICP-MS

VI.1. INTRODUCTION DE L'ÉCHANTILLON

Un échantillon liquide va être prélevé par une pompe péristaltique pour être transformé en aérosol *via* un **nébuliseur** (Figure 74). L'échantillon est introduit en 1, un débit d'argon (débit=1,5 mL/min) est appliqué en 2 pour former l'aérosol en 3.



Figure 74: Micro-nébuliseur concentrique de type MicroMist©

Il existe différents types de nébuliseurs disponibles commercialement. Dans les nébuliseurs pneumatiques l'argon entraîne la solution injectée par la pompe péristaltique pour former l'aérosol. Dans le cadre de cette thèse un micro-nébuliseur a été utilisé. Ce dernier a l'avantage d'utiliser de très bas débits (50 à $400 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$) avec pour conséquence de réduire le volume de solution prélevé mais également de réduire la taille des gouttelettes, tout en limitant la poly dispersion dans l'aérosol et donc en améliorant le taux de transfert de la solution au plasma augmentant ainsi la sensibilité.

La **chambre de nébulisation** (Figure 75) permet d'homogénéiser la taille des gouttelettes ainsi que de les ralentir, de manière à les injecter dans le plasma. Il en existe différents types : Les chambres de Scott à double passage, les chambres à billes d'impact. Leur but est de créer des turbulences pour que les plus grosses gouttelettes soient éliminées et que les plus fines soient injectées dans le plasma. La chambre peut être également refroidie par effet Peltier.

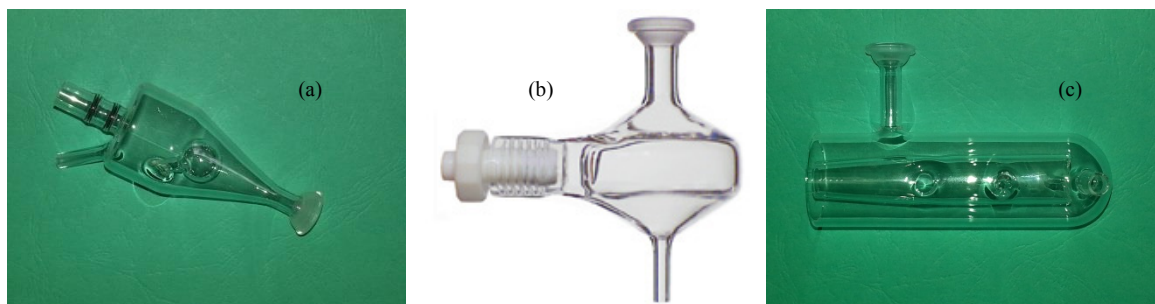


Figure 75 : Chambre de nébulisation : (a) à bille d'impact, (b) cyclonique, (c) de Scott

De manière à limiter les « effets de matrice » il est également possible d'ajouter un **système de désolvatation** sur le nébuliseur. Cet appareil a pour effet de réduire l'étape de désolvatation dans le plasma et donc de travailler avec un plasma dit « sec ». Il aurait pour effet d'améliorer la sensibilité et donc d'abaisser les limites de détection. Il peut être d'un intérêt particulier lors d'un couplage Ablation Laser-ICP-MS pour injecter un standard interne en ligne.

VI.2. IONISATION ET PLASMA

Le plasma est le quatrième état de la matière. C'est un gaz ionisé, globalement neutre mais contenant des ions chargés positivement et des électrons libres.

L'aérosol formé à l'étape précédente est introduit par un flux d'argon gazeux *via* un connecteur dans la torche à plasma (Figure 76) Cette dernière est entourée d'une bobine radiofréquence de cuivre refroidie à eau ou à air. Un générateur de radiofréquence ($> 1200\text{W}$) applique un courant élevé générant un champ magnétique qui à son tour crée un courant dans le flux d'argon. Une décharge électrique en sortie de la torche ionise l'argon permettant le passage de l'état gazeux au plasma. La température dans le plasma varie entre 4000 et 10 000 K. Le plasma doit donc être isolé thermiquement et confiné à l'aide d'un flux de gaz plasmagène le long des parois de la torche



Figure 76 : Torche à plasma

Une fois dans le plasma, l'aérosol est vaporisé, desolvaté, atomisé puis ionisé, la température du plasma étant suffisamment élevée pour permettre le passage de la barrière énergétique de la première

ionisation. Il est possible d'ioniser 80 % des éléments à 75 % en ions mono chargés. En revanche, certaines énergies de deuxième ionisation sont suffisamment basses pour permettre la formation d'ions doublement chargés. Bien qu'ils soient formés en faible quantité ils peuvent constituer une interférence spectrale.

Les instruments mettent également en œuvre un **écran** recouvrant la surface de la torche sous la spire. Il a pour objectif de réduire la création d'ions doublement chargés et d'améliorer la sensibilité en favorisant la transmission des ions.

VI.3. L'OPTIQUE IONIQUE

L'optique ionique (Figure 77) permet de passer de la pression atmosphérique régnant dans la torche au vide poussé nécessaire à l'analyse.

Un premier cône (échantillonneur/sampler) permet de prélever les ions au cœur du plasma. Un deuxième cône (écrêteur/skimmer) permet quant à lui de passer de la pression atmosphérique au vide poussé (10^{-5} Pa) nécessaire dans l'analyseur. Ce phénomène crée une expansion du faisceau d'ions. Il doit être refocalisé à l'aide d'un jeu de lentilles magnétiques. Une chicane, une lentille (« Ω lens» sur Agilent) hors axe ou encore un «photon stop» permettent d'éliminer les espèces neutres et les photons avant le passage dans le filtre de masses. Ce système permet donc de diminuer significativement le bruit de fond.

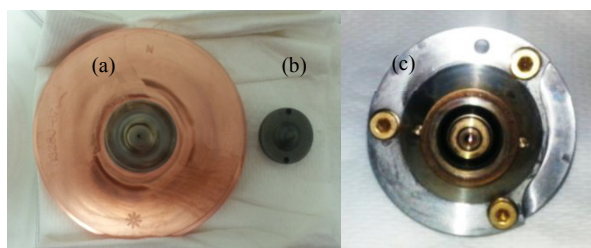


Figure 77 : (a) Echantillonneur, (b) Ecrêteur, (c) Bloc lentille (Agilent)

VI.4. FILTRES DE MASSES OU ANALYSEURS

Après avoir passé l'optique ionique, le faisceau d'ions est trié en masse grâce à l'analyseur. Il existe différents filtres de masses sur un ICP-MS, le principal étant le **filtre quadripolaire** (Paul and Steinwedel, 1960) (Figure 78) Il est composé de quatre cylindres métalliques. Les deux barres opposées sont de même potentiel (ϕ_0) alors que les voisines sont de potentiels opposés.

Si le rapport m/z de l'ion d'intérêt à un potentiel donné n'est pas le bon il sera déstabilisé et éjecté par collision avec les barreaux du quadripôle. Les ions de rapport m/z recherchés auront quant à eux une trajectoire stable et sinusoïdale et seront transportés jusqu'au détecteur.

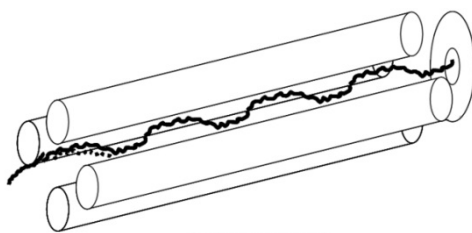


Figure 78 : Représentation du quadripôle

VI.5. DETECTION

Une fois les ions d'intérêt séparés, ils doivent être détectés de manière à pouvoir être quantifiés. Le détecteur le plus couramment utilisé, notamment sur les ICP-MS quadripolaire (Q-ICP-MS), est le **multiplicateur d'électrons secondaires** (S.E.M. ou Secondary Electron Multiplier en anglais) (Allen, 1939) à dynodes discrètes (Figure 79). En sortie du quadripôle les ions sont toujours chargés positivement, ils vont être attirés sur la surface semi-conductrice de la première dynode par une tension négative. Lors du contact un ou plusieurs électrons secondaires vont être émis en fonction du type de la particule incidente, de son énergie ou encore de son angle d'incidence. Les électrons vont à nouveau venir au contact d'une autre dynode et ainsi de suite, de manière à amplifier le signal. Les électrons sont ensuite collectés et un signal informatique créé. Un multiplicateur d'électron peut avoir jusqu'à 10^9 niveaux dynamiques, si un double mode de détection est utilisé, de manière à pouvoir analyser une plus grande plage de concentrations. Dans ce cas, le SEM contient deux modes de détection :

- un mode analogique, pour les fortes concentrations : les électrons amplifiés sont collectés en grande quantité et transformés en un signal analogique
- un mode « Pulse Counting » pour les faibles concentrations : les électrons sont amplifiés sur une plus grande distance et peuvent être « discrétisés »

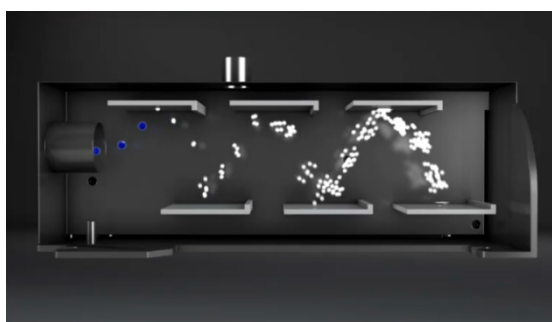


Figure 79 : Représentation du fonctionnement d'un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes (Agilent Technologies ©)

VII. LISTE DE POTENTIELS REDOX

	E° V/ESH	
Pu(VII)	2,320	Pu(VI)
H ₂ O ₂	1,776	H ₂ O
O ₂	1,23	H ₂ O
Pu(IV)	1,044	Pu(III)
Pu(V)	1,014	Pu(III)
NO ₃ ⁻	0,99	NO
Pu(VI)	0,989	Pu(III)
Pu(V)	0,985	Pu(IV)
Pu(VI)	0,961	Pu(IV)
Pu(VI)	0,938	Pu(V)
NO ₂	0,90	NO
O ₂	0,68	H ₂ O ₂
U(V)	0,446	U(IV)
U(VI)	0,267	U(IV)
U(VI)	0,087	U(V)
U(VII)	-0,006	U(III)
U(V)	-0,053	U(III)
CO ₂	-0,49	H ₂ C ₂ O ₄
U(IV)	-0,553	U(III)
U(III)	-1,646	U(0)
N ₂	-1,87	NH ₃ OH ⁺

Résumé

En cas de crise nucléaire impliquant des actinides, il est nécessaire de disposer de méthodes d'analyses rapides afin d'identifier les personnes contaminées. Elles sont réalisées dans les *excreta* (urines et selles). Les méthodes usuelles d'analyse de ces émetteurs alpha sont performantes, mais elles sont longues et difficiles à mettre en œuvre et, de fait inadaptées à une situation de crise. Ce travail de thèse a donc consisté à développer une méthode d'analyse rapide des actinides dans l'urine par couplage entre une colonne à base de dérivés de calix[6]arène hydroxamique imprégné et un spectromètre de masse couplé à un plasma induit (ICP-MS). L'étude de la spéciation des actinides dans l'urine minéralisée a permis de mieux comprendre les réactions mises en jeu et de maîtriser leur extraction sur la colonne calix[6]arène. Un protocole a pu être élaboré, aboutissant à l'extraction simultanée des trois actinides à $\text{pH} \approx 5$ puis à leur co-élution avec H_3PO_4 à $0,25 \text{ mol.L}^{-1}$ avec des rendements de récupération moyens de 56 %, 74 % et 85 % pour U, Pu et Am respectivement. La colonne calix[6]arène a ensuite été couplée à l'ICP-MS quadripolaire et les paramètres chromatographiques (diamètre de colonne, débit d'extraction et d'élution) optimisés. Ce système de couplage permet d'atteindre des limites de détection dans l'urine inférieures à $0,5 \text{ mBq.L}^{-1}$ pour ^{238}U et ^{243}Am et inférieure à 5 mBq.L^{-1} pour le ^{239}Pu et ^{241}Am , pour une durée totale d'analyse d'environ 6 heures. Ces performances ont démontré que cette méthode de couplage pourrait être utilisée en situation de crise.

Mots-clés : actinides, couplage, chromatographie liquide, ICP-MS, calix[6]arène, spéciation, crise nucléaire

Abstract

In the event of a nuclear crisis, involving actinides (U, Pu, Am) it is important to have fast analysis methods available in order to identify people that could be contaminated. Usually, they are performed in urine or faeces. Even though, analytical methods used with alpha detection are reliable they are lengthy and tedious to set up. This work consisted in developing an on-line coupling method between a calix[6]arene-based chromatography column and an inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS). To do so, a speciation study of actinides in mineralised urine was developed to understand the chemical equilibria happening during the actinides extraction. A protocol was elaborated to extract simultaneously all three actinides at $\text{pH} \approx 5$, then co-elute them with $0.25 \text{ mol.L}^{-1} \text{ H}_3\text{PO}_4$. Recovery was 56 %, 74 % and 85 % for U, Pu and Am respectively. The column was then coupled to the ICP-MS. A parameter study helped defining mineralisation duration, extraction and elution flow-rates. It was then possible to propose an on-line coupling system allowing reaching detection limits lower than 0.5 mBq.L^{-1} for ^{238}U and ^{243}Am and lower than 5 mBq.L^{-1} for ^{239}Pu and ^{241}Am , for analysis duration lower than 6 hours. These analytical performances show the interest of this technique for a use in a nuclear crisis situation.

Key words: actinides, coupling, liquid chromatography, ICP-MS, calix[6]arene, speciation, nuclear crisis