



Détermination des interactions microscopiques entre les actinides and les substances humiques

Benoît Brunel

► To cite this version:

Benoît Brunel. Détermination des interactions microscopiques entre les actinides and les substances humiques. Chimie analytique. Université Paris Sud - Paris XI, 2015. Français. NNT : 2015PA112024 . tel-01306568

HAL Id: tel-01306568

<https://theses.hal.science/tel-01306568>

Submitted on 25 Apr 2016

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.

THESE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITE PARIS-SUD

En Modélisation et Instrumentation en Physique, Energies, Géosciences et Environnement

spécialité **Chimie**

Présentée par **Brunel Benoît**

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITE PARIS-SUD

**DETERMINATION DES INTERACTIONS MICROSCOPIQUES ENTRE LES
SUBSTANCES HUMIQUES ET LES ACTINIDES**

Soutenue publiquement le **9 février 2015** devant le jury suivant :

M. Éric SIMONI, Professeur et vice-doyen de l'université Paris-Sud.....*Président du jury*
M^{me} Hélène BUDZINSKI, Directeur de recherche de l'Université de Bordeaux.....*Rapporteur*
M. Alessandro PICCOLO, Professeur de l'Université de Naples.....*Rapporteur*
M^{me} Sandrine HUCLIER, Maître de conférences de l'Université de Nantes*Examineur*
M. Samir SAFI, Chargé de recherche de l'université Paris-Sud*Examineur*
M. Jean AUPIAIS, Directeur de recherche CEA.....*Directeur de thèse*

REMERCIEMENTS

Après trois années passées au laboratoire, je tiens, par ces quelques lignes, à remercier toutes les personnes qui ont participé et/ou contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.

Je tiens d'abord à remercier Hélène Budzinski et Alessandro Piccolo, rapporteurs de cette thèse, pour le temps consacré à la lecture du manuscrit mais aussi, pour la qualité de leurs remarques qui m'ont permis de l'améliorer.

De même, j'adresse mes sincères remerciements à Sandrine Huclier, Éric Simoni et Samir Safi pour avoir accepté d'examiner mes travaux de thèse. Ce fût un réel plaisir de répondre à leurs questions et d'entendre leurs observations de grande qualité. Je tiens à remercier particulièrement Sandrine Huclier pour sa sympathie et nos longues discussions scientifiques ou non et Éric Simoni pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Jean, je te remercie chaleureusement d'avoir dirigé cette thèse, de m'avoir aidé à orienter mes travaux et de t'être rendu disponible à chacune de mes demandes et ce, toujours dans la bonne humeur. Je te remercie également de m'avoir fait confiance dès mon arrivée en stage à Bruyères-Le-Châtel et de m'avoir confié autant de responsabilités. Sache que je suis particulièrement fier d'avoir travaillé sous ta direction.

Je remercie Christophe Moulin, Fabien Pointurier puis Xavier Machuron-Mandard et Bruno Bernard-Michel pour m'avoir accueilli respectivement au sein de leur service et laboratoires. Je remercie particulièrement Christophe Moulin pour s'être rendu disponible lorsque cela était nécessaire, pour l'intérêt qu'il porte à ce sujet et pour nos échanges scientifiques toujours enrichissants et constructifs. Je tiens également à remercier particulièrement Fabien Pointurier pour l'enthousiasme « à tendance passionnelle » avec laquelle il parle de la spectrométrie de masse et des activités du laboratoire, nos

discussions scientifiques ont toujours été instructives. Merci, également à Bruno Bernard-Michel, à qui je souhaite beaucoup de courage dans sa nouvelle fonction, pour sa sympathie et sa disponibilité.

Je tiens à remercier Richard Cole, Jean Claude Tabet et Adrien Schwarzenberg pour nous avoir permis d'analyser nos échantillons de substances humiques avec le spectromètre de masse FT-ICR-MS de l'UPMC.

Je remercie également grandement Nicolas Dacheux pour la qualité de la formation dont il est responsable et pour la passion avec laquelle il dispense ses cours. A l'aide des intervenants, vous m'avez transmis votre passion pour la recherche dans le domaine du nucléaire.

Ensuite, je souhaite remercier chaleureusement l'ensemble des membres permanents du laboratoire qui assurent une ambiance propice au travail dans la bonne humeur. Grace à vous, il n'y a pas un seul jour où je suis venu au laboratoire à reculons ! (La liste des personnes ci-dessous n'est pas exhaustive et l'ordre d'apparition des noms est aléatoire).

Tout d'abord, je tiens à remercier Olivier Marie pour sa grande aide dans la correction de ce manuscrit mais surtout pour ses bons conseils et sa franchise. Olivier, je te suis profondément reconnaissant !

Merci aux « filles », Amélie Hubert et Anne-Claire Pottin pour leur disponibilité et notamment pour leurs interventions sur le capricieux Axiom et nos discussions toujours enrichissantes sur la spectrométrie de masse. Un petit « merci particulier » à Amélie pour ces mots rassurants dont seules les mamans ont le secret.

Merci à Maxime Bridoux et à Sébastien Shramm pour la formation qu'ils m'ont donnée sur l'utilisation de l'Orbitrap et leurs conseils.

Je tiens également à remercier Gilles Le Coq pour son humanité, son écoute et sa générosité. Je te remercie également de m'avoir fait découvrir avec passion la culture bretonne et c'est avec plaisir que je continuerai à participer aux fest-noz/deiz et kermesses. Kenavo, Gilles !

Je remercie grandement Evelyne Roche pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa réactivité. Grace à toi, je n'ai presque plus faim avant midi ! Surtout, garde ton sourire, il te va si bien !

Merci Siddy, l'apollon du laboratoire, pour ta bonne humeur, ton sourire et pour toutes nos discussions.

Merci aux (plus ou moins) jeunes du service participant aux petites virées parisiennes et plus particulièrement Anne-Laure, Antoine, Ludovic et Sylvain pour ces moments de détente.

Sophie et Tracy, vous savez à quel point je vous apprécie, je vous souhaite tout le bonheur que vous méritez !

Je remercie également les doctorants et post-doctorant du laboratoire (Anne Salaün, Audrey Bacchetta [Petite coquinette], Sébastien Leguay et Mickaël Mendes) pour les bons moments passés dans les laboratoires, les bureaux ou à l'extérieur du centre. Je tiens à remercier particulièrement Mickael Mendes qui m'a beaucoup appris...

Pour finir, je souhaite remercier les stagiaires que j'ai pu encadrer durant ces trois années et notamment Juliette Sebti, Mohamed Kerbaa et Guillaume Genesio pour leur implication et leur bonne humeur. Je leur souhaite une bonne continuation !

Concernant le cercle privé, je remercie tous mes amis d'Ile de France qui m'aident à supporter ma carence en vitamine D et qui m'ont donné envie de rester dans la région.

Pour finir, je ne remercierai jamais assez mes parents et ma petite sœur. Je vous remercie d'avoir toujours été derrière moi malgré la distance qui nous sépare et de m'avoir permis de faire mes études dans les meilleures conditions qui soient. Vous trouverez dans ce travail toute ma reconnaissance. J'ai également une pensée pour mes grands-parents.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	19
------------------------------------	-----------

CHAPITRE I : LA MATIERE ORGANIQUE, UN VECTEUR DE MIGRATION DES ACTINIDES DANS L'ENVIRONNEMENT : ETAT DE L'ART	23
--	-----------

1. Les actinides	23
1.1. Introduction	23
1.2. Le thorium	30
1.3. L'uranium	33
1.4. Le neptunium	36
1.5. Le plutonium	39
1.6. L'américium	43
2. Les substances humiques	46
2.1. Généralités	46
2.2. Propriétés physico-chimiques	48
2.3. Mise en évidence des interactions entre les actinides et la matière organique	50
2.4. Modélisation	51
3. Complexation des actinides	56
3.1. Généralités	56
3.2. L'étude des interactions entre actinides et matière organique	57
3.3. Paramètres influençant la spéciation	57
3.4. Système ternaire	58
3.5. Cinétique	59
4. Conclusion du chapitre	59

CHAPITRE II : L'UTILISATION DE LA SPECTROMETRIE DE MASSE TRES HAUTE RESOLUTION POUR LA CARACTERISATION MOLECULAIRE DES SUBSTANCES HUMIQUES	63
---	-----------

1. Stratégie analytique	63
2. Outils analytiques : principes et instrumentation	65
2.1. Principes	65
2.2. La source d'Ionisation ElectroSpray (ESI)	65
2.3. Spectromètre de masse très haute résolution de type FTICR-MS	67
3. Analyse de la matière organique par spectrométrie de masse à l'échelle moléculaire ..	70
3.1. Conditions expérimentales	70
3.2. Résultats obtenus et discussion	75
4. Comparaison à l'échelle moléculaire d'échantillons de matière organique	91
4.1. Conditions expérimentales et instrumentation	91
4.2. Résultats obtenus et discussion	92
5. Conclusion du chapitre	101

CHAPITRE III : L'ECHELLE MOLECULAIRE POUR UNE NOUVELLE VISION DE LA COMPLEXATION DES ACTINIDES PAR LA MATIERE ORGANIQUE NATURELLE 103

1. Stratégie analytique	103
2. Outils analytiques : principes et instrumentation	105
2.1. Principes	105
2.2. Les sources d'ionisation	105
2.3. Le spectromètre de masse de type FT-MS.....	111
3. Développement d'une méthodologie pour l'analyse à l'échelle moléculaire de la complexation des actinides par la matière organique naturelle	113
3.1. Performances du FT-MS Orbitrap™	114
3.2. Description et validation de la méthode	119
3.3. Choix de la source d'ionisation	124
3.4. Les conditions opératoires finales utilisées	127
4. Détermination des molécules complexant les actinides	129
4.1. Détection des actinides non complexés	129
4.2. Molécules non identifiées.....	130
4.3. Molécules assignées dont les structures sont non déterminées.....	133
4.4. Molécules assignées dont les structures sont déterminées.....	135
5. Paramètres influençant la complexation des actinides par la matière organique.....	139
5.1. Molécules et groupements fonctionnels complexants	139
5.2. Influence du pH sur la complexation des actinides	140
5.3. Influence de l'origine et de la nature des substances humiques	142
6. Conclusion du chapitre.....	142

CHAPITRE VI : LA SEPARATION ELECTROPHORETIQUE POUR LA SIMPLIFICATION DES ETUDES A L'ECHELLE MOLECULAIRE DE LA MATIERE ORGANIQUE 145

1. Stratégie analytique	145
2. La séparation électrophorétique : principes et instrumentation	146
2.1. Principe.....	147
2.2. Principe de migration des ions.....	147
2.3. Vitesse et mobilité électrophorétique	150
2.4. Méthodologie.....	151
2.4. Corrections en température.....	153
3. Développement d'une méthode de séparation de la matière organique	155
3.1. Conditions opératoires.....	155
3.2. Résolution des problèmes de sorption et de détection.....	156
3.3. Choix de l'électrolyte de séparation	158
3.4. Influence de la température de séparation	159
3.5. Choix de la tension de séparation :	161
3.6. Conclusion.....	162
4. Développement d'un couplage EC-FT-MS.....	163
4.1. Caractéristiques de l'interface	163
4.2. Interphase et paramètres instrumentaux	165
4.3. Résultats et interprétations.....	166
4.4. Conclusion.....	167
5. Conclusion du chapitre.....	168

CONCLUSION GENERALE.....	169
ANNEXES.....	173
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	181

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Tableau périodique représentant la famille des actinides	24
Figure 2 : Potentiels redox du plutonium pour plusieurs pH [9]	40
Figure 3 : Coloration de solutions en fonction du degré d'oxydation du plutonium [47]	41
Figure 4 : Structure macromoléculaire conceptualisée par Schulten et Schnitzer [64]	47
Figure 5 : Structures d'acides organiques simples pouvant être à l'origine de la formation de substances humiques [63]	48
Figure 6 : Proposition de molécules azotées potentiellement présentes dans un échantillon de substances humiques [69]	49
Figure 7 : Importance de la haute résolution pour la qualité d'assignement et la séparation de masses proches [127]	65
Figure 8 : Représentation schématisée d'une source électrospray d'après [128]	66
Figure 9 : Représentation schématisée d'un spectromètre de masse FTICR	68
Figure 10 : Représentation schématisée d'une cellule ICR où T sont les trappes de piégeage ouvertes ; E, les électrodes d'excitation ; D, les électrodes de détection et B, la direction de champ magnétique induit, d'après [132]	68
Figure 11 : Représentation schématisée de l'excitation et de la mesure des ions dans une cellule ICR, d'après [131]	69
Figure 12 : Influence du pourcentage volumique en méthanol dans l'analyte sur les spectres de masse obtenus par le ESI-FTICR-MS 7 T pour l'analyse d'un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode positif	71
Figure 13 : Influence du temps d'accumulation sur les spectres de masse obtenus par FTICR-MS 7 T pour l'analyse d'un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode positif	73
Figure 14 : Influence du paramètre « qm1 » sur les spectres de masse obtenus par FTICR-MS 7 T pour l'analyse d'un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode négatif	74
Figure 15 : Spectres de masse très haute résolution d'acides fulviques « Suwannee River » à 600 mg.L ⁻¹ dans 30 % volumique de méthanol obtenus avec un ESI-FTICR-MS 7 T en mode positif (a) détectant 70 266 ions et négatif (b) détectant 72 241 ions avec un zoom de la région des m/z = 361 da	76
Figure 16 : Spectre de masse très haute résolution d'acides fulviques « Suwannee River » à 600 mg.L ⁻¹ dans 30 % volumique d'éthanol obtenu avec un ESI-FTICR 7T da en mode positif centré entre 336 et 356 da pour mettre en évidence les relations entre différentes masses	78
Figure 17 : Représentation de l'algorithme de calcul CIA	79
Figure 18 : Reconstruction du spectre de masse de SRFA à 600 mg.L ⁻¹ à partir de la contribution de chaque type de molécule (acquisition en mode positif (a) et en mode négatif (b))	82
Figure 19 : Histogramme de la répartition des molécules de l'échantillon d'acides fulviques SRFA attribuées par le code et pondérées par leur intensité respective en fonction de leur type	

(pourcentages calculés à partir de 28 647 formules élémentaire en mode positif et 30 308 en mode négatif).....	83
Figure 20 : Représentations de la diversité des molécules déterminées dans un échantillon d'acides fulviques de Suwannee River sous forme de diagrammes de Van Krevelen (28 647 molécules en mode positif (a) et 30 308 molécules en mode négatif (b))	86
Figure 21 : Diagramme de Van Krevelen des molécules de type CHO assignées pour l'échantillon de SRFA analysé par ESI-FTICR-MS 7 T en mode positif (points rouges) et négatif (points bleus)	88
Figure 22 : Diagramme de Van Krevelen des molécules de type CHON (a), CHONS (b), CHONP (c) assignées pour l'échantillon de SRFA analysé par ESI-FTICR-MS 7 T en mode positif (points rouges) et négatif (points bleus)	90
Figure 23 : Spectres de masse très haute résolution d'acides fulviques NAFA, SRFA et PLFA et d'acides humiques NAHA et SRHA à 600 mg.L ⁻¹ dans 30 % volumique de méthanol obtenus avec un ESI-FTICR-MS 7 T en mode positif (a) et en mode négatif (b)	94
Figure 24 : Histogrammes représentant la répartition des molécules des échantillons attribuées par le code et pondérées par leur intensité respective en fonction de leur type pour chaque échantillon de matière organique en mode positif (a) et en mode négatif (b)	97
Figure 25 : Diagramme de Van Krevelen représentant la composition en oxygène et en hydrogène normalisée par le nombre d'atome de carbone de chaque molécule déterminée par le code CIA pour les cinq échantillons de substances humiques en mode positif (a) et en mode négatif (b)	99
Figure 26 : Représentation schématique d'une source d'ionisation DART, d'après [164]	106
Figure 27 : Représentation schématique du fonctionnement d'une source APCI, d'après documentation Thermo Scientific™	108
Figure 28 : Domaine d'application des différentes sources d'ionisation (ESI, APCI et APPI), d'après un document technique fourni par Thermo Scientific™ (San Jose, CA, USA)	111
Figure 29 : Représentation schématique du LTQ XL Orbitrap™ (Thermo Scientific™) [127]	112
Figure 30 : Photographie d'une cellule Orbitrap™, d'après [173]	112
Figure 31 : Comparaison de deux spectres de masse d'un échantillon d'acides fulviques obtenus dans les mêmes conditions avec deux spectromètres de masse différents (ESI-FTICR-MS en rouge et ESI-FT-MS en noir) en mode positif	115
Figure 32 : Comparaison des molécules déterminées pour l'analyse d'un échantillon de SRFA en mode positif avec deux spectromètres de masse différents (ESI-FTICR-MS en rouge et ESI-FT-MS en noir) dans les mêmes conditions	116
Figure 33 : Comparaison des types de molécules assignées par deux instruments différents dans les mêmes conditions d'analyse en mode positif pour un échantillon de SRFA	118
Figure 34 : Evolution du spectre de masse d'un échantillon de NAFA acquis dans les mêmes conditions en mode positif après ajout d'euprium	120
Figure 35 : Evolution des spectres de masse zoomé d'un échantillon de NAFA acquis dans les mêmes conditions en mode positif après ajout d'euprium dont l'abondance isotopique permet l'observation de doublets séparés par deux unités de masse	121
Figure 36 : Exemples de spectres de fragmentation de deux ions ($m/z = 261$ da (a) et $m/z = 259$ da (b)) issus d'un échantillon de substances humiques NAFA en mode positif avec ajout d'euprium à 5.10^{-5} M	122
Figure 37 : Comparaison des spectres de masse obtenus pour l'ionisation de NAFA à 600 mg/L à pH 2 avec quatre sources d'ionisation différentes en mode positif sur ESI-FT-MS	125

Figure 38 : Photographie de l'ensemble des échantillons de substances humiques dont le pH a été ajusté à 2, 4, 5 et 7 et dans lesquels ont été ajouté soit de l'euporium, soit du thorium, soit de l'uranium soit HCl à pH 2 sans métal	128
Figure 39 : Résolutions recalculées des 200 pics les plus intenses détectés pour l'analyse de SRFA par FT-MS en mode positif	131
Figure 40 : Nombre de formules élémentaires possibles pour un rapport m/z de 499,2126 en fonction de l'erreur permise et du type de formule élémentaire, d'après R. L. Sleighter et P. G. Hatcher [194]	131
Figure 41 : Spectre de masse d'un échantillon de HANA à pH 2 avant (a) et après (b) ajout de thorium	132
Figure 42 : Exemple de cluster détecté dans un échantillon de SRHA à pH7 contenant de l'uranium dont la distribution isotopique laisse supposer la présence de 7 atomes de chlore et d'une charge 3+ (a) et le spectre théorique d'une molécule hypothétique de formule $C_{15}H_{14}O_7Cl_7NaU_5^{3+}$ (b)	133
Figure 43 : Structures référencées dans la littérature dont la formule élémentaire est $C_{12}H_7O_2N$	134
Figure 44 : Structures référencées dans la littérature dont la formule élémentaire est $C_{11}H_{11}O_2N$	134
Figure 45 : Molécules dont les propriétés de chélation des actinides sont vérifiées dans cette étude.	136
Figure 46 : Trois acides pyridines carboxyliques dont un est responsable de la complexation du thorium et de l'uranium.....	136
Figure 47 : Différents modes de coordination de la 1,8-naphthalimide, d'après [216].....	138
Figure 48 : Molécules dont les propriétés de chélation des actinides sont vérifiées dans cette étude.	138
Figure 49 : Influence du pH sur l'apparence des spectres de masse acquis en mode positif d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L par FT-MS	140
Figure 50 : Influence du pH sur la détection de l'uranyle "libre" dans un échantillon de FANA analysé par FT-MS en mode positif	141
Figure 51 : Schéma de principe d'une électrophorèse capillaire, d'après A. Delorme [227]	147
Figure 52 : Représentation du déplacement des ions (l'exposant +/- représente le cation ou l'anion) [227]	148
Figure 53 : Représentation de la double couche électrique créée à la surface d'un capillaire pour des pH supérieurs à 4 [227]	149
Figure 54 : Séparation électrophorétique en mode inversé à 13 kV d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire en silice fondue de 75 μ m de diamètre sans (a) et avec (b) conditionnement du capillaire au polybrène (Electrolyte : 100 mM H_3BO_3 / 10 mM HCl (pH 3,15)).....	157
Figure 55 : Electrophérogrammes obtenus en mode inverse à 13 kV d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire en silice fondue de 75 μ m de diamètre conditionné au polybrène dans trois électrolytes différents : (a) 100 mM H_3BO_3 / 10 mM HCl (pH 3,15) ; (b) 85 mM H_2PO_4Na / 15 mM $HPO_4 Na_2$ (pH 6,95) et (c) 20 mM $C_2H_4O_2$ / 30 mM $C_2H_3O_2Na$ (pH 4,95).....	159
Figure 56 : Electrophérogrammes obtenus en mode inverse à 13 kV d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 μ m de diamètre pour trois températures différentes : 55 °C (a), 25 °C (b) et 15 °C (c) dans un électrolyte composé de 20 mM $C_2H_4O_2$ / 30 mM $C_2H_3O_2Na$ (pH 4,95).....	160
Figure 57 : Electrophérogrammes obtenus en mode inverse à 25 °C d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 μ m de diamètre pour trois	

tensions différentes : 30 kV (a), 13 kV (b) et 5 kV (c) dans un électrolyte composé de 20 mM $C_2H_4O_2$ / 30 mM $C_2H_3O_2Na$ (pH 4,95).....	161
Figure 58 : Schéma de l'interface utilisée pour le couplage EC-DART-FT-MS	165
Figure 59 : Chromatographe obtenu pour la mesure de la masse 267,17 da (TBP protoné) obtenu avec une injection ponctuelle (10 secondes à 3 psi) par le capillaire de l'électrophorèse capillaire (a) et deux exemples de spectres de masse acquis durant cette analyse : un avant la détection du TBP (à 1 minute (b)) et l'autre pendant la détection du TBP (à 2,07 minutes (c))	166
Figure 60 : Spectre de masse acquis avec le couplage EC-DART-FT-MS sans injection de substances humiques (a) et avec injection d'un échantillon de NAHA à pH 2 en continu par l'intermédiaire du capillaire	167

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux degrés d'oxydation des actinides naturels et des transuraniens majeurs (les formes chimiques en gras indiquent les DO les plus stables) [2,8-10]	25
Tableau 2 : Nucléides issus des trois familles de décroissance radioactive naturelle [7].....	27
Tableau 3 : Exemple de compositions majeures d'un combustible UOX après trois années d'irradiation (les quantités sont données par tonne d'uranium initial enrichi à 3,5 % en ^{235}U) [7]	28
Tableau 4 : Exemples de constantes de complexation du thorium par différents ligands à force ionique nulle	31
Tableau 5 : Quelques valeurs de constantes de complexation entre deux DO d'uranium et certains ligands environnementaux à force ionique nulle et à 25 °C [30].....	35
Tableau 6 : Influence du temps d'accumulation sur le nombre d'ions détectés par FTICR-MS 7 T pour un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode positif	73
Tableau 7 : Influence du paramètre qm1 sur le nombre d'ions détectés par FTICR-MS 7 T pour un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode négatif	74
Tableau 8 : Exemples de groupements utilisés par le code CIA pour la recherche d'analogies structurales entre molécules	80
Tableau 9 : Pourcentages des différents types de molécules déterminés par assignement de spectres de masse ESI-FTICR de substances humiques issus de la littérature (pourcentages calculés à partir du nombre de molécules pondéré par leur intensité respective (a), du nombre de molécules (b) ou en utilisant les critères proposés par J. D'Adrilli) [150]	84
Tableau 10 : Nombre de formules élémentaires assignées par le code CIA pour chaque échantillon et pour les deux modes d'ionisation	96
Tableau 11 : Paramètres instrumentaux de la source ESI utilisés après optimisation.....	115
Tableau 12 : Résultats obtenus pour la comparaison des performances entre l'ESI-FT-MS et l'ESI-FTICR-MS pour l'analyse d'un échantillon de SRFA dans les mêmes conditions.....	117
Tableau 13 : Comparaison des performances de l'ESI-FTICR-MS et de l'ESI-FT-MS pour la détermination de la composition d'un échantillon de SRFA en mode positif dans les mêmes conditions.....	119
Tableau 14 : Assignements des pics apparus après un ajout d'euporium dans un échantillon de NAFA pour des conditions opératoires non adaptées.....	123
Tableau 15 : Paramètres instrumentaux utilisés pour la comparaison des performances de différentes sources d'ionisation	124
Tableau 16 : Comparaison des performances de cinq sources d'ionisation pour l'analyse de NAFA en mode positif par FT-MS	126
Tableau 17 : Clusters formés à partir des métaux non complexés	130
Tableau 18 : Valeurs des constantes de complexation entre différents acides pyridinecarboxyliques et l'euporium déterminées par SLRT, d'après [215].....	137

LISTE DES ABREVIATIONS

AIEA : Agence Internationale de l'Energie Atomique

An : Actinide

APCI : Atmospheric Pressure Chemical Ionization (ionisation chimique à pression atmosphérique)

APPI : Atmospheric Pressure Photo-Ionization (photo-ionisation à pression atmosphérique)

CEA : Commissariat à l'Energie Atomique

CIA : Compound Identification Algorithme (algorithme d'identification de composés)

CID : Collision Induced Dissociation (dissociation induite par collision)

CSOB : Chimie Structurale Organique et Biologique

DART : Direct Analyze in Real Time (Analyse directe en temps réel)

DO : Degrés d'Oxydation

DOC : Carbone Organique Dissout

DOM : Dissolved Organic Matter (matière organique dissoute)

EC : Electrophorèse Capillaire

ESI : ElectroSpray Ionization (ionisation par électrospray)

EXAFS : Edge extended X-ray Fine Structure

HAP : Hydrocarbures Aromatiques polycycliques

HESI : Heated ElectroSpray Ionization (ionisation par électrospray assistée par chauffage)

IHSS : International Humic Substances Society (Société international des substances humiques)

MON : Matière Organique Naturelle

NICA : Non Ideal Competitive Adsorption Model

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

TBP : Tributylphosphate

TICE : Traité d'Interdiction Complète des Essais nucléaires

XPS : X-ray Photoelectron Spectroscopy (spectrométrie photoélectronique X)

LISTE DES ECHANTILLONS

SRFA : Acides Fulviques de Suwannee River

SRHA : Acides Humiques de Suwannee River

NAFA : Acides Fulviques de Nordic Aquatic

NAHA : Acides Humiques de Nordic Aquatic

PLFA : Acides Fulviques de Pony Lake

INTRODUCTION GENERALE

Une trentaine d'années après la découverte de la radioactivité naturelle par le physicien français Henri Becquerel, les années 1930 ont été le théâtre des grandes découvertes concernant la radioactivité artificielle. D'éminents chercheurs tels que l'anglais Chadwick, Irène et Frédéric Joliot-Curie du collège de France, l'italien Enrico Fermi de l'université de Columbia à New York et les allemands Hahn, Strassmann, Meitner et Fritsch sont à l'origine des applications modernes du nucléaire notamment dans les domaines de l'énergie et de la médecine.

Rapidement, l'intérêt porté à l'incomparable quantité d'énergie produite par la fission de l'uranium s'est amplifié avec la course à l'armement imposée par le contexte de la seconde guerre mondiale. Ainsi, le projet Manhattan est créé en 1942 et rassemble 1500 chercheurs sous la direction conjointe du général Grooves et du physicien Oppenheimer. Ce projet est à l'origine du développement et de la conception des trois premières bombes A. Deux de ces bombes, nommées Fat Man et Little Boy furent respectivement larguées sur Nagasaki et Hiroshima en 1945. Les dégâts humains et matériels incitèrent le Japon à mettre fin à la guerre contre les Etats-Unis. L'arme nucléaire devient rapidement un moyen de dissuasion.

Entre 1945 et la création du traité sur l'interdiction complète de essais nucléaires en 1996, plus de 2000 essais nucléaires ont été réalisés. Ils ont permis l'amélioration des armes et le maintien de l'effet de dissuasion. Depuis quelques années, le coût environnemental est évalué à mesure que s'ouvrent les accès aux installations et sites d'essais nucléaires.

Une étude menée par l'équipe de Kersting et publiée en 1999 rapporte une migration inattendue de plutonium sur un site d'essais américain [kuja1]. Ce radioélément artificiel présente un intérêt tout particulier pour les thématiques sanitaires et environnementales à cause de sa grande radiotoxicité. Le plutonium était considéré jusqu'alors comme peu mobile dans l'environnement de par sa faible solubilité dans les eaux de surface et sa propension à se sorber sur les surfaces minérales. Cependant, Kersting et

son équipe ont montré que la présence d'espèces colloïdales omniprésentes dans l'environnement serait responsable de cette vectorisation inattendue du plutonium.

En parallèle, d'autres études ont montré que la matière organique omniprésente dans l'environnement, notamment sous forme de colloïdes, était également responsable de la vectorisation de certains actinides [2-6]. Ainsi, l'étude des interactions entre les substances humiques et les actinides ont rapidement présenté un intérêt particulier pour la compréhension et la prédiction de la migration des métaux dans l'environnement.

A l'heure actuelle, l'approche top-down est largement favorisée pour les études concernant les interactions entre la matière organique et les métaux d'intérêt. En effet, l'observation et l'acquisition de données à l'échelle macroscopique ont permis la conception de modèles hydrogéochimiques qui décrivent des phénomènes microscopiques tels que la réactivité d'un métal vis-à-vis de la matière organique naturelle. Ces modèles peuvent être empiriques ou semi-empiriques. Ils nécessitent l'acquisition de données expérimentales parfois biaisées par la complexité des études concernant la matière organique naturelle.

En revanche, la complexité des études concernant la matière organique naturelle, principalement constituée de substances humiques, rend l'approche bottom-up peu présente dans la littérature. En effet, la matière organique naturelle forme un mélange complexe et hétérogène de diverses macromolécules dont la composition et la structure dépendent de leur origine. Ces macromolécules sont liées les unes aux autres par des interactions faibles, on parle de supramolécules dont la conformation et la réactivité sont conditionnées par les conditions physico-chimiques du milieu d'analyse.

Dans ce manuscrit, le développement d'une méthodologie permettant de proposer une vision expérimentale à l'échelle moléculaire de la complexation des actinides par la matière organique est présenté. Cette étude vise à déterminer les interactions microscopiques qui régissent la complexation des actinides par la matière organique. Les informations obtenues dans le cadre de cette étude permettent d'étoffer les connaissances actuelles sur le comportement des radioéléments en milieu environnemental. Cette vision bottom-up permet également de valider l'une des approches utilisées actuellement pour la prédiction de la migration des métaux en milieu naturel.

Dans un premier temps, ce manuscrit définit les principales thématiques abordées dans cette étude : les actinides, la matière organique naturelle et leurs interactions en milieu environnemental.

Le second chapitre de ce manuscrit décrit une méthodologie permettant de caractériser à l'échelle moléculaire la matière organique par spectrométrie de masse très haute résolution. L'analyse de cinq échantillons de substances humiques de nature et d'origine différentes selon la démarche expérimentale développée est également présentée dans cette partie du rapport.

La troisième partie de ce manuscrit présente le développement d'une méthodologie permettant l'étude des interactions organométalliques à l'échelle moléculaire. Celle-ci est appliquée pour l'étude de la formation de complexes entre les cinq substances humiques caractérisées et trois métaux : le thorium, l'uranium et l'euporium. Les résultats obtenus sont également présentés dans cette partie.

La complexité des échantillons analysés réduit la quantité d'informations accessibles par la méthodologie développée. Dans l'optique de simplifier l'exploitation des résultats, une séparation non intrusive de la matière organique par électrophorèse capillaire est réalisée en amont de l'analyse par spectrométrie de masse. Le développement de la séparation électrophorétique est présenté dans la quatrième partie de ce manuscrit.

CHAPITRE I :

LA MATIERE ORGANIQUE, UN VECTEUR DE MIGRATION DES ACTINIDES DANS L'ENVIRONNEMENT : ETAT DE L'ART

Sommaire

1. Les actinides	23
1.1. Introduction.....	23
1.2. Le thorium	30
1.3. L'uranium	33
1.4. Le neptunium.....	36
1.5. Le plutonium.....	39
1.6. L'américium	43
2. Les substances humiques.....	46
2.1. Généralités	46
2.2. Propriétés physico-chimiques	48
2.3. Mise en évidence des interactions entre les actinides et la matière organique	50
2.4. Modélisation	51
3. Complexation des actinides	56
3.1. Généralités	56
3.2. L'étude des interactions entre actinides et matière organique	57
3.3. Paramètres influençant la spéciation.....	57
3.4. Système ternaire.....	58
3.5. Cinétique.....	59
4. Conclusion du chapitre.....	59

1. Les actinides

1.1. Introduction

1.1.1. Généralités

La famille des actinides, notés An, est la famille d'éléments de transition interne correspondant au remplissage de la sous-couche 5f. Cette famille, représentée sur la Figure 1, commence avec le thorium ($Z = 90$) et finit avec le lawrencium ($Z = 103$). Le nom de la famille des actinides a été inspiré par l'élément qui la précède dans le tableau périodique : l'actinium.

1A																		0									
1	H																	2	He								
IIA																		IIIA	IVA	VA	VIA	VIIA					
3	Li	B																	5	B	C	N	O	F	Ne		
11	Na	Mg	IIIB	IVB	VB	VIB	VIIIB	VIII				IB	IIB	13	Al	Si	P	S	Cl	Ar							
19	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	31	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr								
37	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	49	In	Sn	Sb	Te	I	Xe								
55	Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	81	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn								
67	Fr	Li	(Rf)	Db	Sg	Bh	Hs	Mt																			
89 Ac (227) ACTINIDES																											
Thorium Protactinium Uranium Neptunium Plutonium Americium Curium Berkelium Californium Einsteinium Fermium Mendelevium Nobelium Lawrencium																											
90	Th	91	Pa	92	U	93	Np	94	Pu	95	Am	96	Cm	97	Bk	98	Cf	99	Es	100	Fm	101	Md	102	No	103	Lr
(232)		(231)		(238)		(237)		(244)		(243)		(247)		(247)		(251)		(252)		(257)		(258)		(259)		(260)	

Figure 1 : Tableau périodique représentant la famille des actinides

Tous les isotopes des éléments constituant cette famille sont naturellement radioactifs : ils sont appelés radioéléments. Physiquement, ils sont caractérisés par des masses molaires importantes et des masses volumiques parmi les plus importantes du tableau périodique¹. Bien que considérés comme homologues, le comportement chimique des lanthanides et des actinides diffère notamment pour les premiers actinides de la série jusqu'à l'américium. La seconde partie des éléments de cette série, au-delà du curium, a des propriétés voisines des lanthanides. Une des divergences entre les propriétés chimiques de ces deux familles est la propension des actinides du début de série, contrairement aux lanthanides, à former des entités oxo-cations de forme linéaire pour les éléments au degré d'oxydation (+V) ou (+VI). Les actinides présentent une très grande diversité de degrés d'oxydation allant de la forme divalente à la forme pentavalente, quatre de ces degrés d'oxydation (notés DO) sont prédominants dans des conditions chimiques « classiques ». En effet, les actinides du milieu de série (de l'uranium au plutonium) ont tendance à former des entités de degré d'oxydation (+V) ou (+VI). On parle alors d'ions actinyle, le suffixe -yle signifiant la présence d'une forme transdioxo AnO_2^{n+} . Les autres actinides sont généralement plus stables au degré d'oxydation (+III) ou (+IV) sous forme d'ion « aquo » où le métal

¹ Par exemple, la masse volumique du neptunium est de 20,25 g.cm⁻³.

est entouré uniquement par sa sphère d'hydratation. Le Tableau 1 représente les principaux degrés d'oxydation des actinides dont dépendent une grande partie de leurs propriétés physico-chimiques. Ainsi, il est important de préciser qu'une analogie est souvent faite pour deux actinides au même degré d'oxydation. Cette analogie est aussi étendue aux lanthanides notamment pour l'euprécium(III) qui est un « analogue » non radioactif des actinides(III) comme l'américium(III) et le curium(III) [7].

Tableau 1 : Principaux degrés d'oxydation des actinides naturels et des transuraniens majeurs (les formes chimiques en gras indiquent les DO les plus stables²) [2,8-10]

Principaux degrés d'oxydation	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf
(III)		Pa ³⁺	U ³⁺	Np ³⁺	Pu ³⁺	Am³⁺	Cm³⁺	Bk³⁺	Cf³⁺
(IV)	Th⁴⁺	Pa ⁴⁺	U ⁴⁺	Np ⁴⁺	Pu⁴⁺	Am ⁴⁺	Cm ⁴⁺	Bk ⁴⁺	
(V)		PaO³⁺	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⁺				

L'augmentation du numéro atomique des actinides dans la classification périodique de Mendeleïev est accompagnée d'une diminution de leur rayon ionique (on parle de contraction actinidique), constituant une autre analogie avec famille des lanthanides (Ln). Cette propriété permet, dans l'approximation d'une interaction ionique gouvernée par la dureté dans un formalisme de Pearson, d'envisager la prédiction de la réactivité chimique d'un ion par rapport à un autre en fonction de leur numéro atomique [11]. En effet, une augmentation du caractère dur de l'actinide au sens de Pearson (par une diminution de rayon ionique) est engendrée par l'augmentation de sa masse. Cette tendance est valide pour des ligands ne présentant pas de contraintes stériques particulières et pour les ions au même degré d'oxydation. De manière générale, les actinides sont considérés comme des acides durs réagissant préférentiellement avec des bases dures (ligand électrodonneurs) comme l'oxygène et le fluor dont la stabilité des complexes formés est contrôlée par la charge effective portée par l'actinide. Ainsi, sans effet d'encombrement stérique (ligand de taille relativement faible) la stabilité des complexes croît selon

² Le protactinium(V), de par sa forte propension à s'hydrolyser en solution aqueuse, est probablement présent sous forme de PaO(OH)⁽³⁻ⁿ⁾⁺.

l'ordre suivant³ : $An^{4+} > AnO_2^{2+} \geq An^{3+} > AnO_2^+$ [12]. La réactivité est également contrôlée par la basicité au sens de Pearson du ligand. Ainsi, la réactivité des ligands vis-à-vis des actinides suit généralement l'ordre suivant : $PO_4^{3-} > CO_3^{2-} > F^- > H_2PO_4^- > SCN^- > NO_3^- > Cl^- > ClO_4^-$.

Pour comprendre complètement la réactivité des actinides et expliquer leur mode de coordination, la simple considération des effets électrostatiques (ou ioniques) décrits par la théorie HSAB (Hard and Soft Acids and Bases) [11] ne sont pas suffisants. En effet, les orbitales 6d des actinides (plus diffuses que les orbitales 5f) sont disponibles pour la formation de liaisons covalentes. Il a aussi été montré que les orbitales 5f peuvent être impliquées dans des liaisons covalentes surtout pour les premiers actinides de la série pour lesquels les orbitales sont moins contractées [13]. Lors de la formation d'une liaison de type covalente, le ligand se substitue à une (ou plusieurs) molécule(s) d'eau de la première sphère d'hydratation de l'actinide, on parle de formation de complexe en sphère interne. Lorsque les interactions covalentes ne sont pas impliquées dans la liaison actinide / ligand, les interactions ioniques (ou électrostatique) peuvent donner lieu à des complexes en sphère interne ou externe, dans ce cas le ligand se situe hors de la première sphère de coordination [14,15].

1.1.2. Origines des actinides

Une partie de la radioactivité présente en tout point de notre environnement a pour origine l'omniprésence des actinides. En effet, les actinides ne présentent aucun isotope stable, ils sont radioactifs. Une partie de ces actinides tels le thorium, le protactinium et l'uranium sont d'origine naturelle et contribuent à la radioactivité naturelle. Ces éléments n'existeraient pas sans l'existence de « l'île de la stabilité » formée par les trois radionucléides : ^{235}U ($T_{1/2} = 0,704 \times 10^9$ ans), ^{238}U ($T_{1/2} = 4,496 \times 10^9$ ans) et ^{232}Th ($T_{1/2} = 1,405 \times 10^{10}$ ans). Les durées de demi-vies de ces isotopes sont suffisamment longues pour être mesurées en quantité pondérable sur notre planète depuis leur formation lors de la création de la Terre (approximativement $4,5 \times 10^9$ ans). Ces isotopes sont qualifiés de radionucléides

³ Les An(III) et An(IV) ont une charge effective respective de + 3 et + 4 alors que les An(V) et les An(VI) ont une charge approximative de + 2,2 et + 3,1 : une partie de cette charge (environ + 1,1) est apportée par la présence des oxygènes transdioxo.

primordiaux⁴. Ils sont les éléments pères de trois familles de décroissance radioactive naturelle⁵ à l'origine de la génération d'autres radionucléides naturels tels que le ^{231}Pa et le ^{234}U dont les quantités produites sont répertoriées dans le Tableau 2.

Mis à part ces quelques isotopes primordiaux et leurs descendants, les actinides sont anthropogéniques : ce sont des éléments instables qui n'existent pas à l'état naturel et sont généralement caractérisés par de courtes périodes de demi-vies⁶. Les actinides artificiels vont du ^{93}Np au ^{103}Lr . Les radioéléments compris entre le neptunium et le californium inclus sont principalement produits dans par l'irradiation du combustible à base d'uranium ou de plutonium (ou les deux) dans les réacteurs nucléaires (Tableau 3). Les actinides formés dans les réacteurs nucléaires civils sont retraités : les produits de fissions et les actinides mineurs sont vitrifiés dans des matrices de confinement tandis que l'uranium et le plutonium sont valorisés.

Tableau 2 : Nucléides issus des trois familles de décroissance radioactive naturelle [7]

Nucléides formés par la décroissance du ^{238}U			Nucléides formés par la décroissance du ^{235}U		
Nucléide	Demi-vie	Quantité dans 1 tonne d'U	Nucléide	Demi-vie	Quantité dans 1 tonne d'U
^{234}Th	24,1 jours	14 μg	^{231}Th	1,06 jour	29,9 ng
$^{234\text{m}}\text{Pa}$	1,17 min	0,42 ng	^{231}Pa	$3,25 \times 10^4$ ans	327 mg
^{234}U	$2,45 \times 10^5$ ans	53,5 g	^{227}Ac	21,7 ans	211 μg
^{230}Th	8×10^4 ans	17,25 g	^{227}Th	18,7 jours	506 μg
^{226}Ra	1600 ans	337 mg	^{223}Fr	22 min	5,5 pg
^{222}Rn	3,823 jours	2,17 μg	^{223}Ra	11,4 jours	303 ng
^{218}Po	3,05 min	1,2 ng	^{219}Rn	3,96 s	1,2 pg
^{214}Pb	26,8 min	10,1 ng	^{215}Po	$1,8 \times 10^{-3}$ s	0,5 fg
^{214}Bi	19,7 min	7,5 ng	^{211}Pb	36,1 min	630 pg
^{214}Po	$1,64 \times 10^{-4}$ s	1 fg	^{211}Bi	2,14 min	37,4 pg
^{210}Pb	22,3 ans	4,37 mg	^{207}Tl	4,77 min	79 pg
^{210}Bi	5 jours	2,7 μg			
^{210}Po	138,4 jours	74 μg			

⁴ Il existe d'autres radionucléides primordiaux présents sur Terre en quantités beaucoup moins significatives tels le ^{244}Pu et le ^{247}Cm .

⁵ Les familles de décroissance radioactives naturelles sont appelées : 4 n pour le ^{232}Th , 4 n+2 pour le ^{238}U et 4 n+3 pour le ^{235}U .

⁶ Cette affirmation n'est pas vraie pour tous les actinides. Par exemple, le ^{242}Pu produit dans un réacteur nucléaire civil a une période de $3,75 \times 10^5$ ans.

Tableau 2 (suite) : Nucléides issus des trois familles de décroissance radioactive naturelle [7]

Nucléides formés par la décroissance du ^{232}Th		
Nucléide	Demi-vie	Quantité dans 1 tonne d'U
^{228}Ra	5,76 ans	402 μg
^{228}Ac	6,13 heures	48,6 ng
^{228}Th	1,913 an	133 μg
^{224}Ra	3,66 jours	690 ng
^{220}Rn	55 s	117 pg
^{216}Po	0,15s	620 fg
^{212}Pb	10,64 heures	79 ng
^{212}Bi	60,6 min	7,5 pg
^{212}Po	3×10^{-7} s	400 zg
^{208}Tl	3,05 min	133 pg

Les actinides plus lourds (du ^{97}Bk au ^{103}Lr) sont synthétisés par captures neutroniques successives sur cible d'élément lourd (généralement le ^{239}Pu et le ^{242}Pu sont utilisés) ou par fusion obtenue par bombardement de cibles d'élément relativement lourd comme le ^{208}Pb par des ions tels que le ^{44}Ca ⁷ [16-18]. Certains de ces actinides les plus lourds ont été produits par une succession de captures neutroniques rapides suivies de décroissances β^- lors d'explosions d'armes thermonucléaires.

Tableau 3 : Exemple de compositions majeures d'un combustible UOX après trois années d'irradiation (les quantités sont données par tonne d'uranium initial enrichi à 3,5 % en ^{235}U) [7]

Famille	Elément	Isotope	Quantité (g)	Activité (x 10 ⁹ Bq)
Actinide	uranium	234	165,7	37,74
		235	10 270	0,81
		236	4 383	10,21
		238	940 600	11,62
	neptunium	237	433	11,10
	plutonium	238	175,9	1,11 x 10 ⁵
		239	5 673	1,29 x 10 ⁴
		240	2 214	1,87 x 10 ⁴
		241	490	4,55 x 10 ⁶
		242	490	69,19
	américium	241	223	2,82 x 10 ⁴
		243	101	743,70
	curium	244	24	7,19 x 10 ⁴
		245	1	7,70
	Total actinides formés			14 374
Lanthanide			11 291	1,24 x 10 ⁷
Autres produits de fissions			22 529	1,58 x 10 ⁷

⁷ Le ^{252}No a été synthétisé par bombardement d'une cible de ^{208}Pb par des ions ^{44}Ca .

1.1.3. Comportement des actinides dans l'environnement

Le comportement des actinides, qu'ils soient anthropogéniques ou d'origine naturelle, dans l'environnement est complexe à comprendre de par la richesse de leur chimie dont la multitude de degrés d'oxydation est à l'origine. Le comportement de ces éléments dans l'environnement dépend du compartiment étudié (eau, air ou sol) et de leurs formes physico-chimiques qui sont imposées par les paramètres du milieu (pH, présence de phase minérale, de ligands organiques et inorganiques, conditions d'oxydoréductions, activité biologique...).

Dans l'air, le déplacement de ces éléments lourds dépend essentiellement de la hauteur à laquelle ils sont rejetés. En effet, les essais nucléaires atmosphériques ou les entrées de satellites ont dispersé des actinides dans la stratosphère qui ont mis jusqu'à plusieurs années pour se redéposer à la surface de la Terre. Durant leur temps de retombée, les particules sont déplacées par les masses d'air et ont ainsi contaminé à l'état de trace, l'ensemble de l'hémisphère nord en certains actinides tels que le plutonium, le neptunium et l'américium. En revanche, les particules issues des activités du cycle du combustible et des accidents de réacteurs civils sont relarguées à des altitudes beaucoup plus faibles et entraînent des pollutions beaucoup plus localisées.

Dans les sols, de manière générale, la forte propension des An(III) et An(IV) à s'adsorber sur les surfaces rend ces degrés d'oxydation peu mobiles dans l'environnement alors que les An(V) et An(VI) sont plus solubles et donc plus mobiles. En effet, les phénomènes de sorption, les interactions avec les ligands organiques et inorganiques contrôlent principalement la migration des actinides dans les sols. Les éléments principalement trivalents dans l'environnement comme le thorium, l'américium ou le californium sont moins solubles donc moins mobiles que les éléments pentavalents et hexavalents tels que l'uranium, le neptunium et le plutonium.

Dans les eaux, la migration des actinides est très largement dépendante de leur degré d'oxydation. Les eaux surfaciques, caractérisées par une teneur en oxygène généralement élevée, favorisent la formation des degrés d'oxydation les plus élevés et donc les plus mobiles alors que les eaux de profondeurs, plutôt anoxiques, favorisent la formation des degrés d'oxydation les plus faibles et moins solubles.

De manière générale, la complexité de la prédiction de la migration des actinides provient de la richesse de leur chimie. Celle-ci est principalement gouvernée par les conditions physico-chimiques contrôlant

leur degré d'oxydation et leur hydrolyse mais aussi par la présence de ligands inorganiques principalement oxygénés tels que les carbonates, les phosphates, sulfate et de matière organique dont la réactivité avec les actinides est peu connue.

1.2. Le thorium

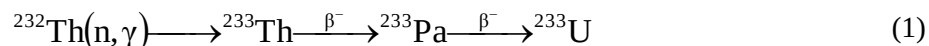
1.2.1. Généralités

L'hypothèse de la présence d'un nouvel élément lors d'une analyse de roches fut élaborée par Berzelius en 1815 et c'est en 1828 qu'il prouva l'existence de cet élément dans une autre roche (Th,U)SiO₄ qu'il nomma thoriane. Cet élément porte le nom du dieu guerrier scandinave Thor [19].

Le thorium a été très peu utilisé jusqu'à l'invention, en 1885, des manchons à incandescence dans lesquels il a été utilisé sous forme d'oxyde pour augmenter l'éclat des flammes des lampes à pétrole. Il a ensuite été utilisé pour la fabrication de céramiques et d'alliages métallique résistants. Le thorium n'est plus utilisé couramment à cause de sa radioactivité naturelle.

1.2.2. Propriétés nucléaires et applications

Le ²³²Th est un radionucléide primordial, il est le géniteur de la chaîne de décroissance naturelle des 4 n + 2 (Tableau 2). Le thorium et ses éléments fils sont utilisés pour la datation géologique de cours d'eau ou de montagnes. Son potentiel d'application le plus important est celui de son utilisation pour la production d'énergie d'origine nucléaire. En effet, le ²³²Th par capture de neutrons lents forme de l'²³³U fissible (utilisable en réacteur) selon la chaîne de décroissance suivante (1) [20] :



Les quantités de thorium naturel sur Terre étant supérieures à celles de l'uranium naturel (de plusieurs fois), son utilisation dans les réacteurs nucléaires permettrait d'augmenter considérablement les réserves naturelles de combustible nucléaire. Actuellement, le développement des procédés concernant le cycle du thorium ne permet pas l'utilisation de celui-ci dans les réacteurs nucléaires actuels en tant que combustible.

1.2.3. Propriétés chimiques en solution

Bien que certaines études rapportent l'existence du thorium sous la forme du $\text{Th}^{3+}_{(\text{aq})}$, il a été démontré, par ailleurs, que le seul degré d'oxydation stable connu du thorium est l'ion aqua $\text{Th}^{4+}_{(\text{aq})}$ [21]. D'après une étude EXAFS, sa sphère de coordination (interactions électrostatiques) comporte $(8,0 \pm 0,5)$ molécules d'eau et son rayon ionique est proche de $1,18 \text{ \AA}$ [22]. Cette taille fait de lui le plus gros des actinides tétravalents et le moins hydrolysable. De nombreuses études proposent des valeurs de constantes d'hydrolyse pour le $\text{Th}(\text{OH})_n^{(4-n)+}$ dont les valeurs moyennes suivantes ont été sélectionnées : $\log \beta_{1n}^0 = (11,8 \pm 0,2), (22,0 \pm 0,6), (31,0 \pm 1,0)$ et $(39,0 \pm 0,5)$ pour, respectivement $n = 1, 2, 3$ et 4 [21]. Une des particularités du thorium est de former des espèces polynucléaires telles que le $[\text{Th}_2(\text{OH})_2]^{6+}$, le $[\text{Th}_4(\text{OH})_8]^{8+}$ et le $[\text{Th}_6(\text{OH})_{15}]^{9+}$ pour des concentrations en thorium relativement faibles (supérieures à $\approx 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) et pour des pH supérieurs à $4,5$; une revue des constantes de formation d'espèces polynucléaires du Th est reportée dans la littérature [21].

Le thorium forme des complexes plutôt forts avec certaines bases dures (au sens de Pearson) telles que le F^- et CO_4^{2-} mais des complexes beaucoup plus faibles avec d'autres comme le Cl^- par exemple (Tableau 4).

Tableau 4 : Exemples de constantes de complexation du thorium par différents ligands à force ionique nulle

Complexe	$\log \beta_{1n}^0$	Référence
ThCl^{3+}	1,09	[23]
ThCl_2^{2+}	0,80	
ThCl_3^+	1,65	
ThCl_4	1,26	
ThF^{3+}	8,03	[23]
ThF_2^{2+}	14,25	
ThF_3^+	18,93	
ThF_4	22,31	
$\text{Th}(\text{CO}_3)_5^{6-}$	32,3	[24]
$\text{Th}(\text{OH})_3\text{CO}_3^{3-}$	41,5	
$\text{Th}(\text{Cit})^+$	14,13	[25]
$\text{Th}(\text{Cit})_2^{2-}$	24,29	
$\text{Th}(\text{Cit})_3^{5-}$	28,0	
$\text{Th}(\text{Ox})^{2+}$	9,30	[23]
$\text{Th}(\text{Ox})_2$	18,54	
$\text{Th}(\text{Ox})_3^{2-}$	25,73	

Les ligands organiques semblent former des complexes forts avec le thorium aux vues des constantes de complexation (Tableau 4). La Matière Organique Naturelle (MON) est également identifiée comme agent complexant du Th^{4+} . En effet, plusieurs publications montrent l'implication de la MON dans la vectorisation de thorium dans l'environnement [26,27]. Des études sur les Th(IV) / MON ont été réalisées par XPS (X-ray Photoelectron Spectroscopy) et EXAFS, celles-ci montrent une complexation préférentielle du thorium par les groupements carboxyliques des substances humiques [28].

1.2.4. Présence de l'environnement

Le ^{232}Th est un radionucléide primordial, il est naturellement présent dans notre environnement de façon relativement importante puisque dans la croûte terrestre, le thorium est quasiment aussi abondant que le plomb⁸. Dans l'environnement, il se présente sous forme tétravalente et est généralement associé à l' U(IV) , au Zr(IV) , à l' Hf(IV) , au Ce(IV) et à des terres rares trivalentes de rayons ioniques proches.

L'isomorphie du ThO_2 et de l' UO_2 leur permet de former des solutions solides dont le nom dépend de leur concentration en thorium : la thorianite contient entre 75 et 100 % de thorium, l'uranothorianite entre 25 et 75 %, la thoriouranite entre 15 et 25 % et l'uranite entre 0 et 15 %.

Il existe d'autres minéraux dans lesquels une quantité considérable de thorium est mesurée, c'est le cas de la thorite (ThSiO_4) qui est à l'origine de la découverte du thorium.

Dans l'environnement, bien que considéré comme très peu mobile de par sa faible solubilité et sa sorption sur les phases solides. Cependant, la présence de fluor ou de sulfate et, dans de plus grandes mesures, de carbonate et de phosphate augmente considérablement la solubilité du dioxyde de thorium et donc sa mobilité. Une forte complexation du thorium par ces ligands explique ce phénomène.

Bien que naturel, le thorium est géographiquement redistribué par les activités anthropiques. Trois sources principales enrichissent particulièrement certains compartiments de la biosphère comme les sols, les sédiments et les eaux continentales. La première source de sa concentration est l'exploitation de mines uranifères où l'uranium est extrait et le thorium (souvent associé physiquement à l'uranium) est concentré. Les secondes sources d'enrichissement des sols en Th sont les retombées atmosphériques

⁸ Les réserves naturelles en thorium sont estimées entre 1 et 2 millions de tonnes.

dues aux accidents : une quantité d'une dizaine de becquerels par kilogramme de sol sec a été mesurée dans des zones situées à 140 km sous les vents dominants de la centrale de Tchernobyl [29]⁹. Une source surprenante de redistribution de thorium dans l'environnement est l'utilisation agricole d'engrais phosphatés naturels qui contiennent entre 5,9 et 66 x 10⁻³ Bq.g⁻¹ d'engrais.

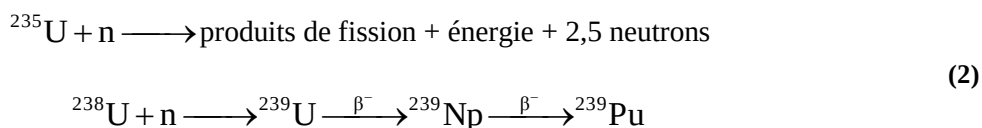
1.3. L'uranium

1.3.1. Généralités

Bien qu'utilisé en tant que colorant pendant des millénaires, l'uranium a été identifié dans un échantillon de pechblende en 1789 par Martin Heinrich Klaproth. L'oxyde d'uranium UO₂ fut d'abord isolé par Klaproth et considéré comme un élément à part entière jusqu'en 1841, année à laquelle Eugene-Melchior Péligot démontra que l'élément était isolé sous forme d'oxyde. C'est en 1896 qu'Henry Becquerel mis en évidence que l'uranium émet des rayons pénétrants qui furent détectés et quantifiés par Marie Curie pour la première fois. Les recherches concernant l'uranium se sont enchaînées jusqu'à la découverte de sa propension à fissionner en 1939 par Hahn et Strassman. Depuis cette année-là, les recherches concernant la chimie, les propriétés mécaniques et physiques de l'uranium ont été (et sont toujours) un enjeu majeur des problématiques énergétiques.

1.3.2. Propriétés nucléaires et applications

Trois isotopes de l'uranium sont naturellement présents dans l'environnement : ²³⁸U, ²³⁵U et ²³⁴U¹⁰. Parmi ces trois radionucléides, deux sont parents de familles de décroissance radioactive naturelles : l'²³⁸U est le père de la famille 4 n + 2 et l'²³⁵U est le père de la famille 4 n + 3, l'²³⁴U provient de la décroissance du ²³⁸U.



⁹ Cette valeur est à comparer avec les concentrations naturelles moyennes proches de 25 Bq.kg⁻¹ de sol et les valeurs extrêmes naturelles comprises entre 5 et 190 Bq.kg⁻¹.

¹⁰ Dans les proportions suivantes : 99,275 % pour ²³⁸U, 0,720 % pour ²³⁵U et 0,005 % pour ²³⁴U.

Le grand intérêt que porte l'industrie du nucléaire pour l'uranium provient de sa propension pour l'isotope 235 à fissionner par capture de neutrons lents. En effet, une fission complète d' ^{235}U produit une énergie équivalente à $2 \times 10^7 \text{ kWh.kg}^{-1}$ (soit approximativement 200 MeV par fission). En plus de cette production d'énergie massive, l' ^{235}U produit aussi des neutrons qui permettent d'entretenir une réaction en chaîne produisant de l'énergie. L'uranium 238 permet également la production de ^{239}Pu qui est également fissile par capture de neutrons lents selon les équations (2).

1.3.3. Propriétés chimiques en solution

En solution, le degré d'oxydation de l'uranium le plus stable et le plus étudié est l' $\text{U}(+\text{VI})$ sous la forme d'un uranyle UO_2^{2+} qui est entouré de cinq molécules d'eau. C'est un acide dur, il est donc très réactif vis-à-vis des ligands électrodonneurs tels que les fluorures ou les molécules portant des oxygènes comme les carbonates. L'uranium est moins acide que le thorium, il est donc moins sensible à l'hydrolyse que celui-ci.

Dans certaines conditions chimiques l'uranium(V) peut aussi être observé sous la forme d'uranyle (UO_2^+), il peut être préparé par réduction d' UO_2^{2+} par un amalgame de zinc ou par hydrogénation ou encore par dissolution d' UCl_5 . L' $\text{U}(\text{V})$ en solution est thermodynamiquement instable, son oxydation lente rend son analyse délicate : il est peu étudié. On relève, cependant, quelques études concernant la formation de complexes et la détermination de constantes de complexation entre l' $\text{U}(\text{V})$ et les carbonates [30]. Du point de vue structural, il est souvent comparé au $\text{Np}(\text{V})^{11}$ et une étude propose une coordination de l' $\text{U}(\text{V})$ par 5 molécules d'eau sous une géométrie bipyramidale à base pentagonale [31]. Les autres degrés d'oxydation de l'uranium sont observés dans des conditions chimiques ou électrochimiques particulières, par exemple l'ion aquo U^{4+} peut être observé en l'absence d'agents oxydants (comme l'oxygène dissout) en solution ou en présence de complexants forts. L'uranium(IV) est un acide très dur, il est donc très hydrolysable (pour des concentrations en protons inférieures à 0,5M). Des analyses par EXAFS suggèrent un nombre de coordination de (9 ± 1) avec une distance U-O de $(2,42 \pm 0,01) \text{ \AA}$ [32].

¹¹ L'analogie entre actinides de même DO est courante.

L'ion aquo U^{3+} peut être obtenu par électrolyse d' $U(IV)$ ou d' $U(VI)$ sur cathode de mercure mais la difficulté de le maintenir en solution rend rares les études le concernant.

La propension des actinides à être hydrolysés (tout comme leur réactivité) est liée à la charge effective du métal. Elle est donc dépendante de son degré d'oxydation et suit l'ordre suivant : $U(IV) > U(VI) > U(III) > U(V)$. Quels que soient ses degrés d'oxydation, mis à part pour des concentrations très faibles, l'uranium s'hydrolyse préférentiellement sous forme polynucléaire.

Tableau 5 : Quelques valeurs de constantes de complexation entre deux DO d'uranium et certains ligands environnementaux à force ionique nulle et à 25 °C [30]

Equilibre	Log β_M°	
	M= UO_2^{2+}	M= U^{4+}
$M^{n+} + F^- = MF^{n-1+}$	5,2	9,4
$M^{n+} + 2F^- = MF_2^{n-2+}$	8,8	16,6
$M^{n+} + 3F^- = MF_3^{n-3+}$	10,9	21,89
$M^{n+} + 4F^- = MF_4^{n-4+}$	11,8	26,34
$M^{n+} + 5F^- = MF_5^{n-5+}$	-	27,7
$M^{n+} + 6F^- = MF_6^{n-6+}$	-	29,7
$M^{n+} + Cl^- = MCl^{n-1+}$	0,17	1,7
$2M^{n+} + 2Cl^- = MCl_2^{n-2+}$	-1,1	-
$M^{n+} + CO_3^{2-} = M(CO_3)^{n-2+}$	9,9	-
$M^{n+} + 2CO_3^{2-} = M(CO_3)_2^{n-4+}$	16,6	-
$M^{n+} + 3CO_3^{2-} = M(CO_3)_3^{n-6+}$	21,8	-
$M^{n+} + 4CO_3^{2-} = M(CO_3)_4^{n-8+}$	-	-
$M^{n+} + 5CO_3^{2-} = M(CO_3)_5^{n-10+}$	-	34,0

En ce qui concerne leur réactivité, l' $U(IV)$ et l' $U(VI)$ forment des complexes très stables avec les fluorures et les carbonates alors que les complexes formés avec les chlorures sont faibles (Tableau 5). La réactivité des $U(III)$ et $U(V)$ est moins documentée et des analogues tels que le $Cm(III)$ et le $Np(V)$ peuvent être utilisés pour son estimation.

1.3.4. Présence de l'environnement

Analogiquement au thorium, l'uranium présent dans l'environnement est naturel mais a été redistribué par quatre activités anthropiques majeures. La principale source de vectorisation anthropique d'uranium est son utilisation pour le cycle du combustible (depuis l'exploitation jusqu'au retraitement).

L'utilisation militaire d'uranium appauvri¹² utilisé pour ces propriétés pyrophoriques est à l'origine d'enrichissement de certains lieux en UO_2 . La combustion du charbon est également responsable de l'émission d'uranium par voie atmosphérique. Et pour finir, comme pour le thorium, l'utilisation d'engrais phosphatés naturels, contenant de l'uranium, enrichit les terres agricoles.

L'uranium est naturellement présent dans la croûte terrestre et plus particulièrement dans certaines roches appelées uranifères, sa teneur dans le milieu dépend fortement de la nature des sols et varie de 5 à 1 000 Bq.kg^{-1} . Il est également présent naturellement dans les eaux de mer où la concentration moyenne est proche de 40 mBq.L^{-1} (soit environ $3\mu\text{g.L}^{-1}$).

Le comportement de l'uranium dans l'environnement est lié aux conditions d'oxydo-réduction du milieu [33]. En effet, en milieu oxydant, l'uranium est, préférentiellement, sous forme d'uranyle(VI) (UO_2^{2+}) qui est la forme la plus stable et la plus mobile jusqu'à pH 6, au-delà, l'uranium est hydrolysé puis carbonaté pour des pH supérieurs à 8. En plus d'être influencée par le potentiel redox et le pH, la mobilité de l'uranium est aussi contrôlée par la présence de ligands environnementaux. En effet, l'uranium réagit fortement avec la matière organique et certains ligands durs (toujours au sens de Pearson) tels que les carbonates et les phosphates [34]. Ces composés, plus ou moins solubles, déterminent la mobilité de l'uranium dans les sols. En effet, la complexation de l'uranium par des ligands tels que les carbonates et les oxalates (ou sa sorption sur la matière organique) augmente sa mobilité alors que sa précipitation par formation d'hydroxyde, de silicate ou phosphate diminue considérablement sa mobilité.

En conditions anaérobies (réductrices), l'uranium peut être réduit en U(IV) sous une forme hydrolysée. Sous cette forme, il a tendance à précipiter et est donc peu mobile.

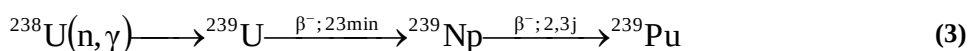
1.4. Le neptunium

1.4.1. Généralités

Le neptunium fut créé, pour la première fois, en 1939 par bombardement neutronique (produit en cyclotron) d'uranium naturel [35]. L'uranium bombardé fut à l'origine de la création de deux éléments

¹² L'uranium appauvri contient 0,2 % d' ^{235}U .

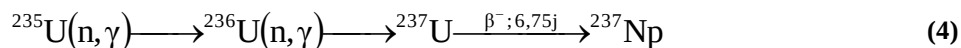
radioactifs (émetteurs β), l'un possède une demi-vie de 23 minutes et l'autre de 2,3 jours. L'identification respective de ces composés mit en évidence la création d' ^{239}U et de ^{239}Np , dont le ratio constant entre ces deux éléments montre un lien de filiation (3) [36,37]. Le nom neptunium lui a été donné par McMillan et Abelson et a pour origine le nom de la planète Neptune (planète située après Uranus dans notre système solaire).



Aujourd'hui, cet élément est considéré comme un déchet issu de la filière du cycle du combustible.

1.4.2. Propriétés nucléaires et applications

Actuellement, vingt-trois isotopes de neptunium allant du ^{225}Np au ^{244}Np , sont connus. L'isotope 237 a une période de demi-vie suffisamment longue ($t_{1/2} = 2,144 \times 10^6$ années) pour être manipulé en quantité pondérable [38]. Il est produit par l'industrie nucléaire, principalement par la réaction prédominante dans un réacteur fonctionnant à l' ^{235}U enrichi (4) et par une réaction moins fréquente : la capture neutronique de l' ^{238}U (5).



Alors que de l'uranium et le plutonium sont extraits du combustible irradié par le procédé Purex pour être valorisés, le neptunium est calciné avec les autres actinides mineurs avant vitrification. A ce jour, on dénombre peu d'applications au neptunium à l'exception de la production de quelques isotopes du plutonium [39].

1.4.3. Propriétés chimiques en solution

Le neptunium existe en solution sous cinq degrés d'oxydation différents allant du Np(III) au Np(VII). Bien que le Np(V) soit le degré d'oxydation du neptunium le plus stable, il peut, dans certaines conditions, dismuter en Np(IV) et en Np(VI). Le neptunium aquo trivalent Np^{3+} et tétravalent Np^{4+} existent en solution acide sans présence de ligands complexants. Il est à noter que le Np(III) s'oxyde rapidement en Np(IV) qui lui-même s'hydrolyse rapidement même en milieu acide. Le neptunium sous

sa forme hexavalente NpO_2^{2+} peut être observé en solution acide qui est vite réduite en sa forme pentavalente NpO_2^+ qui est la plus stable. Ces deux degrés d'oxydation commencent à s'hydrolyser pour des pH neutres.

Analogiquement à toute la série des actinides, la réactivité du neptunium suit l'ordre suivant : $\text{Np(IV)} > \text{Np(VI)} > \text{Np(III)} > \text{Np(V)}$. En effet, la réactivité vis-à-vis de la complexation des actinides est aussi régie par le potentiel ionique : elle suit donc le même ordre. Des ouvrages reportent l'ensemble des constantes de complexation déterminées pour le neptunium [30,38]. Pour un même degré d'oxydation, la stabilité des complexes formés suit l'acidité de Pearson des ligands complexants monovalents : $\text{F}^- > \text{H}_2\text{PO}_4^{2-} > \text{SCN}^- > \text{NO}_3^- > \text{ClO}_4^-$. Les ligands divalents sont plus complexants et suivent la séquence suivante : $\text{CO}_3^{2-} > \text{HPO}_4^{2-} > \text{SO}_4^{2-}$.

1.4.4. Présence de l'environnement

La comparaison entre l'âge de la Terre et la période de demi-vie la plus longue observée pour le neptunium ($2,144 \times 10^6$ ans pour le ^{237}Np) permet d'affirmer qu'il ne reste pas de Np primordial à l'échelle pondérable sur Terre. Les quelques traces de neptunium d'origine naturelle qui peuvent être mesurées sont celles formées par la capture neutronique du $^{238}\text{U}^{13}$ menant à la formation de ^{237}Np dont une quantité a pu être identifiée dans une mine uranifère de la république démocratique du Congo [40]. La présence naturelle de ^{239}Np a été montrée par l'isolation d'une quantité de ^{239}Pu pondérable dont le ^{239}Np est le père géniteur [41]. Cet isotope du neptunium aurait été formé par capture électronique du ^{238}U suivie par la décroissance β de l' ^{239}U formé (3).

Comme pour les autres transuraniens¹⁴, les premières sources de neptunium dans la biosphère sont les essais nucléaires. En effet, une étude a estimé la quantité de ^{237}Np créée par ces essais, elle s'élèverait à deux tonnes et demie et représenterait un dépôt d'environ $0,2 \text{ Bq.m}^{-2}$ sur les sols européens [38,42]. Bien que la longue demi-vie du neptunium rende sa quantification délicate pour de faibles quantités, la

¹³ Le neutron peut provenir de la fission spontanée du ^{235}U ou peut être induit par les rayons cosmiques.

¹⁴ Les transuraniens sont tous les éléments actinides de numéros atomiques supérieurs à celui de l'uranium (Np, Pu, Am, Cm...).

concentration moyenne en neptunium dans les eaux de mer a été estimée à $6,5 \times 10^{-5} \text{ mBq.L}^{-1}$ (soit environ $5 \times 10^{-15} \text{ g.L}^{-1}$) [38,42,43]. De faibles quantités de neptunium sont également rejetées par les installations de retraitement du combustible irradié issu du parc électronucléaire. Une étude a quantifié les rejets en mer de ces installations : 8 g ($\approx 2 \times 10^8 \text{ Bq}$) pour l'usine de la Hague (France) en 1999 et 1 150 g ($\approx 3 \times 10^{10} \text{ Bq}$) pour l'usine de Sellafield (Royaume-Uni) en 1997.

En ce qui concerne sa migration dans l'environnement, comme pour les autres métaux, la mobilité du neptunium est contrôlée par sa solubilité dans les eaux naturelles qui est élevée sous sa forme la plus stable (neptunyl pentavalent) [38]. Il ne s'hydrolyse qu'à partir de pH supérieurs à 8 qui sont peu courants pour des eaux naturelles. Sa solubilité est influencée par la formation de complexes carbonatés ou avec la matière organique [9]. Dans certaines conditions anaérobiques, le Np(V) peut être réduit pour former les espèces Np(OH)_4 et Np(OH)_3^+ qui s'immobilisent rapidement après s'être adsorbées.

1.5. Le plutonium

1.5.1. Généralités

L'élément plutonium occupe une place unique dans l'histoire de la chimie, de la physique, de la technologie et des relations internationales. Il a été produit pour la première fois par Seaborg et son équipe [44,45] par bombardement d'uranium par des ions deutérium ((6) et (7)).



Dès sa découverte, il suscita un grand intérêt pour les chercheurs notamment dans le cadre du projet Manhattan. Le plutonium a été nommé ainsi en référence à la planète Pluton. Aujourd'hui, il est généré par la transmutation de l'uranium dans les réacteurs nucléaires en quantité pondérable. Ces deux utilisations majeures (combustible de réacteur nucléaire civil et matière fissible hautement énergétique utilisée dans les armes nucléaires) font de lui un élément suscitant un très grand intérêt scientifique et géopolitique [45]. Le traité sur la non-prolifération des armes nucléaires, dont la l'application est garantie par l'AIEA (Agence Internationale de l'Energie Atomique), vise à contrôler la prolifération de la matière nucléaire à des fins militaires et donc le trafic de plutonium. Aujourd'hui, très peu de

laboratoires français étudient cet élément. En effet, aux problèmes administratifs, s'ajoutent les problèmes liés à la forte radiotoxicité du plutonium qui rend son étude très contraignante.

1.5.2. Propriétés nucléaires et applications

A l'heure actuelle, vingt isotopes du plutonium de masses comprises entre 228 à 247 sont reportés dans la littérature [45]. A l'exception du ^{241}Pu , qui est émetteur β^- , les principaux isotopes du plutonium présentés dans le Tableau 3 sont des émetteurs α et fissionnent spontanément.

Le ^{239}Pu est généré par capture neutronique de ^{238}U dans les réacteurs dans lesquels il contribue pour une part importante (30 à 40 %) à la production d'énergie. En effet, la section efficace particulièrement élevée du ^{239}Pu pour la fission par neutrons thermiques fait de lui un élément particulièrement adapté à la conception de bombes nucléaires à fission ainsi que pour la production d'énergie civile. Ainsi, dans certains réacteurs à eau pressurisée, le plutonium est assemblé à l'uranium (à hauteur de 30 %) pour la fabrication de combustible « MOX ». La longue période de demi-vie du ^{239}Pu et sa forte propension à fissionner ne lui permettent pas d'applications commerciales. En revanche, le ^{238}Pu a été utilisé pour la fabrication de batteries pour pacemakers, de sources de chaleur et d'énergie notamment pour les véhicules dédiés aux explorations spatiales.

1.5.3. Propriétés chimiques

La chimie du plutonium est particulièrement riche et unique. L'une des complexités de cette chimie provient des faibles valeurs de potentiels standards qui séparent ses différents degrés d'oxydation (Figure 2).

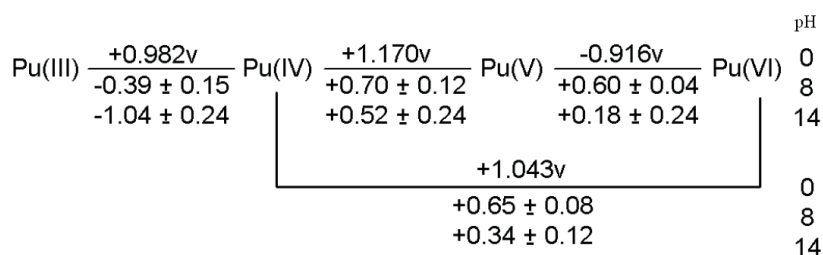


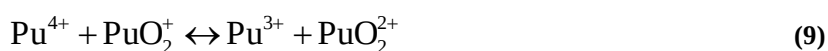
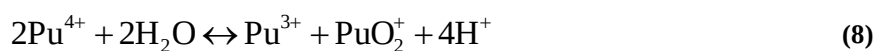
Figure 2 : Potentiels redox du plutonium pour plusieurs pH [9]

Dans les conditions appropriées, les degrés d'oxydation + 3 à + 7 peuvent être maintenus en solution aqueuse (Figure 3). Les plus faibles degrés d'oxydation (Pu(III) et Pu(IV)) sont plus stables en solution acide. Dans des conditions non complexantes, ces deux DO existent sous la forme d'ion aquo $\text{Pu}^{3+}_{(\text{aq})}$ et $\text{Pu}^{4+}_{(\text{aq})}$. Le maintien du degré d'oxydation + 3 nécessite la présence d'un réducteur fort alors que le degré d'oxydation + 4 est la forme la plus stable (donc la plus étudiée) mais s'hydrolyse pour des pH inférieurs à 1 de par sa charge effective élevée. Dans un milieu environnemental neutre non complexant, le plutonium (V) est le degré d'oxydation prédominant sous la forme de plutonyle (PuO_2^+). En solution alcaline et non complexante la formation des degrés d'oxydation plus élevés est favorisée : le Pu(VI) sous forme de plutonyle (PuO_2^{2+}) et le Pu(VII) sous la forme de tétra-oxo hydrolysée ($\text{PuO}_4(\text{OH})_2^{3-}$) [30]. Une étude spectroscopique propose l'existence d'un Pu(VIII) en solution basique [46].

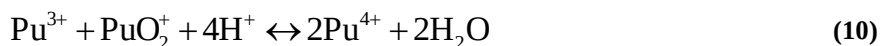


Figure 3 : Coloration de solutions en fonction du degré d'oxydation du plutonium [47]

Les phénomènes d'oxydoréduction des solutions de plutonium sont complexes à contrôler. Par exemple, en solution acide non complexante, le Pu(IV) dismute en Pu(III) et en Pu(V) selon l'équation (8) ensuite, le Pu(III) formé peut réduire le Pu(IV) en Pu(III) (9).



Selon les conditions chimiques, le Pu(V) peut également oxyder le Pu(III) (10).



Le plutonium est caractérisé par un potentiel ionique très élevé, il est considéré comme un acide dur selon Pearson, il forme des complexes très stables avec les bases dures telles que les ligands suivants : CO_3^{2-} , F^- et PO_4^{2-} . Comme pour toute la série des actinides, la stabilité des complexes formés suit l'ordre suivant : $\text{Pu(IV)} > \text{Pu(VI)} > \text{Pu(III)} > \text{Pu(V)}$ (analogiquement à la propension à l'hydrolyse). Les complexes formés peuvent être de sphère interne ou externe selon le type d'interaction entre le métal et le ligand avec un nombre de coordination allant de 7 pour le PuO_2^+ à 12 pour le Pu^{4+} .

1.5.4. Présence dans l'environnement

Bien que deux isotopes du plutonium (^{239}Pu et ^{244}Pu) soient naturellement présents dans l'environnement en quantité infime, l'omniprésence du Pu dans l'environnement est principalement imputable aux retombées des essais nucléaires. En effet, les essais atmosphériques réalisés entre 1945 et 1975 sont à l'origine de l'émission de 13 PBq de $^{239,240}\text{Pu}$, 170 PBq de ^{241}Pu et de 0,3 PBq de ^{238}Pu [48]. Certains accidents de satellites et d'avions B52 sont également contributeurs de la dissémination de plutonium dans l'environnement (100 TBq de ^{238}Pu pour le satellite SNAP-9A en 1964 et près de 1,5 TBq de ^{239}Pu pour les accidents des B52 de Palmarès et Thulé). Certains sites d'essais sont particulièrement contaminés (de façon localisée) en plutonium comme le Nevada Test Site où environ 6 TBq de $^{239,240}\text{Pu}$ ont été dispersés [49]. Aujourd'hui, et depuis la signature du TICE¹⁵ (Traité d'Interdiction Complète des Essais nucléaires) en 1996, les essais nucléaires sont interdits. Les accidents nucléaires civils peuvent être à l'origine de la dispersion de plutonium à proximité des réacteurs, c'est le cas de Tchernobyl où 4 kBq.m⁻² de ^{239}Pu peuvent être mesurés [50]. Il semblerait que beaucoup moins de plutonium ait été rejeté par l'accident de Fukushima. En effet, contrairement à Fukushima, une explosion d'un réacteur à Tchernobyl a engendré une dissémination d'éléments très peu volatils, comme le plutonium, dans l'atmosphère qui ont été ensuite transportés sur des centaines de kilomètres par voie atmosphérique [51]. Les usines de retraitement du combustible usagé sont aussi responsables d'émission de plutonium dans l'environnement (par exemple, environ 13,4 TBq de $^{239,240}\text{Pu}$ ont été rejetés sous forme d'effluent liquide

¹⁵ L'acronyme du TICE en anglais est CTBT pour Comprehensive Test Ban Treaty.

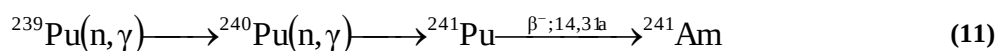
de l'usine de retraitement de la Hague) [52]. En 2005, les stocks mondiaux en plutonium étaient estimés à 2000 tonnes sous diverses formes : combustible mixte nucléaire, armes nucléaires et déchets divers. Les réacteurs à usage civil produisent, chaque année, entre 70 et 75 tonnes de Pu.

Dans l'environnement, la difficulté d'estimer le comportement du plutonium provient de la complexité de sa chimie et de son nombre élevé de degrés d'oxydation potentiellement stables dans l'environnement et dont dépend sa mobilité. La migration du plutonium dans l'environnement est peu contrôlée par la formation de complexes mobiles car la forme prédominante PuO_2 , pour des pH neutres et des conditions standards, est très peu soluble donc très peu mobile. Dans des conditions réductrices, le plutonium est réduit sous sa forme Pu(III). Il est oxydé en Pu(IV) pour des conditions oxydantes et plus basique ou en Pu(V) dans les sols très basiques et en l'absence de conditions réductrices. Le Pu(V) est la forme la plus soluble et donc la plus mobile dans l'environnement. Sous sa forme Pu(III) et Pu(IV), le plutonium est très sensible à l'hydrolyse, il s'adsorbe rapidement à la surface d'argile ou de minéraux et devient très peu vectorisable. Ces phénomènes sont responsables de son accumulation dans couches de sol les moins profondes. La vitesse de migration verticale dépend largement des conditions physico-chimiques des sols mais a été estimée à $0,4 \text{ cm.an}^{-1}$ en moyenne [53]. Le plutonium peut également être complexé par la matière organique présente dans les sols, sa mobilité dépend alors de la mobilité de l'espèce qui le complexe [1].

1.6. L'américium

1.6.1. Généralités

L'américium, comme le plutonium, a été découvert entre 1944 et 1945 par Seaborg et son équipe [54]. Ce radioélément artificiel a été synthétisé pour la première fois par bombardement neutronique d'une cible de plutonium (11).



La période de demi-vie du ^{241}Pu , relativement élevée pour son utilisation dans une synthèse, a été responsable des quatre ans d'attente nécessaires à la production d'une quantité pondérable d'américium.

1.6.2. Propriétés nucléaires et applications

A l'heure actuelle, dix-neuf isotopes de l'américium sont recensés allant de l' ^{231}Am à l' ^{249}Am dont toutes les demi-vies sont relativement courtes et inférieures à 7 370 ans. Les isotopes « légers » de l'américium (du ^{231}Am au ^{243}Am) décroissent préférentiellement par capture électronique, par émission α et fission spontanée alors que les isotopes « lourds » (du ^{244}Am au ^{249}Am) décroissent majoritairement par émission β [55].

L'américium est principalement produit de façon pure par capture d'un ou plusieurs neutrons par un atome de plutonium suivie par une émission β . C'est le cas de la production d'américium 241 dont le faible coût de production, la pureté, le spectre ainsi que sa période rendent son utilisation avantageuse pour la production de sources scellées émettant des rayons α et γ . Ces sources ont notamment été utilisées sous forme d'oxyde AmO_2 dans les détecteurs de fumée où les émissions α alimentaient une chambre d'ionisation. Il est également utilisé comme source indirecte de neutrons par interaction des particules α sur une cible de béryllium. L'américium 243 est caractérisé par une faible activité spécifique ($7,38 \times 10^9 \text{ Bq.g}^{-1}$) et est donc utilisé pour l'étude de la chimie de ce radioélément. Il est également utilisé pour la production d'éléments de numéros atomiques supérieurs tels que le ^{244}Cm , ^{249}Bk et le ^{249}Cf par irradiation sous flux neutroniques. L' ^{241}Am et l' ^{243}Am sont les isotopes de l'américium les plus produits par irradiation du combustible dans les réacteurs, ils présentent les périodes de demi-vies les plus élevées de tous les isotopes de l'américium (respectivement 433 ans et 7 370 ans).

1.6.3. Propriétés chimiques

En solution aqueuse, l'américium présente quatre degrés d'oxydation différents allant du (+III) au (+VI). Ces quatre degrés d'oxydation peuvent coexister dans une même solution dans certaines conditions basiques. En solution acide non complexante, le degré d'oxydation (III) de l'américium est de loin le plus stable, et donc le plus étudié des degrés d'oxydation de l'américium, sous la forme d'ion aquo Am^{3+} . L'américium sous cette forme commence à s'hydrolyser à partir de pH 5 et forme des complexes dont la stabilité dépend du caractère basique du ligand comme pour les autres actinides [55]. L' Am(VI) peut également être observé en solution dans certaines conditions acides sous la forme de transdioxo AmO_2^{2+} , alors que l' Am(IV) est réduit spontanément en Am(III) .

L'analogie entre les actinides(III) comme l'américium(III) et les lanthanides(III) comme l'euporium est clairement observée. En effet, l'émergence des électrons 5f plus localisés à partir de l'élément plutonium favorise la création de liaisons électrostatiques [45]. Ainsi, en plus d'être caractérisés par un potentiel ionique proche des lanthanides(III), pour des numéros atomiques supérieurs à celui du plutonium, les actinides(III) forment préférentiellement des liaisons selon le même mode de coordination que les lanthanides [56]. Ces propriétés physiques confèrent aux actinides(III) une certaine analogie chimique avec les lanthanides(III) qui est mise en évidence par un comportement chimique très proche entre ces deux familles notamment vis-à-vis des valeurs des constantes de complexation.

1.6.4. Présence de l'environnement

L'américium est anthropogénique et est essentiellement produit dans les réacteurs nucléaires dédiés à la production d'énergie. La quantité produite par un réacteur dépend du taux de combustion du combustible et est estimée approximativement à une tonne par an pour la France.

Comme pour les autres éléments transuraniens, la majeure partie de l'américium mesurée dans l'environnement a été dispersée par les essais nucléaires atmosphériques (à hauteur d'environ 80 %), par des rejets d'installations de traitement du combustible et par des accidents divers. Il est estimé qu'environ 44 kg d'américium ont été déposés sur la Terre (en grande partie dans l'hémisphère nord) suite aux essais nucléaires atmosphériques [57]. L'usine de retraitement de la Hague (France) serait à l'origine d'un rejet d'environ 30 mg d'Am en 1997 alors que l'usine de Sellafield (ex Windscale, Royaume-Uni) aurait rejeté 400 mg en mer. Les rejets gazeux en américium de ces usines sont quasi négligeables aux vues des rejets maritimes puisqu'ils sont inférieurs d'un facteur dix mille aux rejets maritimes. Quelques rejets accidentels sont notables, c'est le cas du crash des deux B52 à Palmarès (Espagne) et Thulé (Groenland) qui ont contaminé localement l'environnement, ainsi que des accidents civils de Windscale (Royaume Uni) en 1956 et de Tchernobyl (Ukraine) en 1986. Ce dernier accident est à l'origine de la dissémination d'environ 500 mg d'²⁴¹Am sur la zone d'exclusion (hors centrale et stockage des déchets) [57].

Aujourd'hui, la concentration moyenne en ²⁴¹Am dans les sols est de l'ordre de quelques dixièmes de becquerel par kilogramme de sol sec cette valeur peut s'élever localement jusqu'à plusieurs milliers de

Bq.kg⁻¹ dans les secteurs concernés par des accidents [58,59]. Dans les eaux douces, la concentration moyenne en ²³¹Am est comprise entre 1,5 et 3 µBq.L⁻¹ [57].

Dans des conditions environnementales classiques, l'américium se présente généralement sous forme d'Am³⁺. La migration de cette forme dans l'environnement est principalement régie par les phénomènes de sorption sur les particules argileuses, les carbonates ou les substances humiques. Outre la formation de complexes et colloïdes, l'américium peut être hydrolysé en Am(OH)²⁺ et Am(OH)₂⁺.

2. Les substances humiques

2.1. Généralités

La matière organique est omniprésente dans l'environnement. Une partie de celle-ci est dite « non-humique », cette fraction est caractérisée par des molécules relativement petites (de faibles poids moléculaires), comme les carbohydrates, les protéines, les acides aminés et les petits acides carboxyliques. Cette fraction est généralement rapidement dégradée par les microorganismes et présente un temps de résidence faible en milieu surfacique. La majorité de la matière organique dans l'environnement est composée de substances humiques. En effet, les substances humiques représentent 25 % du carbone total sur terre et entre 50 et 75 % de carbone organique dissout [60]. La concentration en substances humiques dans des rivières américaines a été estimée à quelques milligrammes par litre alors qu'elle est de l'ordre de quelques microgrammes par litre dans les eaux profondes [61].

Les substances humiques sont formées naturellement par la dégradation physique, chimique et biologique des animaux et végétaux. Elles sont omniprésentes dans les sols, les sédiments et les eaux naturelles sous la forme d'un mélange complexe et hétérogène de diverses macromolécules dont la composition et la structure dépendent de leur origine. Les substances humiques présentent une couleur allant du jaune au marron foncé, elles sont acides et sont essentiellement composées de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, d'azote et, en plus faible quantité, de soufre. En solution, la structure amorphe de ces macromolécules est extrêmement sensible aux conditions chimiques. Leur réactivité dans

l'environnement dépend des groupements fonctionnels qui les composent, de leur structure et de leur concentration.

Les substances humiques ont été divisées en trois familles selon un critère de solubilité dans l'eau : les acides fulviques, les acides humiques et les humines. Les acides fulviques sont solubles en solution aqueuse, les acides humiques sont solubles dans des solutions dont le pH est supérieur à 2 et les humines sont insolubles dans l'eau [62,63]. Les trois familles ont une structure similaire bien que les acides fulviques présentent un poids moléculaire moyen plus faible et une teneur relative en oxygène moyenne supérieure aux acides humiques et aux humines. Cette division schématique est arbitraire et les fractions restent hétérogènes.

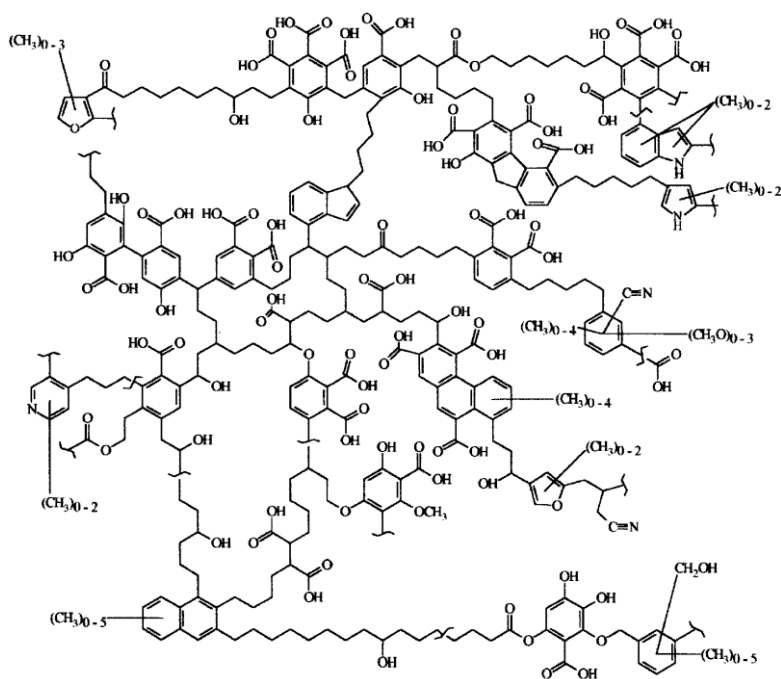


Figure 4 : Structure macromoléculaire conceptualisée par Schulten et Schnitzer [64]

Les substances humiques sont issues naturellement de la condensation chimique, biologique ou physique de petites molécules organiques telles la cellulose, les polyphénols (tannin et lignine), les acides aminés, les sucres, les quinones, les acides aliphatiques et les alcools : on parle d'humification ou de stabilisation de la matière organique [60]. Il en résulte la formation hétérogène de macromolécules polydispersées constituées de cycles aromatiques liés par des chaînes aliphatiques dont les masses moléculaires peuvent

varier de plusieurs centaines à plusieurs dizaines de milliers de daltons dont une structure hypothétique est représentée sur Figure 4 [63].

2.2. Propriétés physico-chimiques

Bien que la composition des acides humiques soit dépendante de son origine, leurs pourcentages massiques élémentaires sont compris entre 50 et 60 % pour le carbone, entre 25 et 30 % pour l'oxygène, entre 4 et 6 % pour l'hydrogène, entre 2 et 4 % pour l'azote et entre 0 et 2 % pour le soufre.

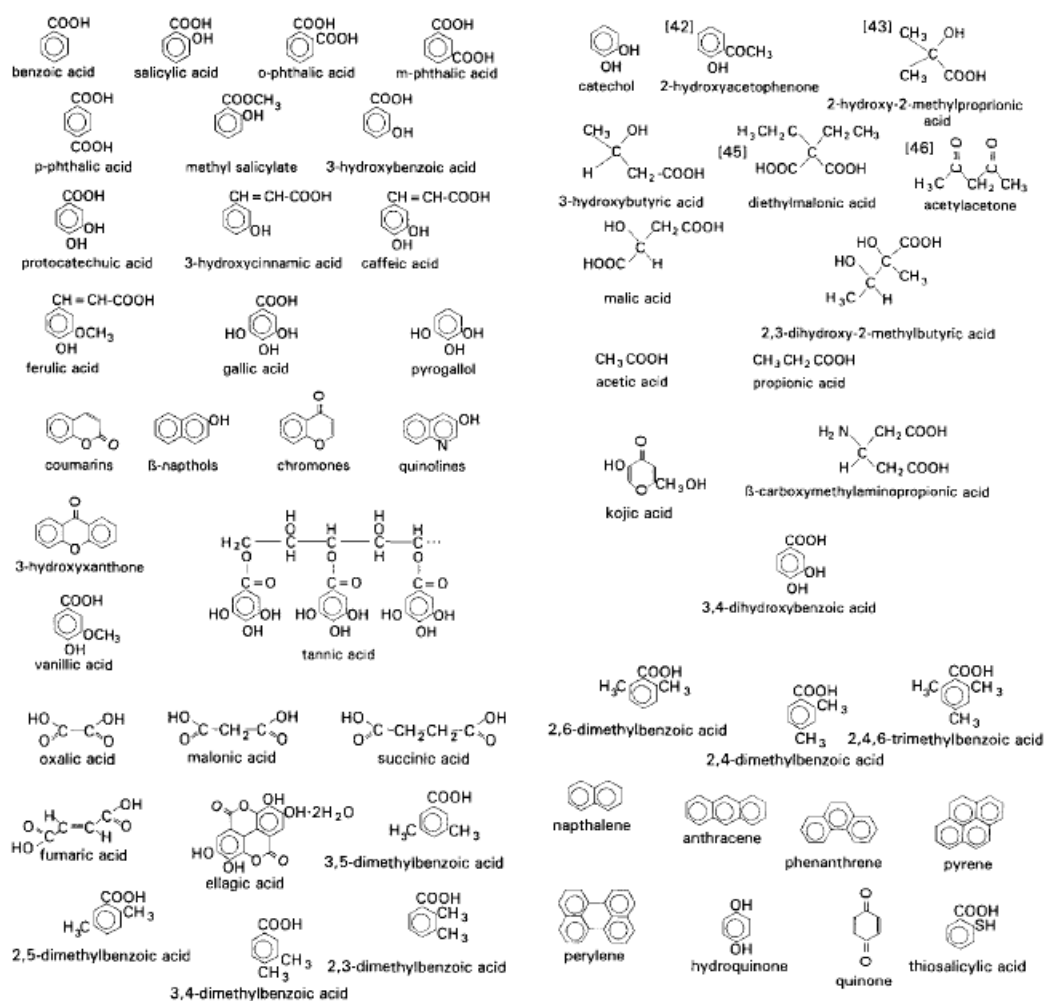


Figure 5 : Structures d'acides organiques simples pouvant être à l'origine de la formation de substances humiques [63]

Mise à part une légère variation du pourcentage pour le carbone (compris entre 40 et 50 %) et pour l'oxygène (compris entre 40 et 50 %), la composition des acides fulviques est similaire à celle des

substances humiques [63]. La matière organique est caractérisée par une proportion significative de carbones aliphatiques et aromatiques, des études de spectroscopie RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) proposent une aromaticité comprise entre 15 et 92 % selon l'origine de la matière organique [63,65-67]. Une étude montre que les acides humiques présentent une aromaticité supérieure à celle des acides fulviques [68]. La structure des substances humiques peut être décrite comme un enchaînement d'acides organiques tels que ceux représentés sur la Figure 5.

Les molécules constituant les substances humiques présentent de nombreux sites réactifs comme les acides carboxyliques qui sont connus pour leur pouvoir complexant. En effet, il est estimé que la majorité de la complexation des métaux par les substances humiques met en jeu des fonctions carboxyliques ou phénoliques. Certains auteurs suggèrent que la plupart des sites impliqués peuvent être représentés par de simples ligands organiques tels que le o-phthalate et/ou le salicylate [63].

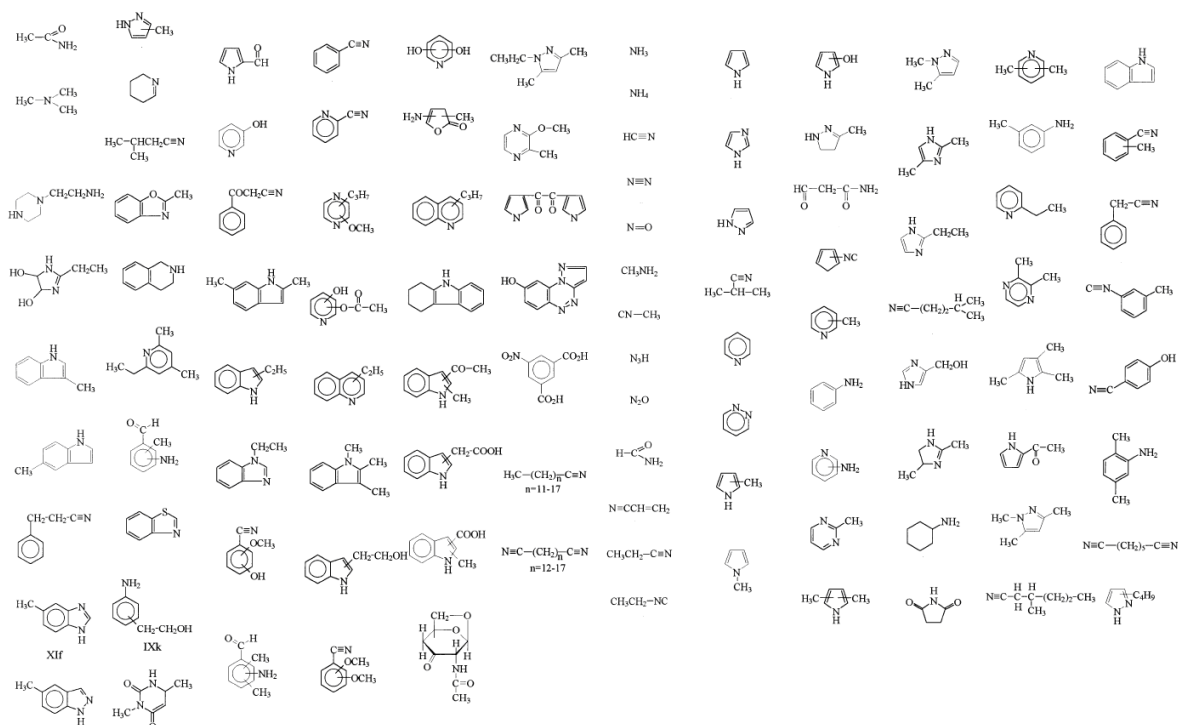


Figure 6 : Proposition de molécules azotées potentiellement présentes dans un échantillon de substances humiques [69]

D'autres auteurs proposent aussi des sites impliquant un atome de soufre, porté par un thiosalicylate par exemple, ou des sites azotés, tels que les hétérocycles portant un atome d'azote (Figure 6) dans la liaison métal-matière organique [63,68]. La taille relativement importante de ces entités a mené certains auteurs

à décrire le comportement des substances humiques d'une manière continue en les assimilant à une sphère ou un cylindre chargé en surface. Ainsi, les substances humiques réagissent à la fois par des sites actifs (approche conventionnelle de la complexation) mais aussi, du fait de leur charge anionique, à travers le potentiel électrostatique global de la molécule.

Autrefois représentées comme des macromolécules à part entière (Figure 4), aujourd'hui les substances humiques sont considérées comme un assemblage de plus petites molécules hétérogènes de 600 à 1 000 Da liées entre elles par des interactions faibles de type liaison hydrogène ou liaison hydrophobique (π - π ou CH- π) : les substances humiques sont qualifiées de supramolécules [60,68,70-74]. Cette vision révolutionnaire de la matière organique a fait son apparition à la fin des années 1990 et permet de comprendre le comportement structural des substances humiques. En effet, une analyse de matière organique par chromatographie à exclusion stérique a permis de mettre en évidence la perturbation de l'association supramoléculaire par une variation de pH. Celle-ci est expliquée par une réorganisation hydrophobique inter et intramoléculaire des substances humiques sous l'influence du pH avec une cinétique rapide [71]. En effet, pour des pH acides (inférieurs à 3,5), des forces ioniques et des concentrations élevées, la matière organique présente une conformation rigide et repliée sur elle-même par la création de liaisons hydrogènes, on parle de forme coagulée [73,74]. Cette forme présente peu de sites réactionnels de libres [70,75,76]. Pour des pH neutres, des forces ioniques et concentrations faibles, la matière organique présente une conformation souple et linéaire stabilisée par les faibles forces de dispersion on parle de forme polymérisée [73]. Cette forme, plus ouverte, présente plus de sites réactifs disponibles [75]. Ces modifications de conformation influencent grandement la réactivité de la matière organique de par la disponibilité des sites réactionnels.

2.3. Mise en évidence des interactions entre les actinides et la matière organique

Malgré un manque évident de connaissances sur les interactions à l'échelle moléculaire entre les métaux (et plus particulièrement les actinides) et les substances humiques, certains auteurs ont évoqué une migration accélérée par la présence de matière organique dans les sols [1,77-80]. Selon certains auteurs, 50 à 90 % de la matière organique joue en rôle sur la mobilité des métaux [62]. Ces articles suggèrent

une mobilisation des actinides par la matière organique qui sont transportés et migrent avec une vitesse inférieure à celle de la percolation de l'eau.

Des études à une échelle plus fine proposent six types de modification de la spéciation (et donc de la mobilité) des métaux par les substances humiques : (i) formation de complexes solubles avec le métal, (ii) précipitation du métal par réduction, (iii) précipitation du métal par adsorption, (iv) échange d'ion, (v) modification du comportement du métal vis-à-vis de sa sorption sur une phase minérale (phase ternaire) et (vi) modification du comportement colloïdal du métal sous forme particulaire [63]. En vue de prédire le comportement et la migration d'éléments d'intérêt tels que les actinides, des modèles hydrogéochimiques ont été développés.

2.4. Modélisation

Les modèles adaptés aux études d'interactions entre les métaux et la matière organique ont spécialement été développés dans le but de comprendre quantitativement le rôle des substances humiques dans le transport de ces métaux d'intérêt. En effet, la composition, la structure et l'hétérogénéité des substances humiques en fonction de leur origine imposent le développement de modèles autres que ceux utilisés pour l'étude de métaux avec des ligands inorganiques classiques [66,75,81,82]. Ces modèles peuvent prendre en compte, entres autres, la formation avec plusieurs sites de complexation avec leur affinité respective vis-à-vis du métal mais aussi les effets de compétition entre cations et la force ionique [83]. Deux principaux types de modèles ont été développés : l'approche discrète et l'approche continue [84]. L'approche discrète fait l'hypothèse de différents sites réactifs dont l'affinité de chacun pour un métal est définie et est constante alors que l'approche continue suppose l'existence d'un continuum de sites de complexation caractérisés par un continuum de la plus faible affinité à la plus élevée. Ces modèles sont considérés comme des modèles empiriques ou semi-empiriques. En effet, pour déterminer les constantes thermodynamiques entre le métal et chaque site, le modèle est ajusté jusqu'à ce que les données théoriques soient en accord avec les données expérimentales. Les expériences consistent en la détermination de la fraction de métal complexé sur la fraction de métal total, elles font appel à des techniques analytiques telles que : la titration potentiométrique, la voltamétrie, l'extraction par solvant, l'échange d'ion, la dialyse, la filtration, la RMN ou la spectrophotométrie UV-visible.

2.4.1. Approche discrète

Cette approche repose sur l'hypothèse de la fixation des métaux sur un nombre discret de sites chimiques distincts et accessibles (après déprotonation). La prise en considération de quatre à huit types de sites actifs semble être suffisante pour décrire les comportements acido-basiques des substances humiques [85-88].

Crée par Tipping et Woof en 1991, le « Model V » qui a évolué en « Model VI » puis « Model VII » est sans doute le plus connu et complexe des modèles utilisés [88-90]. En plus de prendre en considération les interactions dites spécifiques (avec des sites discrets) entre les cations et les ligands, il prend en compte les interactions non spécifiques induites par la couche diffuse [91]. Le « model V » modélise les deux types de sites considérés comme les plus réactifs vis-à-vis des cations : les groupements carboxyles COOH, notés A et les groupements phénoliques OH plus faiblement acides, notés B. Ces deux groupements présentent une grande variabilité de pK en fonction de leur environnement proche. C'est pour cette raison que chaque groupement est décrit par quatre sites de dissociation de protons différents caractérisés par une valeur médiane de pK (pK_A pour les carboxyles et pK_B pour les phénoliques).

Le « Model V » prend en compte huit sites de dissociation des protons (4 dans chaque groupe et à l'intérieur de chaque groupe on suppose un nombre identique de sites). Les constantes de dissociation définies selon Tipping sont généralisées ci-dessous (12) :

$$pK_i = pK_{AouB} + \frac{(2i-5)}{6} \Delta pK_{AouB} \quad (12)$$

Le développement de cette expression pour chaque site donne : $pK_1 = pK_A - \Delta pK_A/2$, $pK_2 = pK_A - \Delta pK_A/6$, $pK_3 = pK_A + \Delta pK_A/6$, $pK_4 = pK_A + \Delta pK_A/2$, $pK_5 = pK_B - \Delta pK_B/2$, $pK_6 = pK_B - \Delta pK_B/6$, $pK_7 = pK_B + \Delta pK_B/6$ et $pK_8 = pK_B + \Delta pK_B/2$. Afin de simplifier cette lourde description, un nombre de sites n_B phénolique est proposé comme étant la moitié du nombre de sites n_A de carboxylique : $n_B = n_A/2$ [88].

Le « Model V » prend aussi en considération la possibilité de former des liaisons bidendates avec un cation par l'intermédiaire d'un facteur de proximité noté f . Ce facteur est indispensable pour une modélisation fiable des interactions entre les cations et la matière organique étant donné la proximité de

certaines sites induite par la structure des substances humiques. Ce facteur est fixé à 0,5 pour les acides humiques et à 0,4 pour les acides fulviques [92].

La détermination de deux constantes notées pK_{MHA} et pK_{MHB} pour chaque groupe de sites A et B permet la description complète des liaisons entre les cations et les substances humiques. Une fois ces valeurs déterminées, le modèle peut être utilisé de façon prédictive. Certains auteurs suggèrent que ces deux paramètres sont suffisamment corrélés pour que seule la valeur pK_{MHA} soit nécessaire [88,93].

Les interactions électrostatiques liées à la charge nette, notée Z , des substances humiques sont également prises en compte par le « Model V » par la pondération des constantes d'équilibre (13) :

$$K'_{MHX} = K_{MHX} \cdot e^{-2wZ} \quad (13)$$

où z est la charge du cation et w le facteur d'interaction électrostatique. En pratique w est calculé à l'aide de la formule $w = P \log(I)$, où I est la force ionique et P est une constante déterminée par l'ajustement des données. Au final, le model de Tipping nécessite l'ajustement de six paramètres variables : n_A , pK_A , pK_B , ΔpK_A , ΔpK_B et P .

2.4.2. Approche continue

A l'heure actuelle, l'approche continue est un couplage entre deux modèles (NICA et Donnan) et prend en compte les interactions spécifiques et non spécifiques [94,95]. Tout d'abord, le « Non Ideal Competitive Adsorption Model » appelé NICA fait l'hypothèse d'une complexation monodendate du métal par la matière organique sur des sites capables de libérer un proton. Contrairement à l'approche discrète, les deux types de sites réactifs (carboxyliques et phénoliques) présentent chacun une distribution continue d'affinité définie par deux paramètres pour un métal donné. Un paramètre caractérise le métal et le second rend compte de l'hétérogénéité de la matière organique. L'approche Donnan modélise la structure tridimensionnelle poly-électrolytique des substances humiques induisant un potentiel de surface par la dissociation des sites réactifs. Ce modèle suppose la complexation du métal pour garantir l'électroneutralité.

Au final, sept paramètres ajustables caractérisant la matière organique sont nécessaires au modèle NICA-Donnan : deux pour le nombre de sites actifs, deux pour caractériser les constantes d'équilibre médianes,

deux pour la distribution de ces constantes et un pour la considération des phénomènes électrostatiques.

A ces sept variables s'ajoutent quatre paramètres caractérisant le métal [83].

Pour ce modèle, le paramètre $\Theta_{i,t}$ définit l'adsorption totale basée sur une complexation monodendate d'un composant i (14) :

$$\Theta_{i,t} = \int_{\Delta \log K_i} \Theta_{i,l} f(\log K_i) d(\log K_i) \quad (14)$$

Où $f(\log K_i)$ est la fonction de distribution de la constante d'affinité et $d(\log K_i)$ est l'intervalle des valeurs possibles autour de $\log K_i$. Dans l'hypothèse de cas idéal, l'équation de Langmuir-Freundlich quantifie le nombre de composant i adsorbée sur la matière organique dans le cas d'un système multi-composants (15) :

$$Q_{i,t} = Q_{\max} \frac{\tilde{K}_i c_i}{\sum_i \tilde{K}_i c_i} \cdot \frac{\left(\sum_i \tilde{K}_i c_i \right)^p}{1 + \left(\sum_i \tilde{K}_i c_i \right)^p} \quad (15)$$

où $Q_{i,t}$ est la quantité de métal adsorbée, $Q_{\max}$ la quantité maximale de métal adsorbée, $\tilde{K}_i$ la valeur prise par la constante de complexation et c_i la concentration en métal et avec p compris entre 0 et 1 déterminant la largeur de la distribution due à l'hétérogénéité chimique intrinsèque de l'adsorbant. Si deux distributions sont considérées (une pour les sites forts carboxyliques et une pour les sites faibles phénoliques) l'équation précédente (15) peut être écrite (16) :

$$Q_{i,t} = Q_{\max,1} \frac{(\tilde{K}_{i,1} c_i)^{n_{i,1}}}{\sum_i (\tilde{K}_{i,1} c_i)^{n_{i,1}}} \cdot \frac{\left(\sum_i (\tilde{K}_{i,1} c_i)^{n_{i,1}} \right)^{p_1}}{1 + \left(\sum_i (\tilde{K}_{i,1} c_i)^{n_{i,1}} \right)^{p_1}} + Q_{\max,2} \frac{(\tilde{K}_{i,2} c_i)^{n_{i,2}}}{\sum_i (\tilde{K}_{i,2} c_i)^{n_{i,2}}} \cdot \frac{\left(\sum_i (\tilde{K}_{i,2} c_i)^{n_{i,2}} \right)^{p_2}}{1 + \left(\sum_i (\tilde{K}_{i,2} c_i)^{n_{i,2}} \right)^{p_2}} \quad (16)$$

où $n_i \neq 1$ pour les cas non idéaux et $n_i = 1$ pour les cas idéaux.

La prise en considération de la distribution des sites réactifs permet à l'approche continue d'être, sans doute, la plus réaliste alors que l'approche discrète semble être plus adapté aux expériences de laboratoire de par les simplifications inhérentes aux expérimentations de paillasse [96].

2.4.3.Approche numérique

Plusieurs codes numériques comme PHREEQE et PHREEQEV, EQ3NR, MINTEQA2 et MINEQL sont utilisés pour la modélisation de la complexation d'un métal par les substances humiques. En France, le code de spéciation CHESS est particulièrement utilisé [97]. Le code PHREEQEV, intégrant le « Model V », semble être celui qui offre la meilleure fiabilité bien que l'auteur affirme que l'approche discrète n'est pas suffisante et nécessite la prise en considération des interactions spécifiques [3,92,98]. Le code WHAM intègre le « Model VII » (évolution du « Model V ») et a été testé avec succès sur plusieurs substances humiques [83,88,89]. En revanche, le code MINTEQA2 utilise le modèle continu et ne semble pas satisfaisant [99].

En fait, les deux approches (continue et discrète) traitées par différents codes sont complémentaires, le modèle de neutralisation de charge est utile pour les codes géochimiques, le modèle poly-électrolytique (i.e. discret) donnant un aperçu des propriétés chimiques des substances humiques [91].

2.4.4.Limitation des modèles de prédiction

Bien que les modélisations actuelles soient complexes et prennent en considération de nombreux paramètres influençant la complexation des métaux par les substances humiques tels que les effets électrostatiques, les effets de structure et la poly-disparité des affinités des groupements complexant, elles présentent encore quelques limitations. Les mesures expérimentales indispensables à l'ajustement paramétrique des modèles sont notamment sources d'erreurs d'interprétation. En effet, en début de titration, une faible quantité de métal est, *a priori*, complexée par les sites présentant le plus d'affinité pour le métal. Cependant, une très grande quantité de sites peu masquer un site extrêmement réactif en plus faible quantité.

A ce jour, les modèles ne permettent pas d'expliquer et de prédire l'intégralité des phénomènes régissant le comportement de la matière organique vis à vis d'un métal. Une approche « bottom-up » des phénomènes de complexation des métaux par les substances permettrait de compléter un peu plus ces modèles qui restent, malgré des dizaines d'années d'effort de recherche, encore imparfaits.

3. Complexation des actinides

Les phénomènes de migration des actinides dans l'environnement présentent un intérêt particulier pour le contrôle et la prédiction de la mobilisation des radionucléides dans l'environnement. Celle-ci est contrôlée par les formes physicochimiques des actinides. Bien que la chimie des actinides en solution simple commence à être connue et comprise, il n'est pas de même pour les systèmes extrêmement complexes que sont les systèmes naturels composés de matière organique et de phases minérales.

3.1. Généralités

En faisant l'hypothèse d'un comportement analogue des actinides dans une solution simple (sans matière organique) et une eau chargée en matière organique seuls les actinides trivalents et tétravalents sont influencés par la complexation organique, les autres degrés (V et VI) étant présents sous la forme de complexes inorganiques avec les carbonates et les hydroxydes selon les conditions physico-chimiques rencontrées [100]. Cette hypothèse est vérifiée par une étude qui met en évidence la complexation préférentielle de l'américium(III) et du plutonium(IV) par rapport au neptunium(V) et à l'uranium(VI) [101]. En effet, d'une manière générale, les valeurs des constantes trouvées sont très élevées pour les éléments trivalents : des travaux montrent qu'une concentration de 1 mg/L d'acides fulviques séquestre plus de 90 % de l'euporium pour un pH compris entre 3 et 7,5 [86]. De plus, de nombreuses études s'intéressent aux actinides tétravalents qui semblent présenter une très grande affinité avec des ligands organiques qui les complexent et les vectorisent [102,103]. Cette conclusion est supportée par l'observation expérimentale : dans les sols, la fraction de plutonium dans la matière organique est d'un ordre de grandeur supérieur à ce qu'on trouve dans la matrice totale [104]. D'ailleurs, il a été montré une réelle analogie entre tous les actinides au degré d'oxydation (IV) vis-à-vis de leur complexation par la matière organique, ainsi le Np(IV) et le Pu(IV) présenteront un comportement similaire dans l'environnement [102]. A propos des degrés d'oxydation des actinides, des études montrent que les substances humiques peuvent réduire les actinides et ainsi à modifier leur mobilité. En effet, le Pa(V), le Np(V), le Pu(V) et le Pu(VI) peuvent être réduits en Pa(IV), Np(IV), Pu(III) et Pu(IV) par la présence de substances humiques dans des eaux et des sols [102]. Seul l'uranium ne semble pas être réduit par les

substances humiques, sauf en présence de bactéries, *a contrario*, il semble même être oxydé en U(VI) [63,102].

En ce qui concerne les études structurales, des données EXAFS proposent une distance Pu-O lors de la complexation de Pu(III) par les humiques de $2,48 \pm 0,02$ Å. Cette valeur est comparable à la distance moyenne entre l'atome de Pu(III) aquo et les oxygènes de la sphère d'hydratation (2,47 Å à 2,51 Å) [105]. Bien que cette étude ne permet pas de proposer un nombre de substances humiques complexant le plutonium et ne donne pas plus d'informations sur le type de coordinance, elle cite une coordination majoritairement monodendate pour le Th(IV), Np(IV), Np(V) et U(VI) [105].

3.2. L'étude des interactions entre actinides et matière organique

A l'heure actuelle, de nombreuses techniques sont utilisées pour obtenir des informations sur les constantes de complexation entre les métaux et les substances humiques, on peut citer : la voltamétrie pour déterminer la labilité et les ions libres en présence de ligand, la fluorescence pour la complexation, la potentiométrie pour les mesures *in situ* sans destruction de l'échantillon, la chromatographie pour les interactions métal / ligand, l'échange d'ions pour déterminer le rapport métal libre / métal lié, la filtration pour séparer les complexes du métal libre et la dialyse [85]. Cependant, les informations obtenues dépendent de la technique utilisée puisqu'elles reflètent le comportement des métaux dans des conditions particulières plutôt que leur comportement absolu [86,106]. Les différences entre deux résultats obtenus par deux techniques différentes s'expliquent par le fait qu'une technique n'étudie qu'un aspect particulier du comportement des substances humiques [106]. Cette dépendance des résultats liée aux techniques employées confirme ainsi l'intérêt d'une approche microscopique répondant à la nécessité d'acquérir des données expérimentales pour confronter et améliorer les modèles théoriques de prédiction du comportement des radionucléides dans la nature [89,107-117].

3.3. Paramètres influençant la spéciation

De nombreux paramètres influençant la spéciation d'un métal en présence de matière organique ont été étudiés [101,115,118-120]. Tout d'abord, la réactivité (composition et structure) de la matière organique dépend grandement de son origine géographique [101,115].

Les paramètres environnementaux conditionnent aussi la réactivité des substances humiques. En effet, la structure des substances humiques dépend du pH : pour des pH acides, la matière organique est en conformation coagulée et laisse peu de sites disponibles, pour des pH neutres elle présente une structure beaucoup moins rigide et plus réactive. A cela, s'ajoute aussi qu'en pH neutre, les sites carboxyliques et certains sites phénoliques sont déprotonés et donc disponibles pour la complexation d'un métal. De manière générale, les pH neutres et légèrement basiques favorisent plus la complexation des métaux par les substances humiques que les pH acides [118]. *A contrario*, la force ionique semble ne pas influencer grandement cette complexation : une étude donne des valeurs de constantes de complexation qui varient de moins de 3 % entre 0,02 et 0,20 mol.kg⁻¹ [119].

Pour finir, l'extrapolation aux éléments traces conduit à de grossières erreurs dans le cas des substances humiques, étant donné que les constantes apparentes dépendent de la concentration en métal [118,120]. En effet, de par l'hétérogénéité de la matière organique, le métal est complexé par les sites les plus forts et ensuite par les sites faibles induisant une dépendance des constantes de complexation à la concentration en métal.

3.4. Système ternaire

Pour aller plus loin dans la compréhension des effets de la matière organique sur la migration des actinides dans l'environnement et appréhender de façon complète ce phénomène, il est indispensable de prendre en compte les interactions ternaires entre la matière organique, les phases minérales et les actinides. Par exemple, une diminution de plus de deux ordres de grandeur de la sorption de l'américium et du plutonium sur une phase minérale est observée lors de l'augmentation de la concentration en matière organique de 0,4 à 15 mgC.L⁻¹ dans ce système [101]. Ces phénomènes sont plus marqués pour les actinides particulièrement sensibles à la complexation par la matière organique comme les actinides trivalents et tétravalents.

Un autre aspect de cette chimie tripartite est la réduction des actinides(V) dans certaines conditions de pH acide et en milieu anaérobique par les substances humiques augmente leur capacité à se sorber sur les surfaces minérales.

Un projet européen nommé FUNMIG pour la « compréhension et la prédiction du comportement des systèmes ternaires : radionucléides, humiques et phase minéral » travaille sur l'optimisation des codes de modélisation depuis 2006 en étudiant, notamment, les systèmes ternaires [121].

3.5. Cinétique

La connaissance des phénomènes thermodynamiques est bien supérieure à celle des phénomènes cinétiques, une réelle lacune à ce sujet est observée [122]. La plupart des travaux sur la cinétique concernent essentiellement les propriétés réductrices des substances humiques [123,124]. Ces travaux proposent que la réduction des actinides par la matière organique est accélérée par la présence de lumière et de cations divalents tels que le calcium ou le magnésium. Quelques rares études décrivent les cinétiques de complexation avec les ligands organiques. La complexation d' UO_2^{2+} avec les acides humiques ou les cinétiques de dissociation entre un métal et des substances humique sont deux exemples d'études cinétiques [101,125,126]. A l'heure actuelle, il semblerait que les réactions de dissociation entre un métal et les substances humiques soient réversibles mais caractérisées par une cinétique lente. Les autres aspects de la cinétique des substances humiques sont encore peu étudiés alors que la connaissance des cinétiques lentes et rapides est importante pour quantifier la migration et la biodisponibilité des radionucléides [126].

4. Conclusion du chapitre

Dans un premier temps, ce chapitre met en évidence la complexité des études concernant la radiochimie. Bien que la chimie des actinides revêt un intérêt particulier pour deux enjeux majeurs du XXI^{ème} qui sont l'énergie et la défense, de nombreuses lacunes à son sujet sont relevées dans la littérature.

En effet, les actinides sont tous des radioéléments : ils sont radioactifs et leur manipulation nécessite des autorisations, la mise en place de moyens de radioprotection et une gestion des déchets particulière rendant leur étude particulièrement complexe du point de vue pratique. L'utilisation d'instruments de pointe permettant la détection de ces éléments à l'état de trace pour prémunir l'expérimentateur des

radiations est indispensable. Aux difficultés pratiques engendrées par la radioactivité de ces éléments s'ajoutent les difficultés administratives et légales permettant l'utilisation de certains éléments dans le cadre d'études scientifiques, notamment pour le plutonium dont la prolifération est largement contrôlée par les autorités compétentes.

Outres les difficultés administratives, légales et pratiques engendrées par la radioactivité de ces éléments, la complexité de la radiochimie provient de la structure électronique de cette famille. En effet, celle-ci confère aux actinides une grande richesse de degrés d'oxydation et ce, même pour un seul élément. Par exemple, le plutonium et le neptunium présentent cinq degrés d'oxydation différents en solution conférant à chacun des propriétés physico-chimiques différentes à ces deux actinides. De plus, les faibles valeurs de potentiels standards qui séparent ces différents degrés d'oxydation accordent une chimie unique et riche à ces éléments qui peuvent présenter simultanément plusieurs degrés d'oxydation en solution.

A l'heure actuelle, de nombreuses équipes de recherche continuent à étudier la chimie des actinides, le plus souvent dans la cadre de systèmes simples et particulièrement bien maîtrisés notamment pour la détermination de grandeurs thermodynamiques. Cependant, les études concernant les milieux complexes et moins bien maîtrisés tels que les systèmes naturels se font plus discrètes.

L'étude qui suit permettra de participer à la compréhension du comportement des actinides en milieu complexe et naturel en présence de substances humiques.

Dans un deuxième temps, ce chapitre souligne la complexité de l'étude des substances humiques. En effet, bien qu'omniprésentes dans l'environnement, ces substances qui forment un mélange complexe et hétérogène de diverses macromolécules dont la composition et la structure dépendant de leur origine, sont encore difficilement étudiées.

Jusqu'à présent, cette caractérisation encore incomplète des substances humiques ne permet pas de comprendre leur réactivité vis-à-vis de métaux d'intérêt à l'échelle microscopique, celle-ci dépend des groupements fonctionnels qui les composent, de leur structure et concentration. Les molécules constituant les substances humiques présentent de nombreux sites réactifs comme les acides carboxyliques qui sont connus pour leur pouvoir complexant. En effet, il est estimé que la majorité de

la complexation des métaux par les substances humiques met en jeu des fonctions carboxyliques ou phénoliques.

Cependant, bien que des modèles représentant la réactivité des substances humiques vis-à-vis d'un élément d'intérêt à l'échelle macroscopique soient en développement depuis une vingtaine d'années, les études actuelles ne permettent pas de présager de leur réactivité après caractérisation et de comprendre la complexation à l'échelle microscopique.

Ainsi, la deuxième partie de ce rapport est dédiée à la caractérisation microscopique des substances humiques en vue d'approfondir les connaissances acquises jusqu'à présent sur le comportement réactif de celles-ci.

Pour finir, ce chapitre montre les lacunes scientifiques concernant la compréhension de la complexation des actinides par la matière organique. En effet, celle-ci a été observée il y a une vingtaine d'année sur des sites d'essais nucléaires du Nevada Test Site mais les phénomènes qui la régissent ne sont toujours pas déterminés.

Aujourd'hui, des études montrent une complexation préférentielle des actinides aux degrés d'oxydation (III) et (IV) et mettent en évidence l'influence de quelques paramètres comme le pH, la force ionique du milieu et la concentration en métaux sur la complexation. Cependant, les informations obtenues dépendent de la technique utilisée puisqu'elles reflètent le comportement des métaux dans des conditions particulières plutôt que leur comportement absolu.

Cette dépendance des résultats est liée aux techniques employées confirme ainsi l'intérêt d'une approche microscopique répondant à la nécessité d'acquérir des données expérimentales pour participer à la compréhension des phénomènes de migration des actinides dans l'environnement. Cette approche présente donc un intérêt particulier pour le contrôle et la prédiction de la mobilisation des radionucléides dans l'environnement.

CHAPITRE II :

L'UTILISATION DE LA SPECTROMETRIE DE MASSE TRES HAUTE RESOLUTION POUR LA CARACTERISATION MOLECULAIRE DES SUBSTANCES HUMIQUES

Sommaire

1. Stratégie analytique	63
2. Outils analytiques : principes et instrumentation	65
2.1. Principes	65
2.2. La source d'Ionisation ElectroSpray (ESI)	65
2.3. Spectromètre de masse très haute résolution de type FTICR-MS	67
3. Analyse de la matière organique par spectrométrie de masse à l'échelle moléculaire ..	70
3.1. Conditions expérimentales.....	70
3.2. Résultats obtenus et discussion.....	75
4. Comparaison à l'échelle moléculaire d'échantillons de matière organique	91
4.1. Conditions expérimentales et instrumentation.....	91
4.2. Résultats obtenus et discussion.....	92
5. Conclusion du chapitre.....	101

1. Stratégie analytique

Cette étude sur la détermination des interactions entre les actinides et les substances humiques commence par une caractérisation à l'échelle moléculaire de la matière organique. En effet, la complexité et l'hétérogénéité des substances humiques, dont la composition est dépendante de l'origine, nécessite l'utilisation d'une technique telle que la spectrométrie de masse très haute résolution pour caractériser cette matière et, *in fine*, pour comprendre les phénomènes de complexation des métaux par celle-ci.

Jusqu'à présent, une dépendance des résultats des études de la complexation de métaux par la matière organique liée aux techniques macroscopiques employées était observée. Cette dépendance s'explique par le fait que chaque technique n'étudie qu'un aspect particulier du comportement des substances humiques et confirme ainsi l'intérêt d'une approche microscopique répondant à la nécessité d'acquérir des données expérimentales précises et non globales. Dans cette démarche, une méthode de caractérisation structurale à l'échelle moléculaire de la matière organique par spectrométrie de masse très haute résolution est développée.

Dans un premier temps, après une optimisation des conditions d'analyses pour des échantillons de matière organique, une source d'ionisation par électrospray (ESI) et un spectromètre de masse de type FTICR-MS (SolariX, Bruker™) ont été utilisés pour acquérir des spectres de masse d'échantillons de substances humiques. La source d'ionisation ESI est considérée comme « douce » et permet l'ionisation d'une large gamme de composés sans dégradation structurale théorique des composés ionisés. Cette étape d'ionisation est indispensable pour l'analyse des échantillons par le spectromètre de masse dont la très haute résolution (résolution maximale = 800 000) permet théoriquement de déterminer la masse exacte de tous les composés ionisés dont la différence de masse est supérieure à 0,0005 unités de masse. Dans un second temps, après avoir optimisé la méthode instrumentale, les spectres de masse ont été analysés par un algorithme permettant le traitement numérique de grandes quantités de données afin de proposer une composition moléculaire pour chaque masse déterminée par la spectrométrie de masse. Ensuite, une méthodologie de traitement de données a été développée afin d'extraire le maximum d'informations des spectres de masse pouvant apporter une meilleure compréhension des phénomènes de complexation des substances humiques.

Pour finir, cinq échantillons de matières organiques naturelles fulviques et humiques ont été étudiés selon la méthodologie développée afin les caractériser au mieux, de les comparer en fonction de leur nature et origine et d'acquérir le maximum sur les paramètres pouvant influencer la complexation des actinides par ces échantillons.

Afin que ces travaux puissent être comparés, *a posteriori*, les échantillons analysés sont des standards de référence disponibles à la vente.

2. Outils analytiques : principes et instrumentation

2.1. Principes

La spectrométrie de masse haute résolution permet l'identification des masses exactes des molécules analysées. La résolution d'un spectromètre de masse est définie comme le rapport entre la masse d'un ion et la différence entre le pic de l'ion considéré et un pic voisin différenciable. Il est noté ($m/\Delta m$).

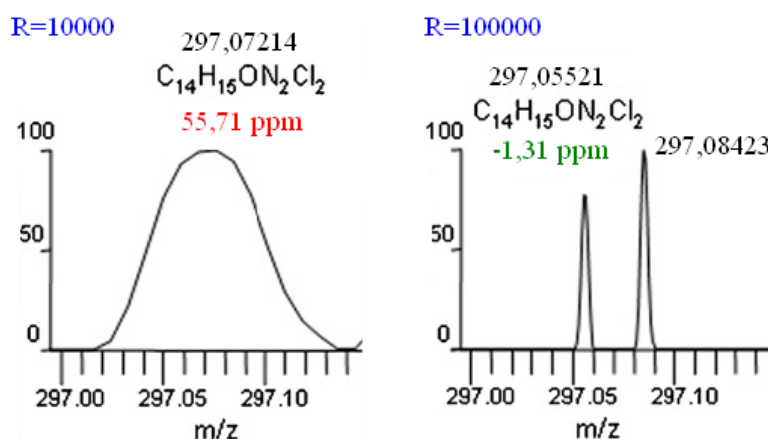


Figure 7 : Importance de la haute résolution pour la qualité d'assignement et la séparation de masses proches [127]

En d'autres termes, la résolution d'un spectromètre, représente sa capacité à séparer deux masses proches. Par exemple, la Figure 7 montre l'importance de l'utilisation de la haute résolution pour la séparation des masses proches et la diminution de l'erreur induite par la mesure (ici, mesurée en ppm). Pour être analysés par spectrométrie de masse, les échantillons étudiés doivent être ionisés. Dans le cadre de cette étude, la source d'ionisation ESI a été privilégiée afin de conserver au maximum la structure des molécules analysées.

2.2. La source d'Ionisation ElectroSpray (ESI)

L'électronébulisation, aussi appelée électrospray et portant l'acronyme ESI, a été utilisée pour sa « douceur ». En effet, elle permet l'ionisation de composés thermosensibles, polaires et non volatils en phase liquide, à pression atmosphérique et à température ambiante. Le phénomène d'ionisation par ESI

peut être décrit en trois étapes : (i) la production de petites gouttes chargées, (ii) la fission des gouttes, (iii) la libération des ions désolvatés en phase gazeuse pour conduire à la formation d'ions protonés $[M+nH]^{n+}$ ou déprotonés $[M-nH]^{n-}$, d'ions adduits et rarement d'espèces radicalaires.

Dans un premier temps, l'échantillon liquide est introduit dans un capillaire métallique porté à un fort potentiel électrique (3 à 6 kV). A proximité, une contre électrode crée un champ électrique intense permettant d'accumuler les charges électriques à la surface du liquide dont la nature dépend de la polarité appliquée au capillaire. Un spray de gouttelettes multichargées est créé sous forme d'un cône appelé cône de Taylor (Figure 8).

Dans un second temps, la taille des gouttelettes formées diminue par évaporation. Lorsque les forces répulsives électrostatiques entre les charges de même signe deviennent supérieures aux forces de cohésion dues aux tensions de surface, la limite de Rayleigh est atteinte entraînant une explosion coulombienne. Les gouttelettes se divisent en gouttelettes de plus petite taille. Les gouttelettes suivent un cycle de plusieurs explosions coulombiennes mais la formation de ces gouttes de plus en plus fines n'explique pas complètement le passage des ions à un état complètement désolvaté.

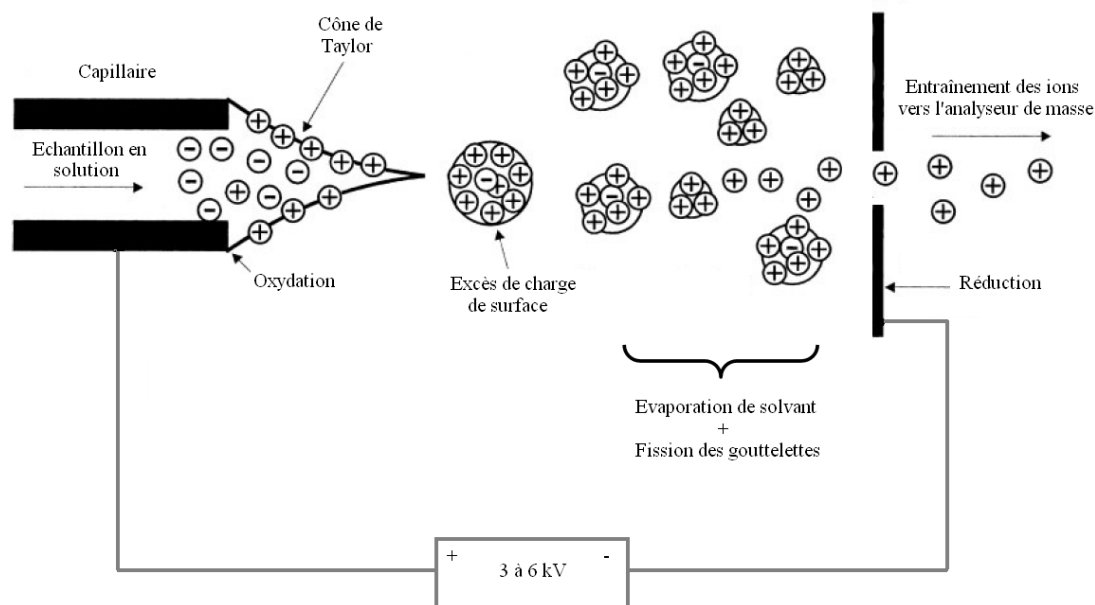


Figure 8 : Représentation schématique d'une source électrospray d'après [128]

La troisième et dernière étape de la désolvatation des ions par ESI reste encore en discussion. En effet, certains auteurs proposent que les explosions coulombiennes se poursuivent jusqu'à ce qu'il ne reste plus qu'un seul ion par gouttelette [129,130]. Une autre vision propose qu'à partir d'un rayon inférieur à 10 nm, la tension de surface de la gouttelette est suffisamment élevée pour permettre l'éjection d'un ion présent à sa surface. A l'heure actuelle, il semblerait que ce modèle soit plus représentatif de la formation de petits ions en phase gazeuse, alors que le premier modèle semble mieux convenir à l'explication de la formation de macromolécules chargées en phase gazeuse [130].

La molécule ne doit pas être fragmentée au cours de son ionisation pour s'assurer de la détermination de sa formule brute. Par conséquent, une source d'ionisation douce est privilégiée. L'électrospray a donc été utilisé dans cette étude. La solution est injectée dans le spectromètre de masse par nébulisation sous forme de gouttelettes chargées. Les molécules d'intérêt sont désolvatées sous l'action jumelée de l'évaporation accélérée du solvant suite à l'application d'un gaz de nébulisation (N_2) et de la répulsion coulombienne. En fonction de la polarité des tensions appliquées, les ions formés peuvent être chargés positivement ou négativement, généralement sous forme d'ions moléculaires protonés $[M+H]^+$, déprotonés $[M-H]^-$ ou d'adduits de types $[M+Na]^+$ ou $[M+Cl]^-$. Ce mode d'ionisation peut également entraîner la formation d'ions multichargés.

2.3. Spectromètre de masse très haute résolution de type FTICR-MS

Bien que les travaux sur son développement aient commencé en 1974, la spectrométrie FTICR-MS (Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry) reste moins répandue que son homologue Orbitrap™ qui est moins onéreux et demande une installation moins complexe notamment pour le fonctionnement et l'entretien de l'aimant supraconducteur utilisé pour la création du champ magnétique [131].

Dans le cadre de ces travaux, l'instrument utilisé est un Qh-FTICR SolariX™ commercialisé par la société Bruker (Billerica, MA, Etats-Unis). Il est équipé d'un système de focalisation d'ions « ions funnel », d'une cellule cylindrique dite « infinie » et d'un aimant supraconducteur de sept teslas (Figure 9).

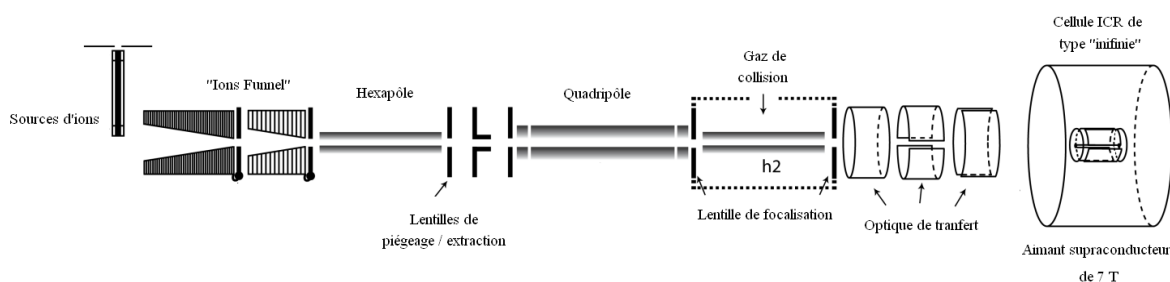


Figure 9 : Représentation schématique d'un spectromètre de masse FTICR

La méthode de séparation des ions dans un spectromètre de masse de type FTICR-MS peut être assimilée à celle d'un Orbitrap™. Dans un FTICR-MS, les ions sont injectés par paquets dans une cellule (cyclotronique) appelée « Trappe de Penning » où un champ électrique entraîne les ions pour les séparer en fonction de leur fréquence de résonance cyclotronique, contrairement à l'Orbitrap™ dans lequel les ions ont une trajectoire initiée par leur vitesse cinétique.

Physiquement, le FTICR-MS est un analyseur commercialisé sous plusieurs géométries qui reposent sur le même principe : la création d'un champ magnétique intense et homogène. L'analyseur, appelé trappe de Penning, peut être représenté comme une succession cylindrique d'électrodes d'excitation et de détection (Figure 10) [131]. La particularité de cette cellule est imputable à la très basse pression qui y règne (10^{-10} mbar), celle-ci permet le maintien d'ion dans la cellule sur des périodes de quelques millisecondes à quelques heures et permet ainsi le suivi de réactions, dissociations ou modifications de conformation en temps réel [132].

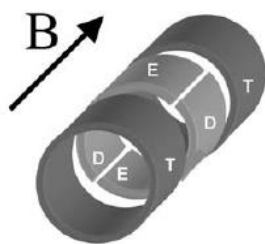


Figure 10 : Représentation schématique d'une cellule ICR où T sont les trappes de piégeage ouvertes ; E, les électrodes d'excitation ; D, les électrodes de détection et B, la direction de champ magnétique induit, d'après [132]

Dans la cellule, les ions sont soumis à un champ électrique oscillant induit par l'application de radiofréquences aux électrodes d'excitation. Lorsque la radiofréquence est identique à la fréquence de résonance cyclotronique des ions définie par l'équation (17), ils sont excités et décrivent une trajectoire circulaire dans la cellule qui permet aux plaques de détection de mesurer un champ induit par leur passage. La fréquence cyclotronique étant inversement proportionnelle au rapport m/z (17). La mesure du signal sinusoïdal amorti induit mesuré par les plaques de détection et son traitement par une transformée de Fourier permet, ainsi, l'obtention de spectres de masse [133].

$$\omega_c = \frac{zB_0}{m} \quad (17)$$

où ω_c est la fréquence cyclotronique dépendant du champ magnétique B_0 et du rapport charge sur masse z/m .

Les FTICR-MS sont caractérisés par un très haut pouvoir résolutif particulièrement adapté à l'analyse de mélanges complexes.

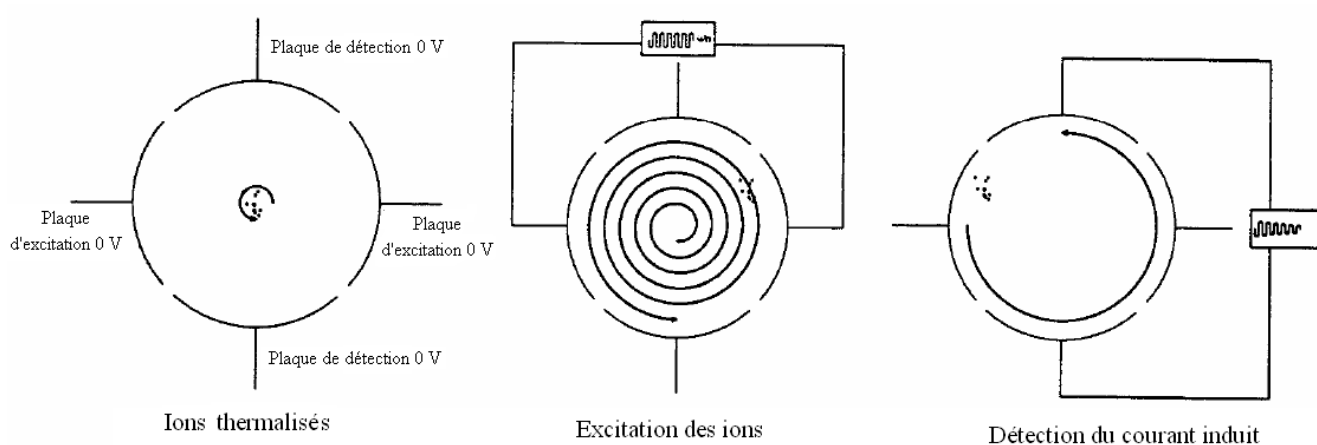


Figure 11 : Représentation schématique de l'excitation et de la mesure des ions dans une cellule ICR, d'après [131]

Le FTICR-MS est également équipé d'une cellule CID (Collision-Induced Dissociation) qui autorise la formation de fragments par l'augmentation de la pression en gaz neutre qui permet la collision et la fragmentation des ions pour atteindre une information structurale supplémentaire.

3. Analyse de la matière organique par spectrométrie de masse à l'échelle moléculaire

La très haute résolution du FTICR-MS est mise à contribution, dans cette partie, pour la description d'un échantillon d'acides fulviques de référence à l'échelle moléculaire, commercialisé par l'International Humic Substances Society™ (Denver, Colorado, USA). Cette partie expérimentale propose une méthodologie pour l'exploitation des données de masse acquises par spectrométrie de masse afin d'extraire le maximum d'informations des analyses effectuées et de caractériser au mieux la matière organique naturelle.

3.1. Conditions expérimentales

3.1.1. Préparation des échantillons

Cette partie présente la description moléculaire d'un échantillon de référence d'acides fulviques nommé SRFA (pour Suwannee River Fulvic Acids) commercialisé par l'IHSS™. Cet échantillon est extrait de la rivière Suwannee située dans les marécages d'Okefenokee dans le sud de la Géorgie selon le protocole développé et utilisé par l'IHSS™. La rivière Suwannee est une rivière « d'eau noire » riche en matière organique issue majoritairement de la décomposition végétale dont la concentration en carbone organique dissout est comprise entre 25 et 75 mg.L⁻¹. L'échantillon est conservé sous forme de poudre brune dans l'obscurité jusqu'à utilisation.

Avant analyse, la matière organique est dissoute dans de l'eau ultra pure (Millipore Alpha Q, 18,2 MΩ.cm) à une concentration de 600 mg.L⁻¹ puis conservée dans l'obscurité à 4 °C. La matière organique est analysée dans les cinq jours qui suivent la dissolution. Pour chaque analyse, une aliquote de la solution mère est prélevée.

En vue de favoriser la désolvatation de l'analyte par la source ESI, du méthanol est ajouté à l'aliquote prélevée. Le pourcentage volumique en méthanol utilisé est fixé à 30 % (ACS reagent ≥ 99,8 %, Sigma-Aldrich™). Ce paramètre a été optimisé (Figure 12) afin de permettre une désolvatation correcte sans engendrer de diminution de l'intensité du signal mesuré par le spectromètre de masse.

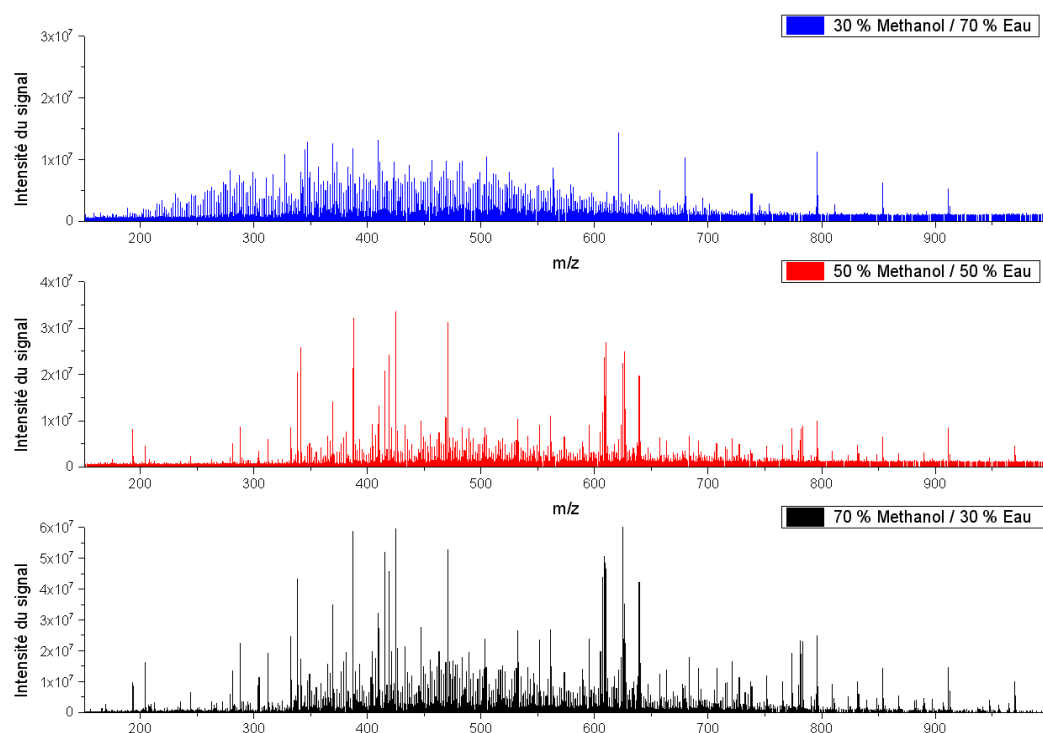


Figure 12 : Influence du pourcentage volumique en méthanol dans l'analyte sur les spectres de masse obtenus par le ESI-FTICR-MS 7 T pour l'analyse d'un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode positif

La Figure 12 ne met pas en évidence un déplacement de la distribution en masse des ions détectés. Ce premier résultat permet d'affirmer qu'aucune agrégation ou précipitation de la matière organique n'est observable malgré la modification de la polarité de la solution et les conséquences induites sur les effets de charges. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par l'équipe d'E. Kujawinski [134]. Cependant, avec l'augmentation de la teneur en méthanol dans l'analyte, une diminution du nombre d'ions détectés est observée : l'analyte contenant 30 % de méthanol permet la détection de plus de 23 000 ions alors que l'analyte contenant 70 % de méthanol permet d'en détecter moins de 14 000. Cette observation, également faite par les équipes de T. L. Brown et de M. C. Kido Soule, peut être expliquée d'une part par une dilution des substances humiques lors de l'augmentation du pourcentage de méthanol mais aussi par l'ajout de quelques « polluants » contenus dans le méthanol augmentant localement le bruit de fond supprimant, ainsi, l'observation des ions présentant les intensités les plus faibles [135,136]. L'équipe d'Alessandro Piccolo met, également, en évidence une influence du pourcentage de la teneur

en méthanol sur le type de substances humiques accumulées à la surface des gouttelettes et ionisées par ESI [137,138]. Pour finir, une réaction entre le méthanol et les acides carboxyliques des substances humiques peut être également être envisagée. Ainsi, le pourcentage volumique de méthanol dans l'analyte est fixé à 30 %.

Pour finir, l'ajout de laurylsulfate de sodium (ACS reagent $\geq 99,0$ %, Sigma-Aldrich™) et de taurocholate de sodium (TLC $\geq 97,0$ %, Sigma-Aldrich™) à l'analyte permet une calibration post-acquisition des spectres de masse obtenus.

3.1.2. Ionisation de la matière organique

La source d'ionisation utilisée est une source micro-électrospray Appolo™ II commercialisée par la société Bruker™ (Billerica, MA, Etats-Unis) dont les paramètres instrumentaux ont été optimisés afin d'obtenir la meilleure intensité de signal possible pour nos échantillons. Toutes les analyses réalisées dans ce chapitre ont été effectuées dans les mêmes conditions d'ionisation : la différence de potentiel appliquée entre le capillaire et la contre-électrode est de 3 kV pour les acquisitions en mode négatif et de 4,5 kV en mode positif, le débit d'infusion est fixé à 10 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ pour les acquisitions en mode négatif et 120 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ en mode positif. L'ensemble des paramètres instrumentaux sont référencés en Annexe 1.

3.1.3. Acquisition de spectres de masse

Les spectres de masse présentés dans cette partie sont obtenus avec le spectromètre de masse FTICR SolariX™ commercialisé par la société Bruker™ (Billerica, MA, Etats-Unis) et équipé d'un aimant supraconducteur sept teslas mis à notre disposition par le laboratoire de Chimie Structurale Organique et Biologique de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI). Cet instrument est caractérisé par son fort pouvoir résolutif avec une résolution annoncée par le fabricant de 800 000.

Une optimisation des paramètres d'acquisition a été réalisée et permet d'extraire un maximum d'informations de chaque spectre de masse. Les paramètres retenus permettent l'obtention de spectres de masse présentant le plus grand nombre d'ions détectés (dont le rapport signal sur bruit est supérieur à trois). Par exemple, le temps d'accumulation a été optimisé. C'est un paramètre qui définit le temps durant lequel les ions sont accumulés avant d'être injectés dans le cyclotron.

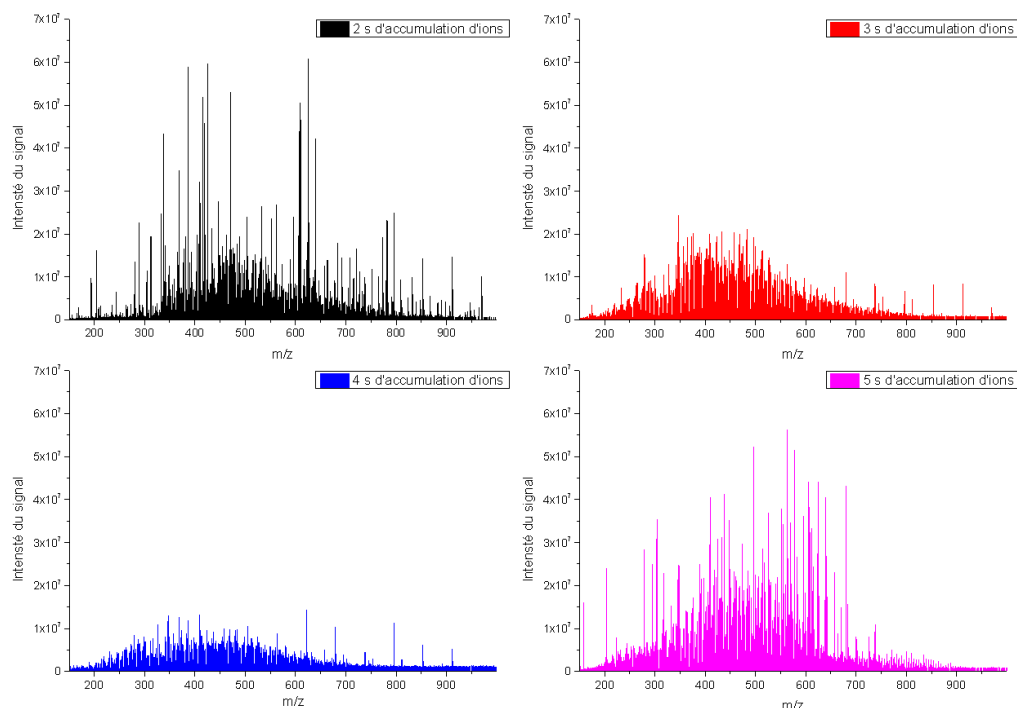


Figure 13 : Influence du temps d'accumulation sur les spectres de masse obtenus par FTICR-MS 7 T pour l'analyse d'un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode positif

Bien que le spectre obtenu avec un temps d'accumulation de 3 secondes semble présenter une distribution et une intensité correctes des masses, il ne permet la détection que de la moitié des ions détectés avec un temps d'accumulation de 4 secondes dans la cellule (Tableau 6). Cette valeur sera conservée pour l'ensemble des analyses présentées dans ce chapitre.

Tableau 6 : Influence du temps d'accumulation sur le nombre d'ions détectés par FTICR-MS 7 T pour un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode positif

Temps d'accumulation (s)	Intensité maximale	Nombre d'ion détectés
2	$6,00.10^7$	12 021
3	$2,40.10^7$	12 517
4	$1,40.10^7$	23 243
5	$6,60.10^7$	19 141

Le paramètre nommé « qm1 » et ayant « m/z » pour unité a été optimisé. Celui-ci permet de favoriser le transfert d'une certaine gamme de masse dans l'analyseur et conditionne la forme du spectre. Ce paramètre est rarement présenté dans la littérature malgré sa très forte influence sur les résultats obtenus.

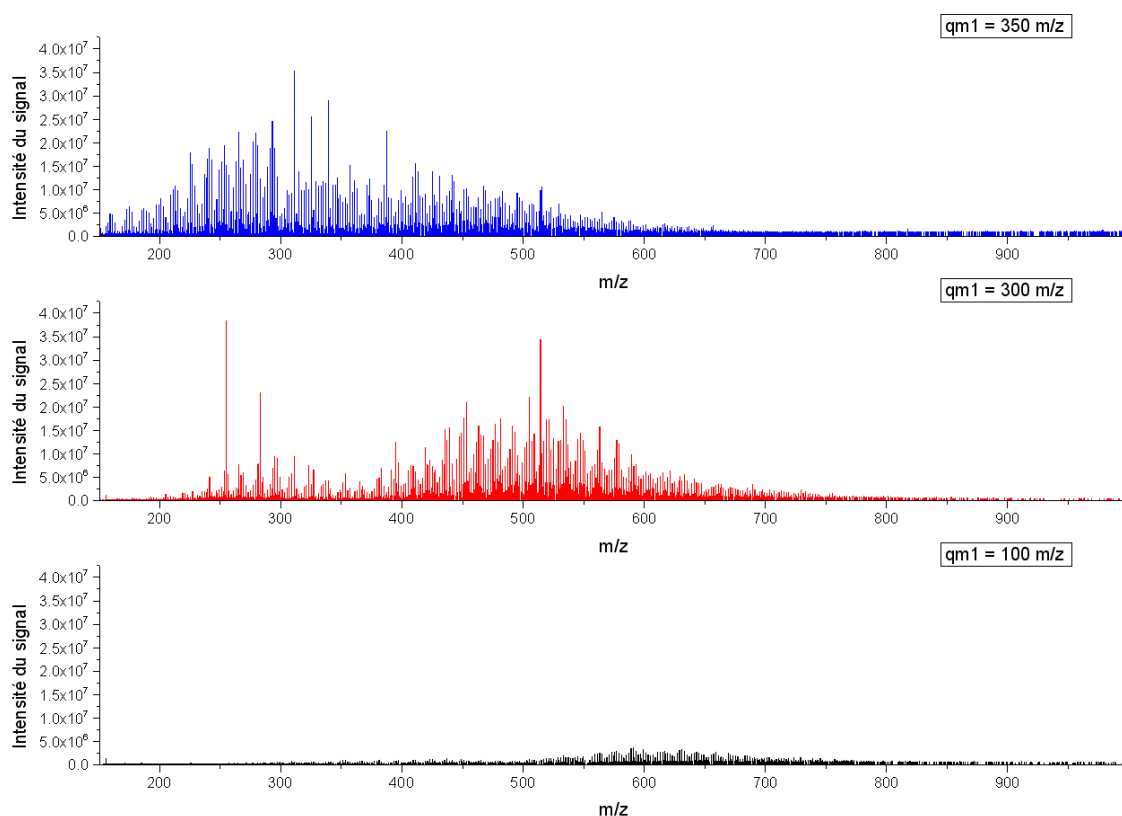


Figure 14 : Influence du paramètre « qm1 » sur les spectres de masse obtenus par FTICR-MS 7 T pour l'analyse d'un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode négatif

La Figure 14 met en évidence l'influence drastique du paramètre « qm1 » sur la distribution des masses. En effet, pour une valeur de qm1 de 100 m/z, le transfert des masses les plus faibles est favorisé et inversement pour des valeurs de qm1 plus élevées.

Tableau 7 : Influence du paramètre qm1 sur le nombre d'ions détectés par FTICR-MS 7 T pour un échantillon de matière organique naturelle (Suwannee River Fulvic Acid) en mode négatif

Valeur du paramètre qm1 (m/z)	Nombre d'ions détectés
100	4 882
300	8 130
350	23 343

Le Tableau 7 montre l'influence du paramètre qm1 sur le nombre d'ions détectés lors d'une analyse d'un échantillon de matière organique naturel. Une valeur de ce paramètre de 350 m/z permet la détection du plus grand nombre d'ions. De plus, une analyse plus fine des spectres de masse montre que,

malgré la faible intensité de masses supérieures à 600 daltons, le spectre obtenu avec un $qm1$ de 350 m/z propose autant d'ions dont la masse est comprise entre 600 et 700 daltons que celui obtenu avec un $qm1$ de 100 m/z . La valeur de 350 m/z . Pour les raisons précitées, le paramètre $qm1$ sera fixé à 350 m/z pour les analyses en mode négatif.

Toutes les analyses réalisées sur le spectromètre de masse FTICR ont été effectuées dans les mêmes conditions. La concentration de 600 $mg.L^{-1}$ de notre échantillon autorise l'acquisition de spectres de masse exploitable avec des temps d'accumulation (4 secondes) dans l'hexapole dont la fréquence est fixée à 5 Mhz et des nombres d'acquisition (30 scans par analyse). L'intégralité des paramètres instrumentaux utilisés est présentée en Annexe 1.

Pour chaque analyse, les masses obtenues sont étalonnées post-acquisition à l'aide de la présence naturelle de quatorze acides gras dans les échantillons de substances humiques dont les masses sont réparties entre 100 et 465 daltons.

3.2. Résultats obtenus et discussion

3.2.1. Spectres de masse obtenus

Historiquement, l'analyse de matière organique naturelle par spectrométrie de masse était principalement réalisée en mode positif car cette méthodologie d'analyse a été empruntée à l'étude des protéines, quasi-exclusivement, effectuée en mode positif. Cependant l'analyse de la matière organique en mode négatif permet d'atteindre des informations structurales complémentaires car elle favorise l'ionisation d'un certain nombre de molécules différentes telles que les acides carboxyliques. Pour cette raison, les deux modes d'acquisition ont été utilisés pour la réalisation de ces travaux.

L'analyse d'un échantillon d'acides fulviques de « Suwannee River » par spectromètre de masse FTICR est représentée sur la Figure 15. Elle montre une différence notable entre les deux modes d'ionisation. En effet, dans nos conditions, l'ionisation en mode positif favorise la détection d'ions dont le rapport m/z est compris entre deux et huit cents daltons avec une intensité maximale environnant quatre cent trente daltons alors que l'ionisation en mode négatif favorise la détection d'ion de masse plus faible (entre cent cinquante et six cents daltons) avec une intensité maximale proche de trois cent dix daltons.

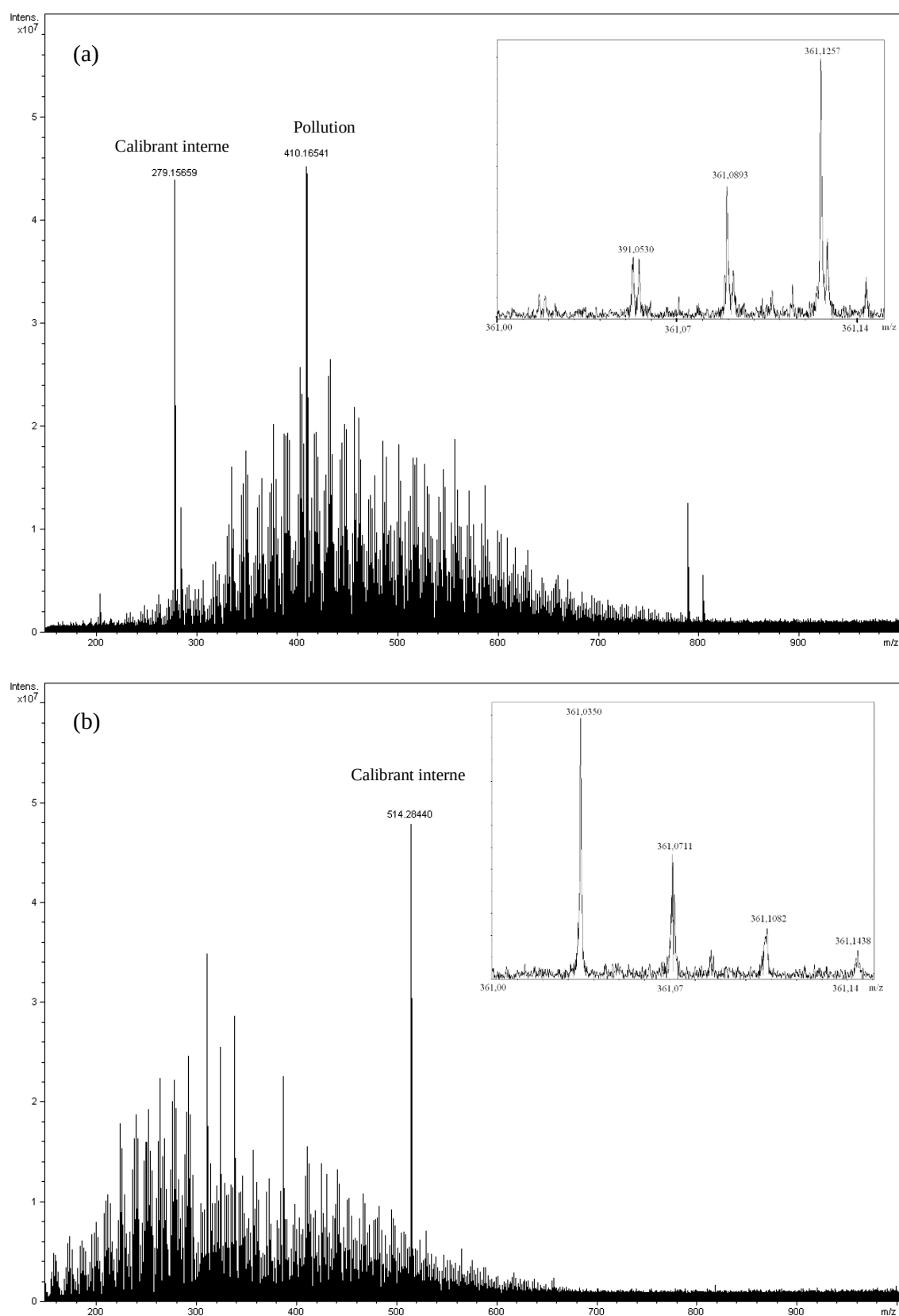


Figure 15 : Spectres de masse très haute résolution d'acides fulviques « Suwannee River » à 600 mg.L⁻¹ dans 30 % volumique de méthanol obtenus avec un ESI-FTICR-MS 7 T en mode positif (a) détectant 70 266 ions et négatif (b) détectant 72 241 ions avec un zoom de la région des m/z = 361 da

Quelques études reportent cette observation qui peut être expliquée par une ionisation préférentielle de molécules différentes selon le mode d'ionisation [139-144]. En effet, le processus d'ionisation en ESI favoriserait l'observation d'ions portant des fonctions carboxyliques ou phénoliques, par déprotonation, en mode négatif. Le mode d'acquisition positif, favoriserait l'ionisation des molécules portant des fonctions amines par protonation. Cette hypothèse sera vérifiée par le traitement des spectres de masse obtenus (section 3.2.3.2. Types de molécules composant l'échantillon, page 82).

Une discrimination basée sur une limite de détection définie comme étant égale à un rapport signal sur bruit, noté S/N, de trois a été choisie et permet d'écarter les faux positifs avec une probabilité de 89 %. Cette discrimination permet de mettre en évidence 70 266 pics sur le spectre de masse acquis en mode positif et 72 241 pics en mode négatif.

Chaque pic détecté par le spectromètre représente la masse d'un ion dont la nature pseudo-moléculaire ($[M+H]^+$ ou $[M-H]^-$) ou adduit ($[M+Na]^+$) ne peut être discuté qu'après un traitement avancé du spectre de masse (3.2.3. Analyse élémentaire de substances humiques, page 81).

Les pics observés pour des rapports m/z (masse sur taille) égaux à 279 et 410 da sur le spectre de masse positif et à 514 da sur le spectre de masse négatif sont induits par une pollution contenue dans le méthanol qui sert à préparer les échantillons ou à la présence d'un calibrant interne (Figure 15).

Une analyse des spectres de masse à une échelle plus fine permet d'atteindre une certaine information structurale par filiation entre molécules. Par exemple, sur la Figure 16, une différence de masse exacte de 14,01565 daltons, équivalente à la masse d'un groupement CH_2 , entre deux pics suggère l'existence de deux molécules dont la structure ne diffère que d'un groupement CH_2 . Le même raisonnement peut être appliqué à deux molécules séparées par une masse exacte de 2,01565 daltons (masse exacte de deux atomes d'hydrogène) pour supposer la présence de deux molécules qui ne diffèrent seulement que d'une insaturation. De la même façon, l'existence d'isotopes due à la présence naturelle de ^{13}C est mise en évidence par l'observation de deux pics séparés d'une masse de 1,00335 dalton pour les ions mono-chargés (représentés en rouge sur la Figure 16). Ainsi, la présence quasi exclusive d'ion mono-chargé a

été vérifiée¹⁶. Cette observation sur le comportement des substances humiques ionisées par une source électrospray est en accord avec le constat reporté par quelques auteurs [141,142,145,146].

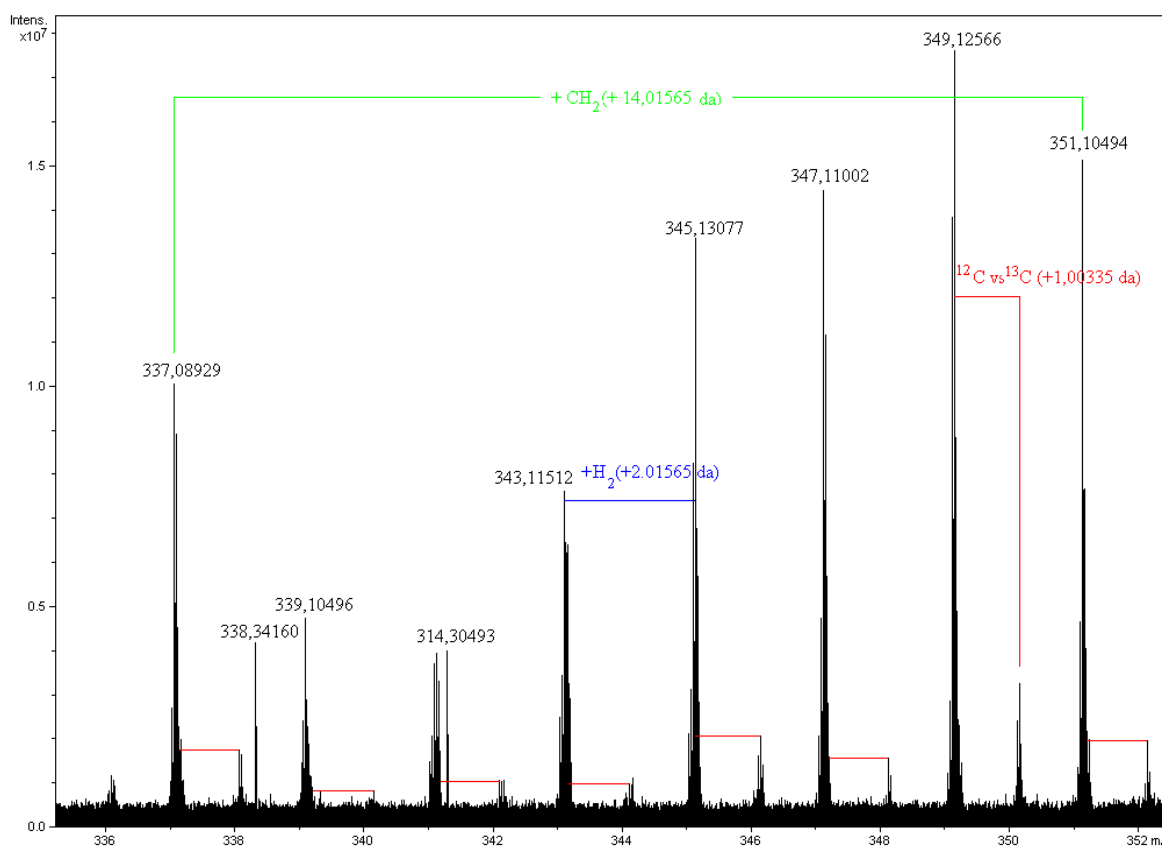


Figure 16 : Spectre de masse très haute résolution d'acides fulviques « Suwannee River » à 600 mg.L⁻¹ dans 30 % volumique d'éthanol obtenu avec un ESI-FTICR 7T da en mode positif centré entre 336 et 356 da pour mettre en évidence les relations entre différentes masses

Cette première analyse qualitative des spectres de masse permet de proposer un nombre et une distribution des molécules issues d'un échantillon d'acides fulviques ionisé par une source électrospray, de discuter qualitativement de l'effet du mode d'ionisation et d'apporter quelques premières informations structurales. Cependant, un traitement numérique des spectres de masse est indispensable pour acquérir des informations structurales complémentaires.

¹⁶ La condition *sine qua non* pour que deux masses soient séparées d'un rapport m/z de 1,00335 da (différence de masse entre un ¹²C et ¹³C) est que la charge des molécules soit égale à 1.

3.2.2. Traitement numérique des spectres de masse

L'analyse des spectres de masse obtenus est extrêmement complexe de par le nombre d'ions détectés mais aussi par le nombre de combinaison élémentaire pouvant être assigné à chacune d'entre elles. Par exemple, plus de 400 combinaisons d'atomes (C, H, O, N, P, S) permettraient de décrire une molécule de 607,1028 da avec une erreur inférieure à 0,9 ppm.

Dans le cadre de cette étude, et par souci de fiabilité, l'assignement de chaque masse permettant la détermination des formules élémentaires des molécules présentes dans l'échantillon de matière organique analysé est réalisée par une adaptation du code de calcul appelé CIA (Compound Identification Algorithm). Ce code de calcul est en perpétuel développement par Elizabeth B. Kujawinski depuis 2006 [134,147]. Un organigramme représentant son fonctionnement est exposé Figure 17.

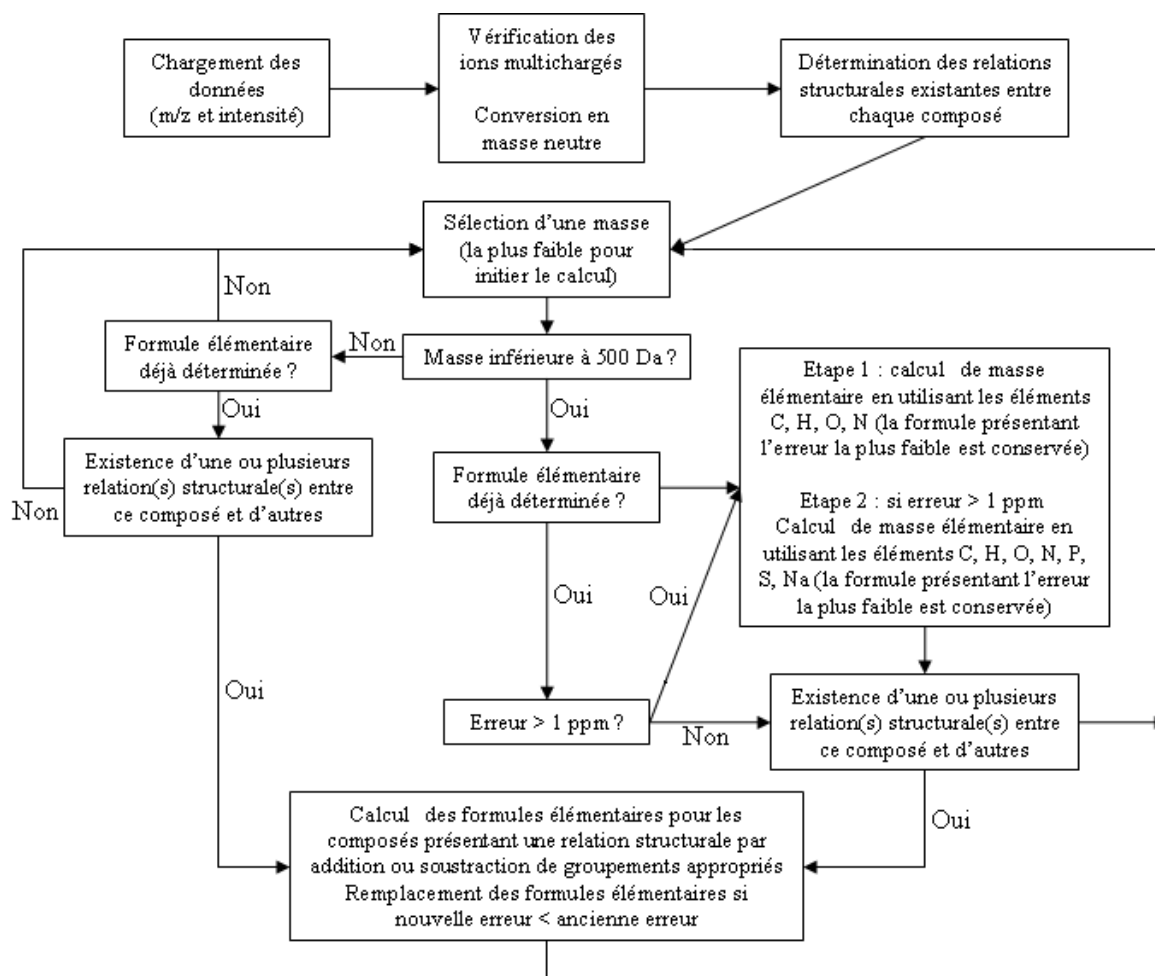


Figure 17 : Représentation de l'algorithme de calcul CIA

L'identification des composés par le code CIA repose sur trois étapes dont la première est le traitement des données d'entrée. Le code calcule simplement la « masse neutre » de chaque composé en ajoutant la masse d'un proton et en soustrayant la masse d'un électron pour les spectres acquis en mode négatif et inversement pour le mode positif. Cette correction est possible lorsque les ions formés par la source sont mono-chargés (3.2.1. Spectres de masse obtenus, page 75). Le code prend également en compte les adduits sodium formés en positif.

La seconde étape du calcul consiste à assigner une formule élémentaire à chaque pic avec une erreur inférieure à 1 ppm. Dans un premier temps, le code calcule la différence exacte entre chaque masse et l'ensemble des autres masses du spectre afin déterminer une analogie structurale entre le maximum de molécules. Pour cela, les différences de masse calculées sont comparées à la masse de groupement chimique choisis, *a priori*, dont quelques exemples sont rapportés sur le Tableau 8.

Tableau 8 : Exemples de groupements utilisés par le code CIA pour la recherche d'analogies structurales entre molécules

Groupement fonctionnel	Masse exacte (Da)	Groupement fonctionnel	Masse exacte (Da)	Groupement fonctionnel	Masse exacte (Da)
CH ₂	14,01565	C ₂ H ₄	44,02621	O	15,99491
Δ (CH ₄ -O)	0,03639	CO ₂	43,98983	CH	15,01080
H ₂	2,01565	C ₂ H ₂ O	42,01056	NH	13,00783

Ensuite, une fois que toutes les relations entre les différentes masses ont été définies, le code assigne une formule brute à chaque masse. Pour ce faire, une masse est choisie par le programme qui vérifie si une formule brute lui a déjà été assignée avec une erreur¹⁷ inférieure à 1 ppm. Si ce n'est pas le cas, le code détermine une formule élémentaire avec une erreur la plus faible possible en testant toutes les combinaisons possibles de carbone, d'hydrogène, d'oxygène et d'azote, notés respectivement C, H, O et N, en respectant quelques critères. Tout d'abord, les rapports entre le nombre d'atomes d'hydrogène, d'azote et d'oxygène et le nombre de carbone sont bornés : $0,2 \leq H/C \leq 2 C + N + 2$; $0 \leq N/C \leq 1,3$;

¹⁷ L'erreur est définie comme la différence entre la masse mesurée et la masse calculée à partir de la formule élémentaire assignée.

$0 \leq O/C \leq 1,2$. Ensuite, le nombre d'atomes d'azote et d'hydrogène respecte la règle de l'azote¹⁸. Si le code ne permet pas d'assigner de formule élémentaire à une masse en respectant le critère de précision imposé (une erreur inférieure à 1 ppm), les atomes de phosphore, de soufre et de sodium sont ajoutés à la boucle de calcul. Les critères suivants sont testés : $0 \leq P/C \leq 0,3$ et $0 \leq S/C \leq 0,8$ avec P et S étant respectivement le nombre d'atomes de phosphore et de soufre. Une fois que la formule brute est assignée, le programme recalcule les formules brutes des composés ayant une relation structurale liée aux groupements fonctionnels (déterminée précédemment) par addition ou soustraction du (ou des) groupement(s) fonctionnel(s). La formule élémentaire recalculée remplace la formule élémentaire initialement déterminée si l'erreur est réduite.

Le code répète la procédure précédente pour toutes les masses inférieures à cinq cents daltons. Au-delà de cette masse, le nombre de combinaisons d'éléments est trop grand pour proposer un résultat fiable. Les formules élémentaires sont alors assignées uniquement par analogie de groupements fonctionnels avec les masses moléculaire inférieures.

La dernière étape du code consiste à discriminer les pics induits par la présence de ¹³C des autres pics par la détermination des masses séparées par exactement 1,00335 dalton.

3.2.3. Analyse élémentaire de substances humiques

3.2.3.1. Résultats obtenus

Le code CIA, décrit ci-dessus, permet d'attribuer 28 647 formules élémentaires pour le spectre de masse acquis en mode positif et 30 308 en mode négatif. Parmi les 58 955 formules élémentaires déterminées au total pour cet échantillon, 3 884 ont été identifiées par les deux modes d'ionisation. Une analyse des formules élémentaires attribuées permet d'affirmer que, dans les conditions d'ionisation utilisées en mode positif, la formation d'ions pseudo-moléculaires $[M+H]^+$ est largement favorisée par rapport à la formation d'adduits $[M+Na]^+$ puisqu'aucune formule brute ne porte de sodium. Bien que certaines études proposent la formation d'adduit lors de l'ionisation des substances humiques par l'électrospray, l'observation réalisée est en accord avec d'autres études menées précédemment [141-143].

¹⁸ Toute molécule organique de masse molaire impaire contient un nombre impair d'atomes d'azote.

3.2.3.2. Types de molécules composant l'échantillon

Le nombre de données obtenues par échantillon (environ trente mille formules élémentaires par analyse de forme CHONSP) rend délicate l'analyse direct des résultats. Une façon d'exploiter ces résultats est la reconstruction des spectres de masse obtenus en discriminant les contributions de chaque type de molécules. La Figure 18 représente la contribution des molécules composées uniquement de C, H, O et de C, H, O et N. Ces deux types de formules élémentaires représentent près de trois quart des molécules déterminées par code pour l'échantillon d'acides fulviques de Suwannee River.

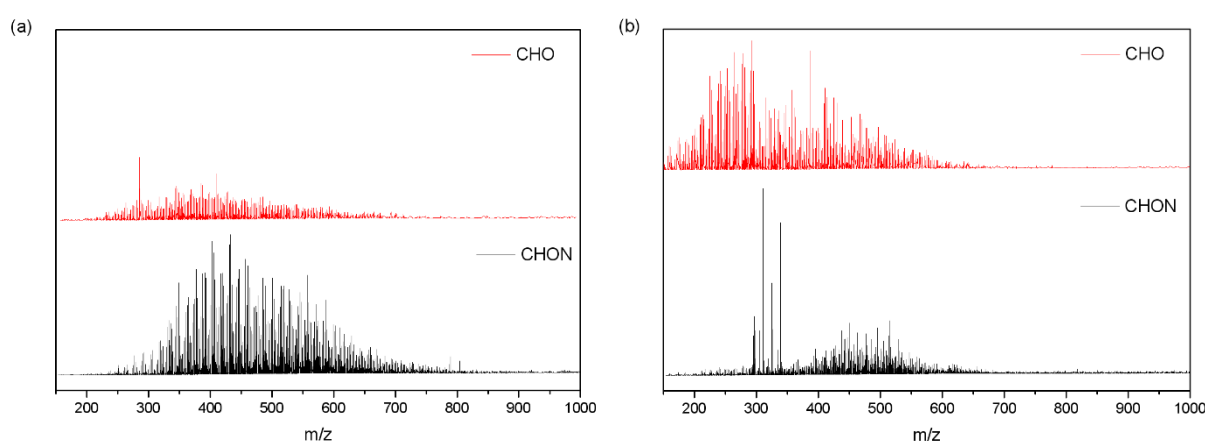


Figure 18 : Reconstruction du spectre de masse de SRFA à 600 mg.L⁻¹ à partir de la contribution de chaque type de molécule (acquisition en mode positif (a) et en mode négatif (b))

Sur la Figure 18, une différence significative est observable entre l'acquisition en mode positif et négatif, notamment pour les CHO et les CHON ; cette observation est en accord avec les mécanismes d'ionisations supposés (section 4.2.2. Spectres de masse obtenus, page 93). En effet, l'ionisation des molécules de type CHON semble être favorisée en mode positif par protonation de groupements préférentiels azotés comme les amines par exemple. Le mode négatif, quant à lui, semble favoriser l'ionisation des molécules de type CHO par la déprotonation des acides carboxyliques. Ces résultats sont en bon accord avec l'observation des molécules ionisées dans les deux modes d'ionisation (positif et négatif). En effet, 60 % d'entre elles portent au moins un atome d'azote et deux d'oxygène et sont donc potentiellement caractérisées par un groupement fonctionnel amine et carboxylique. Cependant, ces mécanismes ne sont pas les seuls permettant l'ionisation des molécules organiques détectées. En

effet, 32 % des molécules ionisées par les deux modes ne portent aucun azote. Cette observation montre que la source ESI permet la protonation ou déprotonation d'autres sites réactionnels que ceux proposés précédemment.

Le résultat présenté par la Figure 16 peut être proposé de façon quantitative : la Figure 19 représente la contribution (pondérée par l'intensité) de chaque type des molécules déterminées par le code. Elle permet de vérifier la forte prédominance des molécules de type CHON et, dans de moindres mesures, des molécules de type CHO, CHONS et CHONP. Cependant, la spectrométrie de masse ESI-FTICR n'est pas une technique quantitative et que les intensités des signaux utilisés pour le calcul du pourcentage de chaque type de molécules n'est représentative que de la propension des molécules à être ionisées mais pas de la composition réelle de l'échantillon. Cette représentation, permet ainsi de mettre en évidence une efficacité d'ionisation de chaque type de molécule dépendante du mode d'acquisition.

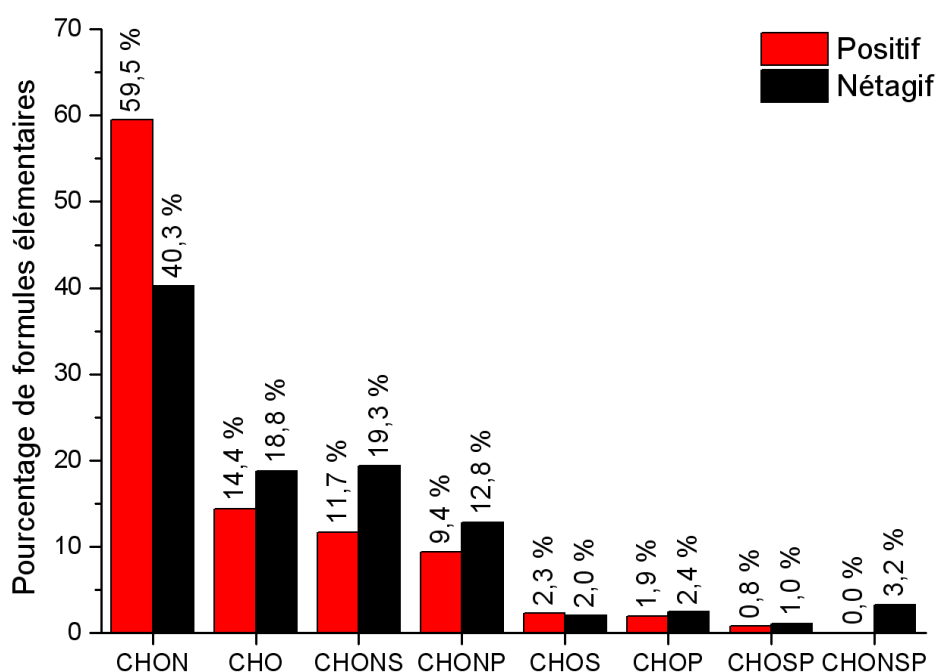


Figure 19 : Histogramme de la répartition des molécules de l'échantillon d'acides fulviques SRFA attribuées par le code et pondérées par leur intensité respective en fonction de leur type (pourcentages calculés à partir de 28 647 formules élémentaire en mode positif et 30 308 en mode négatif)

Généralement, les quelques études disponibles proposant ce type d'analyses, dont les résultats sont reportés dans le Tableau 9, suggèrent une proportion de molécules de type CHO (comprise entre 74 et 97 %) nettement supérieure à celle des CHON (comprise entre 1 et 10 %) [134,148-150]. Cependant, il

est délicat de comparer les valeurs issues de la littérature aux nôtres. Tout d'abord, la composition des substances humiques est dépendante des molécules biogéniques dont elles sont originaires et des processus physiques, chimiques et biologiques qui ont permis leur maturation.

Tableau 9 : Pourcentages des différents types de molécules déterminés par assignement de spectres de masse ESI-FTICR de substances humiques issus de la littérature (pourcentages calculés à partir du nombre de molécules pondéré par leur intensité respective (a), du nombre de molécules (b) ou en utilisant les critères proposés par J. D'Adrilli) [150]

Echantillon	Extraction du C ₁₈	Mode d'acquisition	CHO (%)	CHON (%)	CHOS (%)	CHONS (%)	Autres	Références
Dismal Swamp ^a	Non	Négatif	83,3	4,9	5,9	1,1	4,8	[148]
Dismal Swamp ^a	Oui	Négatif	97,4	0,3	0,6	0,5	1,4	[148]
Great Bridge ^a	Oui	Négatif	95,7		Somme = 4,3			[148]
Town Point ^a	Oui	Négatif	91,9		Somme = 8,1			[148]
Chesapeake Bay Bridge ^a	Oui	Négatif	90,5		Somme = 9,5			[148]
Offshore Coastal ^a	Oui	Négatif	83, 7		Somme = 16,3			[148]
Pamunkey River ^a	Non	Négatif	84,7	1,4	11,1	0,6	2,2	[149]
Pamunkey River ^a	Oui	Négatif	86,4	1,1	7,3	2,4	2,8	[149]
Dathan Run ^a	Non	Négatif	91,9	2,0	4,6	0,4	1,1	[149]
Dathan Run ^a	Oui	Négatif	89,9	3,5	4,2	1,0	2,3	[149]
Conodoguinet Creek ^a	Non	Négatif	93,8	1,0	3,6	0,5	1,1	[149]
Conodoguinet Creek ^a	Oui	Négatif	85,3	2,4	4,4	4,3	3,6	[149]
AF Suwannee River ^b	Non	Négatif	84,5	9,7	Non calculé	2,4	3,4	[150]
AF Suwannee River ^b	Non	Négatif	75,0	15,9	Non calculé	8,9	0,2	Cette étude
AF Suwannee River ^a	Non	Négatif	18,8	40,3	2,0	19,3	19,6	Cette étude
AF Poney Lake ^b	Non	Négatif	25,9	36	Non calculé	22,8	15,3	[150]

L'origine des substances humiques n'est pas la seule raison à la différence observée entre les valeurs proposées par cette étude et la littérature. En effet, les valeurs présentées ici ne sont pas comparables aux résultats obtenus par J. D'Adrilli et son équipe bien qu'ils aient étudié le même standard de substances humiques [150]. Dans ce cas, les critères d'assignement, autorisant au maximum deux atomes d'azote et un de soufre par molécule, sont principalement responsables de la différence observée.

En effet, l'assignement du spectre obtenu en mode négatif dans le cadre de notre étude avec ces restrictions permet de proposer les pourcentages suivants : 75,0 % de molécules de types CHO, 15,9 % de molécules de types $\text{CHON}_{(1 \text{ ou } 2)}$ et 8,9 % de molécules de types $\text{CHON}_{(1 \text{ ou } 2)}\text{S}$. Contrairement aux valeurs représentées sur la Figure 19, ces pourcentages ne sont pas pondérés par l'intensité du signal afin d'être comparés à ceux proposés par J. D'Adrilli et son équipe (ligne « AF Suwannee River » du Tableau 9) et de mettre en évidence que les critères d'assignement peuvent être également responsables des divergences observées.

D'autres facteurs, tels que la préparation de l'échantillon ou les conditions chimiques d'analyse (pH, concentration en matière organique, teneur en méthanol, ...) semblent également être à l'origine de la dispersion des résultats pour un même échantillon [145,148,149]. Par exemple, dans le Tableau 9, il est montré qu'une séparation sur C_{18} couramment utilisée pour la concentration de la matière organique avant une analyse par spectrométrie de masse ESI-FTICR est responsable d'une extraction préférentielle des molécules composées de CHO de polarité moyenne au détriment des composés plus riches en oxygène et en azote [148]. Ainsi, une extraction sur C_{18} peut être à l'origine de la suppression de 85 % des molécules autres que celles préférentiellement extraites.

3.2.3.3. Représentation de la composition de l'échantillon

L'étude présentée précédemment sur la décomposition des contributions des différents types de molécules déterminées par l'assignement des formules élémentaires à partir des spectres de masse n'offre qu'une vision imprécise de la composition d'un échantillon de matière organique. Une représentation graphique, sous forme de diagramme de Van Krevelen, permet une meilleure appréhension de la composition des substances humiques. Ce type de représentation graphique a été utilisé dès 1961 pour l'étude du kérogène et du charbon. Il donne la formule élémentaire en hydrogène et oxygène normalisée par le nombre de d'atome carbone de chaque molécule présente dans un échantillon [151]. Un exemple de diagrammes de Van Krevelen est donné sur la Figure 20 où sont représentées toutes les formules élémentaires qui ont été assignées à partir de l'échantillon d'acides fulviques issu de la rivière Suwannee.

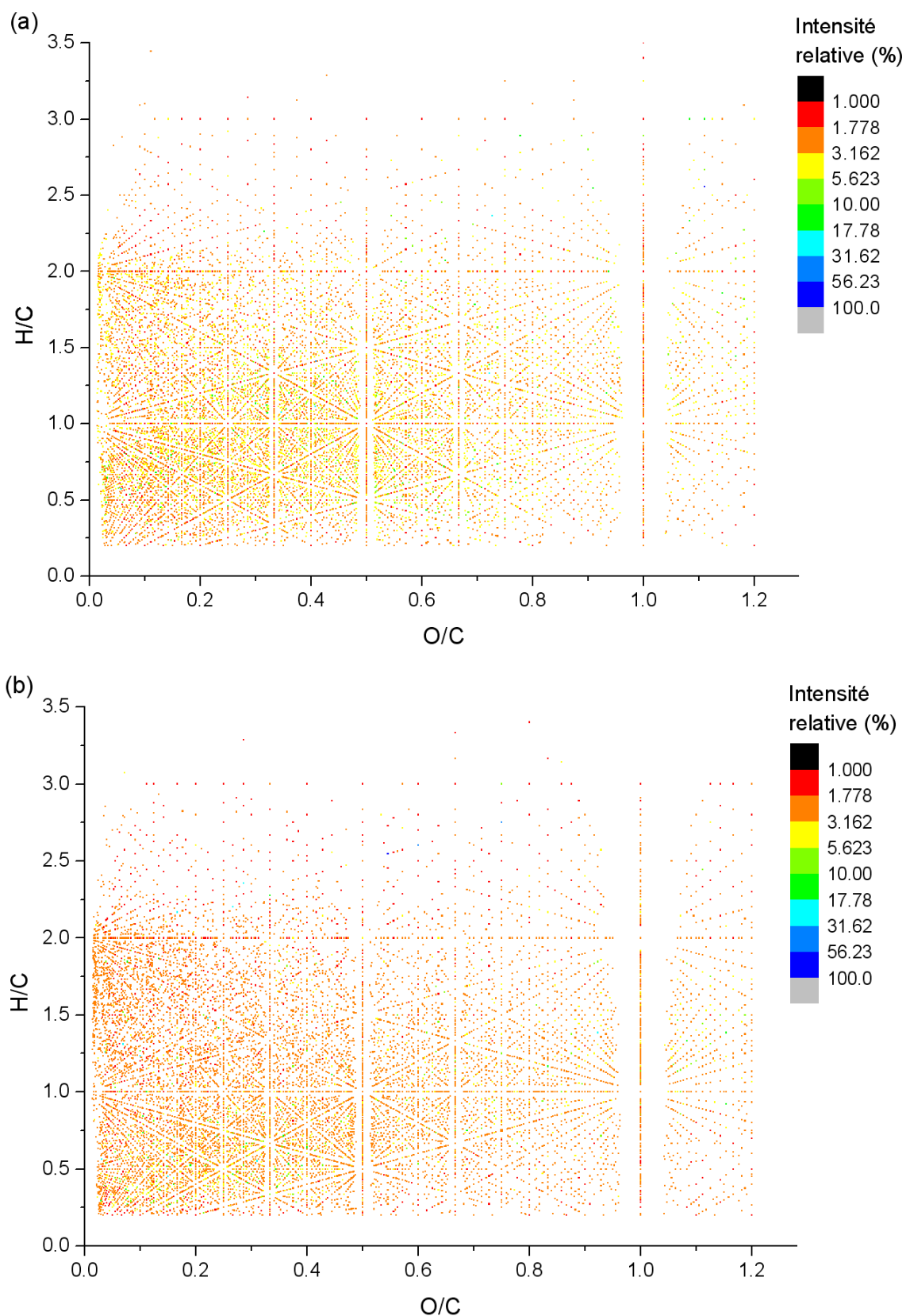


Figure 20 : Représentations de la diversité des molécules déterminées dans un échantillon d'acides fulviques de Suwannee River sous forme de diagrammes de Van Krevelen (28 647 molécules en mode positif (a) et 30 308 molécules en mode négatif (b))

Cette représentation permet de mettre en évidence la diversité, la complexité et l'hétérogénéité de la composition d'un échantillon de substances humique dont l'intensité relative des formules élémentaires assignées est majoritairement faible (entre 1 et 17 %). La comparaison des résultats obtenus avec les quelques diagrammes de Van Krevelen disponibles dans la littérature est délicate. En effet, le diagramme représente la composition des molécules présentant une forte propension à être ionisées et analysées et non la composition exacte de l'échantillon.

De nombreux paramètres, essentiellement liés aux conditions physico-chimiques d'analyse contrôlent la propension des molécules à être ionisées tels que la préparation chimique, la concentration et la nature de l'échantillon et son électrolyte (pH, concentration, nature, teneur en éthanol) [136-138,140,145,148,152]. D'autres paramètres, exclusivement instrumentaux, tels que la différence de potentiel appliquée entre la source et le cône l'entrée du spectromètre de masse ou la fréquence de la tension appliquée à l'hexapole favorisent le transfert et la détection de certains ions au détriment d'autres [140,145].

Cependant, une comparaison qualitative entre les diagrammes obtenus et ceux présentés par la littérature peut être réalisée. La plupart des études proposant ce type de diagramme donnent des diagrammes représentant beaucoup moins d'assignements que ceux présentés ici. De plus, la littérature propose des molécules caractérisées par des rapports principalement compris entre 0,5 et 1,5 pour H/C et compris entre 0,3 et 0,9 pour le rapport O/C [144,150,153]. Ces rapports sont caractéristiques d'ions présentant les plus hautes intensités dans le cadre de notre étude. Cette observation permet de faire l'hypothèse d'un bruit de fond relativement élevé pour les études proposées dans la littérature pouvant expliquer la forte proportion de molécules de type CHO par rapport aux CHON, dont les intensités sont relativement faibles pour notre étude et expliquer ainsi la différence de composition par type de molécules proposées par notre étude et la littérature. Une étude réalisée par J. D'Adrilli conforte l'hypothèse d'une proportion élevée de molécules de type CHON [150]. L'hypothèse d'une sous-estimation de la proportion de ce type de molécules est mise en évidence par ces résultats.

Pour finir, la comparaison des diagrammes acquis en mode positif et négatif permet de mettre en évidence l'ionisation de près de cinq fois plus de molécules caractérisées par un rapport H/C supérieur à 2 en mode négatif qu'en mode positif. Ces molécules sont principalement caractéristiques de

molécules portant au moins un atome d'azote puisque le code limite le rapport H/C à $2C + N + 2$. Cette observation montre, encore, une ionisation préférentielle des molécules portant un atome d'azote en mode négatif.

3.2.3.4. Composition des différents types de molécules

Il est possible de tracer un diagramme de Van Krevelen pour chaque type de molécules présentes dans notre échantillon en vue de simplifier la compréhension des diagrammes obtenus précédemment et d'obtenir une information sur la composition de chaque type de molécules.

La Figure 21 représente la composition des molécules portant uniquement du carbone, de l'oxygène et de l'hydrogène. La répartition des molécules en mode positif et négatif semble visuellement homogène et préférentiellement située dans la zone des « lignines » et des « structures aromatiques condensées ».

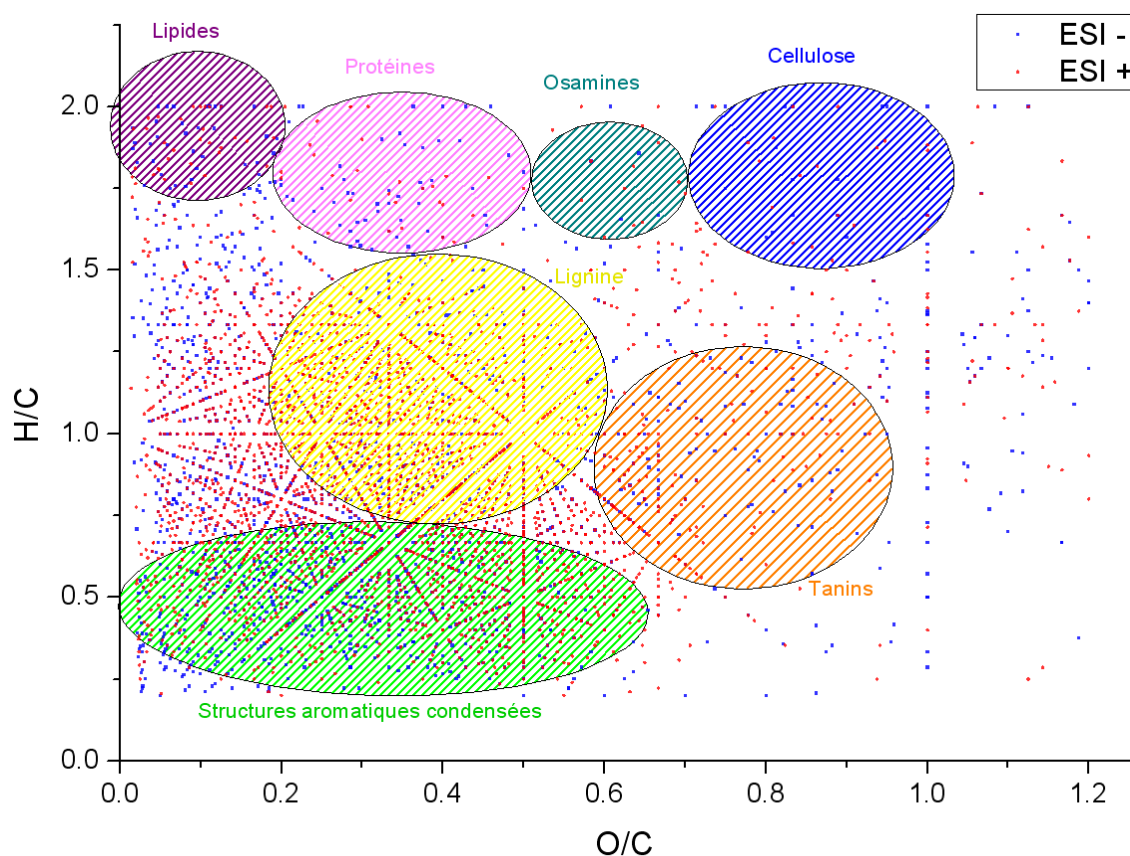


Figure 21 : Diagramme de Van Krevelen des molécules de type CHO assignées pour l'échantillon de SRFA analysé par ESI-FTICR-MS 7 T en mode positif (points rouges) et négatif (points bleus)

Certains auteurs ont établi des classes biogéniques, reportées sur la Figure 21, à partir de groupes de rapports élémentaires. Cette représentation ne permet pas de classer rigoureusement les molécules d'un échantillon : elle est donnée à titre indicatif. Par exemple, quelques molécules sont caractérisées par des rapports élémentaires comparables aux osamines (oses dont une fonction alcool est substituée par une amine) alors que la Figure 21 ne représente aucune molécule portant un atome d'azote. Le mode d'ionisation négatif semble favoriser les molécules caractérisées par des ratios H/C inférieurs à 0,5 par rapport au mode positif. Le mode d'acquisition négatif semble favoriser l'ionisation des molécules riches en insaturations et cycles aromatiques par rapport au mode positif.

La Figure 22 présente les diagrammes de Van Krevelen des trois autres types de molécules les plus représentatives de l'échantillon d'acides fulviques analysé.

Tout d'abord, la Figure 22.a permet de vérifier visuellement l'hypothèse d'une ionisation préférentielle des molécules portant au moins un atome d'azote en mode positif notamment dans les zones du diagramme représentatives des protéines et des osamines. Cette même figure, met aussi en évidence une ionisation préférentielle des structures aromatiques condensées et des lipides en mode négatif.

La Figure 22.b représente une ionisation des molécules dont la composition semble répartie de façon homogène sur l'ensemble des diagrammes de Van Krevelen avec une légère prédominance des molécules dont la composition est similaire aux lipides, lignines et tanins.

Pour finir, la Figure 22.c met en évidence une ionisation préférentielle des cycles aromatiques condensés en mode négatif et des tanins en mode positif¹⁹. La présence de phospholipides d'origine bactérienne dans les substances humiques pourrait être responsable de la densité des molécules assignées dans la zone des lipides [154-156].

Une équipe de recherche a proposé une représentation graphique sous forme de diagramme de Van Krevelen de la composition élémentaire d'une culture microbienne déterminée par FTICR-MS [153]. Cette représentation met en évidence une présence quasi exclusive de ces molécules dans les régions des protéines et des lipides représentée sur la Figure 21.

¹⁹ Observation déjà réalisée lors de l'analyse de la Figure 22.a.

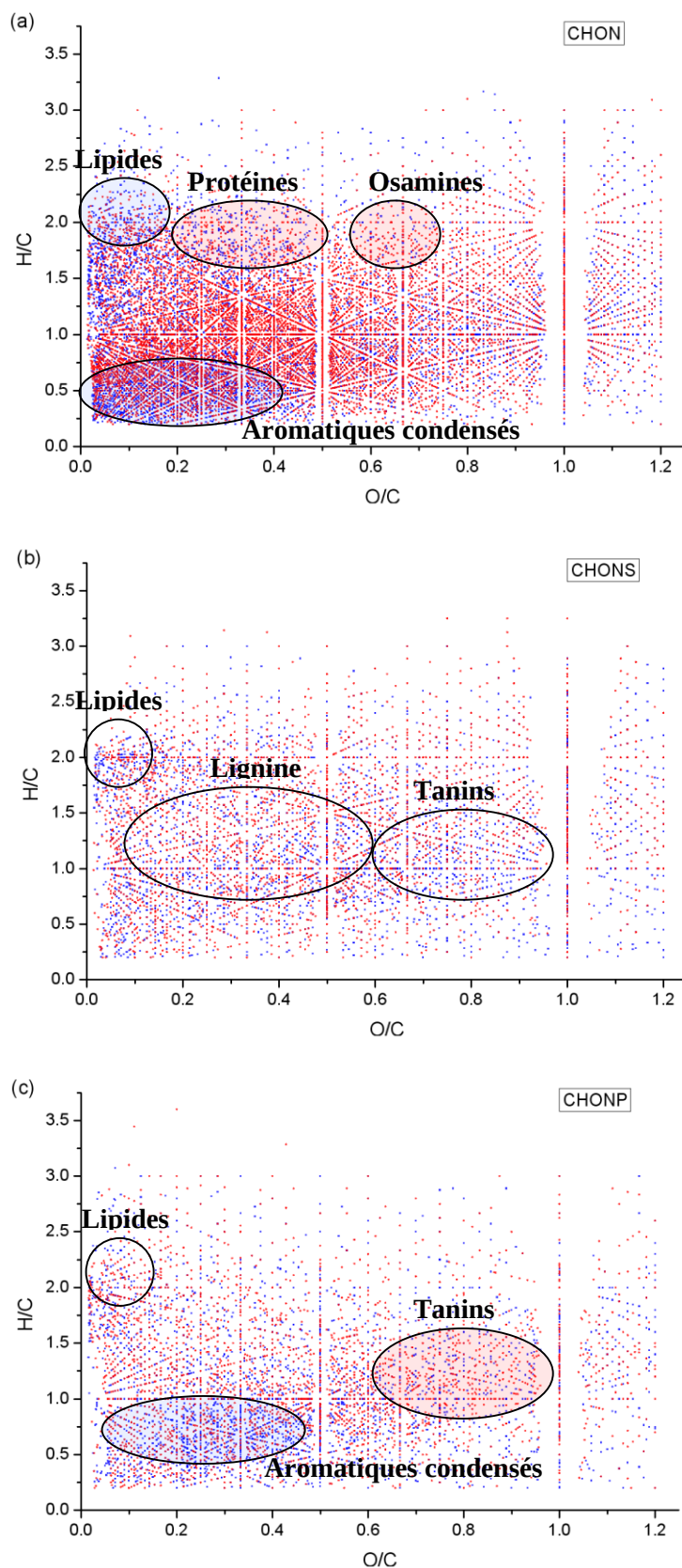


Figure 22 : Diagramme de Van Krevelen des molécules de type CHON (a), CHONS (b), CHONP (c) assignées pour l'échantillon de SRFA analysé par ESI-FTICR-MS 7 T en mode positif (points rouges) et négatif (points bleus)

A cette observation s'ajoute celles données par d'autres études qui proposent une proportion particulièrement élevée de molécules portant au moins un atome d'azote pour ce type de molécules d'origine microbienne [139,150]. Les populations microbiennes sont particulièrement présentes dans les milieux oxiques tels que les eaux de surface. Ces observations semblent être en accord avec les résultats visibles sur la Figure 22 qui propose la composition d'une eau de surface marécageuse présentant une forte densité de molécules assignées dans les zones des lipides et protéines et portant au moins un atome d'azote alors. Ces molécules sont particulièrement représentées sur la Figure 21 qui propose les molécules composées uniquement des atomes de carbone, d'hydrogène et d'oxygène.

4. Comparaison à l'échelle moléculaire d'échantillons de matière organique

Après avoir mis à contribution la très haute résolution du FTICR-MS pour la description d'un échantillon d'acides fulviques de référence à l'échelle moléculaire, d'autres échantillons de référence ont été analysés en vue d'étudier l'influence de l'origine de la matière organique sur leur réactivité à travers la composition et la structure des substances humiques. Le but de cette étude est de caractériser le plus finement possible la matière organique pour appréhender au mieux la complexation des actinides par ces espèces.

4.1. Conditions expérimentales et instrumentation

Dans cette partie, quatre échantillons de substances humiques de référence commercialisés par l'IHSS™ de trois lieux différents ont été étudiés. Tout d'abord, un échantillon d'acides humiques nommé SRHA (Acides Humiques Suwannee River) est étudié. Cet échantillon est également extrait de la rivière Suwannee²⁰ située dans les marécages d'Okefenokee dans le sud de la Géorgie tout comme l'échantillon nommé SRFA. Ensuite, un échantillon d'acides humiques et un d'acides fulviques, respectivement appelés NAHA et NAFA (Nordic Aquatic Humic / Fulvic Acids), extraits d'un réservoir d'eau potable

²⁰ La description de cette rivière est donnée section 3.1.1 Préparation des échantillons, page 59.

situé à une altitude de 225 m au-dessus de la mer à Vallsjøen (Skarnes en Norvège) sont analysés. Au moment du prélèvement, l'eau est caractérisée par une conductivité de $2,1 \text{ mS.m}^{-1}$, un pH de 5,6 et une quantité de carbone organique dissout de $10,7 \text{ mg.L}^{-1}$. Le dernier échantillon étudié est nommé PLAFAs (Pony Lake Fulvic Acids). Ces acides fulviques sont extraits d'un bassin eutrophique et salin situé dans l'antarctique.

Le protocole expérimental utilisé précédemment est suivi : la matière organique analysée est dissoute dans de l'eau ultra pure (Millipore Alpha Q, $18,2 \text{ M}\Omega\text{.cm}$) à une concentration de 600 mg.L^{-1} puis conservée dans l'obscurité à 4°C . La matière organique est analysée dans les cinq jours qui suivent la dissolution. Pour chaque analyse, une aliquote de la solution mère est prélevée.

En vue de favoriser la désolvatation de l'analyte par la source ESI, du méthanol est ajouté à l'aliquote prélevée. Le pourcentage volumique en méthanol dans l'analyte est de 30 % (ACS reagent $\geq 99,8\%$, Sigma-Aldrich™). Ce paramètre a été optimisé précédemment (section 3.1.3. Acquisition de spectres de masse, page 72).

L'étalonnage en masse post-acquisition est réalisé grâce à l'ajout de laurylsulfate de sodium (ACS reagent $\geq 99,0\%$, Sigma-Aldrich™) et de taurocholate de sodium (TLC $\geq 97,0\%$, Sigma-Aldrich™) à l'analyte.

Afin de proposer une comparaison fiable, la source d'ionisation, le spectromètre de masse et les paramètres instrumentaux sont identiques à ceux utilisés précédemment (sections 3.1.2. Ionisation de la matière organique, page 72 et 3.1.3. Acquisition de spectres de masse, page 72).

4.2. Résultats obtenus et discussion

4.2.1. Résultats

Pour l'ensemble des échantillons analysés en mode positif et négatif, le code CIA, décrit précédemment (section 3.2.2. Traitement numérique des spectres de masse, page 79) permet d'attribuer entre 10 693 et 32 395 formules élémentaires. Ici aussi, une analyse des formules élémentaires attribuées permet d'affirmer que, dans les conditions d'ionisation utilisées en mode positif, la formation d'ions pseudo-moléculaires $[\text{M}+\text{H}]^+$ est favorisée par rapport à la formation d'adduit $[\text{M}+\text{Na}]^+$ puisqu'aucune formule brute ne porte de sodium.

4.2.2. Spectres de masse obtenus

Les échantillons de matière organique sont ionisés en mode positif puis négatif en vue d'atteindre des informations structurales complémentaires et de favoriser l'ionisation d'un maximum de molécules. Les spectres obtenus sont représentés sur la Figure 23. L'observation de cette figure met en évidence, ici aussi, une différence notable entre les deux modes d'ionisation.

En effet, dans nos conditions, l'ionisation en mode positif favorise la détection d'ions dont le rapport m/z est compris entre deux et huit cents daltons alors que l'ionisation en mode négatif favorise la détection d'ions de masses plus faibles (entre cent cinquante et six cent cinquante daltons).

Une autre remarque qualitative peut être proposée après l'observation de l'ensemble des spectres obtenus : quel que soit le mode d'ionisation et l'origine de l'échantillon, les acides humiques semblent présenter une masse molaire moyenne supérieure à celle des acides fulviques. Cette observation rejoint celle proposée par d'autres auteurs et peut être expliquée par la différence intrinsèque de structure entre les acides humiques et les acides fulviques puisqu'ils sont ionisés dans les mêmes conditions [140,142,143].

La discrimination choisie précédemment basée sur une prise en considération de tous les signaux dont le rapport signal sur bruit supérieur à 3 permet de détecter un nombre similaire d'ions quel que soit le mode d'ionisation (60 926 ions en moyenne pour le mode d'acquisition positif et 61 635 pour le mode négatif). L'ensemble des résultats concernant l'analyse des cinq échantillons de substances humiques sont reportés dans le Tableau 10.

Les échantillons d'acides humiques et fulviques provenant de la rivière de Suwannee River permettent de détecter un nombre similaire d'ions. Cette observation n'est pas extrapolable aux échantillons prélevés à Nordic Aquatic. En effet, l'échantillon de NAHA présente significativement moins d'ions que les autres échantillons de substances humiques y compris son homologue fulvique. Cette faible quantité d'acides fulviques peut être expliquée par son origine : contrairement aux autres échantillons qui sont prélevés dans un environnement naturel, celui-ci est extrait d'une réserve d'eau potable.

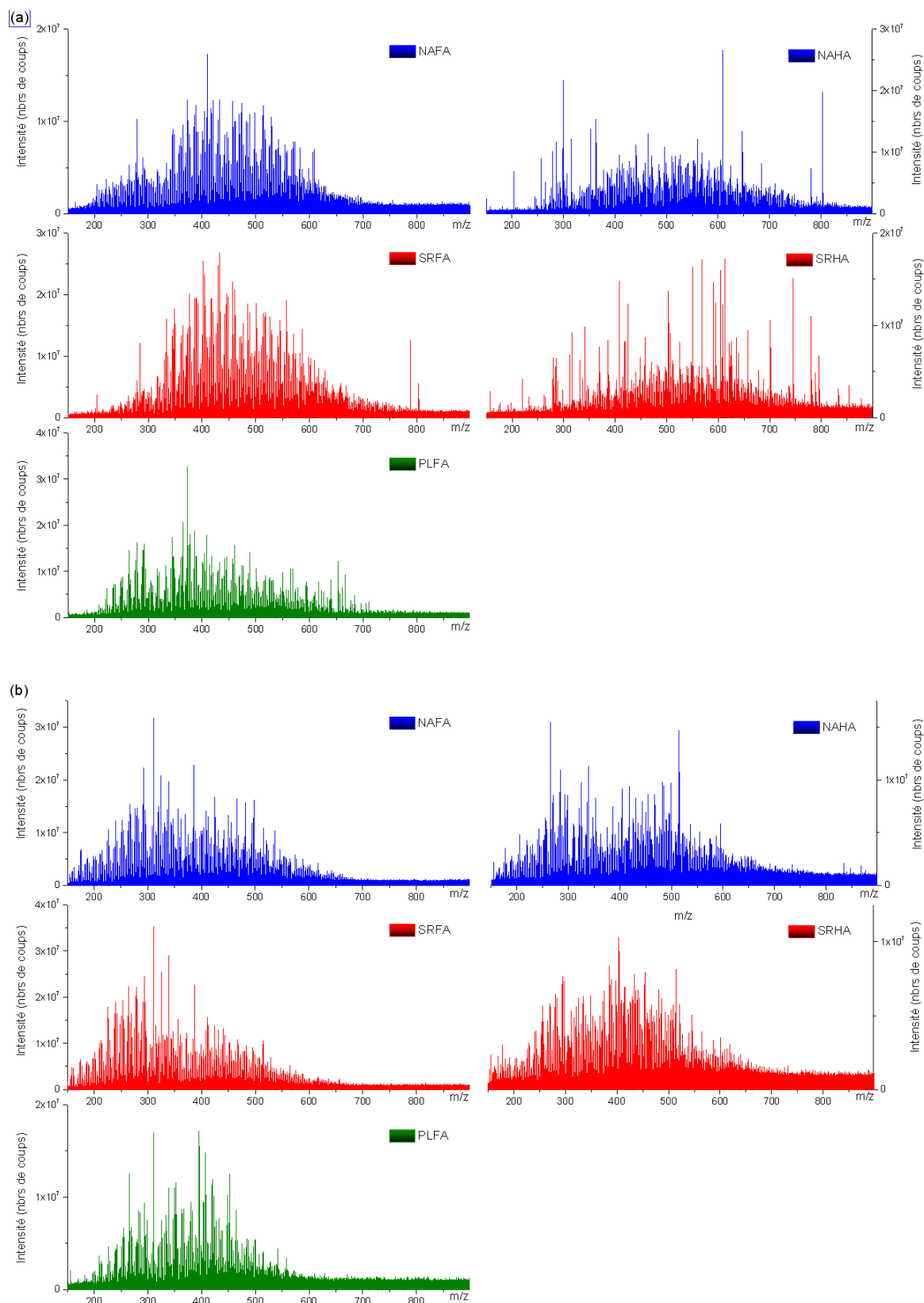


Figure 23 : Spectres de masse très haute résolution d'acides fulviques NAFA, SRFA et PLFA et d'acides humiques NAHA et SRHA à 600 mg.L⁻¹ dans 30 % volumique de méthanol obtenus avec un ESI-FTICR-MS 7 T en mode positif (a) et en mode négatif (b)

L'hypothèse d'un arrêt d'apport naturel de matière organique suivi par une maturation des substances humiques dans les réservoirs où sont prélevés ces échantillons peut être exclue. En effet, la maturation des substances humiques sans apport de matière organique semble engendrer une dégradation des acides fulviques en acides humiques sur des échelles de temps relativement courtes²¹ favorisant ainsi l'augmentation de la proportion des acides humiques au détriment de celle des acides fulviques [157]. Les traitements physico-chimiques de l'eau avant d'être stockée dans le réservoir peuvent être responsables de cette faible concentration en acides humiques dans l'échantillon NAHA. En effet, les acides humiques sont moins solubles que les acides fulviques et peuvent s'agréger selon des conditions physico-chimiques et pourraient être filtrés lors de la potabilisation de l'eau. Cependant, les quelques informations données par les fournisseurs de substances humiques ne permettent pas de vérifier cette hypothèse.

4.2.3. Comparaison des analyses élémentaires de chaque échantillon

4.2.3.1. Résultats obtenus

Le code CIA (décrit section 3.2.2. Traitement numérique des spectres de masse, page 79) a été utilisé pour assigner des formules élémentaires aux différentes masses mesurées par FTICR-MS. Un nombre comparable de formules élémentaires, reporté dans le Tableau 10, est attribué en mode positif et en mode négatif.

Pour une acquisition en mode positif, dans ces conditions d'analyse, l'attribution des formules élémentaires permet de mettre en évidence une ionisation largement préférentielle de la formation d'ions pseudo-moléculaires $[M+H]^+$ par rapport à la formation d'adduit $[M+Na]^+$ puisqu'une aucune formule brute ne porte de sodium.

²¹ Une dégradation des acides fulviques en acides humiques peut être mise en évidence en quelques dizaines de jours.

Tableau 10 : Nombre de formules élémentaires assignées par le code CIA pour chaque échantillon et pour les deux modes d'ionisation

	Echantillon	Pics dont le rapport S/N ≥ 3	Formules élémentaires assignées	Pourcentage de formules élémentaires assignées
Ionisation Positive	SRFA	70 262	28 647	40,8 %
	SRHA	71 171	29 552	41,5 %
	NAFA	72 449	31 639	43,7 %
	NAHA	19 242	10 693	55,6 %
	PLFA	71 507	29 991	41,9 %
Ionisation Négative	SRFA	72 240	30 335	42,0 %
	SRHA	71 212	28 110	39,5 %
	NAFA	71 383	29 396	41,2 %
	NAHA	21 934	12 627	57,6 %
	PLFA	71 407	32 395	45,4 %

4.2.3.2. Les différents types de molécules composant les échantillons

Dans un premier temps, la quantité massive d'informations obtenues par les assignements donnés par le code CIA permet de mettre en évidence les différents types de molécules composants les cinq échantillons de substances humiques.

En effet, la Figure 24 montre la contribution de chaque type de molécule pondérée par l'intensité du signal pour chaque échantillon en fonction de leur composition élémentaire.

Une différence significative est, à nouveau, observable entre l'acquisition en mode positif et négatif, notamment pour les CHO et les CHON. En effet, la proportion des molécules dont la formule élémentaire est de type CHON est significativement plus importante en mode positif qu'en mode négatif et inversement pour les molécules de type CHO. Cette observation est en accord avec les mécanismes d'ionisation supposés précédemment (section 3.2.3.2. Types de molécules composant l'échantillon, page 82).

La forte prédominance des molécules de type CHON et, dans de moindres mesures, des molécules de type CHO, CHONS et CHONP est vérifiée pour tous les échantillons analysés. Cependant, le très faible nombre d'échantillons de référence disponibles dans le commerce ne permet pas de traiter de façon statistique l'influence du lieu d'extraction ou de la nature des substances humiques (humiques ou fulviques) sur la composition de l'échantillon. Néanmoins, il semblerait que le lieu d'extraction et la

nature des substances humiques n'influencent pas indépendamment la composition de la matière organique : celle-ci est dépendante de ces deux facteurs à la fois.

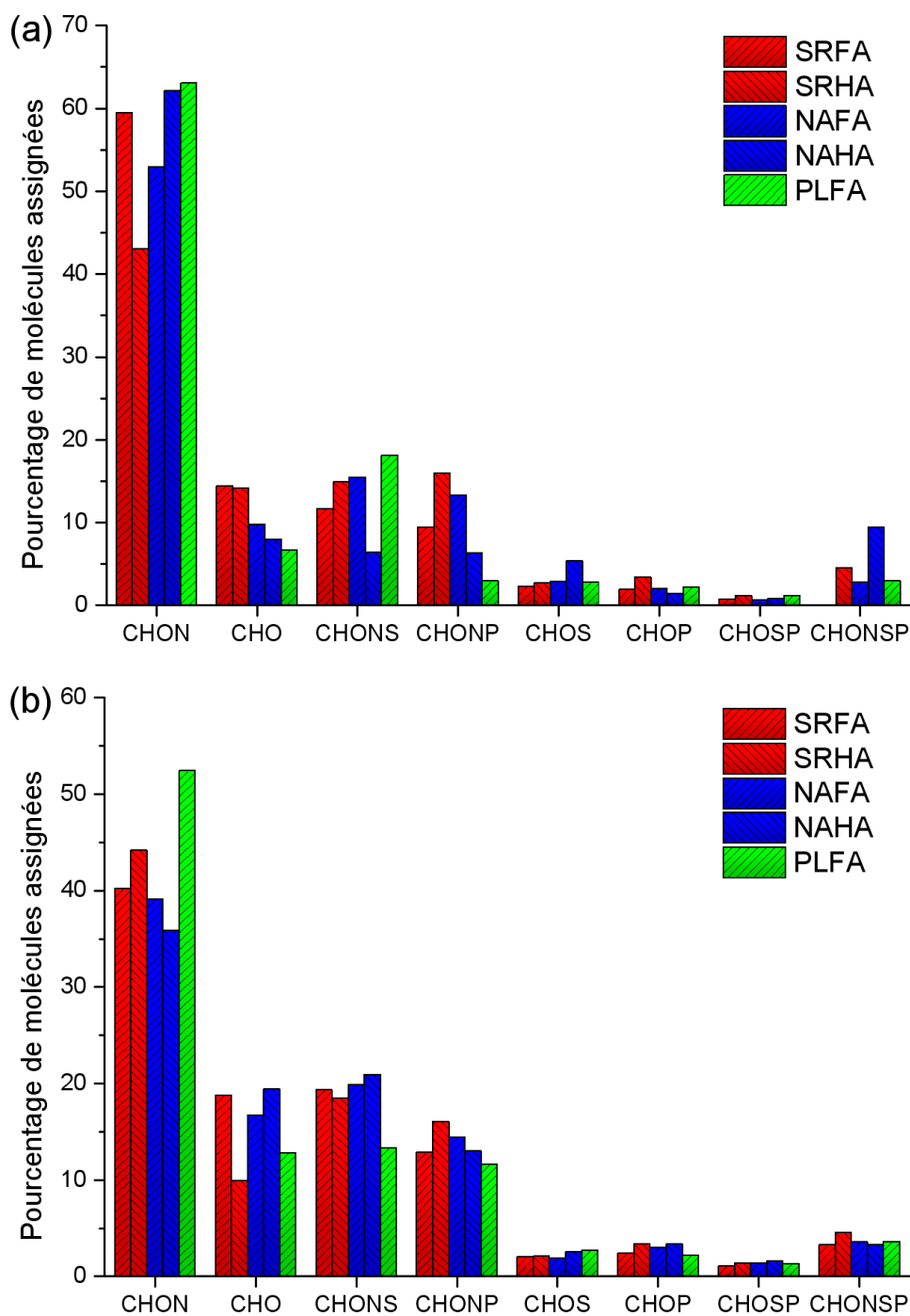


Figure 24 : Histogrammes représentant la répartition des molécules des échantillons attribuées par le code et pondérées par leur intensité respective en fonction de leur type pour chaque échantillon de matière organique en mode positif (a) et en mode négatif (b)

Concernant la comparaison des résultats obtenus avec ceux proposés par la littérature présentés dans le Tableau 9 page 84, l'hypothèse précédemment faite est vérifiée : il est délicat de comparer les valeurs issues de la littérature aux nôtres. Tout d'abord très peu d'études présentent ce type d'analyse sur les échantillons de référence utilisés dans le cadre nos recherches.

Ensuite, il est montré dans cette étude (section 3.2.3.3 Représentation de la composition de l'échantillon, page 85) que même pour des échantillons identiques, la préparation des échantillons, les conditions expérimentales d'analyse et les critères d'assignement sont responsables en grande partie des divergences observées entre les résultats obtenus et ceux présentés dans la littérature [145,148,150].

4.2.3.3. Composition élémentaire de chaque échantillon

En vue d'acquérir une information plus précise des résultats obtenus par l'assignement du code CIA, les diagrammes de Van Krevelen sont tracés pour chaque échantillon sur la Figure 25. Bien que le mode d'ionisation détermine en partie le type de molécules ionisées, le diagramme de Van Krevelen semble présenter visuellement les mêmes distributions pour un même échantillon quel que soit le mode d'acquisition. Une présence plus importante de molécules de masses élevées (supérieures à 700 daltons) est tout de même observable sur les diagrammes issus de l'ionisation en mode positif confirmant l'hypothèse que celle-ci favorise légèrement l'ionisation de molécule de masses supérieures.

La Figure 25 met également en évidence l'influence de l'origine de l'échantillon sur sa composition : les trois origines présentent chacune une distribution de formules élémentaires qui leur est propre de part et d'autre des repères rouges représentés sur la Figure 25. En effet, l'échantillon en provenance du Pony Lake est caractérisé par une composition présentant un rapport H/C supérieur aux échantillons de Nordic Aquatic alors que les échantillons de Suwannee River semblent être composés par ces deux types de populations.

La distribution des molécules observées pour l'échantillon provenant du Pony Lake est caractérisée globalement par des molécules dont les rapports O/C sont faibles et H/C sont supérieurs à 0,5. Ces résultats peuvent être comparés à ceux obtenus pour l'analyse d'autres matières organiques extraites d'environnements glaciers [158-161]. La comparaison des diagrammes obtenus avec la Figure 21, montre que ces molécules sont particulièrement concentrées dans la zone des lipides et des protéines par

comparaison aux autres échantillons analysés. Ces rapports élémentaires sont caractéristiques de la présence importante de dérivés microbiologiques dans l'échantillon de Pony Lake [162]. Cette observation présente une bonne corrélation avec le lieu de prélèvement qui est un bassin côtier. En effet, ce lieu est complètement isolé d'apport terrestre limitant ainsi l'apport de composés végétaux responsable de la présence des molécules dont la composition est assimilable à celle des tannins et de la cellulose observées dans l'échantillon Nordic Aquatic. La matière organique provenant du Pony Lake semble, donc, revêtir une composition caractéristique d'une présence microbienne marquée et d'une présence moindre des molécules d'origine végétale ayant subi une biodégradation bactérienne ou fongique et dont le renouvellement est limité par la configuration du lieu de prélèvement. Cette remarque peut laisser supposer que l'échantillon en provenance du Pony Lake est une matière organique mature.

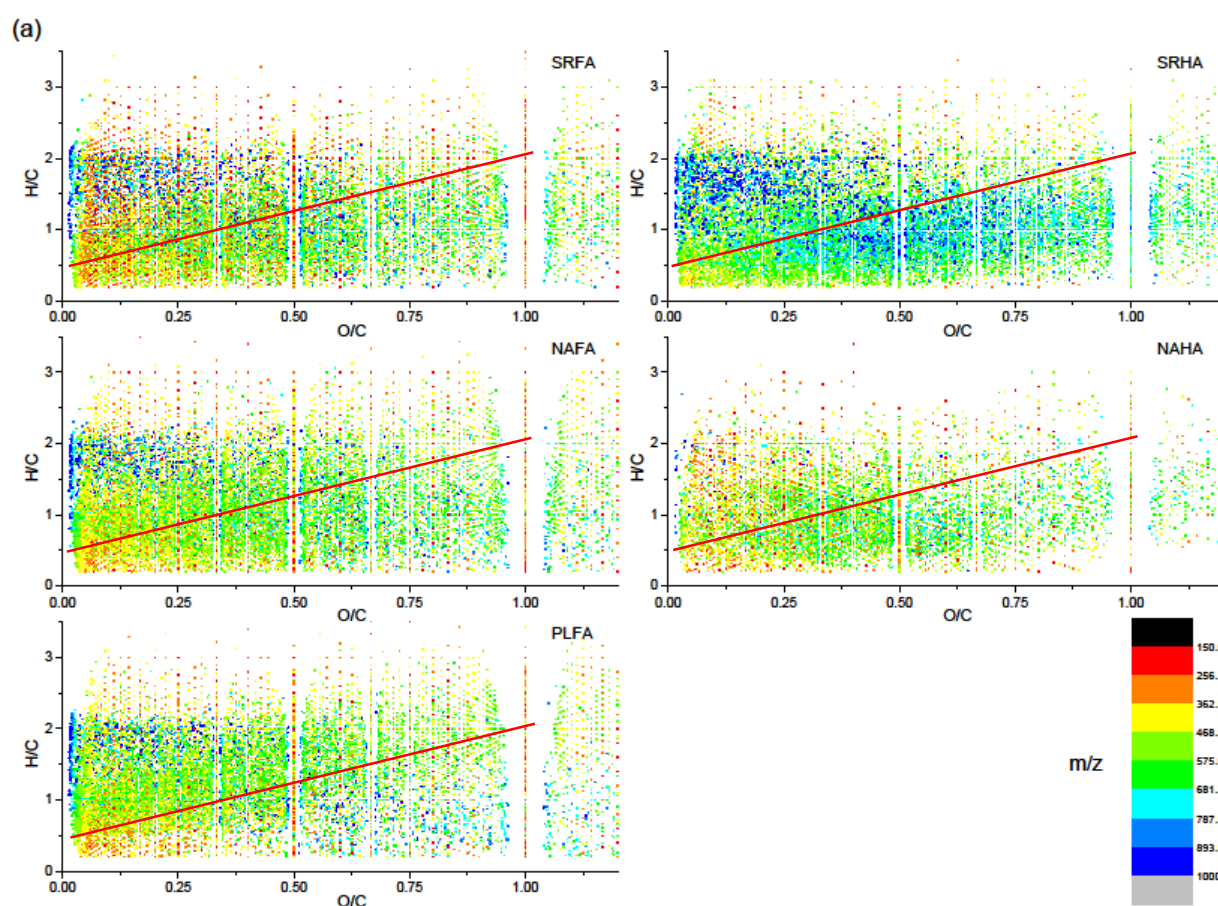


Figure 25 : Diagramme de Van Krevelen représentant la composition en oxygène et en hydrogène normalisée par le nombre d'atome de carbone de chaque molécule déterminée par le code CIA pour les cinq échantillons de substances humiques en mode positif (a) et en mode négatif (b)

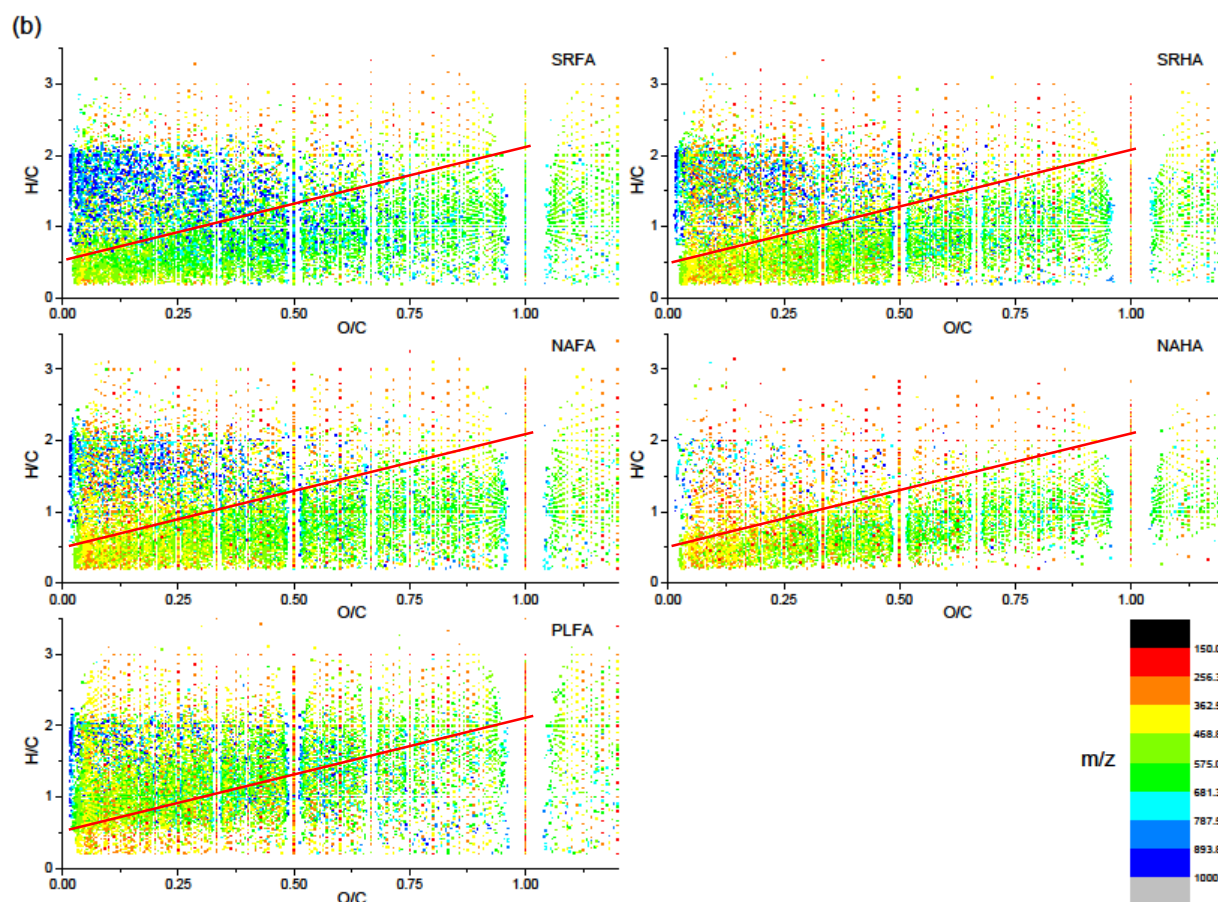


Figure 25 (suite) : Diagramme de Van Krevelen représentant la composition en oxygène et en hydrogène normalisée par le nombre d'atome de carbone de chaque molécule déterminée par le code CIA pour les cinq échantillons de substances humiques en mode positif (a) et en mode négatif (b). Les traits rouge représentent des repères visuels explicités dans le texte

Les échantillons nommés Nordic Aquatic présentent une composition complètement différente de la matière organique originaire du Pony Lake. En effet, une forte concentration de molécules présentant des rapports élémentaires analogues à ceux de la lignine et de très faibles proportions de protéines et de lipides sont observées. Ces échantillons semblent être composés d'une matière organique relativement récente d'origine principalement végétale n'ayant pas encore subi de dégradation biotique.

Les échantillons provenant de Suwannee River semblent présenter les deux types de populations décrites précédemment. En effet, sur les diagrammes de Van Krevelen, les molécules composant ces échantillons sont situées dans les zones présentant les mêmes rapports élémentaires que les lipides, des protéines et des osamines. Ces molécules sont caractéristiques d'une matière organique riche en dérivés

microbiologiques. De plus, les échantillons issus de la rivière Suwannee sont également composés de molécules présentant les caractéristiques élémentaires de la lignine et la cellulose d'origine végétale. Ces substances humiques semblent présenter un caractère relativement mature, aux vues de la population en dérivés microbiologiques. Ce lieu de prélèvement semble être également caractérisé par un apport en matière végétale régulier mise en évidence par l'assignement des formules élémentaire présentant les caractéristiques des molécules d'origine végétal. Ces résultats sont en accord avec la configuration marécageuse du lieu de prélèvement.

5. Conclusion du chapitre

Pour conclure, cette première partie expérimentale montre que la spectrométrie de masse très haute résolution couplée à une technique d'ionisation adaptée présente les caractéristiques idéales pour l'analyse et la caractérisation des substances humiques à l'échelle moléculaire. En effet, après une mise au point et une optimisation paramétrique délicate, le FTICR-MS permet d'acquérir un nombre considérable d'informations sur la composition des substances humiques.

La quantité importante de données acquises a nécessité le développement d'un code de calcul permettant le traitement des spectres de masse acquis et la mise au point d'une méthodologie d'analyse des résultats obtenus. Cette méthodologie permet une représentation visuelle des chaque type de molécules composant l'échantillon, ainsi que leur proportion et leur composition élémentaire en vue d'une caractérisation à l'échelle moléculaire la plus précise possible.

Pour la première fois, le code de calcul et la méthodologie d'analyse des résultats ont été utilisés pour l'étude et la comparaison de cinq échantillons de substances humiques issus de trois lieux d'extraction différents. La complexité des échantillons de matières organiques est démontrée ici par la détection de 19 000 à 72 000 ions par échantillon. Ensuite, l'assignement de 10 000 à 32 000 formules élémentaires pour chaque échantillon a permis de mettre en évidence, contrairement à ce qui est présenté dans la littérature, une prédominance des molécules de type CHON. Cette première étude permet également de conclure que la composition d'un échantillon de substances humiques pouvant influencer son affinité

pour les métaux d'intérêt tels que les actinides, dépend de deux facteurs : l'origine géographique d'extraction et l'environnement responsable de la dégradation de la matière organique. Pour finir, cette étude permet également d'affirmer l'importance de ne négliger aucun mode d'ionisation pour une caractérisation complète de la matière organique à cause de leur complémentarité.

Cette première étude permet de proposer une caractérisation et une base solide pour la détermination des molécules issues d'échantillons naturels présentant une affinité particulière avec les radioéléments et responsable de leur complexation.

CHAPITRE III :

L'ECHELLE MOLECULAIRE POUR UNE NOUVELLE VISION DE LA COMPLEXATION DES ACTINIDES PAR LA MATIERE ORGANIQUE NATURELLE

Sommaire

1. Stratégie analytique	103
2. Outils analytiques : principes et instrumentation	105
2.1. Principes	105
2.2. Les sources d'ionisation	105
2.3. Le spectromètre de masse de type FT-MS.....	111
3. Développement d'une méthodologie pour l'analyse à l'échelle moléculaire de la complexation des actinides par la matière organique naturelle	113
3.1. Performances du FT-MS Orbitrap™	114
3.2. Description et validation de la méthode	119
3.3. Choix de la source d'ionisation	124
3.4. Les conditions opératoires finales utilisées	127
4. Détermination des molécules complexant les actinides	129
4.1. Détection des actinides non complexés	129
4.2. Molécules non identifiées	130
4.3. Molécules assignées dont les structures sont non déterminées.....	133
4.4. Molécules assignées dont les structures sont déterminées.....	135
5. Paramètres influençant la complexation des actinides par la matière organique.....	139
5.1. Molécules et groupements fonctionnels complexants	139
5.2. Influence du pH sur la complexation des actinides	140
5.3. Influence de l'origine et de la nature des substances humiques	142
6. Conclusion du chapitre.....	142

1. Stratégie analytique

La deuxième partie de ce manuscrit a décrit le développement d'une méthodologie de caractérisation à l'échelle moléculaire de la matière organique. Celle-ci met en évidence la complexité et l'hétérogénéité

des substances humiques et montre que leur composition est dépendante de leur l'origine et de leur nature.

Le but de cette troisième partie est de répondre aux questions soulevées par les résultats précédemment acquis : quelle est l'influence de la nature et de l'origine des substances humiques sur leur réactivité vis-à-vis des actinides et est-il possible de déterminer les molécules responsables de cette complexation ? Pour répondre à ces questions, cette partie présente le développement d'une méthodologie permettant de proposer pour la première fois une vision de la complexation des radioéléments par la matière organique naturelle à l'échelle moléculaire.

Dans un premier temps, cette partie décrit le choix des instruments utilisés (spectromètre de masse très haute résolution de type FT-MS couplé à diverses sources d'ionisation) et le choix des conditions opératoires. Cette partie décrit également, le développement de la méthodologie permettant de déterminer quelques molécules, issues de matière organique naturelle, présentant un caractère complexant vis-à-vis des actinides. La détermination de ces molécules est rendue possible par la haute résolution du spectromètre de masse utilisé ($R = 180\,000$) et la possibilité de fragmenter les ions analysés pour l'obtention d'une information structurale.

Dans un deuxième temps, l'ensemble des molécules dont les propriétés chélatantes vis-à-vis des actinides ont été mises en évidence sont présentées pour la première fois. Cette partie s'accompagne d'une étude bibliographique qui montre que la plupart des molécules déterminées, sans aucun *a priori*, présentent des propriétés complexantes envers les métaux.

Pour finir, la dernière partie de ce chapitre est consacrée à l'analyse globale des résultats afin de répondre aux questions soulevées par le chapitre deux. Une analyse des résultats permet de proposer des groupements fonctionnels responsables de la complexation des actinides. Ces résultats seront confirmés par une étude de complexation en fonction du pH. La comparaison des résultats obtenus pour les différents échantillons permet de présenter l'influence de la nature et de l'origine des substances humiques sur la complexation des actinides.

Ces résultats présentent une vision à l'échelle moléculaire de la complexation des actinides par les substances humiques. Cette vision valide l'approche continue appliquée dans certains modèles

macroscopiques utilisés actuellement pour la prédiction des interactions entre les métaux et la matière organique.

2. Outils analytiques : principes et instrumentation

2.1. Principes

Le principe détaillé de la spectrométrie de masse très haute résolution est présenté dans le chapitre précédant (section 2.1. Principes, page 65).

Pour la suite des études, un spectromètre de masse de type FT-MS sera utilisé de type Orbitrap™. Ce FT-MS propose une résolution légèrement moindre que celle caractérisant les spectromètres de masse de type FTICR. Cependant, l'utilisation de cet instrument est plus simple et plus rapide à mettre en place. Ces performances théoriques et pratiques seront comparées à celles du spectromètre de masse FTICR-MS.

Ce spectromètre de masse de type FT-MS a été couplé à diverses sources d'ionisation telles que les sources électrospray (ESI), à ionisation chimique (APCI), à photo-ionisation (APPI) et à ionisation directe par désolvatation (DART). Ces sources reposent sur des mécanismes d'ionisation différents et permettent une analyse de molécules variées en fonction de leur masse moléculaire et de leur volatilité. Leurs fonctionnements et leurs performances sont décrits dans la suite de ce chapitre.

2.2. Les sources d'ionisation

2.2.1. La source d'ionisation ElectroSpray (ESI)

La source ESI est la source utilisée pour l'analyse de la matière organique dans le chapitre précédent. Son fonctionnement y est décrit dans la section « 2.2. La source d'ionisation ElectroSpray (ESI) », page 65.

La source utilisée pour cette partie de l'étude est commercialisée par la société Thermo Scientific™ et est nommée « HESI-II Probe ». Celle-ci présente une conception différente de celle utilisée précédemment. En effet, au gaz vecteur nébulisant sont ajoutés un gaz « enveloppant » permettant

d'optimiser la désolvatation et un gaz de « balayage » qui permet de réduire la formation d'adduits et de clusters.

2.2.2. Analyse directe en temps réel

Introduite en 2005, la source DART (Direct Analyse in Real Time) est une source d'ionisation relativement récente. Son principe repose sur la formation d'un gaz métastable permettant la désorption et l'ionisation des molécules à analyser. Pour cela, un gaz inerte (principalement de l'hélium ou de l'azote) est soumis à des décharges électriques (de 1 à 5 kV) pour créer un plasma formé d'ions, d'électrons et d'espèces métastables. Les ions et les électrons sont capturés par deux électrodes afin de ne conserver que les espèces métastables qui sont responsables de l'ionisation des analytes et dont la désorption est assistée par un chauffage (Figure 26) [163]. Cette technique repose sur des réactions entre des ions et des molécules en phase gazeuse et par conséquent ne permet pas la formation d'espèces polychargées.

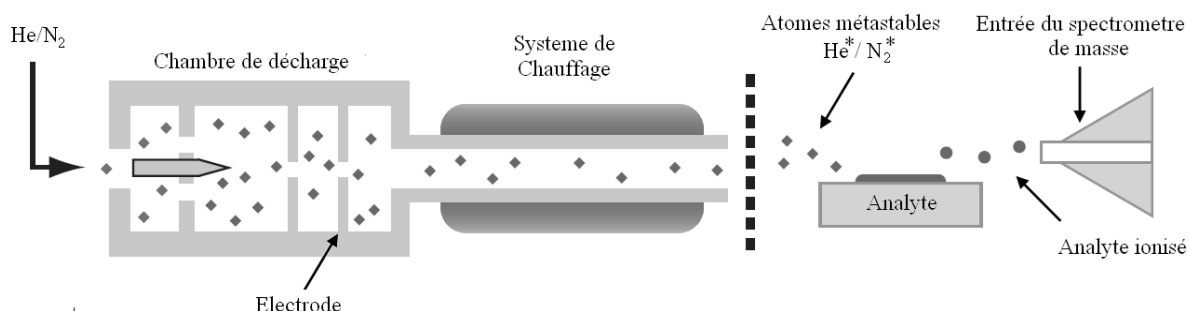
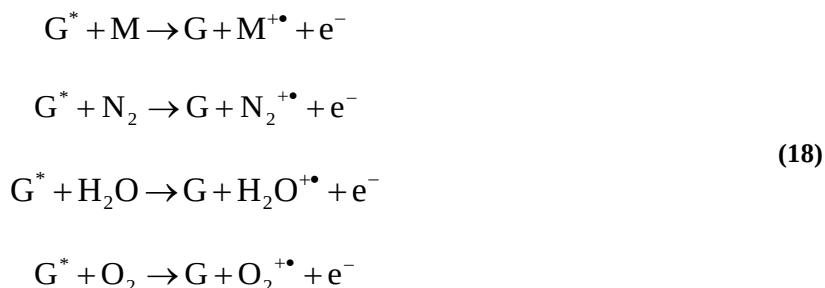


Figure 26 : Représentation schématique d'une source d'ionisation DART, d'après [164]

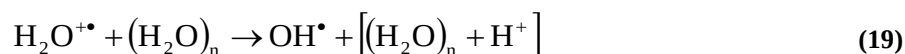
L'ionisation dite de « Penning » est à l'origine des phénomènes d'ionisation par un gaz métastable : l'ionisation est initiée par un transfert d'énergie de la molécule de gaz métastable noté G^* à une molécule cible notée M pour former un radical (18). Ce transfert est possible si l'énergie interne de l'atome de gaz métastable est supérieure à l'énergie d'ionisation de l'atome cible. Généralement, l'hélium est utilisé pour la formation du gaz métastable. En effet, sa durée de vie (proche de 8 000 s) et son énergie interne (19,8 eV) sont suffisamment élevées pour ioniser la plupart des composés organiques et des constituants

de l'air. Cependant, en mode positif, il est possible de changer la nature du gaz pour modifier la sélectivité des molécules ionisées.

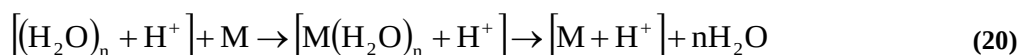
Bien que l'ionisation directe soit possible, ce sont, en général, les molécules contenues dans l'air telles que le dioxygène, le diazote et l'eau qui réagissent préférentiellement (18).



La formation de clusters d'eau, dont le nombre de molécules peut atteindre 14, est également observée lors de l'ionisation par DART (19) [165,166].

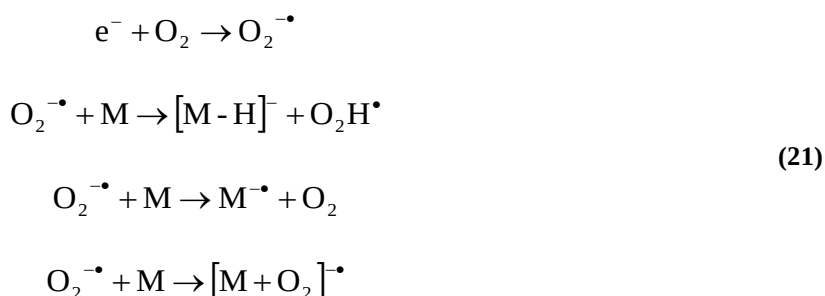


En mode positif, le transfert d'un proton entre une molécule ou un cluster d'eau et la molécule cible est le principal mécanisme expliquant l'ionisation. Ce transfert est possible si l'affinité protonique de l'analyte est supérieure à celle des molécules d'eau dont le mécanisme est proposé ci-dessous (20) :



De manière générale, il résulte de l'ionisation positive la formation d'espèces protonées, d'espèces radicalaires par ionisation de Penning mais aussi d'adduits et de fragments lorsque la différence d'affinité protonique est très marquée.

En mode négatif, la capture d'électrons formés par l'oxygène ambiant via l'ionisation de Penning est responsable de l'ionisation des molécules. L'oxygène radicalaire peut réagir avec une molécule cible M selon trois phénomènes : transfert de protons, échange de charges et attachement d'anions (21).



Contrairement au mode positif, la nature du gaz métastable n'a pas influence sur les espèces ionisées puisque, dans ce cas, c'est le radical dioxygène qui est responsable de l'ionisation. Généralement, l'ionisation négative permet de détecter des ions, des espèces radicalaires mais aussi des adduits (chlorures, nitrate, acétate...).

2.2.3. Ionisation chimique à pression atmosphérique

L'ionisation chimique à pression atmosphérique ou APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization), représentée sur la Figure 27, est une technique d'ionisation en phase gazeuse qui peut être décrite en quelques étapes. Tout d'abord, les analytes sont nébulisés, vaporisés (entre 350 °C et 500 °C) puis entraînés par un gaz vecteur vers une électrode coronaire à décharge. Une différence de potentiel (entre ± 3 et ± 6 kV) appliquée entre l'électrode et la chambre de nébulisation permet l'ionisation de l'air ambiant et la formation d'un plasma par décharge constante d'électrons. Les analytes sont ensuite ionisés par le transfert radicalaire de charges en phase gazeuse.

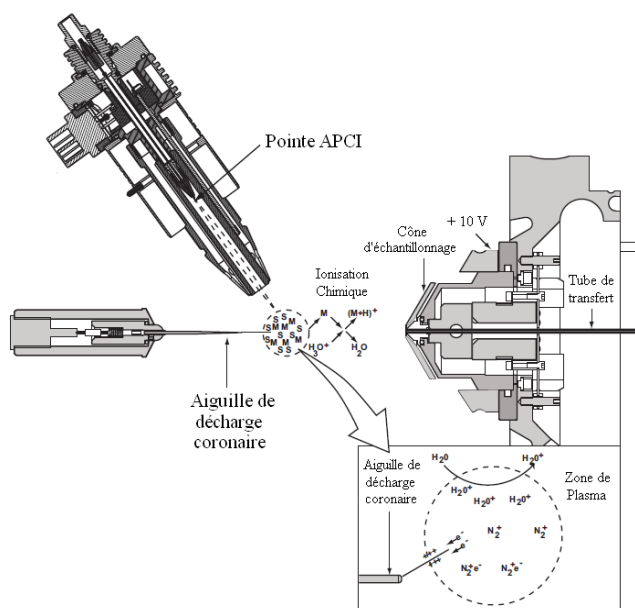


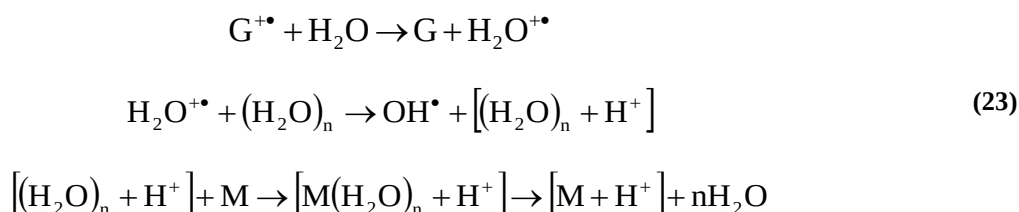
Figure 27 : Représentation schématique du fonctionnement d'une source APCI, d'après documentation Thermo Scientific™

Cette technique d'ionisation est généralement utilisée pour l'ionisation de molécules peu polaires mais elle a, également, été utilisée pour l'analyse de matière organique considérée comme peu polaire [143].

La formation de radicaux tels que $N_2^{+\bullet}$ ou $O_2^{+\bullet}$ est à l'origine de l'ionisation des analytes. Ils sont formés par la décharge du coronaire selon l'équation (22) où G représente un gaz tel que N_2 ou O_2 :



Les radicaux formés participent, en mode positif, à la formation de radicaux et de clusters d'eau selon un mécanisme similaire à celui observé pour l'ionisation par DART (23) :



En mode négatif, c'est principalement le radical formé à partir de l'oxygène qui est responsable de l'ionisation des analytes (24) :



L'échange de protons reste le principal mode d'ionisation en APCI et est à l'origine de la formation d'ions de formes $[M+H]^+$ ou $[M-H]^-$. Ce processus favorise l'ionisation des groupements acides tels que les acides carboxyliques en mode négatif et les fonctions basiques telles que les amines en mode positif. L'échange de charge peut également participer à l'ionisation des analytes. Elle définit le transfert d'une charge d'un ion à une molécule neutre. L'échange de charge est possible si l'énergie de recombinaison de l'ion réactif est plus élevée que l'énergie d'ionisation de la molécule neutre. La capture électronique est également à l'origine de l'ionisation de certaines molécules notamment de molécules composées de groupements fonctionnels électronégatifs. La capture d'électrons thermiques présents dans la source d'ionisation permet la formation d'anions via une capture d'électrons par résonance ou de fragments anioniques par capture électronique dissociative. Les électrons caractérisés par une énergie cinétique élevée peuvent être à l'origine de la formation de radicaux positifs par impact électronique. Bien que considérée comme « douce », cette technique est plus « dure » que l'ESI et génère un certain degré de fragmentation [167].

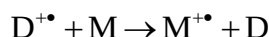
2.2.4. Photo-ionisation à pression atmosphérique

Le développement de la photo-ionisation à pression atmosphérique, appelée APPI (Atmospheric Pressure Photo-Ionization) a débuté dans les années 2000. Expérimentalement, elle peut être assimilée à une source APCI dans laquelle la décharge coronaire est remplacée par une lampe, généralement, à krypton. Dans un premier temps, l'analyte est nébulisé puis vaporisé dans une chambre chauffée entre 350 °C et 550 °C.

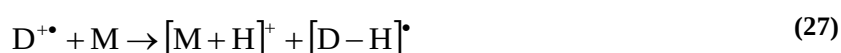
Deux processus sont à l'origine de l'ionisation des analytes en APPI. Tout d'abord, un photon peut exciter une molécule et former un radical cationique lorsque l'énergie des photons ($h\nu$) émis par la lampe est supérieure à l'énergie d'ionisation de l'analyte M (25) [168].



Parfois, l'ionisation directe n'est pas suffisamment efficace pour ioniser l'ensemble des analytes et nécessite l'utilisation d'un dopant afin d'être optimisée [169]. Le dopant photoionisable, noté D, est ajouté en excès aux analytes avec lesquels il réagit après son excitation et permet d'augmenter l'ionisation des analytes de deux à trois ordres de grandeur (26) [170] :



En présence d'un dopant protonique, la formation d'espèces protonées peut être observée (27) :



Le mode d'ionisation négatif en APPI est similaire à celui observé en APCI : la formation d'anions est initiée par capture électronique dissociative ou non [167].

Contrairement aux autres techniques d'ionisation mentionnées plus haut (ESI, DART et APCI), la source APPI crée simultanément des espèces positives et des espèces négatives [168]. Elle est particulièrement efficace pour l'analyse de composés riches en azote et volatiles tout comme l'APCI et le DART. L'APPI est utilisée pour l'analyse de molécules peu polaires qui ne sont pas ionisées en ESI ou APCI comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (Figure 28) [167].

L'ionisation par APPI conserve les structures des molécules analysées : les liaisons covalentes sont très peu fragmentées [141].

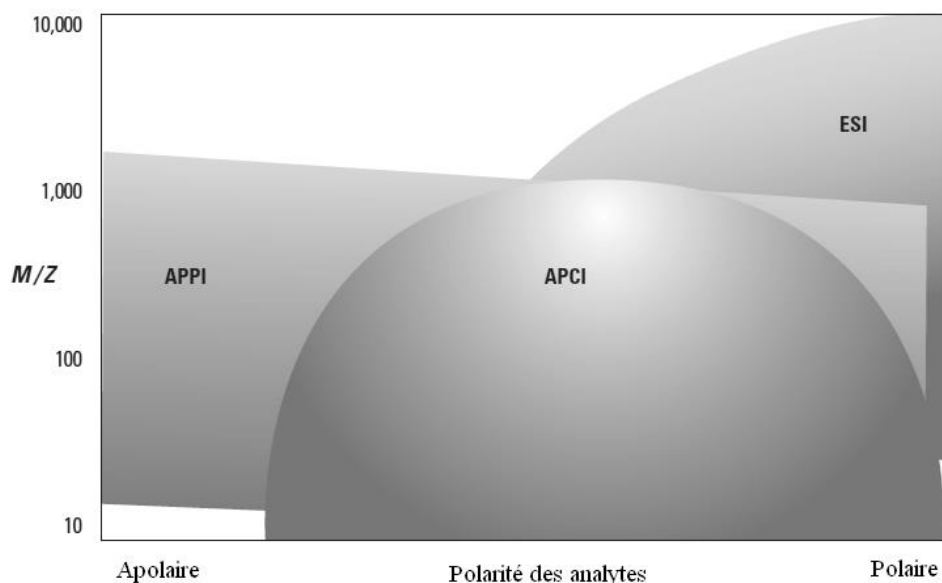


Figure 28 : Domaine d'application des différentes sources d'ionisation (ESI, APCI et APPI), d'après un document technique fourni par Thermo Scientific™ (San Jose, CA, USA)

2.3. Le spectromètre de masse de type FT-MS

Le spectromètre de masse à Transformée de Fourier (FT-MS) utilisé durant cette partie de l'étude est un spectromètre de masse LTQ Orbitrap™ XL commercialisé par la société Thermo Scientific™ (San Jose, CA, USA). Cet instrument est unique de par sa conception qui hybride deux analyseurs (un piège linéaire et une cellule Orbitrap) et offre une résolution de 180 000 pour une masse de 400 da.

L'Orbitrap est composé d'un système permettant d'accueillir différentes sources d'ionisation et notamment celles décrites plus haut. Les ions formés sont triés et focalisés par un système de lentilles. Ils sont ensuite transférés dans un premier analyseur constitué d'une trappe linéaire LTQ XL où ils peuvent être analysés en basse résolution sur des gammes de masses allant de 15 à 200 m/z ou de 50 à 2 000 m/z ou de 100 à 4 000 m/z. La trappe linéaire est constituée d'un quadripôle hyperbolique segmenté en trois parties afin de garantir une homogénéité optimale du champ électrique dans la zone de piégeage. Les ions y sont détectés par deux détecteurs pour doubler le rapport signal sur bruit. Les modes et vitesses de balayage de la trappe LTQ permettent la réalisation de spectres de masse complets dont le mode d'acquisition est nommé « SIM » où la réalisation de spectres de fragmentation d'ions

sélectionnés dont le mode d'acquisition est nommé « MS/MS ». La fragmentation des ions est rendue possible grâce au mode appelé CID (Collision Induced Dissociation).

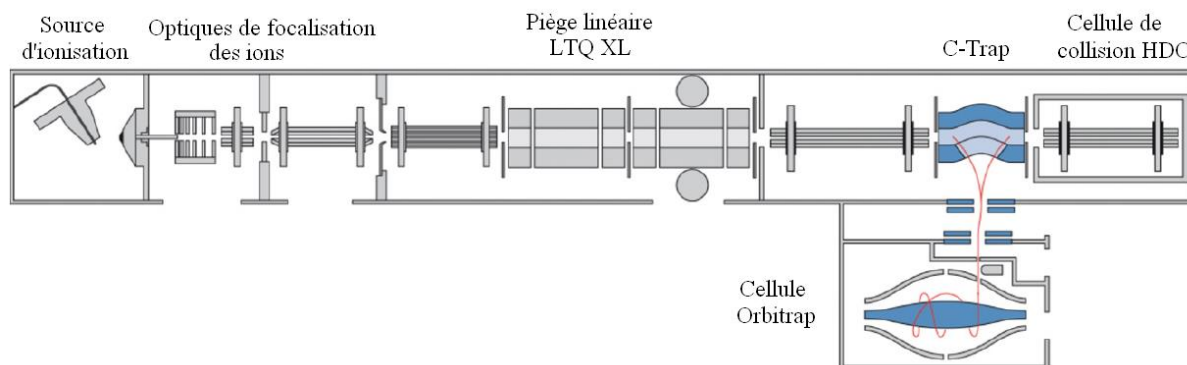


Figure 29 : Représentation schématique du LTQ XL Orbitrap™ (Thermo Scientific™) [127]

Pour des analyses nécessitant une meilleure résolution, les ions sont transférés dans un second analyseur nommé Orbitrap™ par l'intermédiaire d'un octopode puis d'un piège intermédiaire formant un « C » appelé C-Trap. Cette cellule permet d'injecter ponctuellement des paquets d'ions dont les distributions spatiale (inférieures à quelques millimètres) et temporelle (inférieures à deux cents nanosecondes) doivent être faibles dans l'Orbitrap™ [171,172].

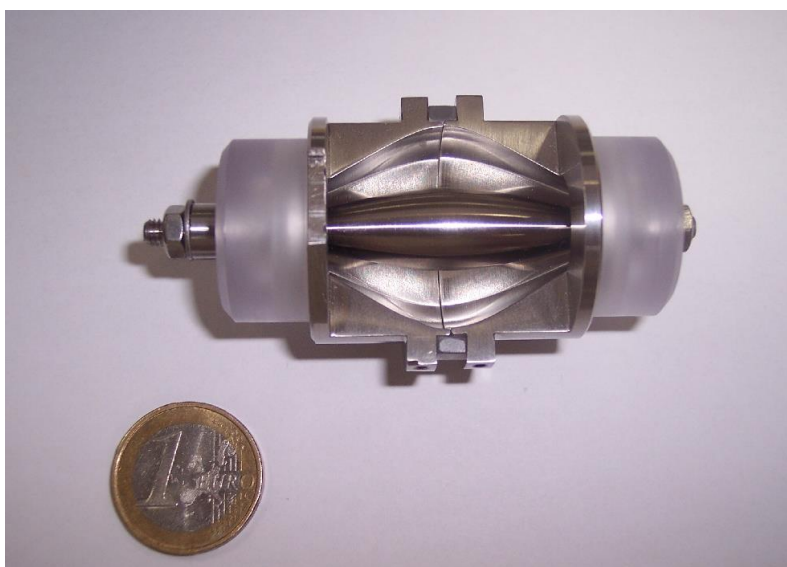


Figure 30 : Photographie d'une cellule Orbitrap™, d'après [173]

La cellule Orbitrap™ (Figure 30) est un piège à champ électrostatique constitué d'une trappe à ions traversée par une électrode. Le champ électrostatique compense la force centrifuge des ions injectés et les piège dans la cellule. Les ions adoptent alors, naturellement, une trajectoire impliquant une rotation autour de l'électrode centrale et un déplacement axial de « va et vient » le long de cette électrode (Figure 30). Seule la fréquence d'oscillation axiale, notée ω_z est dépendante du rapport m/z de l'ion injecté mais pas de son énergie initiale ni de sa position initiale (équation (28), où k est une constante).

$$\omega_z = \sqrt{\frac{k}{m/z}} \quad (28)$$

Un courant induit est provoqué par le passage des ions à proximité de la paroi des deux électrodes externes. Ce courant, appelé signal transitoire, est amplifié et enregistré au cours du temps. La durée d'enregistrement, dépendant de la stabilité des ions dans la cellule, conditionne la résolution de la mesure. C'est pour cette raison qu'un vide poussé inférieur à 10^{-10} mBar est imposé dans l'analyseur. Le signal transitoire obtenu est converti en spectre de fréquence par l'intermédiaire d'une transformée de Fourier puis en spectre de masse haute résolution par l'application de la relation (28) [127,171,172,174,175].

Le LTQ Orbitrap™ XL est également doté une cellule de collision « HCD » couplée à la C-Trap permettant la fragmentation à de plus hautes énergies que celles autorisées dans la trappe linéaire. Dans cette cellule, les ions sont fragmentés par un gaz de collision (azote ou argon) puis analysés en haute résolution par l'Orbitrap™.

3. Développement d'une méthodologie pour l'analyse à l'échelle moléculaire de la complexation des actinides par la matière organique naturelle

Cette partie est consacrée à la description d'une méthode et de son développement. Celle-ci a pour objectif d'apporter une nouvelle vision de la complexation des radioéléments par la matière organique naturelle. L'utilisation d'un outil analytique tel que la spectrométrie de masse couplée à une source

d'ionisation « douce » semble revêtir les caractéristiques nécessaires à ce type d'étude. En effet, le chapitre précédent montre que cet outil permet une caractérisation poussée des substances humiques.

Cette partie du manuscrit prouve que cet instrument permet également de mettre en évidence et de caractériser la chélation de métaux par la matière organique naturelle. Pour cela, dans un premier temps, les performances du FTICR-MS utilisé pour la caractérisation des substances humiques seront comparées à celles du FT-MS utilisé dans la suite de l'étude. Ensuite, le développement d'une méthodologie et son utilisation seront décrits. Le choix des conditions opératoires et instrumentales sera également abordé et illustré aux travers d'exemples.

3.1. Performances du FT-MS Orbitrap™

Le spectromètre de masse de type FTICR-MS qui a permis la caractérisation des substances humiques n'a pas pu être utilisé pour cette partie de l'étude car l'analyse de radionucléides, mêmes naturels, nécessite l'utilisation d'instruments prévus à cet effet. Ainsi, un spectromètre de masse de type FT-MS a été utilisé. Cet instrument est caractérisé par une résolution plus faible que les FTICR-MS (180 000 pour le FT-MS contre 800 000 pour le FTICR-MS). Le but de la partie qui suit est de prouver que, même avec une résolution plus faible que le FTICR-MS, l'Orbitrap™ (FT-MS) est un outil adapté à la caractérisation de la matière organique.

3.1.1. Conditions opératoires

Tous les échantillons (SRFA, SRHA, NAFA, NAHA et PLFA) ont été analysés. Ils ont été préparés selon la procédure utilisée pour l'analyse des échantillons par FTICR-MS (décrite dans la section 4.1. Conditions expérimentales, page 91) : la concentration finale de la matière analysée est de 600 mg/L et le pourcentage volumique en méthanol est fixé à 30 %.

Pour comparer les deux instruments, une source ESI a également été utilisée. Cependant, les sources ESI n'étant pas conçues par le même fabricant, les paramètres diffèrent entre les deux sources. La source couplée au FT-MS est une source commercialisée par la société Thermo Scientific™ sous le nom « HESI-II Probe ». Les paramètres instrumentaux de celle-ci ont été optimisés pour le mode d'ionisation positif et sont présentés dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Paramètres instrumentaux de la source ESI utilisés après optimisation

Paramètre	Valeur Fixée
Tension au spray	4,5 kV
Tension du capillaire	29 V
Température du capillaire	275 °C
Pression de gaz de nébulisation	25 psi
Pression de gaz d'enveloppement	25 psi
Pression du gaz de balayage	10 psi
Tension au tube de transfert	90 V
Débit d'infusion	5 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$

La différence de potentiel appliquée entre le capillaire et l'instrument, appelée « tension au spray » est le seul paramètre commun aux deux sources d'ionisation. L'optimisation de ce paramètre a conduit à l'utilisation de la même valeur pour les deux interfaces testées : 4,5 kV.

3.1.2. Résultats

Les résultats présentés ici concernent uniquement les résultats obtenus pour l'analyse de l'échantillon de Fulvic Acid Suwannee River. Ces résultats seront comparés à ceux obtenus pour l'analyse du même échantillon par le FTICR-MS.

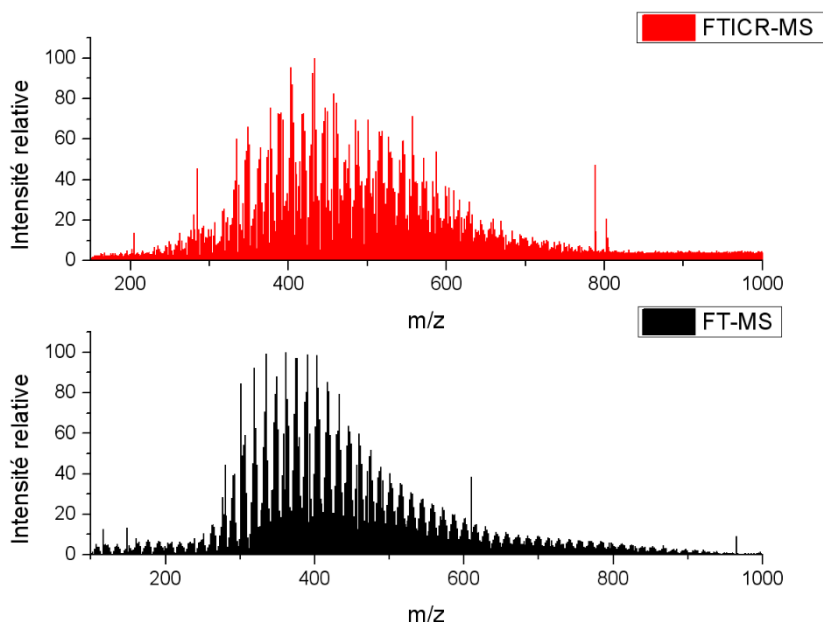


Figure 31 : Comparaison de deux spectres de masse d'un échantillon d'acides fulviques obtenus dans les mêmes conditions avec deux spectromètres de masse différents (ESI-FTICR-MS en rouge et ESI-FT-MS en noir) en mode positif

Du point de vue qualitatif, l'analyse de l'échantillon par le FT-MS donne un spectre de masse semblable à celui obtenu par FTICR-MS. La Figure 31 montre la comparaison des spectres de masse obtenus avec ces deux instruments dans les mêmes conditions. Le FT-MS Orbitrap™ semble présenter une distribution mieux définie sur une gamme de masse légèrement moins étendue que celle proposée par le FTICR-MS. Le seul pic qui semble ne pas faire partie de la distribution en masse situé à 609 daltons est dû à la présence d'un étalon : la réserpine. La diminution des intensités des masses comprises entre 600 et 700 daltons observée pour l'analyse faite avec le FT-MS n'est pas expliquée par une fragmentation car elle ne se fait pas au profit de masses plus faibles. Cette observation peut être expliquée par une meilleure efficacité de transfert des ions pour les masses faibles que pour les masses élevées [176,177]. Du point de vue quantitatif, le FT-MS Orbitrap™ permet de détecter 20 149 ions et d'assigner 9 659 formules élémentaires. Bien que le taux d'assignement de 48 % soit dans la moyenne haute des taux d'assignement déterminés pour le FTICR-MS, le FT-MS permet de déterminer trois fois moins de formules élémentaires que le FTICR-MS (Tableau 10).

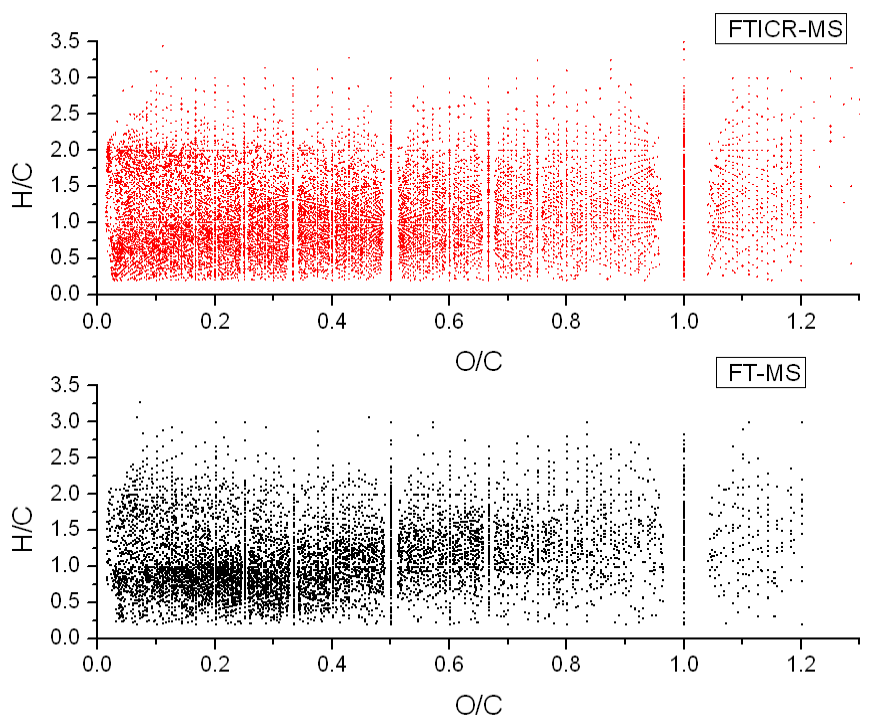


Figure 32 : Comparaison des molécules déterminées pour l'analyse d'un échantillon de SRFA en mode positif avec deux spectromètres de masse différents (ESI-FTICR-MS en rouge et ESI-FT-MS en noir) dans les mêmes conditions

Les formules élémentaires ont été déterminées à l'aide du code de calcul CIA décrit précédemment (3.2.2. Traitement numérique des spectres de masse, page 79) et sont représentées sous forme de diagrammes de Van Krevelen. Ces diagrammes mettent en évidence que le FT-MS Orbitrap™ permet l'assignement d'un nombre de formules élémentaires plus faible que le FTICR-MS (Figure 32). Cependant, la répartition des molécules obtenues avec les deux instruments semble être proche : une densité de molécules particulièrement élevée dans la zone des lignines et des structures aromatiques condensées ($H/C < 1,5$ et $O/C < 0,7$) est observée dans les deux cas. Cette observation est comparable à celle déjà réalisée par une étude qui compare les résultats obtenus avec ces deux instruments pour l'analyse de SRFA [178].

Bien que la répartition des molécules déterminées par les deux instruments semble visuellement proche sur les deux diagrammes, seulement 489 molécules (soit 5 % des formules élémentaires assignées par FT-MS) sont déterminées par les deux instruments. A titre de comparaison, l'étude mentionnée précédemment propose un nombre comparable de molécules identifiées par les deux instruments (507 molécules) mais sur un nombre total de molécules beaucoup plus faible (1 446 molécules). L'ensemble des résultats est reporté dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Résultats obtenus pour la comparaison des performances entre l'ESI-FT-MS et l'ESI-FTICR-MS pour l'analyse d'un échantillon de SRFA dans les mêmes conditions

Référence	Molécules déterminées uniquement par FT-MS	Molécules déterminées par FT-MS et FTICR-MS	Molécules déterminées uniquement par FTICR-MS
[178]	87 (6 %)	507 (35 %)	852 (59 %)
Cette étude	9 659 (25 %)	489 (1 %)	28 647 (74 %)

Les résultats présentés dans le Tableau 12 montrent l'efficacité du code de calcul utilisé pour l'assignement des formules élémentaires au vu du nombre de molécules déterminées dans cette étude. Ce tableau montre aussi la complémentarité des deux instruments puisqu'ils permettent, chacun, la détermination de molécules différentes.

La Figure 33 montre une comparaison des molécules ionisées et détectées par les deux instruments. Les résultats obtenus avec le FT-MS confirment la prédominance des molécules de type CHON et de type CHO, CHONS et CHONP dans de moindres mesures. Cependant, une différence significative est

remarquable pour les pourcentages de molécules CHON et CHONSP déterminés par les deux instruments. En effet, le FT-MS permet de détecter plus de molécules portant plusieurs hétéroatomes que le FTICR-MS au détriment des molécules de type CHON.

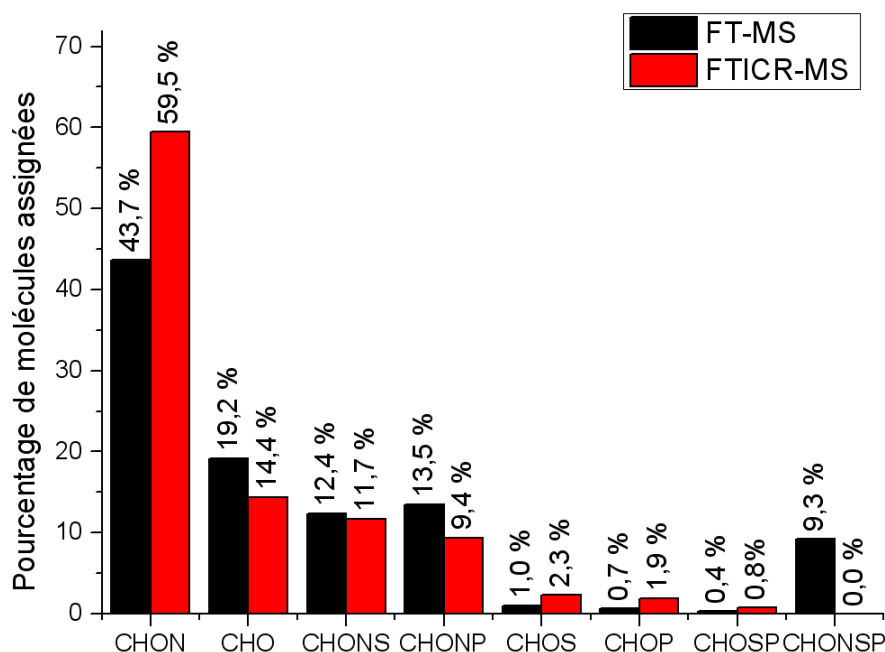


Figure 33 : Comparaison des types de molécules assignées par deux instruments différents dans les mêmes conditions d'analyse en mode positif pour un échantillon de SRFA

De nombreux facteurs peuvent expliquer cette complémentarité. En effet, la conception et les paramètres de la source d'ionisation diffèrent selon les constructeurs et peuvent expliquer une ionisation favorisée de certaines molécules au détriment d'autres [179,180]. La conception de l'instrument et les paramètres de focalisation et de transfert d'ions peuvent également être à l'origine de ces différences.

3.1.3. Conclusion

Les résultats présentés précédemment montrent que la résolution du FT-MS ne lui permet pas de déterminer autant de molécules que le FTICR-MS à critères égaux²² et dans des conditions d'analyse similaires (Tableau 13). Cependant, il permet d'assigner près de 10 000 formules élémentaires et

²² L'erreur maximale tolérée pour l'assignement est de 1 ppm quelle que soit la résolution de l'instrument.

d'atteindre une information complémentaire à celle donnée par le FTICR-MS. De plus, le FT-MS Orbitrap™ présente des résultats cohérents avec ceux obtenus par FTICR-MS.

Tableau 13 : Comparaison des performances de l'ESI-FTICR-MS et de l'ESI-FT-MS pour la détermination de la composition d'un échantillon de SRFA en mode positif dans les mêmes conditions

	Ions détectés	Formules élémentaires assignées	Pourcentage de formules élémentaires assignées
FTICR-MS	70 262	28 647	40,2 %
FT-MS	20 149	9 659	47,9 %

Expérimentalement, il permet des analyses beaucoup plus rapides et simples à mettre en place que le FTICR-MS. Pour conclure, le FT-MS Orbitrap™ est un outil adapté à la caractérisation de matière organique même s'il n'atteint pas les niveaux de performance d'un FTICR-MS.

3.2. Description et validation de la méthode

Le but de cette partie est de présenter la méthodologie développée dans le cadre de cette thèse permettant d'étudier la complexation des actinides par la matière organique naturelle à l'échelle moléculaire par l'utilisation de la spectrométrie de masse très haute résolution.

Ce développement repose sur deux axes : l'identification de complexes dans un premier temps et la caractérisation des molécules dans un deuxième temps. Pour finir, la méthode sera validée par l'utilisation d'un marqueur isotopique.

3.2.1. Identification des complexes actinides / matière organique naturelle

L'identification de complexes formés entre certaines molécules présentes dans la matière organique et les actinides repose sur la conservation de leur structure lors de l'ionisation en électrospray. En effet, l'énergie interne des complexes covalents est suffisamment élevée pour qu'ils ne soient pas fragmentés lors de l'ionisation [180]. Ainsi cette technique a déjà été utilisée pour l'étude de l'iodination de la

matière organique ou la complexation des lanthanides par des acides polyaminocarboxyliques²³ [181-183].

Les premières manipulations s'attachent à prouver la faisabilité de ce type d'étude pour un système actinides / substances humiques. Pour cela, l'évolution d'un spectre de masse d'un échantillon de substances humiques tel que le NAFA est étudié en fonction de l'ajout d'un métal analogue aux actinides(III) : l'euprimum. Cette évolution, représentée sur la Figure 34, n'est pas évidente à juger au premier regard. Sur cette figure, les spectres de masse obtenus pour des concentrations nulles et de 5.10^{-6} mol.L⁻¹ sont très semblables et ne permettent pas de prouver la faisabilité de ce type d'étude. Cependant, au-delà de 5.10^{-6} mol.L⁻¹ une modification du spectre de masse est observée qui présente une distribution moins large et laisse apparaître de nouveaux pics particulièrement intenses.

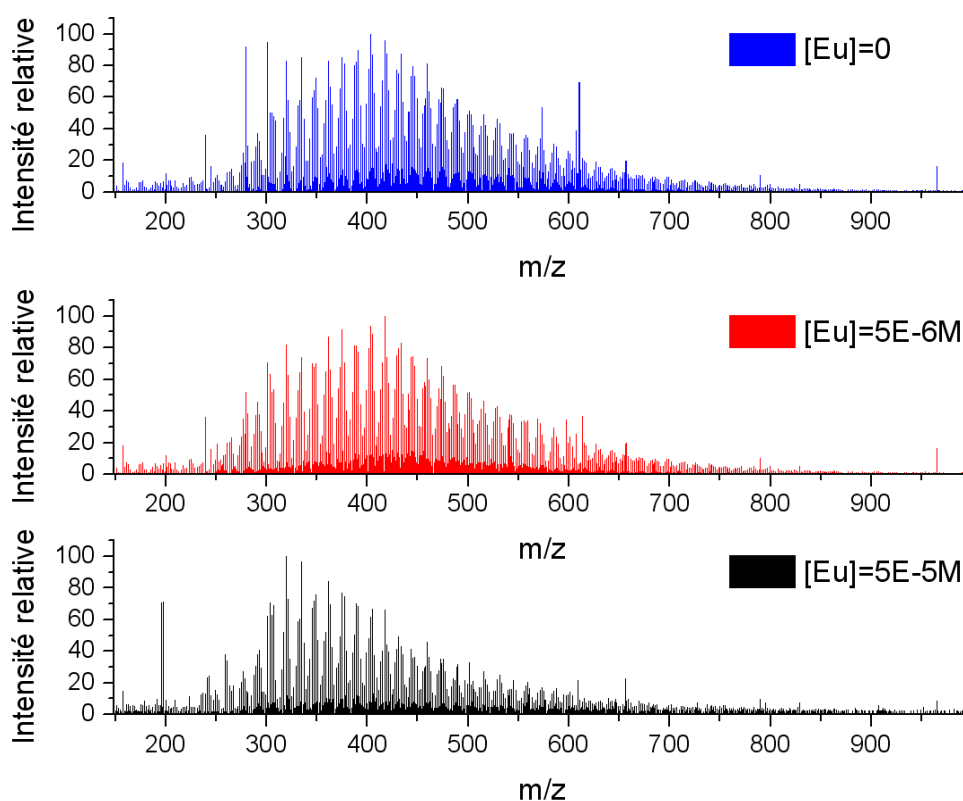


Figure 34 : Evolution du spectre de masse d'un échantillon de NAFA acquis dans les mêmes conditions en mode positif après ajout d'euprimum

²³ Dans l'étude citée, l'acide polyaminocarboxylique étudié est l'EDTA. Cette famille de molécules est connue pour leur fort pouvoir chélatant.

Par exemple, le pic proche de 200 daltons présente une intensité relative de 70 %. L'apparition de ces nouveaux pics se fait au détriment des signaux les plus faibles. En effet, la compétition des molécules pour l'ionisation est responsable de la modification de la distribution des ions détectés.

Afin de caractériser les pics apparus lors de l'ajout d'euprium dans un échantillon de substances humiques, une étude détaillée du spectre de masse est réalisée. Un exemple de spectres zoomés est donné Figure 35. Cette figure met en évidence l'apparition de six nouveaux pics présentant des intensités particulièrement élevées. Ces six pics forment trois groupes de deux pics d'intensités proches et séparés par une masse moyenne de 2,0014 da. Ces pics portent la distribution isotopique de l'euprium qui présente naturellement deux isotopes caractérisés par des abondances relatives proches (47,8 % pour le ^{151}Eu et 52,2 % pour le ^{153}Eu). La présence de l'euprium dans ces ions peut être supposée, cette hypothèse sera vérifiée dans la partie qui suit.

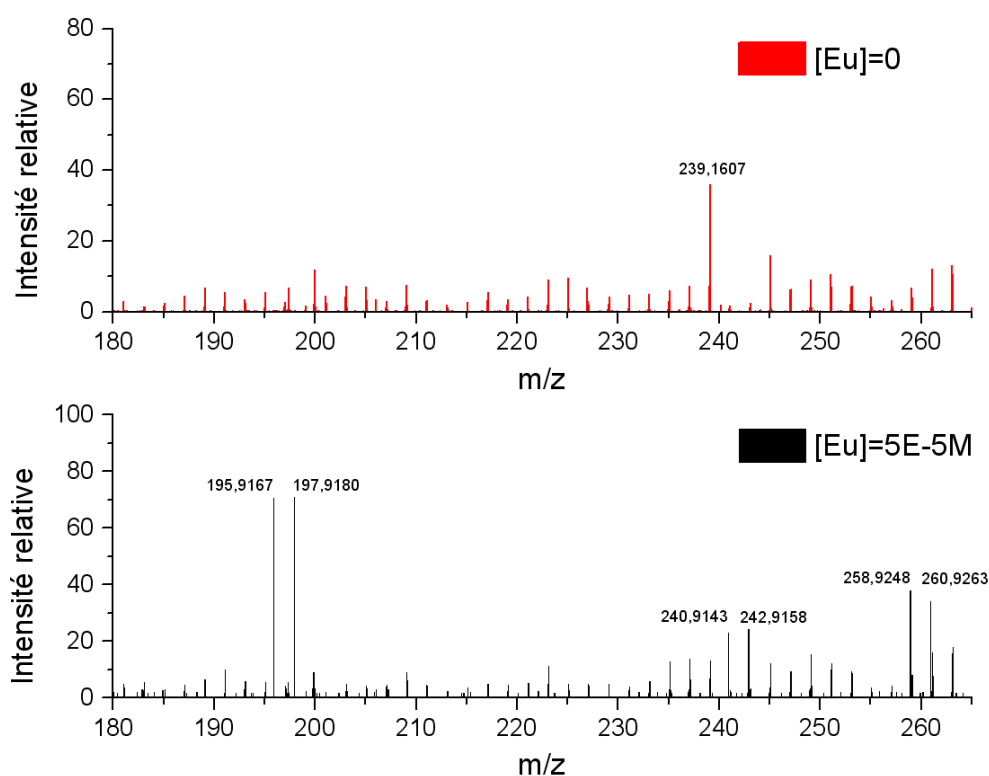


Figure 35 : Evolution des spectres de masse zoomé d'un échantillon de NAFA acquis dans les mêmes conditions en mode positif après ajout d'euprium dont l'abondance isotopique permet l'observation de doublets séparés par deux unités de masse

La Figure 35 montre également la disparition d'un pic à 239,16 da après l'ajout d'Eu. Celle-ci peut être expliquée, soit par la présence d'une pollution dans le premier échantillon, soit par l'effet de compétition évoqué précédemment.

3.2.2. Caractérisation des molécules complexantes

La caractérisation des molécules complexantes est rendue possible grâce à la cellule de collision dont est équipé l'instrument. Cette cellule permet l'isolation et la fragmentation d'un ion de masse sélectionnée et donne la possibilité de déterminer sa structure.

Deux exemples de fragmentations sont donnés sur la Figure 36. Cette figure montre que les deux ions fragmentent de façon identique avec un décalage de deux unités de masse. Les masses des deux derniers fragments obtenus (masses les plus faibles) sont exactement égales aux masses des deux isotopes de l'euprium. Cette figure confirme l'hypothèse précédente : la détection de deux pics séparés de deux unités de masse et d'intensités proches est due à la présence d'euprium « complexé ».

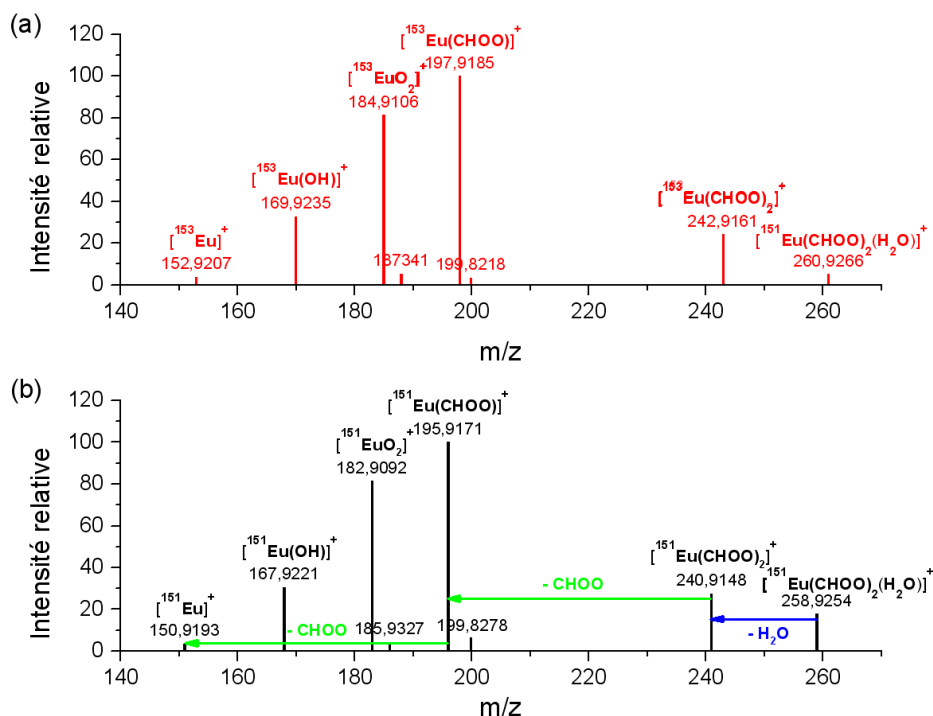


Figure 36 : Exemples de spectres de fragmentation de deux ions ($m/z = 261$ da (a) et $m/z = 259$ da (b)) issus d'un échantillon de substances humiques NAFA en mode positif avec ajout d'euprium à 5.10^{-5} M

Bien que la forme la plus stable de l'euporium en solution soit $\text{Eu}(\text{H}_2\text{O})_n^{3+}$ (avec $n = 8 - 9$), il est détecté sous son degré d'oxydation +I. Cette forme de l'euporium est peu relatée dans la littérature comparée à sa forme +II [184,185]. Ce phénomène peut être expliqué par la réduction du métal lors de sa désolvatation et de son passage en phase gazeuse. Les réactions d'oxydoréduction au sein de la source d'ionisation peuvent être également à l'origine de cette observation. En effet, certains auteurs comparent la source ESI à une réelle cellule électrochimique [186]. Lors de la fragmentation, l'euporium est également détecté sous forme d'oxyde ($[\text{EuO}_2]^+$) et d'hydroxyde ($[\text{Eu}(\text{OH})]^+$), notamment sur les spectres de fragmentation. Ce résultat illustre le caractère acide (au sens de Lewis) de l'euporium se liant aux atomes d'oxygène.

La Figure 36 ne met pas en évidence de complexe formé avec la matière organique mais uniquement des clusters formés à partir d'ions introduits par le protocole expérimental. En effet, les ions fragmentés plus haut (de masses 258,9 da et 260,9 da) sont des clusters formés à partir d'un atome d'euporium, une molécule d'eau et de la base conjuguée de l'acide formique utilisé pour doper l'ionisation.

Le Tableau 14 donne les assignements des ions apparus après l'ajout d'euporium. Ils sont tous issus de la formation de clusters avec des molécules ajoutées par le mode opératoire²⁴, on parle d'effet de matrice.

Tableau 14 : Assignements des pics apparus après un ajout d'euporium dans un échantillon de NAFA pour des conditions opératoires non adaptées

Pics apparus	Clusters assignés
195,9 / 197,9	$[\text{Eu}(\text{CHOO})]^+$
212,9 / 214,9	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)]^+$
258,9 / 260,9	$[\text{Eu}(\text{CHOO})_2(\text{H}_2\text{O})]^+$
275,9 / 277,9	$[\text{Eu}(\text{CHOO})_2(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)]^+$
292,9 / 294,9	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{O})(\text{NO}_3)_2]^+$

Ces premiers résultats permettent de valider la faisabilité de l'étude des interactions entre les métaux et la matière organique par ESI-FT-MS notamment grâce au marquage isotopique naturel de l'euporium. Cependant, ces résultats montrent que les conditions opératoires utilisées initialement n'étaient pas

²⁴ L'acide formique est utilisé pour doper l'ionisation et les nitrates proviennent du milieu de conservation des actinides et du lanthanide (acide nitrique).

adaptées à ce type d'étude. Le chapitre suivant donne les conditions d'analyse permettant d'obtenir les résultats finaux de cette étude.

3.3. Choix de la source d'ionisation

3.3.1. Conditions opératoires

L'ionisation d'un échantillon de substances humiques NAHA a été réalisée par les quatre sources d'ionisation décrites plus haut (ESI, APCI, APPI et DART) afin de comparer les performances de celles-ci. L'échantillon de NAHA est analysé à une concentration 600 mg.L⁻¹ dissout dans une solution aqueuse dont le pH a été fixé à 2 par un ajout d'acide chlorhydrique. Afin d'optimiser la désolvatation de l'analyte, 30 % volumique de méthanol sont ajoutés à la solution.

Les paramètres instrumentaux des sources d'ionisation ont été optimisés afin d'obtenir le maximum d'ions détectés. Les paramètres utilisés pour chacune des sources sont reportés dans le Tableau 15. Toutes les analyses ont été réalisées en mode d'ionisation positif sur le FT-MS Orbitrap.

Tableau 15 : Paramètres instrumentaux utilisés pour la comparaison des performances de différentes sources d'ionisation

Paramètre	ESI	APCI	APPI	APCI+APPI	DART
Tension au spray (kV)	4,5	/	/		/
Tension de décharge (kV)	/	30	0	30	/
Température de vaporisation (°C)	/	450	450	450	450 (He)
Tension du capillaire (V)	29	50	10	60	/
Température du capillaire (°C)	275	275	275	275	/
Pression de gaz de nébulisation (psi)	25	75	75	75	/
Pression de gaz d'enveloppement (psi)	25	30	22	22	/
Pression du gaz de balayage (psi)	10	/	/	/	/
Tension au tube de transfert (V)	90	125	125	125	/
Débit d'infusion (µl.min ⁻¹)	5	20	20	50	Dépot sur grille

3.3.2. Analyse de la matière organique

Dans un premier temps, une comparaison des spectres de masse acquis avec les différentes sources d'ionisation montre que le choix de la source est déterminant dans la détection d'ions (Figure 37).

En effet, la source DART, qui ionise préférentiellement les molécules volatiles, est très peu efficace pour l'ionisation des molécules issues de matière organique naturelle. La source APPI ionise une très

faible gamme de masses atteignant difficilement les 300 daltons. L'APCI permet également l'ionisation d'une gamme de molécules moins grande que celle permise par l'ESI, cette observation a déjà été reportée dans une précédente étude [143]. En revanche, l'ionisation chimique provoquée par une décharge coronaire dans un nébulisât couplée à une photo-ionisation par l'intermédiaire d'une lampe à krypton permet de détecter une gamme de masses proche de celle atteinte par la source ESI. Ce résultat montre la complémentarité de ces deux sources d'ionisation.

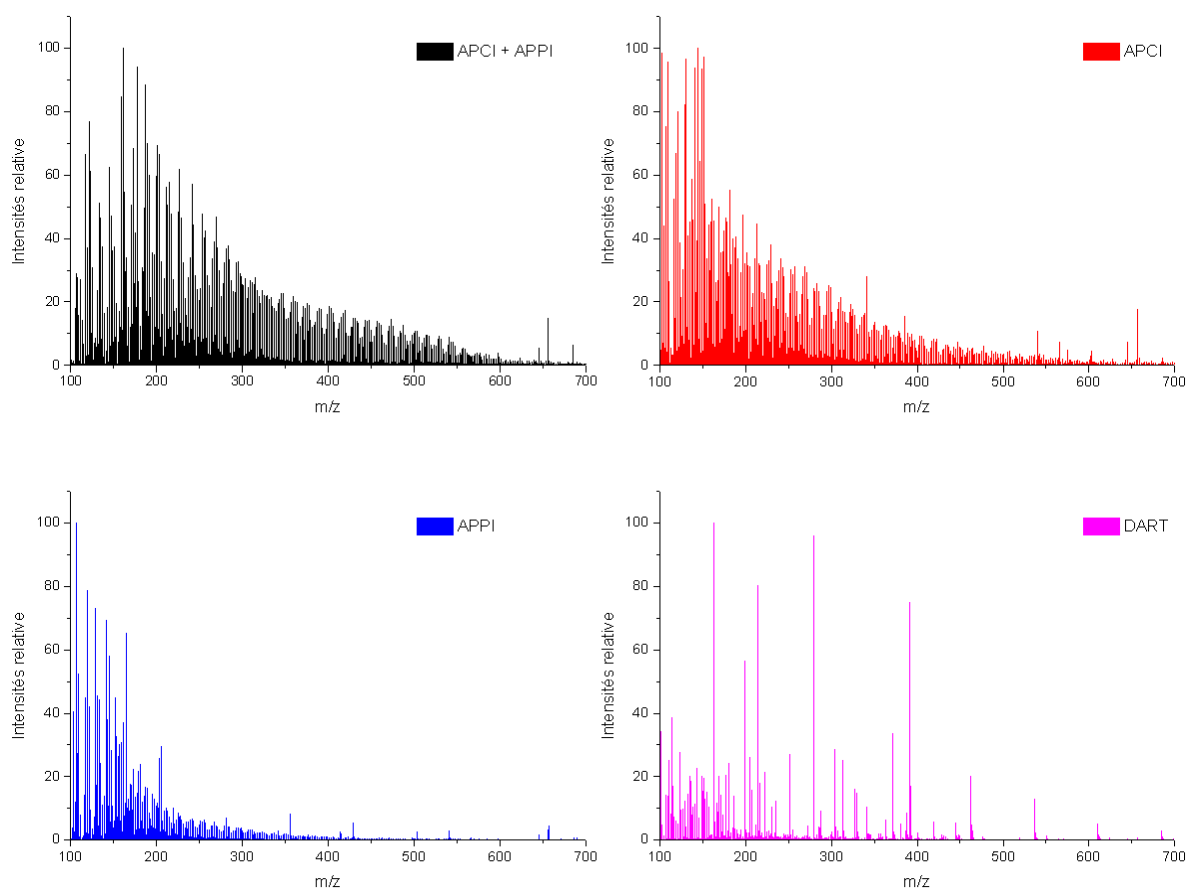


Figure 37 : Comparaison des spectres de masse obtenus pour l'ionisation de NAFA à 600 mg/L à pH 2 avec quatre sources d'ionisation différentes en mode positif sur ESI-FT-MS

Pour aller plus loin dans la comparaison de ces sources d'ionisation, tous les résultats ont été traités par le code de calcul CIA afin de déterminer les performances de chacune d'entre elles. Le Tableau 16 reporte les résultats obtenus.

Tableau 16 : Comparaison des performances de cinq sources d'ionisation pour l'analyse de NAFA en mode positif par FT-MS

	APPI + APCI	APCI	APPI	DART	ESI
Ions détectés	13 187	9 155	13 549	6 427	20 149
Formules élémentaire assignées	5 654	3 852	4 452	924	9 659

Les résultats obtenus montrent qu'aucune autre source ne permet d'égaler les performances de la source ESI. En effet, la source APPI couplée à la source APCI permet d'acquérir un spectre de masse visiblement satisfaisant mais ne permet de déterminer qu'à peine plus de la moitié des molécules déterminées grâce à la source ESI. La comparaison des diagrammes de Van Krevelen tracés à partir de l'assignement des ions détectés par chaque source (Annexe 2) et la comparaison de chaque formule déterminée montre que ces sources sont complémentaires pour la caractérisation d'un échantillon de substances humiques. En effet, peu de formules élémentaires ont été déterminées par toutes les sources utilisées. Cette observation rejoint celle réalisée par quelques auteurs [141,187].

Pour ces performances et ces capacités à ioniser les molécules les plus polaires (les plus réactives), la source ESI a été privilégiée pour la suite de cette étude.

3.3.3. Etude de la complexation de l'euporium par la matière organique

La méthodologie développée dans le cadre de cette étude permettant de déterminer les molécules responsables de la complexation a été appliquée pour un échantillon de NAFA dopé en euporium à une concentration de 5.10^{-5} M.

Les spectres de masse montrent qu'aucune autre source que l'ESI ne permet de mettre en évidence la formation de complexes formés entre la matière organique en l'euporium. En effet, aucune modification des spectres de masse n'a été observée après l'ajout du métal avec les sources autres que l'ESI.

Ce résultat confirme l'intérêt que revêt la source d'ionisation électrospray pour ce type d'étude.

3.4. Les conditions opératoires finales utilisées

Le choix des conditions opératoires est basé sur les résultats précédents. Elles ont été sélectionnées pour permettre la détection du maximum d'ions résultant de la complexation du métal par la matière organique tout en minimisant les effets indésirables de l'effet de matrice.

3.4.1. Préparation des substances humiques

Pour l'étude des interactions entre les métaux et les substances humiques, les échantillons SRFA, SRHA, NAFA et NAHA ont été analysés. Ils ont été préparés selon la procédure utilisée pour l'analyse des échantillons par FTICR-MS (décrite section 4.1. Conditions expérimentales, page 91) : la concentration finale de la matière analysée est de 600 mg/L et le pourcentage volumique en méthanol est fixé à 30 %. Afin d'évaluer l'influence du pH sur la complexation des métaux par les substances humiques, chaque échantillon a été préparé à trois pH différents. Le pKa moyen (approximativement pH 4,5) des fonctions carboxyliques dans un échantillon de substances humiques est à l'origine du choix des pH d'analyse [188]. Pour chaque substance humique, trois échantillons sont préparés : pH 2 (diminution du pH par un ajout d'acide chlorhydrique) puis pH 4,5 et pH 7 (augmentation du pH par un ajout d'ammoniaque).

3.4.2. Préparation des actinides et de l'euporium

Des solutions d'actinides naturels (thorium et uranium) et d'euporium ont été préparées afin d'étudier la complexation de trois degrés d'oxydation des actinides par la matière organique. En effet, dans nos conditions l'uranium et le thorium sont stables sous leur forme respective UO_2^{2+} et Th^{4+} . L'euporium est stable sous forme Eu^{3+} et considéré comme un analogue des actinides trivalents tels que l'américium, le curium et le californium [189].

Trois solutions sont indépendamment préparées à partir de solutions de calibration mono-élémentaire « assurance grade » commercialisées par SPEXCertiPrep™ (Middlesex, UK) à 1 g.mL⁻¹. Ces solutions sont diluées pour obtenir une concentration finale en métaux de 5.10⁻⁴ M. Ensuite, elles sont reprises à sec trois fois par une solution d'acide chlorhydrique concentrée afin de reconditionner leur milieu de conservation. En effet, initialement, ces éléments sont conservés en milieu nitrique qui est responsable

de la formation de clusters de nitrate (voir 3.2.2. Caractérisation des molécules complexantes, page 122). Après la troisième évaporation, les métaux sont repris dans une solution d'acide chlorhydrique à pH 2.

3.4.3. Préparation des échantillons

Quatre solutions sont préparées à partir de chacun des trois pH des cinq échantillons de substances humiques. Pour trois d'entre elles, un ajout de métal (uranium, thorium ou europium) est réalisé à hauteur de dix pourcent volumique pour obtenir une concentration finale en métaux de $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. La quatrième solution préparée à partir de chacun des pH de chaque échantillon de substances humiques servira de témoin : dix pourcent volumique d'acide chlorhydrique à pH 2 y sont ajoutés sans actinide. Au final, 48 solutions seront préparées (Figure 38).



Figure 38 : Photographie de l'ensemble des échantillons de substances humiques dont le pH a été ajusté à 2, 4, 5 et 7 et dans lesquels ont été ajoutés soit de l'euporium, soit du thorium, soit de l'uranium soit HCl à pH 2 sans métal

Une fois préparés, les échantillons sont plongés dans l'obscurité et sont agités 72 h avant leur analyse afin de garantir l'observation des réactions dont les cinétiques seraient les moins rapides.

3.4.4. Paramètres instrumentaux utilisés

Le pH des solutions analysées est compris entre 2 et 7, ces conditions chimiques favorisent la protonation et la détection des ions en mode positif. Ainsi, toutes les analyses sont réalisées en mode

positif. Les paramètres instrumentaux de la source d'ionisation ont été optimisés précédemment et sont reportés dans le Tableau 11 reporté page 115.

Le FT-MS Orbitrap XL hybrid FTMS utilisé est étalonné en masse sur toute la gamme de masse tous les trois jours avec la solution d'étalonnage commercialisée par Thermo Scientific™ (San Jose, CA, USA).

4. Détermination des molécules complexant les actinides

Cette partie du manuscrit présente les résultats obtenus par l'application de la méthodologie développée précédemment. Pour la première fois, quelques molécules issues de matière organique naturelle responsables de la complexation des actinides sont présentées. Dans un premier temps, ce chapitre présente les formes sous lesquelles les actinides sont identifiés lorsqu'ils ne sont pas complexés. Ensuite, ce chapitre présente toutes les molécules complexantes qu'elles soient caractérisées ou non.

4.1. Détection des actinides non complexés

Les échantillons analysés à pH 2 permettent l'observation des métaux essentiellement sous leurs formes « non complexées ». En effet, ils peuvent être observés sous forme de métal « nu » M^{n+} (où M est le métal et n la charge de celui-ci) ou sous forme de clusters.

L'euporium non complexé est observé aux masses de 151,92 da et de 153,92 da. Il est également observé sous la forme de clusters de $[Eu(OH)]^+$, $[Eu(Cl)]^+$ et $[Eu(OH)(Cl)]^+$. La formation de clusters d'euporium a déjà été référencée dans la littérature [184,185]. En effet, des analyses par ESI-MS ont conduit à l'observation de clusters formés à partir de nitrate et de méthanoate. Dans nos conditions, les nitrates ayant été supprimés du protocole expérimental, ce sont d'autres clusters qui sont observés. Ils sont également formés à partir d'espèces nucléophiles.

Le thorium est caractérisé par le potentiel ionique le plus élevé des trois métaux étudiés ici. Sa forme Th^{4+} commence à être hydrolysée à partir de pH 2. Ainsi, l'ion $[Th(OH)]^+$ est identifié. Cette observation est en accord avec une étude qui remarque le thorium majoritairement sous forme de $[Th(OH)]^+$ dans

des conditions de pH proche ($\text{pH} = 2,1$) [190]. Le thorium est également détecté sous forme de clusters reportés dans le Tableau 17. Ils sont formés à partir de méthanoate, d'hydroxyde et de chlorure. D'autres études proposent également la formation de clusters à partir d'autres ions nucléophiles tels que les nitrates [191,192].

Tableau 17 : Clusters formés à partir des métaux non complexés

Clusters de ^{153}Eu	m/z	Clusters de Th	m/z	Cluster de U	m/z
$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	169,92	$[\text{Th}(\text{CH}_3\text{OH})]^+$	264,06	$[\text{UO}_2(\text{OH})]^+$	287,04
$[\text{Eu}(\text{Cl})]^+$	187,89	$[\text{Th}(\text{CH}_3\text{O})(\text{OH})]^+$	280,06	$[\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{O})]^+$	301,06
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{Cl})]^+$	204,89	$[\text{Th}(\text{CH}_3\text{OH})(\text{H}_2\text{O})]^+$	282,07	$[\text{UO}_2(\text{Cl})]^+$	305,01
		$[\text{Th}(\text{OH})_2(\text{Cl})]^+$	301,01	$[\text{UO}_2(\text{OH})(\text{H}_2\text{O})]^+$	305,05
		$[\text{Th}(\text{CH}_3\text{O})(\text{OH})(\text{Cl})]^+$	315,02	$[\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{OH})(\text{HO})]^+$	319,07
				$[\text{UO}_2(\text{Cl})(\text{H}_2\text{O})]^+$	323,02

L'uranium est observé sous forme d' UO_2^+ et de plusieurs clusters reportés dans le Tableau 17. Toutes ces espèces ont déjà été observées dans des conditions chimiques similaires [193].

Les résultats présentés dans cette section montrent le comportement acide de Lewis des métaux analysés : ils forment des clusters avec des espèces nucléophiles lors de l'ionisation malgré l'optimisation des conditions chimiques d'analyse. L'impact de l'effet de matrice a été minimisé mais persiste. Il est d'ailleurs responsable de la non-identification de certaines molécules. Celles-ci seront présentées dans la section suivante.

4.2. Molécules non identifiées

La résolution de l'instrument est la principale raison de la non-identification de certaines molécules. La résolution expérimentale de l'instrument utilisé est définie mathématiquement par le rapport entre la masse d'un ion et la largeur à mi-hauteur du pic détecté. Elle a été calculée pour les 200 pics les plus intenses détectés lors de l'analyse de l'échantillon de SRFA. Les résolutions sont représentées graphiquement sur la Figure 39.

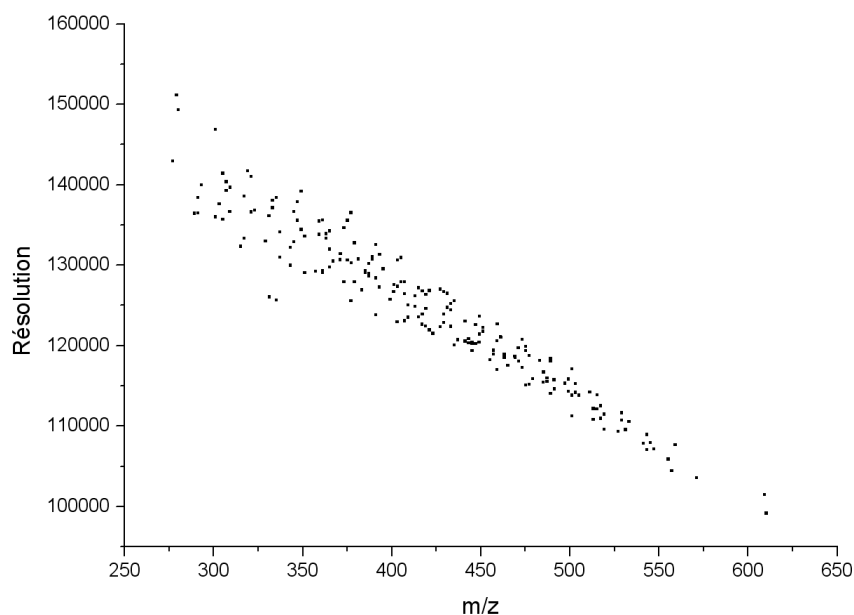


Figure 39 : Résolutions recalculées des 200 pics les plus intenses détectés pour l'analyse de SRFA par FT-MS en mode positif

A titre d'exemple, la résolution pour une masse de 400 da est proche de 125 000. Elle permet la détection d'un seul ion sur une gamme de masse de 3,2 ppm. Cette gamme augmente avec le rapport m/z. Ainsi à 600 da, cette gamme de masse est proche de 6 ppm ($R=100\,000$).

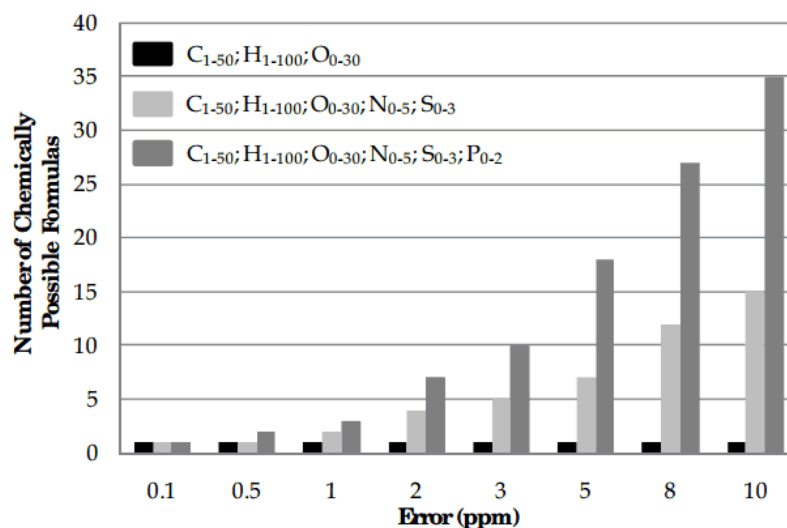


Figure 40 : Nombre de formules élémentaires possibles pour un rapport m/z de 499,2126 en fonction de l'erreur permise et du type de formule élémentaire, d'après R. L. Sleighter et P. G. Hatcher [194]

La précision de la mesure de la masse (liée à la résolution) est à l'origine du nombre de formules élémentaires qui peuvent être attribuées pour chaque ion détecté. En effet, plus cette gamme de masse est large plus le nombre de formules élémentaires pouvant être assignées pour une même masse est élevé (Figure 40). Ainsi, l'augmentation de l'erreur de mesure et du nombre de combinaisons possibles rend délicate l'identification des ions de masses les plus élevées. La Figure 41 représente un exemple de la détection d'un nouvel ion après l'ajout de thorium à une solution de NAHA à pH 2. La masse de cet ion (486,6573 da (avec $R = 115\,000$)) permet 50 combinaisons d'atomes de C,H,O,N,S,P et Th reportées en Annexe 3 sur une gamme de masse de 4,2 ppm. Dans ce cas, il est impossible de déterminer l'unique formule élémentaire de cet ion bien que certaines combinaisons telles que $\text{CH}_{18}\text{O}_9\text{N}_{10}\text{PTh}$ ou $\text{H}_{10}\text{ON}_4\text{PTh}_2$ ne soient pas envisageables. De plus, la fragmentation de cet ion n'a pas été possible à cause de sa faible intensité relative, ainsi ce pic n'a pas pu être identifié.

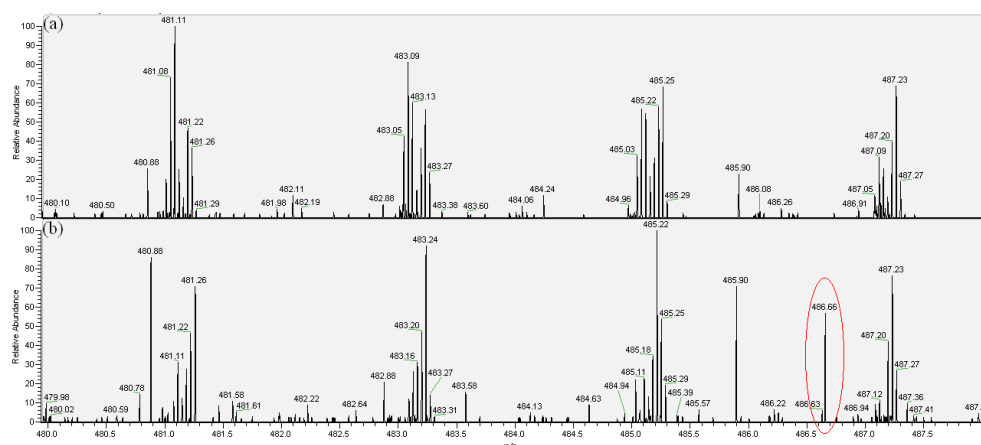


Figure 41 : Spectre de masse d'un échantillon de HANA à pH 2 avant (a) et après (b) ajout de thorium

La formation de clusters polychargés est également à l'origine de la non-identification de certains pics apparus après l'ajout de métaux dans les échantillons de substances humiques. En effet, la Figure 42 présente un exemple d'un ion dont la distribution isotopique est caractéristique d'un ion chargé trois fois positivement composé de sept atomes de chlore. L'hypothèse de l'existence de cet ion semble être vérifiée par un spectre de masse théorique d'un ion hypothétique de $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{Cl}_7\text{NaU}_5^{3+}$. La masse exacte de cet ion est donc de 1739,043 da.

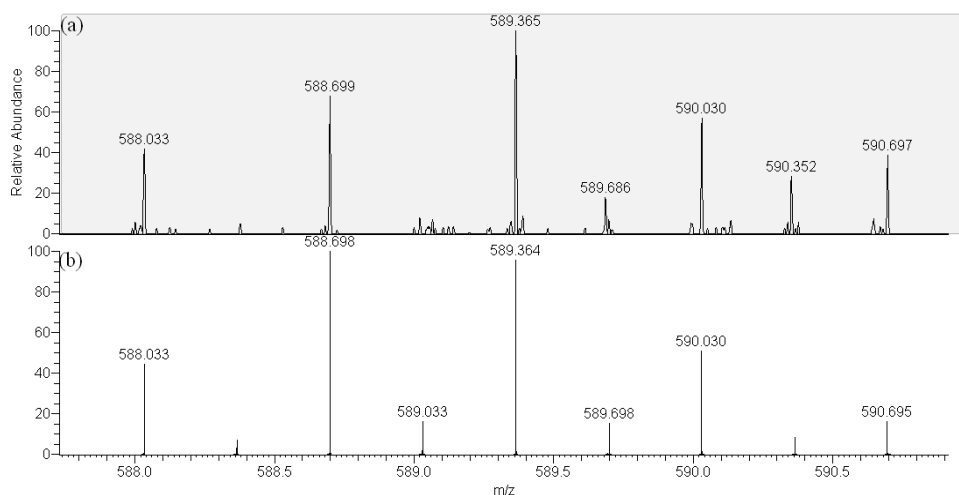


Figure 42 : Exemple de cluster détecté dans un échantillon de SRHA à pH7 contenant de l'uranium dont la distribution isotopique laisse supposer la présence de 7 atomes de chlore et d'une charge 3+ (a) et le spectre théorique d'une molécule hypothétique de formule $C_{15}H_{14}O_7Cl_7NaU_5^{3+}$ (b)

La masse de cet ion est trop élevée pour que la formule élémentaire de ce dernier soit assignée. Pour preuve, il existe plus de 400 molécules composées de C, H, O, N, S, P, U, Cl et Na dont la masse exacte est égale à celle de cet ion avec une erreur inférieure à 0,2 ppm.

Au final, plus de la moitié des pics apparus après l'ajout de métaux n'ont pu être identifiés. Ce sont, généralement, les molécules de masses molaires les plus élevées qui sont les moins identifiées. En effet, l'augmentation du nombre de propositions ainsi que la diminution de la résolution avec l'augmentation de rapport m/z rendent difficile l'identification des ions présentant un rapport m/z élevé.

4.3. Molécules assignées dont les structures sont non déterminées

La complexité des échantillons analysés rend souvent la fragmentation des ions responsables de la complexation des métaux impossible. En effet, ces ions présentent généralement une faible intensité. Cette intensité peut être faible pour deux raisons : une faible concentration ou une énergie interne du complexe élevée. Ainsi, la fenêtre de masse permettant de sélectionner l'ion à fragmenter autorise rarement de sélectionner et de faire fragmenter l'ion d'intérêt.

L'échantillon de NAHA à pH 4,5 dopé en thorium présente un ion dont la formule élémentaire a été déterminée mais dont la structure reste irrésolue. L'ion apparu après un ajout de thorium est caractérisé

par une masse 429,0884 da. La formule élémentaire $[\text{Th}(\text{C}_{12}\text{H}_7\text{O}_2\text{N})]^+$ est la seule formule crédible pouvant être attribuée à cette masse.

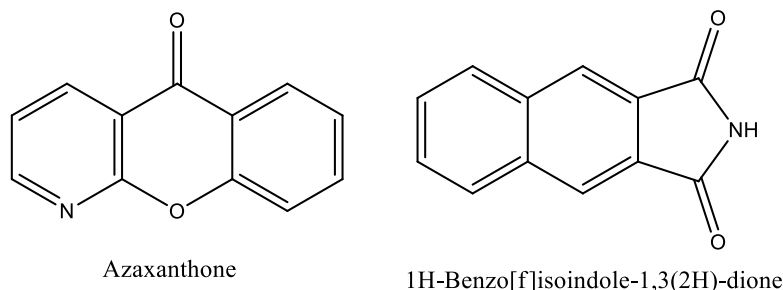


Figure 43 : Structures référencées dans la littérature dont la formule élémentaire est $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$

Une recherche bibliographique des molécules $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$ et $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{O}_2\text{N}$ montre que la forme « déprotonée » $\text{C}_{12}\text{H}_6\text{O}_2\text{N}$ n'est pas référencée dans la littérature. En revanche la formule $\text{C}_{12}\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$ est largement référencée, notamment sous forme d'azaxanthone (Figure 43). Cette molécule est utilisée comme chromophore en milieu biologique [195,196]. Elle participe à la complexation de certains lanthanides tels que l'euprimum via le doublet non liant de l'azote [195-197]. La 1H-Benzo[f]isoindole-1,3(2H)-dione (Figure 43) présente également la même formule élémentaire mais n'est référencée que dans des articles de chimie purement organique.

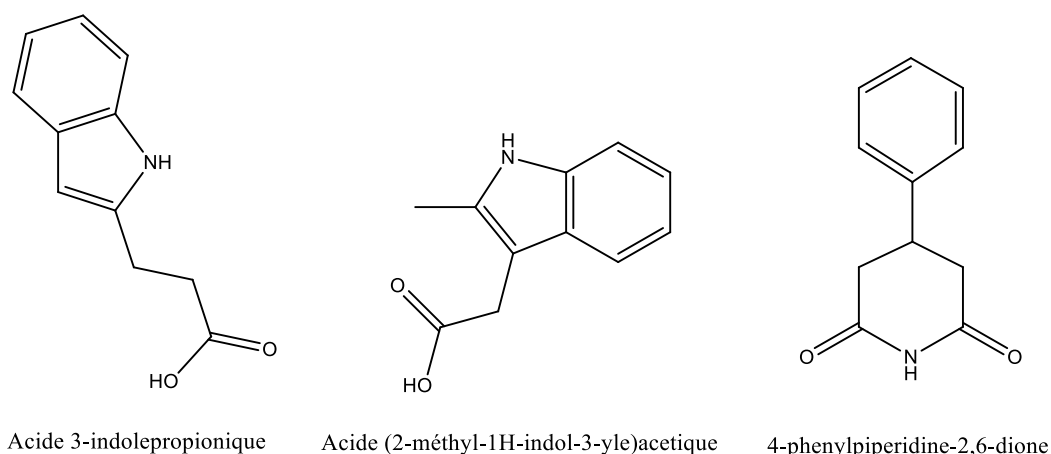


Figure 44 : Structures référencées dans la littérature dont la formule élémentaire est $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$

L'échantillon de SRFA dopé à l'euporium à pH 4,5 présente une molécule dont la formule élémentaire a été assignée mais dont la structure n'a pas été identifiée. Il s'agit de l'ion détecté aux masses 341,0092 et 343,0068 da (isotopie de l'euporium). Cet ion, une fois déprotoné, a pour formule élémentaire : $C_{11}H_{11}NO_2Eu$. L'une des structures possibles de cette molécule est l'acide 3-indolepropionique. Cette molécule est synthétisée par une bactérie se développant en milieu naturel anaérobie [198]. La littérature ne semble pas présenter de propriétés chélatantes vis-à-vis des métaux de cette molécule. Elle est particulièrement étudiée dans le cadre de la recherche contre la maladie d'Alzheimer. En effet, cette molécule permettrait d'inhiber l'agrégation de protéine β -amyloid qui contribue à la dégénérescence du système nerveux [199,200]. L'acide (2-méthyl-1H-indol-3-yle)acétique satisfait également la formule élémentaire précédente. Cette molécule est essentiellement utilisée comme précurseur pour la fabrication de produits pharmaceutiques tels que certains anti-inflammatoires [201,202]. Pour finir, la 4-phénylpipéridine-2,6-dione est également référencée dans la littérature et répond à la formule élémentaire souhaitée. Cette molécule ne semble pas présenter de pouvoir chélatant particulier vis-à-vis des métaux et est principalement reportée dans la littérature pour sa synthèse [203,204].

Cette partie de l'étude permet de proposer quelques isomères pour deux ions responsables de la complexation du thorium et de l'euporium. La difficulté de fragmenter ces ions ne permet pas de préjuger de l'isomère le plus probable. En revanche, les résultats peuvent être comparés aux références bibliographiques qui mettent en évidence le pouvoir chélatant de l'azaxanthone vis-à-vis des actinides afin de renforcer l'hypothèse de l'existence de cette molécule complexante dans l'échantillon de NAHA.

4.4. Molécules assignées dont les structures sont déterminées

La molécule complexante identifiée ayant la plus faible masse est l'acide méthacrylique (Figure 45). Celle-ci complexe l'uranium à pH 2 et a été observée sous forme de méthacrylate dans les échantillons de SRFA et SRHA. Les propriétés de chélation bidentate de cet acide vis-à-vis du thorium et de l'uranium sont connues et étudiées pour la confection de super-absorbants de ces éléments [205-207]. Cependant, la propension de cet acide à polymériser dans des conditions proches de nos d'analyses laisse suggérer que celui-ci pourrait être un fragment d'une molécule [208].

De façon similaire, l'acide valérique (Figure 45) est également responsable de la complexation de l'uranium à pH 4,5 dans l'échantillon de SRFA. Cette molécule est naturellement présente dans l'environnement : elle a été extraite à partir de rhizomes de valériane. Les propriétés chélatrices de cette molécule ne sont pas référencées dans la littérature. Il se peut que cet acide soit également un fragment d'une molécule de masse supérieure.

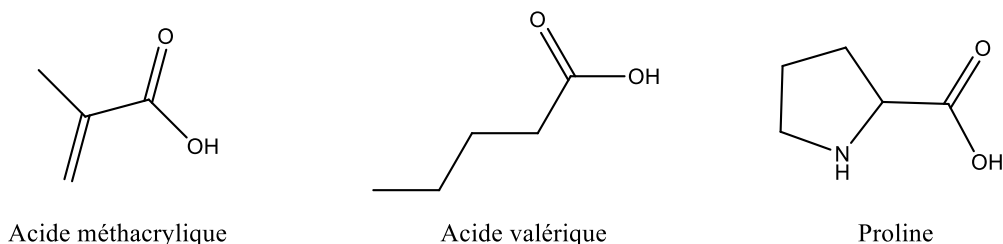


Figure 45 : Molécules dont les propriétés de chélation des actinides sont vérifiées dans cette étude

Dans l'échantillon NAFA à pH 2, la proline (Figure 45) complexe l'uranium. L'amine située en β de la fonction acide lui confère un pK_a suffisamment faible (1,9) pour lui permettre la complexation à un pH très acide. Cette molécule est omniprésente dans le milieu vivant animal et végétal : c'est l'un des vingt acides aminés du code génétique [209-212]. Elle présente donc un intérêt tout particulier et a été étudiée dans le cadre de la complexation de l'uranyle et du thorium en milieu biologique [213,214].

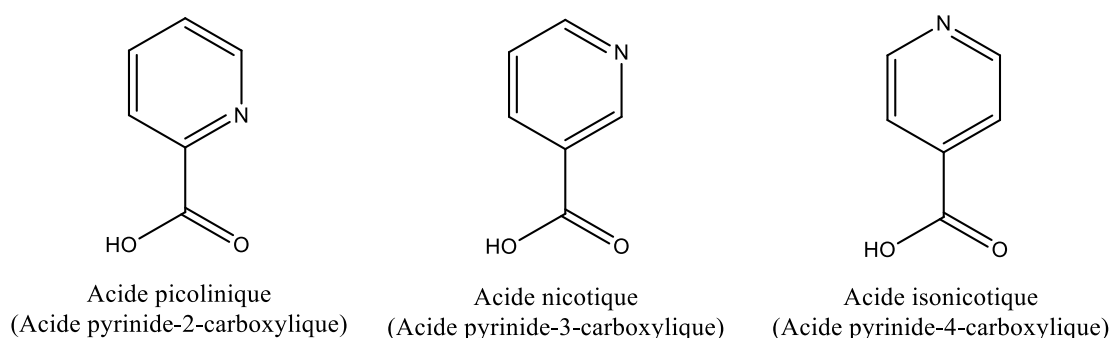


Figure 46 : Trois acides pyridines carboxyliques dont un est responsable de la complexation du thorium et de l'uranium

Tewari B. propose deux valeurs de constantes de complexation entre l'uranyle et la proline : $\log \beta_{11} = 7,80 \pm 0,11$ pour la formation du complexe 1:1 et $\log \beta_{12} = 14,05 \pm 0,16$ pour la formation du complexe 1:2 [213].

Un acide pyridine carboxylique est également responsable de la complexation du thorium et de l'uranium dans les échantillons de SRHA, NAFA et NAHA à pH 2. Cet acide a été détecté sous forme de complexe et sous forme de cluster chloré. La position de la fonction carboxylique par rapport à l'azote n'a pas pu être déterminée. Les structures de cette molécule sont présentées Figure 46. Ces molécules sont d'origine naturelle et sont produites en milieu biotique. Aucune étude ne semble traiter de la complexation des actinides par ces molécules. Cependant, une étude donne des constantes de complexation des systèmes acides pyridines carboxyliques / Eu [215]. Les résultats de cette étude sont présentés dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Valeurs des constantes de complexation entre différents acides pyridinecarboxyliques et l'euporium déterminées par SLRT, d'après [215]

	Log $K_{(ML)}$ à I = 1,0 M NaClO ₄ et 298 K		
	Acide picolinique	Acide nicotinique	Acide isonicotinique
$\text{Eu}^{3+} + \text{L}^- \leftrightarrow \text{EuL}^{2-}$	$4,38 \pm 0,10$	$1,93 \pm 0,04$	$2,28 \pm 0,12$

L'auteur de cette étude propose une chélation bidendate du métal à la fois par l'atome d'azote et un atome d'oxygène pour l'acide picolinique. Cette hypothèse justifierait la valeur élevée de la constante de complexation comparée aux deux autres qui serait induite par une chélation par le groupement carboxylique uniquement.

Un imide est responsable de la complexation du thorium dans l'échantillon de NAHA à pH 2. La seule structure possible répertoriée dans la littérature répondant à l'assignement de cette molécule est la 1,8-naphtalimide. La complexation des actinides par cette molécule ne semble pas avoir encore été étudiée. Cependant, cette molécule a déjà été étudiée pour sa capacité à complexer les métaux selon quatre modes de coordination différents représentés sur la Figure 47 [216]. Elle est en général, fonctionnalisée pour être utilisée comme marqueur de métaux tels que le cuivre, le zinc, le mercure et les lanthanides (III) par fluorescence [217-221].

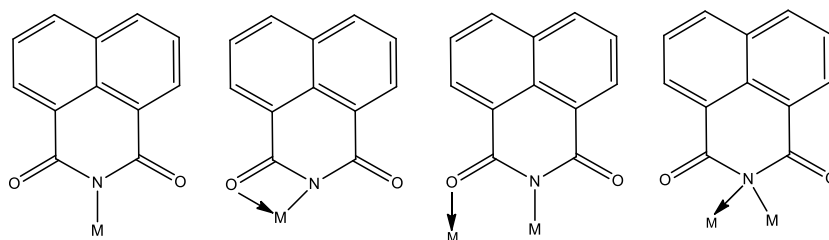


Figure 47 : Différents modes de coordination de la 1,8-naphthalimide, d'après [216]

Un ion dont la masse exacte vaut 437,2358 da, est apparu après l'ajout de thorium dans l'échantillon de NAHA à pH 4,5. La formule élémentaire $\text{ThC}_{10}\text{H}_7\text{NO}_4$ correspond à la masse de cet ion avec une erreur inférieure à 4 ppm. La structure la plus probable de cette molécule correspond à l'acide xanthurénique (Figure 48). Celle-ci est d'origine naturelle et est déjà référencée dans la littérature pour ces capacités de chélation vis-à-vis des métaux [222]. En effet, un complexe mixte formé à partir de cuivre, d'acide xanthurénique et de nicotinamide a été étudié. De plus, le nicotinamide est un produit de dérivation, *in vivo*, de l'acide nicotique (molécule mise en évidence précédemment dans ce même échantillon de NAFA). Une étude structurale de l'acide xanthurique propose une chélation des métaux de transition tridentate via un atome d'oxygène du carbonyle, de l'azote et de l'oxygène du phénol [222,223]. Cependant, la littérature ne semble pas référencer d'étude concernant la complexation des actinides ou des lanthanides par cet acide.

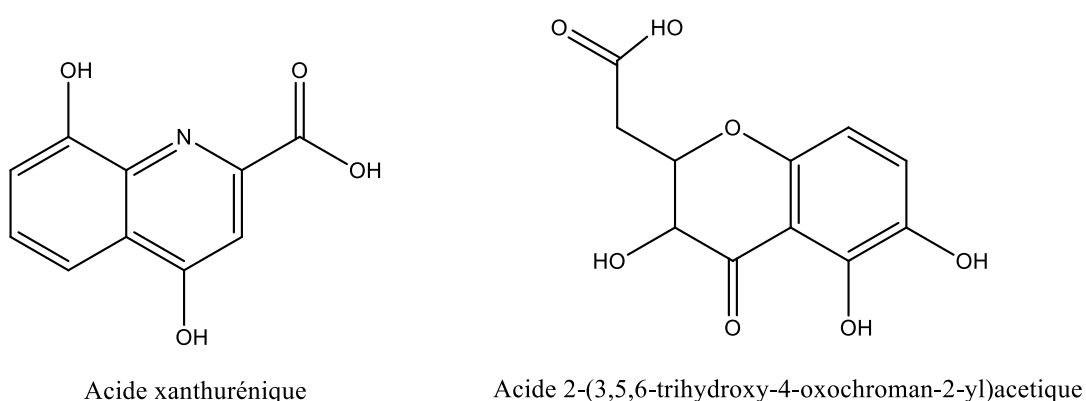


Figure 48 : Molécules dont les propriétés de chélation des actinides sont vérifiées dans cette étude

La dernière molécule complexante identifiée est l'acide 2-(3,5,6-trihydroxy-4-oxochroman-2-yl)acétique (Figure 48). Cet acide a été observé dans un échantillon de NAFA dopé en uranium à un pH de 7. Le spectre de fragmentation a permis d'identifier la structure de ce flavonoïde. En effet, celui-ci laisse apparaître une perte de 18 da correspondant au départ d'une fonction alcool et une retro-expulsion de Diels Alder d'éthylène imputable à la présence de deux atomes de carbone non fonctionnalisés côte à côte sur un même cycle aromatique. Le caractère complexant de cette molécule vis-à-vis des métaux ne semble pas avoir été étudié bien que les polyphénols soient connus pour leurs propriétés chélatantes. En effet, certains flavonoïdes sont étudiés pour l'adsorption d'uranyle ou l'extraction du cuivre dans les eaux potables [224,225]. D'autres équipes travaillent sur le développement de gel absorbant à base de polyphénols naturels issus de déchets de biomasse pour la décontamination en thorium, uranium et terres rares [226].

Cette partie du manuscrit permet, pour la première fois, de proposer certaines molécules responsables de la complexation des actinides dans un échantillon de substances humiques, l'exploitation de ces résultats est faite dans le chapitre suivant.

5. Paramètres influençant la complexation des actinides par la matière organique

Les résultats acquis précédemment permettent d'affiner la compréhension des interactions à l'échelle microscopique entre les substances humiques et les radionucléides. Ils permettent également de répondre aux questions soulevées par les résultats obtenus lors de la caractérisation de la matière organique. Cette partie décrit les différents paramètres qui sont responsables et qui influencent la complexation des actinides par la matière organique naturelle.

5.1. Molécules et groupements fonctionnels complexants

Les résultats obtenus confortent les hypothèses présentées dans la littérature concernant la complexation des métaux par la matière organique par des sites carboxyliques. En effet, les plus petites molécules réactives déterminées dans cette étude portent un groupement fonctionnel carboxylique. En revanche,

les résultats obtenus ne permettent pas de vérifier la complexation des métaux via des sites monophénoliques largement proposés dans la littérature.

Les molécules de tailles plus importantes, permettent de mettre en évidence des sites réactionnels non référencés dans la littérature dans le cadre de ce type d'étude. En effet, le groupement imide du 1,8-naphtalimide semble complexer le thorium (IV). L'acide xanthurénique permet de proposer une complexation du thorium par un groupement aminoacide. Ces groupements sont étudiés pour leur pouvoir chélatant, notamment dans le cadre de la décontamination.

5.2. Influence du pH sur la complexation des actinides

Dans un premier temps, une modification de l'allure des spectres de masse a été observée en fonction du pH des échantillons analysés (Figure 49). La dégradation des substances humiques ne semble pas être responsable de cette observation. En effet, l'augmentation du pH devrait stabiliser les substances humiques par une augmentation des répulsions électrostatiques inter et intra-molécules. La dégradation du signal avec l'augmentation du pH pourrait être imputable à la diminution de la disponibilité des protons majoritairement responsables de formation d'ions en ESI.

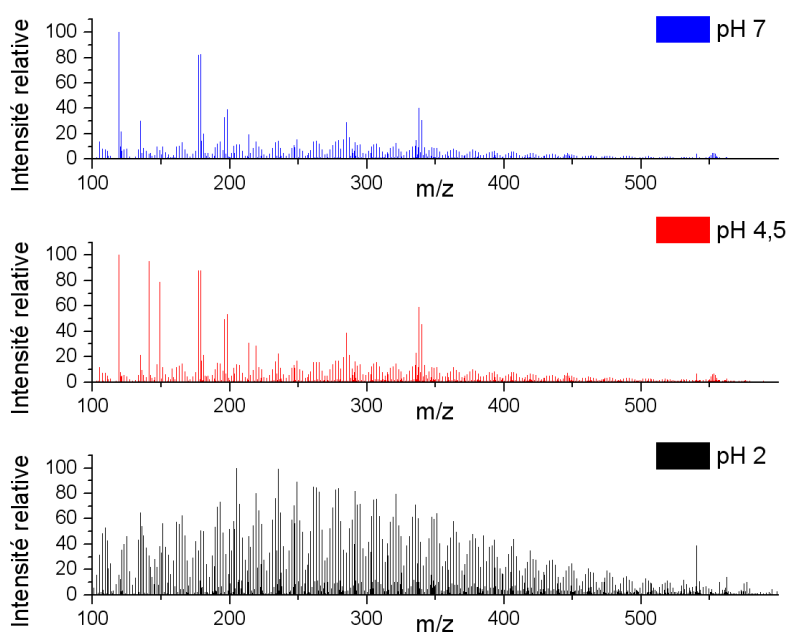


Figure 49 : Influence du pH sur l'apparence des spectres de masse acquis en mode positif d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L par FT-MS

Outre l'évolution des spectres de masse causée par une dégradation de la qualité de l'ionisation avec l'augmentation du pH, la détection de certaines espèces est également modifiée par ce paramètre. En effet, la Figure 50 montre une portion de spectre de masse sur laquelle l'uranyle est détecté pour un pH de 2. Cette figure montre également la non-détection de cet ion pour des pH supérieurs bien que le diagramme de spéciation de l'uranium dans l'eau donne plus de 50 % d'uranyle libre à pH 4,5. La disparition du thorium hydrolysé $[\text{Th}(\text{OH})]^+$ et les clusters formés à partir de l'euprium tels que $[\text{Eu}(\text{Cl})]^+$ est également observée avec l'augmentation du pH.

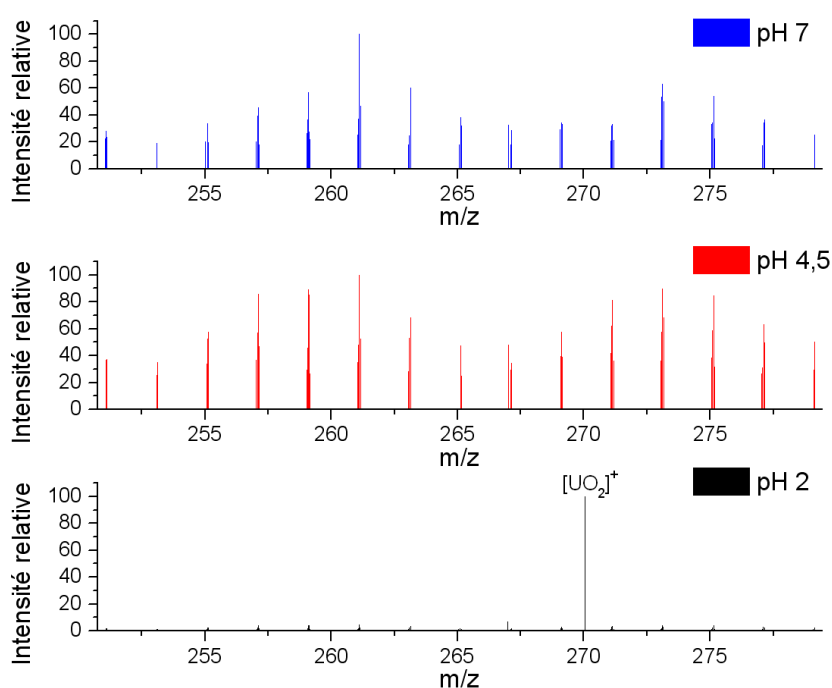


Figure 50 : Influence du pH sur la détection de l'uranyle "libre" dans un échantillon de FANA analysé par FT-MS en mode positif

Cette observation est en accord avec les constantes de déprotonation des groupements fonctionnels responsables de la complexation des métaux déterminés dans cette étude. En effet, les pKa des groupements carboxyliques sont proches de 4,5 alors que les pKa des aminoacides sont proches de 2. Ceux des autres molécules déterminées sont proches de 5. Ainsi, pour des pH supérieurs à 2, les groupements fonctionnels se déprotonent et les sites réactionnels deviennent disponibles.

L'effet d'accessibilité des sites réactionnels s'ajoutent à leur disponibilité. En effet, avec l'augmentation du pH, la déprotonation des molécules formant l'échantillon permet d'augmenter les répulsions électrostatiques inter et intra-molécules permettant d'ouvrir les structures des molécules les plus complexes. Les molécules dans leur configuration « ouverte » permettent d'offrir potentiellement plus de sites réactifs.

5.3. Influence de l'origine et de la nature des substances humiques

Il a été montré dans la deuxième partie de ce manuscrit la très forte influence de l'origine d'un échantillon de matière organique sur sa composition. Il a également été montré que l'influence de la nature de la matière organique, humique ou fulvique, semble être un facteur moins déterminant que l'origine sur la composition des échantillons.

Dans ce chapitre, le faible nombre de molécules complexantes déterminées ne permet pas de conclure de façon statistique sur l'influence de l'origine et de la nature de la matière organique sur la complexation des métaux. En effet, pour chaque échantillon dopé, une quinzaine de molécules portent un atome métallique. Parmi ces molécules, approximativement la moitié des molécules n'ont pu être identifiées, un tiers résulte de la formation de clusters et la dernière portion des molécules est présentée plus haut.

Certaines molécules complexantes ont été identifiées dans plusieurs échantillons, c'est le cas de l'acide méthacrylique complexant le thorium et l'uranium qui est identifié dans les échantillons NAFA, NAHA, SRHA. L'acide nicotinique, ou un de ces isomères, complexe également l'uranium et le thorium dans les deux échantillons (humiques et fulviques) de Nordic Aquatic.

6. Conclusion du chapitre

Dans un premier temps, ce chapitre décrit la pertinence du couplage ESI-FT-MS. En effet, les résultats de caractérisation de la matière organique avec le FT-MS montrent qu'il est un outil adapté à ce type d'étude bien qu'il n'atteigne pas les niveaux de performance d'un FTICRS-MS. Ensuite, la comparaison

des résultats obtenus avec différentes sources d'ionisation montre que la source ESI offre les meilleures performances notamment pour l'ionisation des molécules les plus polaires (les plus réactives vis-à-vis des métaux).

Ensuite, ce chapitre décrit le développement d'une méthode permettant de déterminer les molécules responsables de la complexation des actinides dans un échantillon de matière organique. Cette méthode repose sur deux axes : l'identification de complexes dans un premier temps et la caractérisation des molécules dans un second temps. La méthode développée est validée par l'utilisation d'un marqueur isotopique naturel : l'euporium.

Dans ce chapitre, la méthode développée est appliquée à l'analyse de quatre échantillons de substances humiques naturelles dopés en trois métaux : l'euporium, le thorium et l'uranium. Cette partie décrit la formation de clusters à partir des métaux introduits. Les résultats montrent le comportement acide de Lewis des métaux analysés : ils forment des clusters avec des espèces nucléophiles lors de l'ionisation malgré l'optimisation des conditions chimiques d'analyses. L'impact de l'effet de matrice persiste malgré l'optimisation des conditions opératoires. L'effet de matrice est responsable de la non-identification de certaines molécules. L'augmentation du nombre de propositions ainsi que la diminution de la résolution avec l'augmentation du rapport m/z rendent également difficile l'identification des ions présentant un rapport m/z élevé.

Cette partie de l'étude propose également quelques isomères responsables de la complexation du thorium et de l'euporium. Les formules élémentaires de ces molécules ont été déterminées mais leur fragmentation étant impossible, la structure de ces molécules n'a pas pu être déterminée.

Cette partie du manuscrit présente, pour la première fois, certaines molécules responsables de la complexation des actinides par un échantillon de substances humiques et prouve l'existence d'un site de complexation particulièrement fort qui n'est pas encore mentionné dans la littérature : les acides aminocarboxyliques.

Pour conclure, ce chapitre donne de nouvelles informations sur la complexation des actinides par la matière organique naturelle. Cette vision valide l'approche continue appliquée dans certains modèles macroscopiques utilisés actuellement pour la prédiction des interactions entre les métaux et la matière organique. En effet, dans chaque échantillon, plus d'une dizaine de molécules différentes sont responsables de la complexation des métaux.

Cependant, la complexité des spectres de masse est responsable d'une exploitation incomplète des résultats. En effet, l'intensité particulièrement élevée de certains pics masque les ions présentant les intensités les plus faibles. Ainsi, il est fortement probable que de nombreuses molécules responsables de la complexation des actinides ne soient pas détectées.

Pour les raisons mentionnées plus haut et afin d'obtenir une information plus fine, il est indispensable de simplifier les spectres de masse. Le chapitre suivant est consacré à la séparation des substances humiques par électrophorèse capillaire dans le but de simplifier les spectres de masse. Cette technique, non intrusive, ne modifie pas la spéciation des espèces analysées et permet de garantir l'intégrité de l'analyte.

CHAPITRE IV :

LA SEPARATION ELECTROPHORETIQUE POUR LA SIMPLIFICATION DES ETUDES A L'ECHELLE MOLECULAIRE DE LA MATIERE ORGANIQUE

Sommaire

1. Stratégie analytique	145
2. La séparation électrophorétique : principes et instrumentation	146
2.1. Principe.....	147
2.2. Principe de migration des ions.....	147
2.3. Vitesse et mobilité électrophorétique	150
2.4. Méthodologie.....	151
3.4. Corrections en température.....	153
3. Développement d'une méthode de séparation de la matière organique	155
3.1. Conditions opératoires.....	155
3.2. Résolution des problèmes de sorption et de détection.....	156
3.3. Choix de l'électrolyte de séparation	158
3.4. Influence de la température de séparation	159
3.5. Choix de la tension de séparation :	161
3.6. Conclusion.....	162
4. Développement d'un couplage EC-FT-MS.....	163
4.1. Caractéristiques de l'interface	163
4.2. Interphase et paramètres instrumentaux	165
4.3. Résultats et interprétations.....	166
4.4. Conclusion.....	167
5. Conclusion du chapitre.....	168

1. Stratégie analytique

La troisième partie de ce manuscrit décrit le développement d'une méthode permettant de mettre en évidence et de caractériser les molécules responsables de la complexation des métaux, et notamment des actinides, dans un échantillon de matière organique naturelle. Cette méthode permet de valider certains modèles de migration hydrogéochimiques utilisés actuellement. Elle propose également un nouveau site

réactif porté par la matière organique particulièrement affin des actinides. Cette information constitue une donnée fondamentale pour ces thématiques de recherche. Néanmoins, la complexité des échantillons analysés est un frein aux potentielles informations accessibles. En effet, le nombre d'ions d'intensité particulièrement élevée est responsable de l'impossibilité de fragmenter la plupart des molécules responsables de la complexation des métaux. De plus, ces ions masquent potentiellement la présence d'autres complexes d'intensités plus faibles.

La séparation électrophorétique revêt un intérêt tout particulier pour la simplification des spectres de masse. En effet, cette méthode est l'une des rares techniques chromatographiques non intrusives. Elle permet la séparation d'espèces chargées en solution avec une résolution particulièrement élevée sans modifier la spéciation des analytes. Cette méthode est décrite dans la deuxième partie de ce chapitre.

Le développement de la séparation électrophorétique des substances humiques permet d'obtenir des résultats satisfaisants avec un temps de récolte des fractions supérieur à 20 minutes. Le développement de la méthode de séparation est présenté dans la troisième partie de ce chapitre.

La séparation électrophorétique de la matière organique peut être mise à profit selon deux voies. D'un côté, la collecte de plusieurs fractions de substances humiques simplifierait l'étude de la complexation des actinides par une diminution du nombre de molécules analysées par fraction. On parle alors de couplage offline. D'autre part, la séparation électrophorétique peut permettre une séparation et une analyse en direct par spectrométrie de masse grâce à une interface permettant le couplage « online » de ces deux instruments. La quatrième partie de ce chapitre décrit le développement et la validation de cette interface.

2. La séparation électrophorétique : principes et instrumentation

Cette partie du manuscrit décrit l'instrumentation utilisée pour la séparation des substances humiques. Dans un premier temps, le principe de fonctionnement, ainsi que les phénomènes responsables de la migration des espèces en électrophorèse y sont présentés. Dans un second temps, les différents paramètres à l'origine de la séparation et de son optimisation y sont également décrits.

2.1. Principe

L'électrophorèse capillaire (notée EC) est une technique de séparation d'espèces chargées en solution sous l'influence d'un champ électrique. Chaque ion migre à une vitesse qui lui est propre, en fonction de son rapport charge sur taille. Le support de la séparation est un capillaire dont les extrémités sont plongées dans des réservoirs d'électrolytes reliés entre eux par un générateur haute tension (Figure 51). La détection des espèces est assurée, en fin de capillaire, par un détecteur photométrique qui permet, grâce à l'utilisation d'un chromophore, de visualiser le passage des espèces sous forme de pics d'absorption ou d'émission.

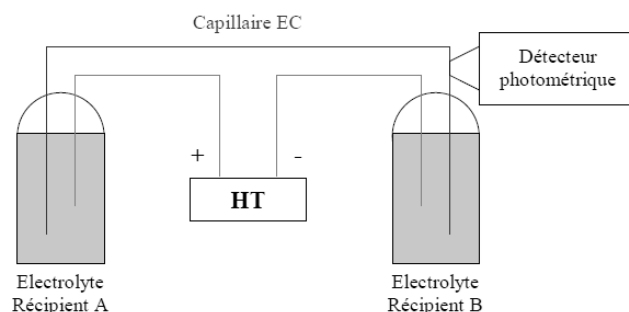


Figure 51 : Schéma de principe d'une électrophorèse capillaire, d'après A. Delorme [227]

Les potentiels appliqués entre les bornes du capillaire sont de l'ordre de 5 à 30 kV. Ils génèrent des courants de quelques dizaines à une centaine de micro-ampères. L'intensité du courant électrique est fonction, à potentiel constant, de la conductivité de l'électrolyte. Dans la plupart des cas, le capillaire est en silice fondue. Son diamètre interne est de quelques dizaines de micromètres et sa longueur de quelques dizaines de centimètres.

2.2. Principe de migration des ions

Chaque espèce possède sa propre vitesse de migration (v_M). Par définition, cette vitesse est le rapport de la distance (l) entre le point d'injection et le point de détection et le temps de migration observé (t_M) (29).

$$v_M = \frac{l}{t_M} \text{ (cm.s}^{-1}\text{)} \quad (29)$$

Cette vitesse de migration des espèces résulte à la fois d'une vitesse d'entraînement globale du solvant dans le capillaire appelée vitesse électroosmotique (v_{eo}) et d'une vitesse de migration propre à chaque espèce ionique appelée vitesse électrophorétique (v_{ep}) (30).

$$\vec{v}_m = \vec{v}_{eo} + \vec{v}_{ep} \text{ (cm.s}^{-1}\text{)} \quad (30)$$

Le vecteur vitesse électrophorétique est dirigé selon la charge de l'ion vers la borne électrique de signe opposé (Figure 52).

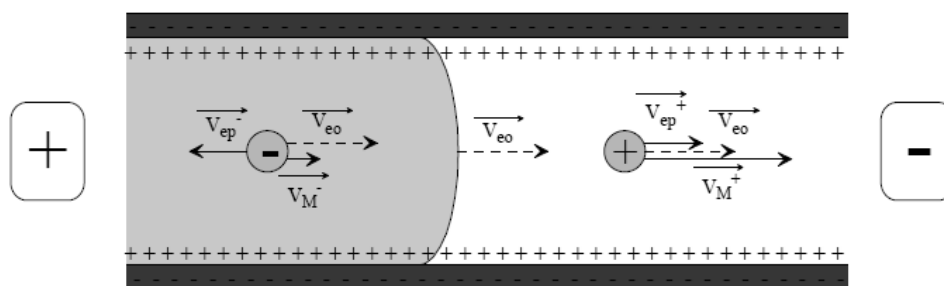


Figure 52 : Représentation du déplacement des ions (l'exposant +/- représente le cation ou l'anion) [227]

Dans des conditions pas trop acides, la vitesse électroosmotique est généralement supérieure à la vitesse électrophorétique [228]. Les cations et les anions migrent alors dans le même sens (Figure 52). Ainsi, il est possible de détecter, dans les mêmes conditions d'analyse, les cations et les anions, les espèces neutres étant détectées sous la forme d'un pic unique à un instant intermédiaire.

2.2.1. Vitesse et migration électroosmotique

Le déplacement électroosmotique est un phénomène de transport des molécules de solvant résultant de l'existence d'une double couche électrique à l'interface solide-solution représentée sur la Figure 53 [228].

Lors de l'application d'un champ électrique ($\vec{E}$) parallèle à cette interface, les charges électriques excédentaires du côté liquide se mettent en mouvement et entraînent les molécules de solvant. Il en

résulte la création d'un écoulement de vitesse linéaire ($\vec{v}_{eo}$) proportionnel à ($\vec{E}$), exprimé suivant la loi de Helmholtz-Smoluchowski [228].

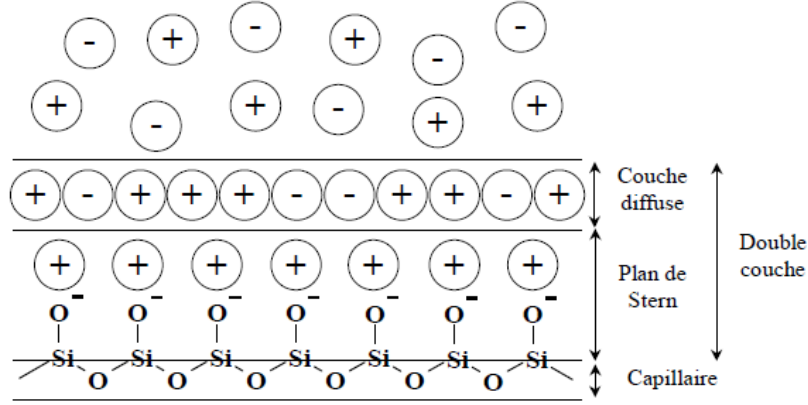


Figure 53 : Représentation de la double couche électrique créée à la surface d'un capillaire pour des pH supérieurs à 4 [227]

La loi de Helmholtz-Smoluchowski est développée dans l'équation (31) où $\epsilon_r \epsilon_o$ est la constante diélectrique du milieu (en $C^2.J.m^{-1}$), η est la viscosité dynamique du solvant (en Pa.s), ζ est le potentiel zêta (en V) et E le champ électrique (en $V.cm^{-1}$) :

$$\vec{v}_{eo} = -\frac{\epsilon_r \epsilon_o \zeta}{\eta} \vec{E} \quad (cm.s^{-1}) \quad (31)$$

Le potentiel zêta est relié à la densité de charge surfacique (σ) et à l'épaisseur de la double couche électrique (δ) (longueur de Debye) par la relation (32) [228].

$$\zeta = \frac{\delta \sigma}{\epsilon_r \epsilon_o} \quad (V) \quad (32)$$

L'expression (33), où μ_{eo} définit la mobilité électroosmotique (en $cm^2.V^{-1}.s^{-1}$), est déduite des deux précédentes ((31) et (32)).

$$\vec{v}_{eo} = -\frac{\delta \sigma}{\eta} \vec{E} = \mu_{eo} \vec{E} \quad (cm.s^{-1}) \quad (33)$$

L'écoulement électroosmotique (μ_{eo}) est proportionnel à la densité de charge surfacique. Il s'écoule dans le sens du champ ($\vec{E}$) lorsque le capillaire est porteur de charges négatives ($\sigma < 0$) et dans le sens opposé

lorsque (σ) est positif. La vitesse électroosmotique (v_{eo}) peut être calculée grâce au temps de migration (t_{eo}) que met un traceur moléculaire neutre (acétone, méthanol, éthanol, eau...) pour parcourir une longueur (l) de capillaire selon l'équation (34).

$$v_{eo} = \frac{l}{t_{eo}} \text{ (cm.s}^{-1}\text{)} \quad (34)$$

2.3. Vitesse et mobilité électrophorétique

Toute espèce chargée ($\vec{i}$) en solution soumise à un champ électrique ($\vec{E}$) se déplace avec une vitesse linéaire ($\vec{v}_{ep}$) (vitesse électrophorétique) selon l'équation (35) dans laquelle μ_{ep} est la mobilité électrophorétique (en $\text{cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$).

$$\vec{v}_{ep} = \mu_{ep} \vec{E} \text{ (cm.s}^{-1}\text{)} \quad (35)$$

Ce type de transport est appelé électromigration et s'effectue dans le sens du vecteur ($\vec{E}$) pour les cations et dans le sens inverse pour les anions (Figure 52). La mobilité électrophorétique (μ_{ep}) d'une espèce dépend principalement de la charge et de la taille de l'espèce mais aussi du pH, de la présence d'agents complexants, de la force ionique et de la nature du solvant. Enfin, elle augmente avec la température d'environ 2 % par degré [229]. D'après les équations précédentes, le temps de migration d'une espèce peut être exprimé selon l'équation (36).

$$t_M = \frac{l}{(\mu_{eo} + \mu_{ep})E} \text{ (s)} \quad (36)$$

Pour une séparation effectuée avec un capillaire de longueur (L) à une tension (V), l'équation (36) devient la suivante (37).

$$t_M = \frac{l.L}{(\mu_{eo} + \mu_{ep})V} \text{ (s)} \quad (37)$$

Dans le cas d'une espèce neutre, le temps de migration se ramène au simple transport par électroosmose (38).

$$t_{eo} = \frac{l.L}{\mu_{eo}V} \text{ (s)} \quad (38)$$

Les équations (37) et (38) permettent ainsi d'obtenir expérimentalement les mobilités électrophorétiques des espèces (39).

$$\mu_{ep} = \frac{l.L}{V} \left[\frac{1}{t_M} - \frac{1}{t_{eo}} \right] (\text{cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}) \quad (39)$$

Lorsque l'espèce (i) existe en solution sous diverses formes ioniques (j) en équilibre (cinétique rapide), la mobilité électrophorétique globale se déduit des mobilités électrophorétiques de chaque espèce (j) et du coefficient de dissociation (α) de l'espèce (i) sous la forme (j) selon l'équation (40) [230].

$$\mu_i = \sum_j (\alpha_j \mu_j) (\text{cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}) \quad (40)$$

Les mobilités électrophorétiques peuvent être calculées de façon théorique à partir des mobilités électrophorétiques absolues à dilution infinie (μ_{ep}^0) de chaque espèce et des relations de Debye-Hückel [227]. Les mobilités électrophorétiques absolues à dilution infinie à 25 °C de nombreux ions sont référencées dans la littérature. Elles peuvent être calculées à partir des conductivités ioniques équivalentes à dilution infinie à 25 °C (λ^0) selon l'équation (41).

$$\mu^0 = \frac{\lambda^0}{F} (\text{cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}) \quad (41)$$

2.4. Méthodologie

2.4.1. Composition des électrolytes

La composition chimique des électrolytes utilisés est un paramètre prépondérant car elle a un impact direct sur la séparation des éléments constitutifs de l'échantillon. Par exemple, l'utilisation d'une solution tampon dont le pKa est proche du pH de l'électrolyte est absolument indispensable afin de stabiliser le courant électrique. En effet, du fait de l'application d'un champ électrique et de la migration excessivement rapide des protons qui en résulte, un gradient de pH apparaît le long du capillaire lors des séparations. Ce gradient crée une hétérogénéité du champ électrique entraînant une forte instabilité du courant qui conduit principalement à une mauvaise répétabilité des résultats.

Certains électrolytes sont utilisés pour leur capacité à réagir avec les analytes. Ainsi, l'acide borique est parfois utilisé pour l'analyse de la matière organique. En effet, il permet de rompre les liaisons faibles

qui lient les substances humiques en réagissant avec les groupements fonctionnels alcools, phénols et acides carboxyliques [231]. Dans le cadre de cette étude, l'influence de l'électrolyse sur la séparation de la matière organique est décrite dans la partie qui suit.

2.4.2. Traitement du capillaire

Le pKa des groupements silanol, principaux constituants de la surface des capillaires en silice fondue, est égal à 5,3 [232]. Le phénomène de déprotonation des groupements silanol s'amorce dès pH = 1,5 et conduit à l'augmentation du flux électroosmotique jusqu'à sa stabilisation à pH > 8 [233]. La cinétique de la réaction de déprotonation des silanols est rapide. Cependant, la stabilisation du flux électroosmotique peut être relativement longue.

L'utilisation de surfactant est parfois indispensable pour supprimer la sorption de l'échantillon à la surface du capillaire ainsi que pour stabiliser et fixer le flux électroosmotique. Le surfactant est, généralement, constitué d'une tête polaire fixée à la surface du capillaire et d'une chaîne apolaire permettant de rendre inerte la surface de celui-ci [234-237].

2.4.3. Loi d'Ohm

La relation entre la tension imposée (U) aux bornes du capillaire et l'intensité du courant électrique (i) est régie par l'intermédiaire de la résistance électrique (R) de l'électrolyte par la loi d'Ohm (42).

$$U = R.i \text{ (V)} \quad (42)$$

Cette relation est linéaire tant que (R) est une constante, c'est à dire tant que la température au sein du capillaire ne varie pas. Celle-ci est maintenue constante grâce à un fluide thermorégulateur enveloppant le capillaire. Cependant, la puissance dissipée par unité de longueur (P_L) par ce fluide connaît une borne supérieure au-delà de laquelle on observe un échauffement du capillaire et donc une diminution de (R). Cette variation de (R) entraîne une non-linéarité de la loi d'Ohm qui se traduit par une mauvaise répétabilité des résultats.

3.4. Corrections en température

L'électrolyte support doit limiter l'échauffement du capillaire par effet Joule lors de l'application du champ électrique au capillaire. La puissance appliquée au capillaire ne doit pas dépasser $0,5 \text{ W.m}^{-1}$ pour éviter une élévation de température de plus de 1 K [233]. Il est donc recommandé d'utiliser des électrolytes supports peu conducteurs, conduisant donc à des courants faibles. Si la conductivité de l'électrolyte est trop élevée, la température du système augmente conduisant à l'élargissement des pics et à la dégradation de la résolution. Ce phénomène est dû à la variation Kelvin de la mobilité électrophorétique d'environ 2% par selon l'équation (43).

$$\mu_{ep}(T) = (1 + 0,02\Delta T)\mu_{ep}^{25^\circ\text{C}} \text{ (cm}^2\text{.V}^{-1}\text{.s}^{-1}\text{)} \quad (43)$$

Une méthode permet de déterminer les excès en température [238]. Celle-ci définit la différence ΔT entre la température de consigne (celle du liquide caloporteur régulant la température du capillaire) et la température réelle de l'électrolyte selon la relation (44).

$$\Delta T = \frac{G_T - G_0}{\gamma G_0} \quad (44)$$

Ici, la grandeur G_T représente la conductance du système, G_0 est la conductance limite sans effet joule. Cette dernière valeur est déterminée par une extrapolation de la grandeur G_T à un rapport L/P (puissance dissipée par unité de distance) nul. Le facteur γ est un coefficient thermique de la conductivité électrique. Il peut être déterminé expérimentalement à partir de la conductivité électrique κ_e extrapolée à puissance nulle. La conductivité électrique peut être déterminée expérimentalement, pour des tensions faibles afin de négliger les effets joules, selon la relation (45).

$$\kappa_e = \frac{Li}{SV} \text{ (}\Omega^{-1}\text{.m}^{-1}\text{)} \quad (45)$$

Dans la relation précédente, L représente la longueur du capillaire, i est l'intensité du courant mesuré, V est la différence de potentiel appliquée aux bornes du capillaire et S est la surface du capillaire. La conductance définie précédemment peut être donnée selon la relation (46).

$$G_T = \frac{i}{V} = \frac{\pi\kappa_e d_i^2}{4L} \quad (46)$$

Ainsi, la différence entre la température de consigne et la température réelle de l'électrolyte peut être obtenue à partir de la mesure de la tension, de l'intensité du courant et de la longueur du capillaire.

2.4.4. Mode d'injection des échantillons

2.4.4.1. Injection hydrodynamique

Il s'agit d'une injection non-sélective réalisée soit par application d'une surpression en entrée de capillaire, soit d'une dépression en sortie. Le volume d'échantillon introduit dans le capillaire se calcule suivant la relation de Poiseuille (47) où d est le diamètre interne du capillaire (en m), t est le temps d'injection (en s), ΔP est la différence de pression entre l'entrée et la sortie du capillaire (en Pa), η est la viscosité dynamique de l'échantillon (en Pa.s), et L est la longueur totale du capillaire (m) [233].

$$V = \frac{d^4 \pi \Delta P}{128 \eta L} (L) \quad (47)$$

Le terme d'injection hydrodynamique s'applique, de même, à la technique de remplissage du capillaire par gravité. Ici, la section interne du capillaire constitue le principal facteur limitant : il est, par exemple, impossible d'injecter par gravité quand le diamètre interne du capillaire est inférieur à 30 μm [228].

2.4.4.2. Injection électrocinétique

L'injection électrocinétique consiste à introduire l'échantillon dans le capillaire par application d'une tension à ses extrémités. Cette technique d'injection permet de s'affranchir des problèmes de perturbations (bulles d'air, turbulences...) liés au mode hydrodynamique avec injection pneumatique. L'inconvénient majeur est que les composés migrent de manière hétérogène : les espèces dont les vitesses de migration sont les plus élevées se trouvent en concentration plus forte dans le capillaire que dans la solution d'origine.

2.4.5. Détecteurs

La détection des analytes par électrophorèse capillaire peut être effectuée par différentes techniques. Deux grands types de détection peuvent être distingués. Le premier type consiste à effectuer la mesure directement dans le capillaire. C'est la détection « on-column ». Elle englobe toutes les méthodes

spectroscopiques. Le second type consiste à détecter l'analyte à sa sortie du capillaire, en détection « post-column ». C'est notamment le cas de toutes les méthodes de spectrométrie de masse.

D'autres détecteurs peuvent être employés aussi bien « on-column » que « post-column ». C'est le cas des techniques électrochimiques, comme la mesure de conductivité ou l'ampérométrie.

3. Développement d'une méthode de séparation de la matière organique

Ce chapitre décrit un développement de séparation électrophorétique de la matière organique. Le but de celle-ci n'est pas de séparer indépendamment chaque molécule d'un échantillon mais de déterminer les conditions expérimentales permettant de fractionner au mieux la matière organique. En effet, plus le temps de collecte est long meilleure sera la séparation et les spectres de masse acquis en ligne ou non seront d'autant plus simplifiés.

Cette partie décrit dans un premier temps la préparation des échantillons et les conditions opératoires choisies. Ce chapitre décrit également, la résolution des problèmes de détection rencontrés ainsi que l'optimisation de certains paramètres de séparation.

3.1. Conditions opératoires

3.1.1. Préparation des échantillons

Pour l'étude de la séparation électrophorétique des substances humiques, les échantillons SRFA, SRHA, NAFA et NAHA ont été analysés. Ils ont été dissouts dans les électrolytes d'analyse à une concentration de 600 mg/L. Les échantillons ne sont pas filtrés et sont conservés dans l'obscurité à 4 °C. La matière organique est analysée dans les cinq jours qui suivent la dissolution.

3.1.2. Conditions d'analyse

Toutes les séparations électrophorétiques ont été réalisées par une électrophorèse capillaire MDQ commercialisée par la société Beckman Coulter™ (Passadena, Californie, USA). Sauf mentions particulières, les capillaires utilisés sont en silice fondue de 75 µm de diamètre conditionnés avant leur

première utilisation par six rinçages successifs de 5 minutes chacun à la soude à 0,1 M puis à l'acide chlorhydrique à 0,1 M à une pression de 5 psi. Les substances humiques sont injectées dans le capillaire avec une pression de 0,5 psi appliquée durant 10 secondes. La séparation est réalisée en polarité inversée pour que le flux électroosmotique entraîne naturellement les espèces vers le détecteur sans appliquer de poussée hydrodynamique artificielle.

Afin de stabiliser le flux électroosmotique et de limiter la sorption des substances humiques observées (3.2. Résolution des problèmes de sorption et de détection, page 156), la surface du capillaire est conditionnée. Pour cela, la surface du capillaire est préparée par un rinçage de 10 minutes à une pression de 17 psi avec de la soude à 0,1 M. Ensuite, la capillaire est rincé à l'eau ultra pure pendant 5 minutes à une pression de 10 psi, puis il est traité avec le surfactant (bromure d'hexadiméthrine à 0,1 % massique) pendant 10 minutes à 10 psi. Enfin, le capillaire est rincé avec l'électrolyte de séparation pendant 2 minutes à 10 psi.

Dans le cadre de cette étude, un détecteur laser à fluorescence est utilisé pour sa sensibilité envers certaines familles de molécules issues de la matière organique naturelle. En effet, les aminoacides, les acides nucléiques et les flavines sont des exemples de molécules particulièrement fluorescentes identifiées dans des échantillons de substances humiques [239]. Cependant, la détection UV est souvent privilégiée et seulement quelques rares études présentent la détection des substances humiques par laser à fluorescence [240-242]. La matière organique naturelle absorbe et émet sur de larges gammes de longueurs d'onde, ainsi, des études de fluorescence en trois dimensions, aussi appelée EEM pour Excitation-Emission Matrix, sont publiées [243-245]. Des longueurs d'onde de 488 et 532 nm ont été respectivement sélectionnées pour l'excitation et l'émission des substances humiques.

3.2. Résolution des problèmes de sorption et de détection

La première étape de ce développement, traite de la résolution des problèmes de la détection de la matière organique par le détecteur à fluorescence laser. En effet, les premières analyses de séparation se sont soldées par l'acquisition d'un unique électrophérogramme de bruit de fond (Figure 54 (a)).

L'observation de la sorption de la matière organique à la surface du capillaire est décrite par certaines équipes ayant travaillé sur cette thématique de recherche. L'utilisation de surfactants ou de cations

divalents tels que le magnésium(II) permettent de limiter la sorption des substances humiques à la surface du capillaire [231,246]. Parmi plusieurs dizaines de surfactants utilisés, le bromure d'hexadiméthrine (noté HDMB et souvent appelé polybrène) a été choisi pour conditionner de façon semi-permanente les capillaires utilisés. La Figure 54 (b), montre l'effet du « coating » sur la détection de la matière organique et prouve la sorption de celle-ci sur les parois du capillaire.

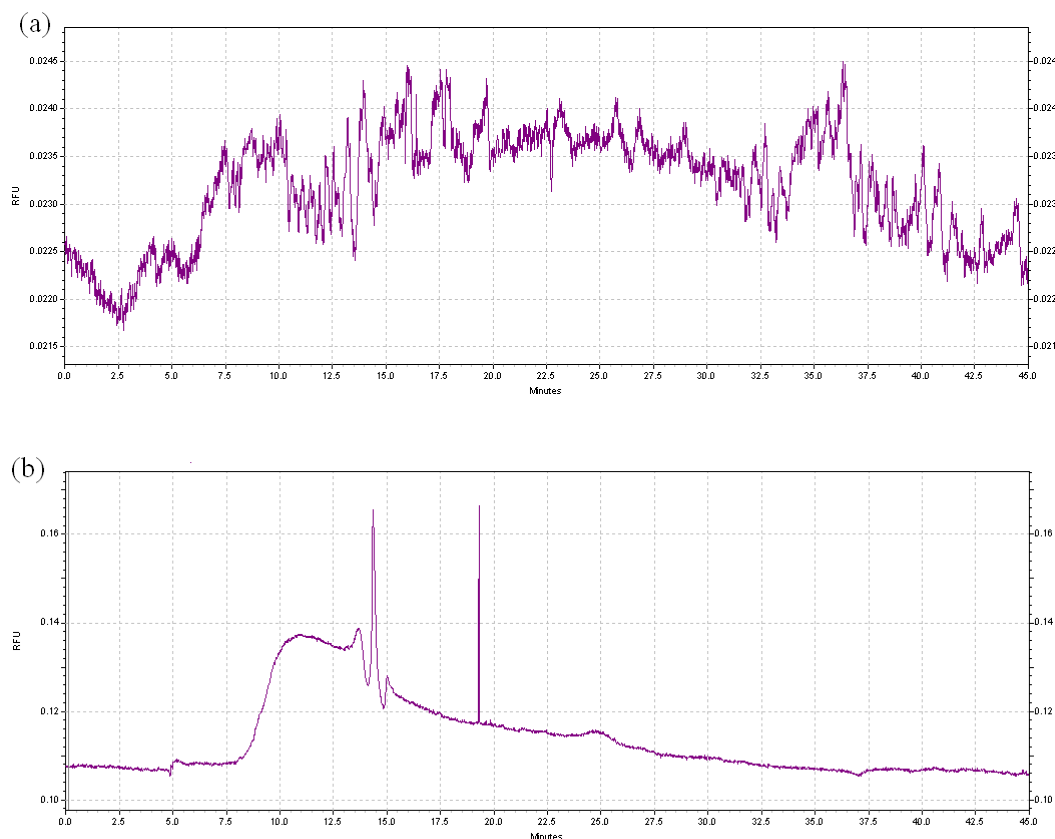


Figure 54 : Séparation électrophorétique en mode inversé à 13 kV d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire en silice fondue de 75 µm de diamètre sans (a) et avec (b) conditionnement du capillaire au polybrène (Electrolyte : 100 mM H₃BO₃ / 10 mM HCl (pH 3,15))

Cependant, les deux pics particulièrement intenses observés à 14 et 19 minutes laissent supposer une agrégation de la matière organique [247,248]. Celle-ci est due à des conditions de séparation non adaptées telles qu'une tension trop élevée ou un électrolyte trop réactif vis-à-vis de la matière organique. En effet, l'acide borique a été utilisé ici pour ses capacités à rompre les liaisons faibles qui lient les substances humiques en réagissant avec les groupements fonctionnels alcools, phénols et acides

carboxyliques afin d'optimiser la séparation [231]. Dans le cadre de l'exemple donné ici, l'acide borique semble conduire à une légère précipitation de l'analyte bien que la séparation des substances humiques sur une durée approximative de 15 minutes soit satisfaisante. La suite de cette étude vise à trouver un électrolyte plus adapté à la séparation des substances humiques.

3.3. Choix de l'électrolyte de séparation

Le choix de l'électrolyte est l'un des paramètres clés de la séparation électrophorétique. Dans le cadre de cette étude une dizaine d'électrolytes de nature, de pH et force ionique différents a été testée. Trois exemples d'électrophérogrammes obtenus avec trois milieux de séparation différents sont présentés sur la Figure 55.

Pour chaque analyse, il est vérifié que le flux électroosmotique est fixe et indépendant du pH des électrolytes. Il est mesuré en moyenne à 10 minutes et 26 secondes. Cette valeur peut être comparée aux temps de détection de la matière pour justifier que la matière organique est principalement chargée négativement puisqu'elle est observée après le marqueur neutre. De plus, un léger décalage du temps de migration des premières espèces détectées est observé lors de l'augmentation du pH. Cette observation est en accord avec une déprotonation progressive des substances humiques avec l'augmentation du pH. Du point de vue de la séparation, la Figure 55 (a) rappelle que l'utilisation de l'acide borique à ce pH ne convient pas à la séparation de nos échantillons. En effet, le pH relativement acide limite la déprotonation de sites portés par la matière organique et limite ainsi les répulsions électrostatiques conduisant à l'agglomération des particules. Les électrolytes caractérisés par un pH supérieur ne semblent pas conduire à l'agrégation de la matière organique (Figure 55 (b) et (c)). Des trois exemples présentés plus haut, le tampon acétate (Figure 55 (c)) permet de détecter la matière organique sur une plus longue période et permet ainsi une meilleure séparation dans le cadre d'une collecte de fractions ou d'une simplification des spectres de masse dans le cas d'un éventuel couplage. A ces observations s'ajoutent celles réalisées par Piccolo et son équipe sur la propension de certains électrolytes à rompre les liaisons supramoléculaires [73,249,250].

Concernant l'épaulement observé pour chaque fin de distribution, elle peut être due à une désorption résiduelle des substances humiques de la surface du capillaire. Dans la suite du manuscrit un capillaire

neutre est utilisé. Les surfaces internes de celui-ci sont fonctionnalisées, de façon permanente, par une couche de polyacrylamide inerte.

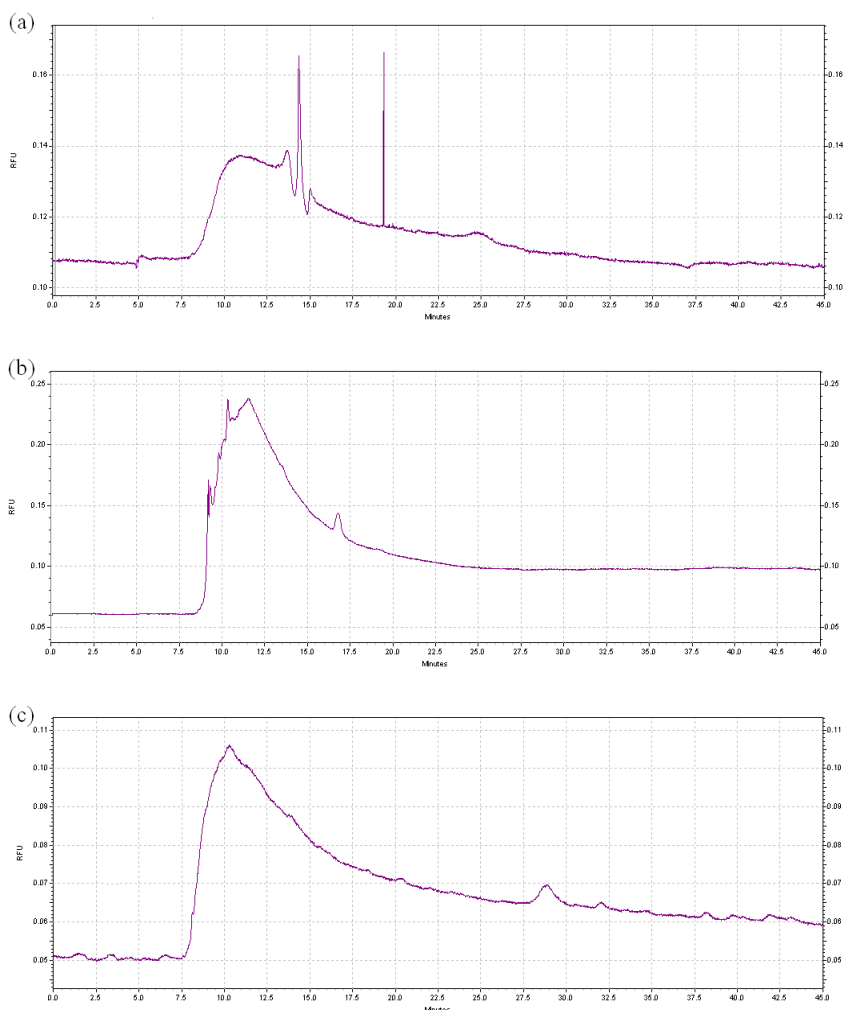


Figure 55 : Electrophérogrammes obtenus en mode inverse à 13 kV d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire en silice fondue de 75 μm de diamètre conditionné au polybrène dans trois électrolytes différents : (a) 100 mM H_3BO_3 / 10 mM HCl (pH 3,15) ; (b) 85 mM $\text{H}_2\text{PO}_4\text{Na}$ / 15 mM $\text{HPO}_4 \text{Na}_2$ (pH 6,95) et (c) 20 mM $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ / 30 mM $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na}$ (pH 4,95)

3.4. Influence de la température de séparation

Ici, trois exemples d'électrophérogrammes obtenus avec un capillaire neutre commercialisé par la société AB SCIEX™ sont présentés. La fonctionnalisation des groupements silanols par une couche de polyacrylamide permet de rendre la surface de ces capillaires complètement inerte. Cependant, il nécessite un entretien particulier : il est conservé à 4 °C lorsqu'il n'est pas utilisé. Il est également

conditionné quotidiennement par un rinçage à forte pression (75 psi) avec de l'eau puis avec un électrolyte composé d'acide citrique (20 mM) et de MES (20 mM). Chaque opération est réalisée durant 5 minutes.

La diminution de la sorption des substances humiques est mise en évidence par la Figure 56. En effet, les pics obtenus retrouvent une distribution plus gaussienne. L'utilisation d'un capillaire neutre sera privilégiée à celle d'un capillaire classique conditionné selon la méthode décrite précédemment.

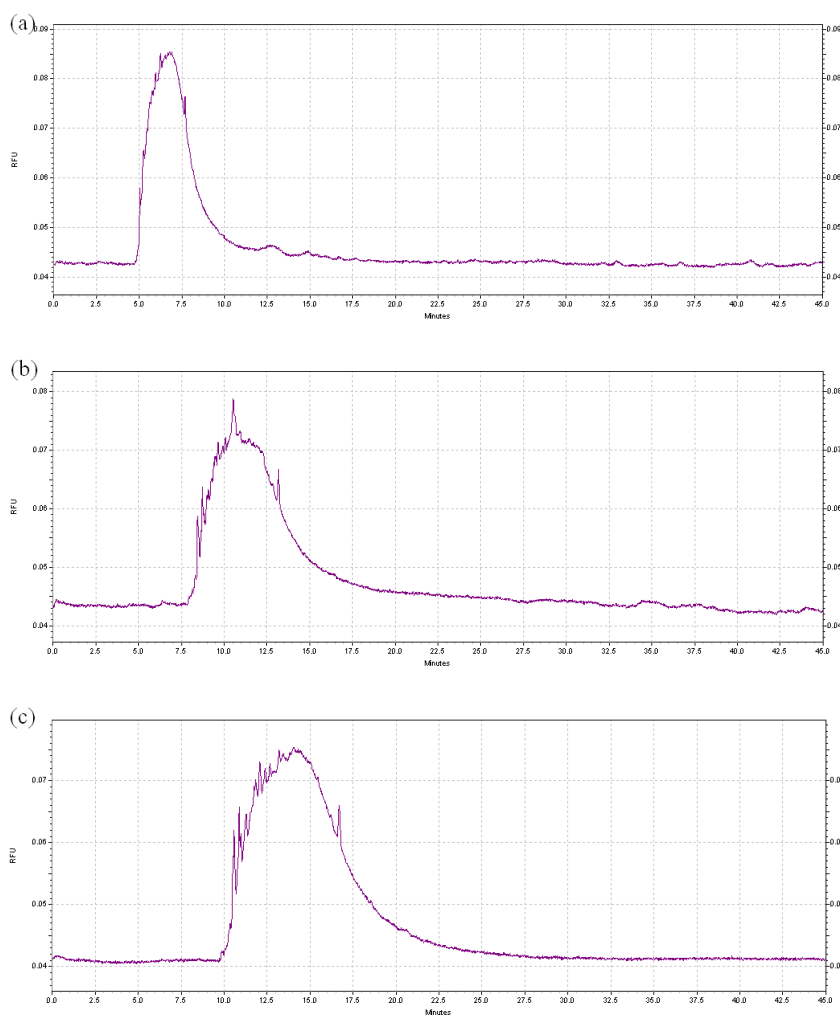


Figure 56 : Electrophérogrammes obtenus en mode inverse à 13 kV d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 μ m de diamètre pour trois températures différentes : 55 °C (a), 25 °C (b) et 15 °C (c) dans un électrolyte composé de 20 mM $C_2H_4O_2$ / 30 mM $C_2H_3O_2Na$ (pH 4,95)

L'influence de la température sur la qualité de la séparation est également mise en évidence. En effet, une diminution de la température augmente la viscosité du milieu de séparation. La mobilité des espèces analysées est ainsi diminuée (43). Il en découle qu'une diminution de la température du capillaire de 55 à 15 °C permet de doubler le temps de récolte et donc de permettre une séparation plus efficace. Ainsi, une température de séparation de 15 °C sera privilégiée.

3.5. Choix de la tension de séparation

La différence appliquée entre les deux bornes de séparation est également un paramètre clé de la séparation puisqu'elle conditionne la séparation. La Figure donne trois exemples d'électrophérogrammes dont les acquisitions ne diffèrent que par la tension de séparation.

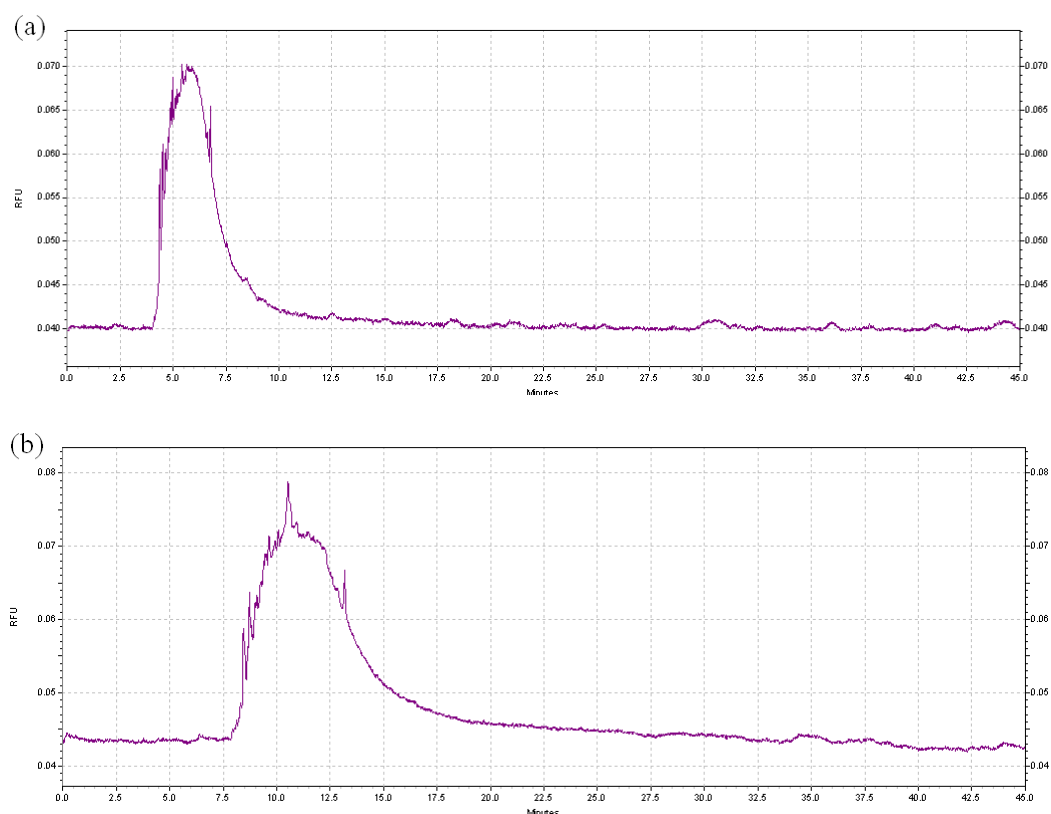


Figure 57 : Electrophérogrammes obtenus en mode inverse à 25 °C d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 µm de diamètre pour trois tensions différentes : 30 kV (a), 13 kV (b) et 5 kV (c) dans un électrolyte composé de 20 mM C₂H₄O₂ / 30 mM C₂H₃O₂Na (pH 4,95)

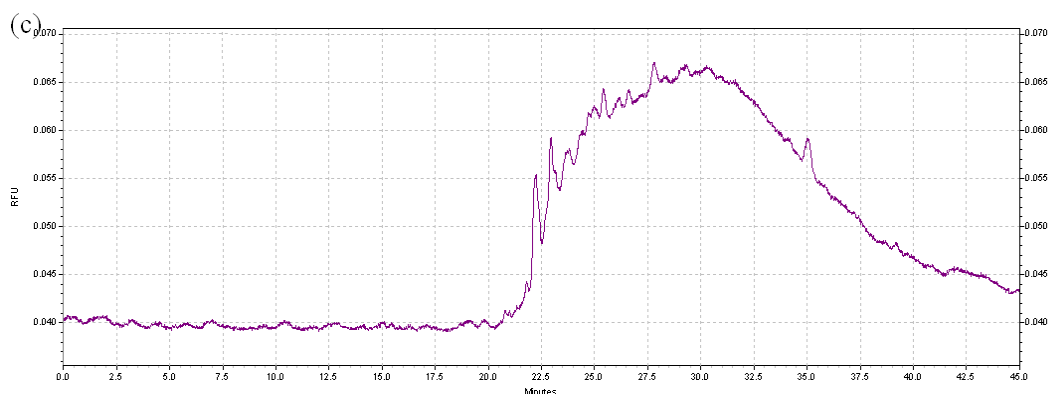


Figure 57 (suite) : Electrophérogrammes obtenus en mode inverse à 25 °C d'un échantillon de SRFA à 600 mg/L injecté 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 µm de diamètre pour trois tensions différentes : 30 kV (a), 13 kV (b) et 5 kV (c) dans un électrolyte composé de 20 mM $C_2H_4O_2$ / 30 mM $C_2H_3O_2Na$ (pH 4,95)

Certains auteurs suggèrent une agrégation de la matière organique pour des tensions de séparation élevées (proches de 30 kV) mise en évidence par l'apparition de pics particulièrement intenses et fins [247,248]. Ici, ces pics ne sont pas observés. Seul l'électrolyte composé d'acide borique dont le pH est faible semble responsable de l'agrégation de substances humiques (Figure 55 (a)).

En ce qui concerne la qualité de la séparation, l'influence de la tension semble montrer une certaine analogie avec l'influence de la température sur la séparation. En effet, en diminuant la tension, le flux électroosmotique résiduel et les mobilités électrophorétiques sont plus faibles, les espèces migrent avec des temps plus longs. Il en résulte une séparation plus efficace avec une tension de séparation de 5 kV. Ce paramètre sera retenu.

3.6. Conclusion

Ce chapitre met en évidence que l'analyse de la matière organique naturelle par électrophorèse capillaire ne semble pas être particulièrement adaptée à la caractérisation de celle-ci. Par exemple, la comparaison des électrophérogrammes des quatre échantillons de substances humiques acquis dans des conditions identiques (Annexe 4) ne semble pas être très instructive. En revanche, l'électrophorèse revêt les qualités nécessaires à la séparation des substances humiques avant analyse par spectrométrie de masse. En effet,

cette méthode non intrusive conserve la spéciation du système tout en permettant une séparation des entités présentes en solution avec une efficacité particulièrement adaptée à la séparation de mélange complexe. Ainsi la séparation d'un échantillon en plusieurs fractions permettrait de simplifier les spectres de masse en vue de déterminer plus de molécules complexantes et d'obtenir des informations structurales supplémentaires par fragmentation.

Parmi plus de 500 conditions opératoires différentes testées, les conditions suivantes sont les plus favorables à la séparation des substances humiques : analyse en mode inverse à 15 °C et 5 kV dans un électrolyte composé de 20 mM d'acide acétique glacial et de 30 mM d'acétate de sodium (pH 4,95) avec une injection de la matière organique durant 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 µm. La séparation pourrait être couplée idéalement au spectre de masse pour une analyse directe et rapide. Le chapitre suivant présente le développement d'une interface permettant le couplage d'une électrophorèse capillaire à un spectromètre de masse de type FT-MS.

4. Développement d'un couplage EC-FT-MS

Le couplage associant une technique séparative précise et non intrusive (EC) à un détecteur adapté à la à l'étude de la complexation des actinides par la matière organique (FT-MS) pourrait permettre d'approfondir les informations acquises dans les premières parties de cette étude. Le développement d'une interface permettant ce couplage doit impérativement conserver les propriétés respectives de chacune des deux techniques. Ce chapitre décrit le développement de cette interface.

4.1. Caractéristiques de l'interface

La source d'ionisation DART présentée section 2.2.2. Analyse directe en temps réel, page 106, est la plus modulable des sources présentées dans ce manuscrit. Elle permet l'ionisation de molécules présentes sur une large gamme de supports (polymères, verre, métaux, atmosphère...). Cette source sera utilisée pour l'ionisation des molécules séparées par électrophorèse sous forme de nébulisât. Cependant, une interface doit être utilisée pour coupler l'électrophorèse capillaire à la source d'ionisation. Afin de

conserver les performances intrinsèques des deux instruments couplés, quatre critères doivent être respectés. Le débit de sortie de l'électrophorèse capillaire (de l'ordre de $0,1 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$) doit être adapté au débit de nébulisation (de 1 à $1\,000 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$). La conception de l'interface doit permettre la fermeture du circuit électrique à chaque extrémité du capillaire de séparation. Afin de ne pas dégrader la qualité de séparation, l'interface doit limiter au maximum les effets de succion du nébuliseur sur le capillaire responsable du flux laminaire dans celui-ci. Pour finir, il est indispensable de diminuer au maximum les volumes morts de l'interface afin de conserver la résolution de la séparation (réduction de l'élargissement des pics).

Une interface développée dans le cadre de couplage EC-ICP-MS à partir 1995 semble tout à fait adaptée [251].

4.1.1. Fermeture du circuit électrique et adaptation de débit de nébulisation

Parmi les quatre critères présentés ci-dessus, l'adaptation du débit et la fermeture du circuit électrique furent, historiquement, les premiers remplis. En effet, la plupart des interfaces utilisent un liquide de compensation conducteur, coaxial et introduit dans l'interface par une pièce en T. Celui-ci est mélangé à l'effluent de l'électrophorèse capillaire pour permettre à la fois d'adapter le débit de sortie de l'électrophorèse capillaire à celui d'entrée de nébulisation et d'assurer une connexion électrique stable en sortie de capillaire [252-255]. Cependant, l'utilisation d'un liquide de compensation entraîne une dilution de l'analyte. La diminution des débits de fonctionnement des nébuliseurs a permis de minimiser cette dilution post-colonne et par conséquent d'atteindre une sensibilité maximale [255-257].

4.1.2. Suppression des effets de succion et diminution des volumes morts

De nombreux développements instrumentaux ont permis de limiter les volumes morts et les phénomènes de succion notamment grâce à l'application d'une pression négative dans le flacon de séparation ou par l'utilisation de verre fritté dans le capillaire [252,253,255,258-262].

Aujourd'hui, une interface commercialisée sous le nom de Mira Mist CE par la société Burgener Research™ (Mississauga, ON, Canada) permet de résoudre le problème d'élargissement des pics par l'optimisation du comportement des fluides dans l'interface. Cette interface permet également d'ajuster

le niveau du liquide de compensation à celui du point d'injection de l'électrophorèse capillaire afin d'éviter le siphonage notamment grâce à sa géométrie parallèle. Cette interface a été utilisée avec succès pour le couplage EC-ICP-MS [230,263-266].

4.2. Interphase et paramètres instrumentaux

Un nébuliseur Mira Mist CE commercialisé par la société Burgener Research™ est utilisé. Celui-ci nébulise orthogonalement l'analyte dans le gaz métastable créé par le DART. Le nébulisât est ionisé puis transporté vers l'entrée du spectromètre de masse (Figure 58). Des photographies du couplage sont données en Annexe 5. La position de chacun des éléments a été optimisée de façon à obtenir la plus grande sensibilité pour l'analyse de tributylphosphate injecté en continu par l'électrophorèse capillaire. La sortie du DART est positionnée à 1 cm du capillaire d'entrée du spectromètre de masse et la pointe du nébuliseur est positionnée à 1,5 cm du flux de gaz métastable créé par le DART.

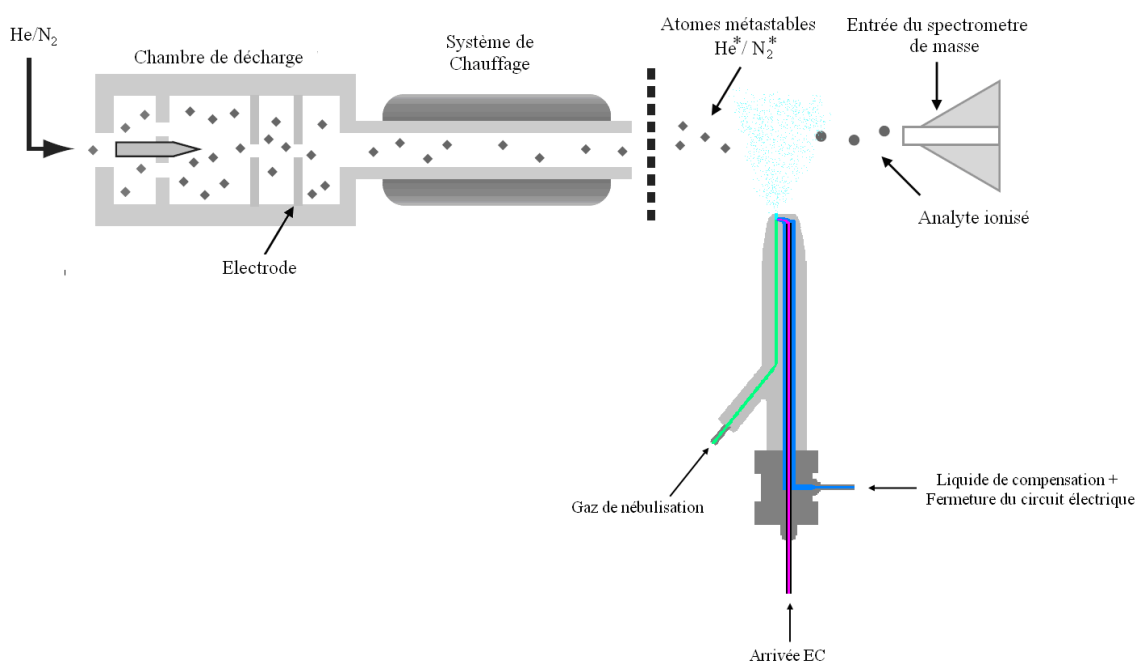


Figure 58 : Schéma de l'interface utilisée pour le couplage EC-DART-FT-MS

L'azote est utilisé pour la nébulisation à une pression de 1 bar. De l'eau contenant 30 % volumique de méthanol est utilisée en tant que liquide de compensation à un débit de 27 $\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$. Pour finir, le gaz vecteur utilisé pour l'ionisation du nébulisât est de l'hélium chauffé à 450 °C.

4.3. Résultats et interprétations

Le couplage a été optimisé par la détection de tributylphosphate (TBP) à une concentration de 10 ppb injecté ponctuellement par l'intermédiaire d'une l'électrophorèse capillaire par une poussée hydrodynamique de 3 psi durant 10 secondes. Les résultats obtenus en mode positif avec les paramètres instrumentaux optimisés sont présentés sur la Figure 59. Cette figure montre que le couplage mis en place permet de détecter du TBP à une très faible concentration. Le TBP protoné (en mode positif) est caractérisé par une masse exacte de 276,1725 da. Il est détecté, avec une faible intensité, dès le début de l'analyse par contamination de l'air ambiant. Cependant, après deux minutes, le TBP devient la seule molécule détectée. Ensuite, après l'injection, l'intensité de cette molécule particulièrement volatile décroît lentement.

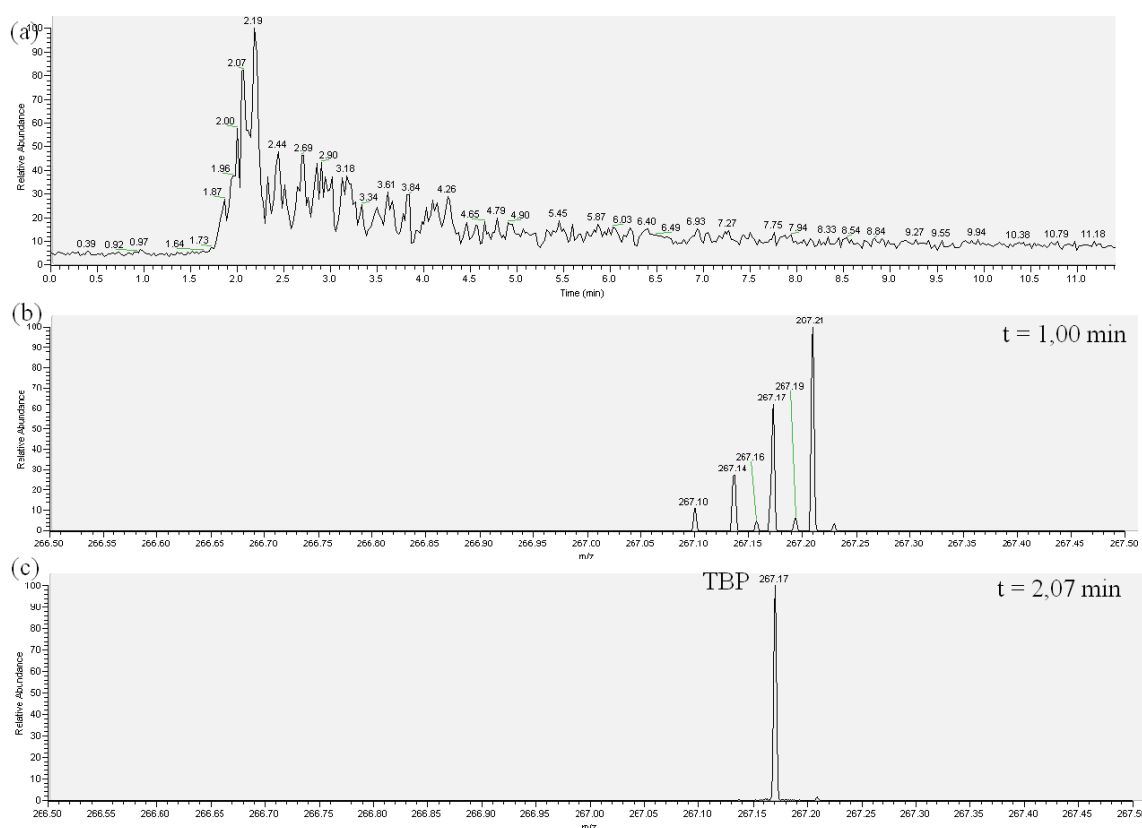


Figure 59 : Chromatogramme obtenu pour la mesure de la masse 267,17 da (TBP protoné) obtenu avec une injection ponctuelle (10 secondes à 3 psi) par le capillaire de l'électrophorèse capillaire (a) et deux exemples de spectres de masse acquis durant cette analyse : un avant la détection du TBP (à 1 minute (b)) et l'autre pendant la détection du TBP (à 2,07 minutes (c))

Les mêmes conditions opératoires ont été utilisées pour la détection de la matière organique par l'intermédiaire du couplage EC-DART-FT-MS. Cependant, la sensibilité du FT-MS pour les substances humiques ionisées par DART ne semble pas suffisante pour les détecter avec le couplage.

En effet, la Figure 36 présentée (page 122) montre que la source d'ionisation DART est moins bien adaptée à l'analyse de la matière organique que les autres sources testées. Cependant, la source DART est la seule à disposition qui permette le couplage.

Le spectre de masse du bruit de fond obtenu avec le couplage est très proche du spectre de masse acquis pour l'injection en continu de NAHA à pH 2 à une pression de 3 psi : la capacité de la source DART à ioniser la matière organique ne permet pas d'utiliser le couplage pour l'analyse de substances humiques.

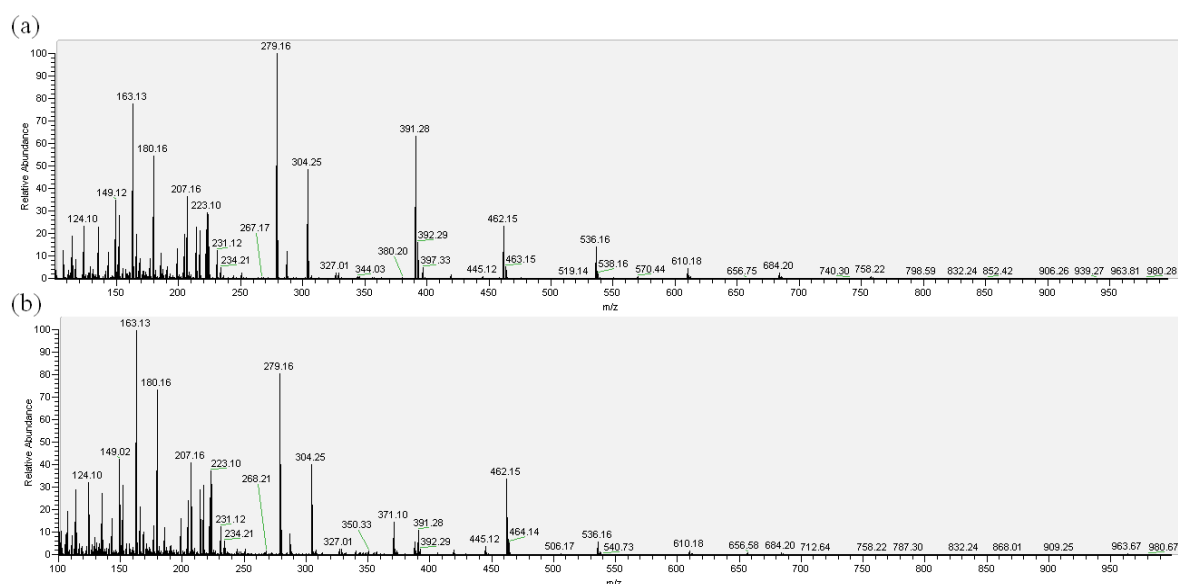


Figure 60 : Spectre de masse acquis avec le couplage EC-DART-FT-MS sans injection de substances humiques (a) et avec injection d'un échantillon de NAHA à pH 2 en continu par l'intermédiaire du capillaire

4.4. Conclusion

Ce chapitre montre que le couplage développé est fonctionnel. Il permet la séparation et la détection de molécules plutôt volatiles telles que le TBP. Cependant, la capacité de la source DART à ioniser la matière organique ne permet pas d'utiliser le couplage pour l'analyse de substances humiques. Néanmoins, la séparation développée pourra être utilisée off-line par l'intermédiaire de la récolte de fractions de la matière organique.

5. Conclusion du chapitre

Dans un premier temps, ce chapitre met en évidence que l'analyse des substances humiques par électrophorèse capillaire ne semble pas être particulièrement adaptée à la caractérisation de celles-ci. Cependant, cette technique revêt les qualités nécessaires pour la séparation de la matière organique avant l'analyse par spectrométrie de masse. En effet, cette méthode non intrusive conserve la spéciation du système tout en permettant une séparation des entités présentes en solution.

Parmi plus de 500 conditions opératoires différentes testées, les conditions suivantes sont les plus favorables à la séparation des substances humiques : analyse en mode inverse à 15 °C et 5 kV dans un électrolyte composé de 20 mM d'acide acétique glacial et de 30 mM d'acétate de sodium (pH 4,95) avec une injection de la matière organique durant 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 µm de diamètre. Ces conditions expérimentales permettent de récolter des fractions de substances humiques sur plusieurs dizaines de minutes.

Afin d'exploiter la séparation électrophorétique développée, une interface a été mise au point. Celle-ci est constituée d'une interface commerciale et d'une source d'ionisation de type DART. Le couplage développé ici est fonctionnel et permet la séparation et la détection de molécules plutôt volatiles telles que le TBP. Cependant, la capacité de la source DART à ioniser la matière organique ne permet pas d'utiliser le couplage pour l'analyse de substances humiques. Néanmoins, la séparation développée pourra être utilisée off-line par l'intermédiaire de la récolte de fractions de la matière organique en vue de simplifier les spectres de masse. Cette simplification devrait permettre de déterminer plus de molécules complexantes et d'obtenir des informations structurales supplémentaires par fragmentation. Cependant, par manque de temps cette séparation n'a pas encore pu être exploitée.

CONCLUSION GENERALE

La compréhension des phénomènes de migration des radionucléides dans l'environnement est un des challenges de l'industrie nucléaire. Dans un premier temps ces études permettent de participer à la détermination des retombées des essais nucléaires passés et d'anticiper la migration de contaminants après un accident. Cette thématique de recherche permettrait également de participer à la détermination de l'impact environnemental et sanitaire à long terme du stockage des déchets issus de l'industrie nucléaire.

Ce manuscrit montre que la migration des actinides dans l'environnement est contrôlée par leurs interactions avec le milieu naturel. La détermination des équilibres thermodynamiques du système actinides / environnement permettrait de comprendre et de prédire la migration de ces radioéléments. De nombreuses études ont pu enrichir la littérature par la détermination de constantes de stabilité entre les actinides et des ligands environnementaux classiques. Cependant, les ligands plus complexes tels que les substances humiques sont moins étudiés.

Concernant, l'étude des interactions entre les actinides et la matière organique naturelle, l'approche top-down est largement favorisée. En effet, l'observation et l'acquisition de données à l'échelle macroscopique ont permis la détermination de constantes de complexation globales et la conception de modèles hydrogéochimiques qui décrivent des phénomènes microscopiques tels que la réactivité d'un métal vis-à-vis de la matière organique naturelle dans son intégralité. Ces modèles peuvent être empiriques ou semi-empiriques. Ils nécessitent l'acquisition de données expérimentales parfois biaisées par la complexité des études concernant la matière organique naturelle. En effet, les informations obtenues expérimentalement dépendent de la technique utilisée puisqu'elles reflètent le comportement des métaux dans des conditions particulières plutôt que son comportement absolu. Cette dépendance des résultats est liée aux techniques employées et confirme ainsi l'intérêt d'une approche microscopique de

type bottom-up répondant à la nécessité d'acquérir des données expérimentales robustes, fiables et indépendantes des conditions d'analyses.

La deuxième partie du manuscrit est consacrée à la caractérisation à l'échelle moléculaire de cinq échantillons de substances humiques de référence. La spectrométrie de masse très haute résolution couplée à une technique d'ionisation adaptée présente les caractéristiques idéales pour ce type d'étude et permet d'acquérir un nombre considérable d'informations sur la composition des substances humiques. Pour la première fois, cinq échantillons de substances humiques issus de trois lieux d'extraction différents ont été analysés et comparés.

La complexité des échantillons de matière organique est démontrée ici par la détection de 19 000 à 72 000 molécules par échantillon. L'utilisation d'un code de calcul a permis de déterminer entre 10 000 à 32 000 formules élémentaires pour chaque échantillon. Une prédominance des molécules de type CHON a été observée.

L'analyse à l'échelle moléculaire montre également que la composition (et donc la potentielle affinité pour un métal) d'un échantillon de substances humiques dépend significativement de deux facteurs : l'origine géographique de prélèvement et l'environnement responsable de leur dégradation.

Dans ce manuscrit la complexation des actinides par la matière organique est étudiée. Cette étude s'appuie sur le développement d'une nouvelle méthodologie permettant de déterminer les molécules responsables de la complexation des actinides dans un échantillon de matière organique naturelle. L'outil utilisé est un spectromètre de masse très haute résolution de type FT-MS équipé de quatre sources d'ionisation différentes.

Pour la première fois, certaines molécules responsables de la complexation d'actinides (uranium et thorium) et d'un lanthanide (europium) dans un échantillon de substances humiques ont été déterminées. Ces molécules sont des acides carboxyliques principalement aromatiques ou appartiennent à la famille des flavonoïdes. Ces molécules, déterminées sans aucun *a priori*, sont généralement connues pour leur affinité envers les métaux notamment pour les actinides. Cette étude prouve également l'existence d'un site de complexation particulièrement fort qui n'est pas encore mentionné dans la littérature : les acides amino-carboxyliques.

Les résultats obtenus valident, pour la première fois, de façon expérimentale l'approche continue utilisée dans certains modèles prédictifs d'interaction en les substances humiques et les métaux utilisés à l'heure actuelle. En effet, cette approche prend en compte plusieurs sites de complexation caractérisés, chacun, par une distribution de constantes d'affinités.

La complexité des spectres de masse est responsable d'une exploitation incomplète des résultats. Ainsi, une séparation électrophorétique des substances humiques est développée dans le but d'extraire une information plus complète des spectres de masse. Cette technique est choisie pour sa non-intrusivité : elle ne modifie pas la spéciation des espèces analysées et permet de garantir l'intégrité de l'analyte.

Parmi plus de 500 conditions opératoires différentes testées, les conditions suivantes sont les plus favorables à la séparation des substances humiques : analyse en mode inverse à 15 °C et 5 kV dans un électrolyte composé de 20 mM d'acide acétique glacial et de 30 mM d'acétate de sodium (pH 4,95) avec une injection de la matière organique durant 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 µm de diamètre. Ces conditions expérimentales permettent de récolter des fractions de substances humiques sur plusieurs dizaines de minutes.

Concernant les perspectives de ces études, elles pourraient s'organiser selon trois étapes.

Dans un premier temps, la simplification des spectres de masse peut être améliorée. Des études complémentaires pourraient appliquer la méthodologie d'analyse et la séparation électrophorétique sur un instrument commercial tel que le CESI commercialisé par la société AB Sciex, permettant le couplage d'une électrophorèse capillaire à une source d'ionisation ESI. Il est également possible d'envisager de développer une autre méthode de séparation, telle que la chromatographie à exclusion stérique, qui pourrait être couplée avec un spectromètre de masse. Une autre méthode de séparation des substances humiques plus ou moins conventionnelle (EC, FFF, membranes, résines, chromatographie, séparation chimiques...) pourrait, également, être utilisée pour un couplage « hors ligne » avec un spectromètre de masse.

Les perspectives citées précédemment permettraient de simplifier l'exploitation des spectres de masse et d'obtenir une information plus complète sur la complexation des actinides à l'échelle moléculaire par

la matière organique grâce à l'identification d'un maximum de molécules complexantes. Dans un second temps, il sera possible d'exploiter mathématiquement les résultats pour apporter une réponse statistique à cette problématique de recherche. Les futures études permettraient d'identifier le nombre et la nature des sites responsables de la complexation des actinides, de conclure sur la diversité des molécules complexantes et de proposer une corrélation entre l'origine ou la nature des substances humiques et la complexation des actinides.

Dans un troisième temps, cette thématique de recherche pourrait s'orienter vers une étude quantitative. Celle-ci permettrait la détermination de constantes de complexation de système simplifié au maximum (système binaire) entre les actinides et une molécule complexante issue de substances humiques par l'utilisation de méthode déjà développée et maîtrisée telle que le couplage EC-ICP-MS.

La combinaison des résultats obtenus pour la détermination des constantes de complexation des systèmes binaires et des informations statistiques sur la complexation des actinides par la matière organique permettrait, *in fine*, le développement d'un nouveau modèle de prédiction de migration des actinides dans l'environnement plus réaliste et fidèle basé que des observations moléculaires.

ANNEXES

Sommaire

Annexe 1 : Détails des paramètres instrumentaux utilisés pour la caractérisation des substances humiques par FTICR-MS	173
Annexe 2 : Comparaison des diagrammes de Van Krevelen pour l'analyse de NAFA en mode positif avec quatre sources d'ionisation différentes.....	175
Annexe 3 : 50 combinaisons de formules élémentaires pour l'assignement d'un ion détecté à 486,6573 da dans un échantillon de NAFA à pH 2 en présence de thorium avec une erreur maximale de 4,2 ppm à partir des atomes suivants : C, H, O, N, S, P et Th.....	176
Annexe 4 : Comparaison des électrophérogrammes de cinq substances humiques différentes acquis dans les mêmes conditions (mode inverse à 25 °C et 13 kV d'échantillons à 600 mg/L injectés 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 µm de diamètre dans un électrolyte composé de 20 mM C ₂ H ₄ O ₂ / 30 mM C ₂ H ₃ O ₂ Na (pH 4,95).....	177
Annexe 5 : Photographies du couplage EC-DART-FT-MS utilisé	178
Annexe 6 : Communications scientifiques	179

Annexe 1 : Détails des paramètres instrumentaux utilisés pour la caractérisation des substances humiques par FTICR-MS

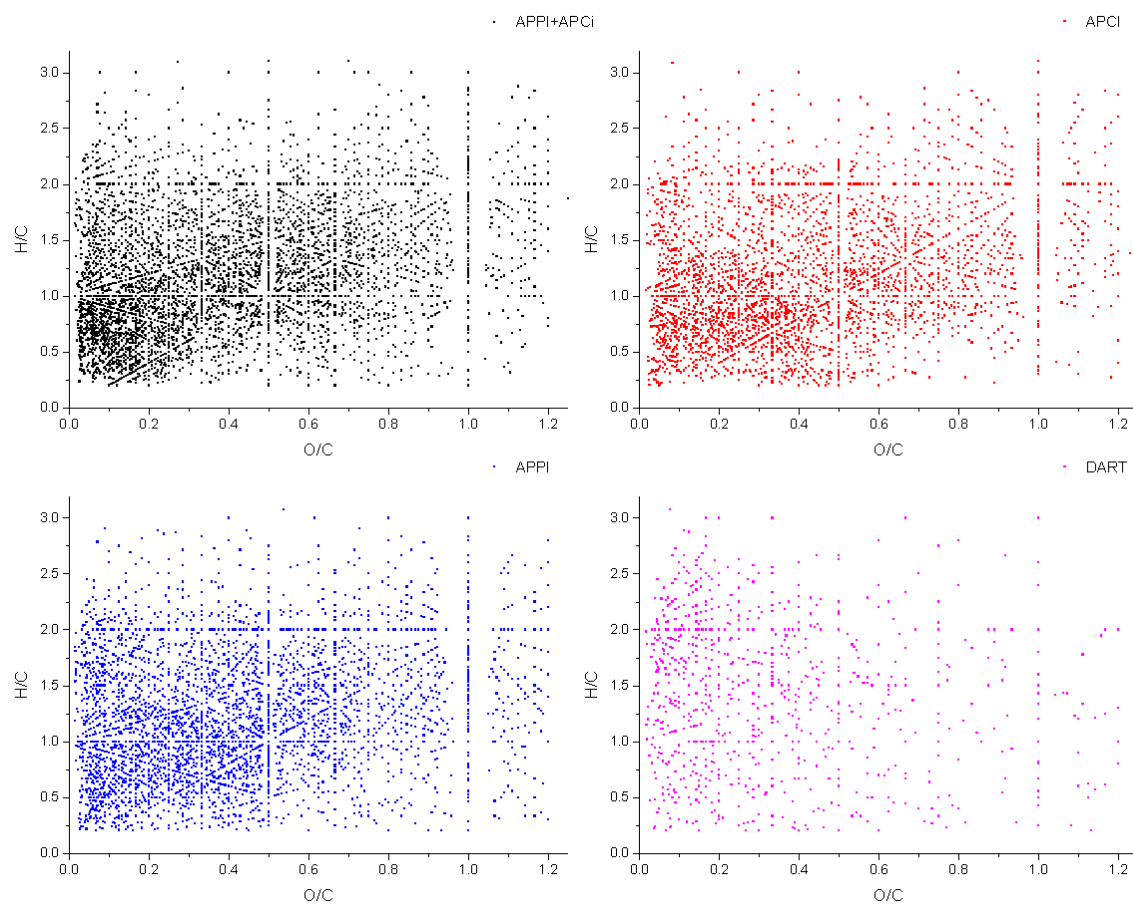
Paramètres instrumentaux de la source Appolo™ II

Paramètre	Valeur fixée
Tension au spray	4,5 kV (pos) 3 kV (neg)
Débit de gaz de désolvatation	1,5 L/min
Température du gaz de désolvatation	250 °C (pos) 200 °C (neg)
Pression du gaz de nébulisation	2,5 bar (pos) 0,2 bar (neg)
Spray Shield	-500 V
Débit d'infusion	120 µ/min (pos) 10 µl/min (neg)

Paramètres instrumentaux du FTICR-MS Solarix™

Paramètre	Valeur fixée	Paramètre	Valeur fixée
Nombre de scans	30	Back Trap Plate	0,6 V (pos) -0,5 V (neg)
DC Extract Bias	0,5 V	DC Bias	0,0 V
Entrance Lens Trap	3,9 V	Q1 Exit Lens	3,0 V (pos) -3,0 V (neg)
Entrance Lens Extract	15,0 V	Focus	-80,0 V (pos) 80,0 V (neg)
Exit Lens Trap	20,0 V (pos) -20,0 V (neg)	Focus Offset	0,0 V
Exit Lens Extract	-20,0 V (pos) 20,0 V (neg)	Post-Filter DC Bias	0,0 V
Source Accumulation	0,010 s	Pre-Filter DC Bias	0,0 V
Ion accumulation Time	4 s	Q1 shell	0,0 V
Ion Cooling Time	0,010 s	Q1 Mass	400,0 m/z(pos) 350,0 m/z (neg)
Flight Time to Acquisition Cell	0,001 s	Capillary Exit (High)	200,0 V
Pre-scan Delay	3500 µs	Capillary Exit (low)	230,0 V (pos) -230,0 V (neg)
Dwell time	0,100 s	Deflector Plate	200,0 V (pos) -200,0 V
EDC Lens 10,0 V	10,0 V	Funnel 1	150,0 V (pos) -150,0 V (neg)
Analyzer Entrance	-5,0 V	Funnel 2	10,6 V (pos) -10,6 V (neg)
Low Frequency	107500,4 Hz	Funnel RF Amplitude	150,0 Vpp
Hexapole Frequency	5000,0 KHz	Skimmer 1	100,0 V (pos) -10,0 V
Internal Filament Current	1,600 A	Skimmer 2	8,4 V (pos) -8,4 V (neg)
Internal Ionization Energy	1,0 eV	Sweep Width	714285,7 Hz
Octopole 2 DC	2,6 V (pos) -2,6 V (neg)	Variable Delay	0,0 s
Octopole 2 Delta DC	0,0 V	Variable Pulse	0,0 µs
Octopole 2 DC Bias (Hight)	2,5 V	Transfer line DC	-30,0 V (pos) 30,0 V (neg)
Octopole 1 DC Bias (Low)	4,0	Transfer Line Entrance Lens	-20,0 V (pos) 20,0 V (neg)
Extract	-8,0 V (pos) 8,0 V (neg)	Transfer Line Exit Lens	-20,0 V (pos) 24,0 V (neg)
Partition Lens	3,3 V (pos) -3,3 V (neg)	Transfer Line Frequency	3,0
Octopole Frequency	1,0	Focusing Lens 1	-40,0 V (pos) 40,0 V (neg)
Octopole RF Amplitude	300,0 Vpp	Focusing Lens 2	-10,0 V (pos) 10,0 V (neg)
Trap	-5,0 V (pos) 5,0 V (neg)	Focusing Lens 3	-50,0 V (pos) 50,0 V (neg)
Excitation Pulse Time	15 µs	Transfer Line RF	350,0 Vpp
Front Trap Plate	0,6 V (pos) -0,5 V (neg)		

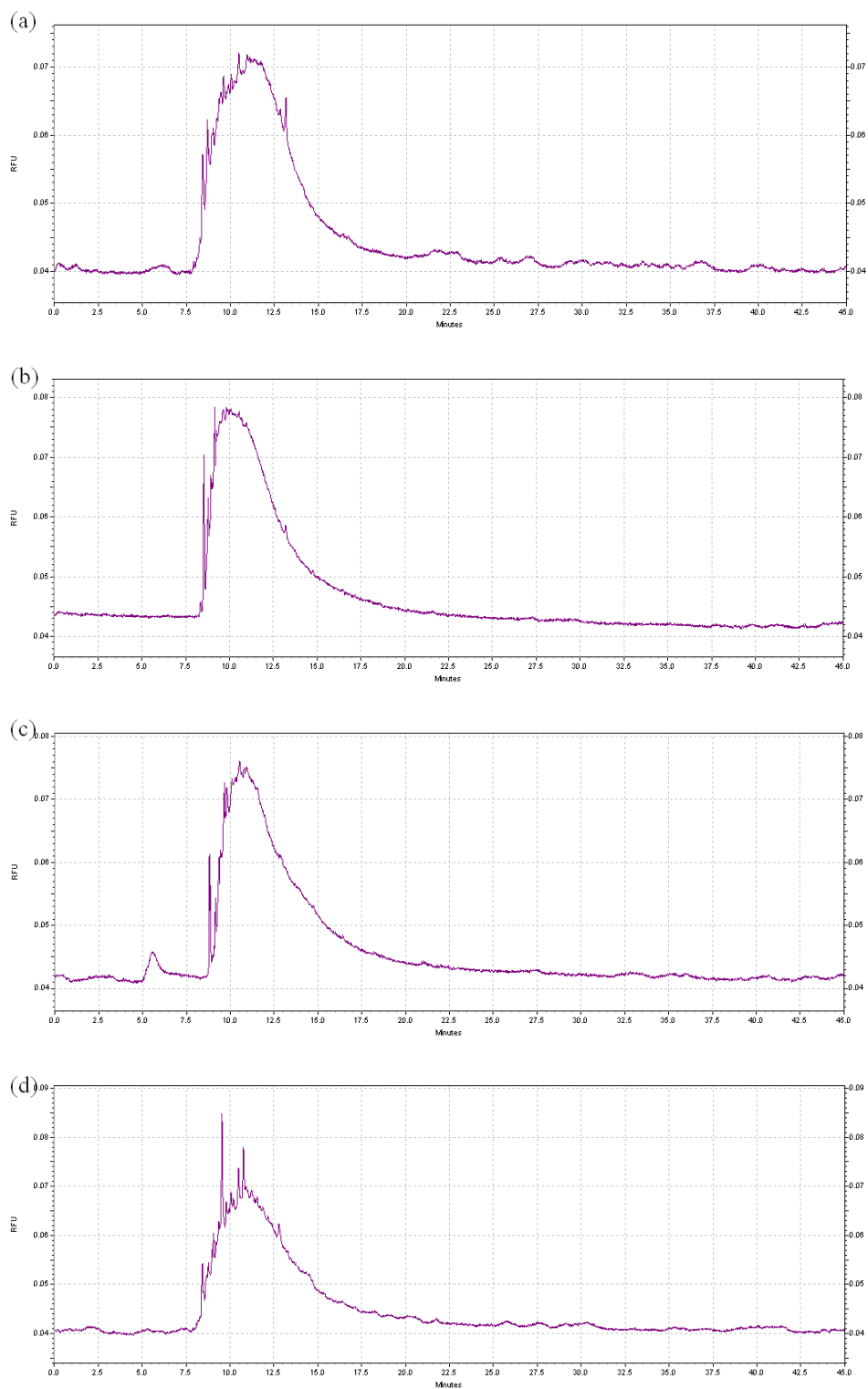
Annexe 2 : Comparaison des diagrammes de Van Krevelen pour l'analyse de NAFA en mode positif avec quatre sources d'ionisation différentes



Annexe 3 : 50 combinaisons de formules élémentaires pour l'assignement d'un ion détecté à 486,6573 da dans un échantillon de NAFA à pH 2 en présence de thorium avec une erreur maximale de 4,2 ppm à partir des atomes suivants : C, H, O, N, S, P et Th

Formule élémentaire	Equivalent de doubles liaisons	Erreur (ppm)
C ₁₂ H ₂₈ O ₃ P ₃ STh	0,5	-0,02
C ₁₃ H ₂₂ ON ₄ PS ₂ Th	5,5	-0,131
H ₁₀ ON ₄ PTh ₂	-1,5	-0,146
C ₅ H ₁₈ O ₄ N ₁₀ PSTh	2,5	0,186
C ₄ H ₂₄ O ₆ N ₆ P ₃ Th	-2,5	0,297
C ₁₈ H ₁₇ O ₇ Th	10,5	-0,415
C ₆ H ₃₁ N ₄ P ₆ Th	-3,5	-0,438
C ₃ H ₂₁ O ₇ N ₈ S ₂ Th	-2,5	-0,473
C ₁₄ H ₂₅ N ₂ P ₄ Th	5,5	0,639
C ₁₃ H ₃₀ PS ₄ Th	-0,5	0,681
C ₁₀ H ₂₁ O ₉ N ₂ STh	1,5	0,715
C ₁₁ H ₂₅ O ₄ N ₂ S ₃ Th	0,5	-0,79
C ₁₃ H ₁₄ O ₂ N ₈ PTh	11,5	-0,944
C ₅ H ₂₆ O ₃ N ₆ PS ₃ Th	-3,5	0,998
C ₂ H ₁₇ O ₁₂ N ₈ Th	-1,5	1,032
C ₅ H ₂₈ ON ₆ P ₃ S ₂ Th	-3,5	-1,208
C ₁₂ H ₁₈ O ₆ N ₄ PTh	6,5	1,374
C ₁₀ H ₂₃ O ₇ N ₂ P ₂ Th	1,5	-1,491
C ₁₁ H ₁₇ O ₅ N ₆ STh	6,5	-1,602
C ₇ H ₂₃ N ₈ P ₂ S ₂ Th	1,5	1,657
C ₂₂ H ₁₉ P ₂ Th	14,5	1,715
C ₆ H ₂₉ O ₂ N ₄ P ₄ STh	-3,5	1,768
C ₁₉ H ₂₁ O ₂ S ₂ Th	9,5	-1,92
C ₁₅ H ₉ ON ₁₀ Th	16,5	1,921
C ₆ H ₉ O ₂ Th ₂	2,5	-1,934
C ₄ H ₂₅ O ₂ N ₈ S ₄ Th	-3,5	-1,978
C ₅ H ₂₀ O ₂ N ₁₀ P ₃ Th	2,5	-2,02
C ₈ H ₂₆ O ₁₀ PSTh	-3,5	-2,15
C ₁₂ H ₂₆ O ₅ PS ₂ Th	0,5	2,186
C ₁₂ H ₃₀ OP ₅ Th	0,5	-2,226
C ₄ H ₂₂ O ₈ N ₆ PSTh	-2,5	2,503
C ₃ H ₂₃ O ₅ N ₈ P ₂ STh	-2,5	-2,679
C ₂ H ₅ N ₆ Th ₂	3,5	2,719
C ₁₉ H ₁₃ O ₃ N ₄ Th	15,5	-2,732
C ₁₅ H ₁₇ N ₆ S ₂ Th	10,5	2,733
C ₁₄ H ₂₃ O ₂ N ₂ P ₂ STh	5,5	2,845
C ₁₁ H ₂₇ O ₂ N ₂ P ₂ S ₂ Th	0,5	-2,996
C ₁₂ H ₂₁ N ₆ S ₃ Th	5,5	-3,107
C ₆ H ₁₉ O ₅ N ₈ P ₂ Th	2,5	3,162
C ₆ H ₂₁ O ₁₄ N ₂ Th	-2,5	-3,621
C ₉ H ₃₀ O ₅ PS ₃ Th	-4,5	-3,654
C ₁₁ H ₂₂ O ₁₀ PTh	1,5	3,691
C ₁₁ H ₁₉ O ₃ N ₆ P ₂ Th	6,5	-3,808
C ₇ H ₂₁ O ₂ N ₈ S ₃ Th	1,5	3,863
C ₁₂ H ₁₃ ON ₁₀ STh	11,5	-3,92
C ₂₂ H ₁₇ O ₂ STh	14,5	3,921
C ₆ H ₂₇ O ₄ N ₄ P ₂ S ₂ Th	-3,5	3,974
C ₁₉ H ₂₃ P ₂ STh	9,5	-4,126
CH ₁₈ O ₉ N ₁₀ PTh	-1,5	-4,15
C ₄ H ₂₇ N ₈ P ₂ S ₃ Th	-3,5	-4,184

Annexe 4 : Comparaison des électrophérogrammes de cinq substances humiques différentes
acquis dans les mêmes conditions (mode inverse à 25 °C et 13 kV d'échantillons à 600 mg/L
injectés 10 secondes à 0,5 psi dans un capillaire neutre de 50 µm de diamètre dans un électrolyte
composé de 20 mM C₂H₄O₂ / 30 mM C₂H₃O₂Na (pH 4,95)

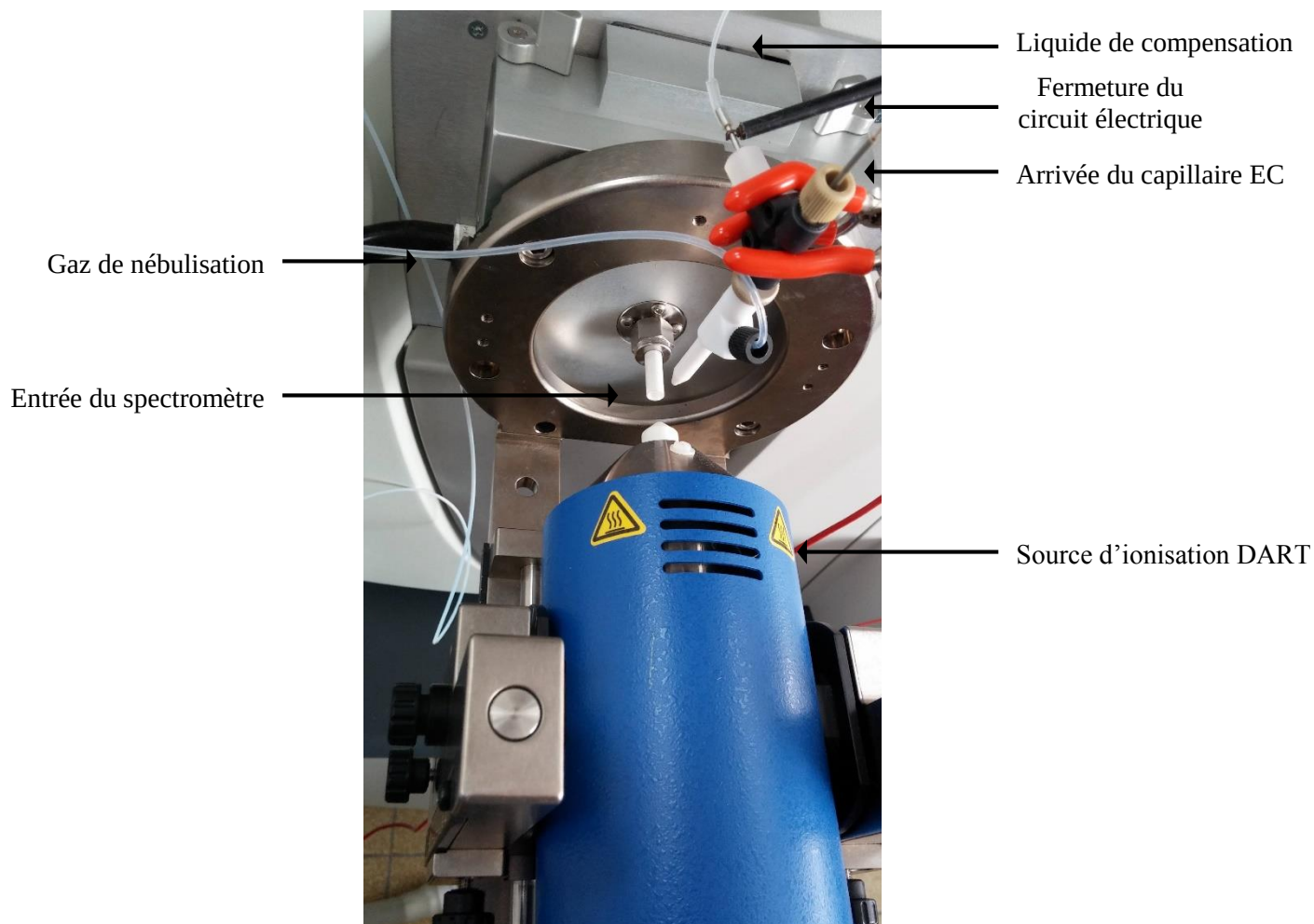


Annexe 5 : Photographies du couplage EC-DART-FT-MS utilisé

Vue d'ensemble :



Vue de l'interface :



Annexe 6 : Communications scientifiques

Communications significatives :

Séparation électrophorétique et spectrométrie de masse haute résolution, de nouvelles méthodes pour l'analyse des interactions microscopiques entre les actinides et la matière organique, 14^{èmes} Journées Nationales de Radiochimie et de Chimie Nucléaire, Orsay (France), 11 - 12 septembre 2014

New tools for the molecular-level interactions between actinides and humic substances studies, 38th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry, Lausanne (Suisse), 16 - 20 juin 2014

La spectrométrie de masse très haute résolution, un nouvel outil pour la détermination des interactions microscopiques entre les actinides et la matière organique environnementale, Journée Matières Organiques, Substances Humiques et Huméomique, Toulon (France), 15 avril 2014

La séparation électrophorétique des substances humiques : Développement et optimisation, 13^{èmes} Journées Nationales de Radiochimie et de Chimie Nucléaire, Nantes (France), 3 - 5 octobre 2012

Communications significatives :

B. Brunel, V. Philippini, M. Mendes, J. Aupiais, Actinide oxalate complexes formation as a function of temperature by capillary electrophoresis coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry, *Radiochimica Acta*, disponible en ligne (2014)

B. Brunel, B. Maxime, J. Aupiais, Use of new tools for the study of actinides microscopic speciation with humic substances, *en rédaction*

B. Brunel, J. Aupiais, Development of new methodology for the speciation study of actinides in complex media, *à venir*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 Kersting, A. B. *et al.* Migration of plutonium in ground water at the Nevada Test Site. *Nature* **397**, 56-59 (1999).
- 2 Choppin, G. R. Actinide speciation in aquatic systems. *Marine Chemistry* **99**, 83-92 (2006).
- 3 Choppin, G. R. & Wong, P. J. The chemistry of actinide behavior in marine systems. *Aquatic Geochemistry* **4**, 77-101 (1998).
- 4 Geckeis, H. & Rabung, T. Actinide geochemistry: From the molecular level to the real system. *Journal of Contaminant Hydrology* **102**, 187-195 (2008).
- 5 Artinger, R. *et al.* Humic colloid mediated transport of tetravalent actinides and technetium. *Radiochimica Acta* **91**, 743-750 (2003).
- 6 Zhao, P. H. *et al.* Mobilization of actinides by dissolved organic compounds at the Nevada Test Site. *Applied Geochemistry* **26**, 308-318 (2011).
- 7 Adloff, J.-P. & Guillaumont, R. *Fundamentals of radiochemistry*. CRC Press edn, 414 (1993).
- 8 Mendes, M. *Complexation du protactinium(V) par les acides oxalique et diethylenetriaminepentaacetique*, Université Paris-sud 11, (2010).
- 9 Choppin, G. R. Actinide speciation in the environment. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **273**, 695-703 (2007).
- 10 Morss, L. R., Edelstein, N. M., Fuger, J. & Katz, J. J. in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements* Vol. 1 (ed Springer) Ch. 4, 161-253 (2006).
- 11 Pearson, R. G. Hard and soft acids and bases. *Journal of the American Chemical Society* **85**, 3533-3538 (1963).
- 12 Choppin, G. R. & Jensen, M. P. in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements* Vol. 4 (ed Springer) Ch. 23, 2524-2621 (2006).
- 13 Kaltsoyannis, N., Hay, P. F., Li, J., Blaudau, J.-P. & Bursten, B. E. in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements* Vol. 3 (ed Springer) Ch. 18, 1893-2012 (2006).
- 14 Choppin, G. R. & Graffeo, A. J. Complexes of Trivalent Lanthanide and Actinide Ions. II. Inner-Sphere Ion Pairs. *Inorganic Chemistry* **4**, 1254-1257 (1965).
- 15 Choppin, G. R. & Strazik, W. F. Complexes of Trivalent Lanthanide and Actinide Ions. I. Outer-Sphere Ion Pairs. *Inorganic Chemistry* **4**, 1250-1254 (1965).
- 16 Seaborg, G. T. Nuclear Synthesis and Identification of New Elements. *Journal of Chemical Education* **62**, 392-395 (1965).
- 17 Belozarov, A. W. *et al.* Spontaneous-fission decay properties and production cross-sections for the neutron-deficient nobelium isotopes. *The European Physical Journal A* **16**, 447-456 (2003).
- 18 Ghiorso, A. *et al.* New Elements Einsteinium and Fermium, Atomic Numbers 99 and 100. *Physical Review* **99**, 1048-1049 (1955).
- 19 Weeks, M. E. & Leicester, H. M. *Discovery of elements*. 7th Edition edn, (Journal of Chemical Education, 1968).

- 20 Seaborg, G. T., Gofman, J. W. & Stroughton, R. W. Nuclear properties of U^{233} : a new fissionable isotope of uranium. *Physical Review* **71**, 378 (1947).
- 21 Wickleder, M. S., Fourest, B. & Dorhout, P. K. in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements* Vol. 1 (ed Springer) Ch. 3, 52-160 (2006).
- 22 Johansson, G., Magini, M. & Ohtaki, H. Coordination around thorium(IV) in aqueous perchlorate, chloride and nitrate solutions. *Journal of Solution Chemistry* **20**, 775-792 (1991).
- 23 Langmuir, D. The mobility of thorium in natural waters at low temperatures. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **44**, 1753-1766 (1980).
- 24 Östholts, E., Bruno, J. & Grenthe, I. On the influence of carbonate on mineral dissolution: III. The solubility of microcrystalline ThO_2 in CO_2 - H_2O media. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **58**, 613-623 (1994).
- 25 Raymond, D. P., Duffield, J. R. & Williams, D. R. Complexation of plutonium and thorium in aqueous environments. *Inorganica Chimica Acta* **140**, 309-313 (1987).
- 26 Reiller, P., Moulin, V., Casanova, F. & Dautel, C. On the study of Th(IV)-humic acid interactions by competition sorption studies with silica and determination of global interaction constants. *Radiochim. Acta* **91**, 513-524 (2003).
- 27 Miekeley, N. & L., K. I. Interactions between thorium and humic compounds in surface waters. *Inorganica Chimica Acta* **140**, 315-319 (1987).
- 28 Denecke, M. A., Bublitz, D., Kim, J. I., Moll, H. & Farkes, I. EXAFS investigation of the interaction of hafnium and thorium with humic acid and Bio-Rex70. *Journal of Synchrotron Radiation* **6**, 394-396 (1999).
- 29 Michel, H. *et al.* Radioanalytical determination of actinides and fission products in Belarus soils. *Talanta* **48**, 821-825 (1999).
- 30 Hummel, W., Anderegg, G., Rao, L., Puigdomenech, I. & Tochiyama, O. *Chemical Thermodynamics of Compounds and Complexes of U, Np, Pu, Am, Tc, Se, Ni and Zr with Selected Organic Ligands*. Vol. 9 (Elsevier, 2005).
- 31 Vallet, V., Priovalov, T., Wahlgren, U. & Grenthe, I. The mechanism of water exchange in $AmO_2(H_2O)_5^{2+}$ and in the isoelectronic $UO_2(H_2O)_5^{2+}$ and $NpO_2(H_2O)_5^{2+}$ complexes as studied by quantum chemical Methods. *Journal of the American Chemical Society* **126**, 7766-7767 (2004).
- 32 Moll, H., Denecke, M. A., Jalilehvand, F., Sandström, M. & Grenthe, I. Structure of the aqua ions and fluoride complexes of uranium(IV) and thorium(IV) in aqueous solution an EXAFS study. *Inorganic Chemistry* **38**, 1795-1799 (1999).
- 33 Gueniot, B., Munier-Lamy, C. & Berthelin, J. Geochemical behavior of uranium in soils, part I. Influence of pedogenetic processes on the distribution of uranium in aerated soils. *Journal of Geochemical Exploration* **31**, 21-37 (1988).
- 34 Moulin, V., Tits, J. & Ouzounian, G. Actinides speciation in the presence of humic substances in natural water conditions. *Radiochim. Acta* **58/59**, 179-190 (1992).
- 35 McMillan, E. Radioactive recoils from uranium activated by neutrons. *Physical Review* **55**, 510 (1939).
- 36 McMillan, E. & Abelson, P. H. Radioactive Element 93. *Physical Review* **57**, 1185-1186 (1940).
- 37 Segrè, E. An unsuccessful search for transuranic elements. *Physical Review* **55**, 1104-1105 (1939).
- 38 Yoshida, Z., Johnson, S. G., Kimura, T. & Krsul, J. R. in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements* Vol. 2 (ed Springer) Ch. 6, 699-813 (2006).

- 39 Yamana, H., Yamamoto, T., Kobayashi, K., Mitsugashira, T. & Moriyama, H. Production of pure ^{236}Pu tracer for the assessment of plutonium in the environnement. *Journal of Nuclear Science and Technology* **38**, 859-865 (2001).
- 40 Peppard, D. F., Mason, G. W., Gray, P. R. & Mech, J. F. Occurrence of the $(4n + 1)$ series in nature. *Journal of the American Chemical Society* **74**, 6081-6084 (1952).
- 41 Peppard, D. F. *et al.* Isolation of microgram quantities of naturally-occurring plutonium and examination of its isotopic composition. *Journal of the American Chemical Society*, 2529-2531 (1951).
- 42 Roussel-Debet, S., Garnier-Laplace, J. & Colle, C. *Fiche radionucléide, neptunium 237 et environnement*. (IRSN, 2001).
- 43 Holm, E., Aarkrog, A. & Ballestra, S. Determination of ^{237}Np in large volume samples of sea water by a radiochemical procedure. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **115**, 5-11 (1987).
- 44 Seaborg, G. T., Wahl, A. C. & Kennedy, J. W. Radioactive Element 94 from deuterons on uranium. *Physical Review* **69**, 367 (1946).
- 45 Clark, D. L., Hecker, S. S., Jarvinen, G. D. & Neu, M. P. in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements* Vol. 2 (ed Springer) Ch. 7, 813-1265 (2006).
- 46 Nikonov, M. V., Gogolev, A. V., Tananaev, G. & Myasoedov, B. F. Experimental data to the existence of plutonium(VIII) in alkaline solution. *Mendeleev Commun* **15**, 50-52 (2005).
- 47 Clark, D. L. The chemical complexities of plutonium. *Los Alamos Science* **26**, 364-381 (2000).
- 48 UNSCEAR. *Ionizing radiation: sources and biological effects*. Vol. Annexe E : Exposures resulting from nuclear explosions 211-248 (United Nations, 1982).
- 49 Beaugelin-Seiller, K., Frayssé, B. & Roussel-Debet, S. *Fiche radionucléides, plutonium et environnement*. (IRSN, 2002).
- 50 AEN-OCDE. *Tchernobyl. Evaluation de l'impact radiologique et sanitaire*. (AEN OCDE, 2002).
- 51 UNSCEAR. *Sources, effects and risks of ionizing radiation*. Vol. 1 321 (United Nations, 2013).
- 52 Qiao, J., Hou, X., Miro, M. & Roos, P. Determination of plutonium isotopes in waters and environmental solids: a review. *Analytica Chimica Acta* **652**, 66-84 (2009).
- 53 Komosa, A. Migration of plutonium isotopes in forest soil profiles in Lublin region (Eastern Poland). *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **240**, 19-24 (1998).
- 54 Seaborg, G. T., James, R. A., Ghiorso, A. & Morgan, L. O. Preparation of transplutonium isotopes by neutron irradiation. *Physical Review* **78**, 472 (1950).
- 55 Runde, W. H. & Schulz, W. W. in *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements* Vol. 2 (ed Springer) Ch. 8, 1265-1395 (2006).
- 56 Miguiditchian, M. *et al.* Thermodynamic study of the complexation of actinide and lanthanide cations by ADPTZ, a trivalent N-donor ligand. *Inorganic Chemistry* **44**, 1404-1412 (2005).
- 57 Garnier-Laplace, J. & Roussel-Debet, S. *Fiche radionucléides, americium 241 et environnement*. (IRSN, 2001).
- 58 Pourcelot, L., Louvat, D., Gauthier-Lafaye, F. o. & Stille, P. Formation of radioactivity enriched soils in mountain areas. *Journal of Environmental Radioactivity* **68**, 215-233 (2003).
- 59 Mboulou, M. O., Hurtgen, C., Hofkens, K. & Vandecasteele, C. Vertical distributions in the Kapachi soil of the plutonium isotopes (^{238}Pu , $^{239,240}\text{Pu}$, ^{241}Pu), of ^{241}Am , and of $^{243,244}\text{Cm}$, eight years after the Chernobyl accident. *Journal of Environmental Radioactivity* **39**, 231-237 (1998).

- 60 McDonald, S., Bishop, A. G., Prenzler, P. D. & Robards, K. Analytical chemistry of freshwater humic substances. *Analytica Chimica Acta* **527**, 105-124 (2004).
- 61 Reuter, J. H. & Perdue, E. M. Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **41**, 325-334 (1977).
- 62 Janõs, P. Separation methods in the chemistry of humic substances. *Journal of Chromatography A* **983**, 1-18 (2003).
- 63 Wood, S. A. The role of humic substances in the transport and fixation of metals of economic interest (Au, Pt, Pd, U, V). *Ore Geology Reviews* **11**, 1-31 (1996).
- 64 Schulten, H.-R. & Schnitzer, M. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. *Biol Fertil Soils* **26**, 1-15 (1998).
- 65 Wilson, M. A. & Goh, K. M. C-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy of humic substances. *Plant and Soil* **46**, 287-289 (1977).
- 66 Malcolm, L. R. The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. *Analytica Chimica Acta* **232**, 19-30 (1990).
- 67 Sihombing, R. *et al.* Origins of humus variation. Effects of leaching and seasonal flooding on aromaticity. *Organic Geochemistry* **17**, 85-91 (1991).
- 68 Watt, B. E., Malcolm, R. L., Hayes, M. H. B., Clark, N. W. E. & Chipman, J. K. Chemistry and potential mutagenicity of humic substances in waters from different watersheds in Britain and Ireland. *Water Research* **30**, 1502-1516 (1996).
- 69 Jones, M. N. & Bryam, N. D. Colloidal properties of humic substances. *Advances in Colloid and Interface Science* **78**, 1-48 (1998).
- 70 Piccolo, A. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science* **166**, 810-832 (2001).
- 71 Sutton, R. & Sposito, G. Molecular Structure in Soil Humic Substances: The New View. *Environmental Science & Technology* **39**, 9009-9015 (2005).
- 72 Piccolo, A., Cozzolino, A., Conte, P. & Spaccini, R. Polymerization of humic substances by an enzyme-catalyzed oxidative coupling. *Naturwissenschaften* **87**, 391-394 (2000).
- 73 Cozzolino, A., Conte, P. & Piccolo, A. Conformational changes of humic substances induced by some hydroxy-, keto-, and sulfonic acids. *Soil Biology and Biochemistry* **33**, 563-571 (2001).
- 74 Cozzolino, A. & Piccolo, A. Polymerization of dissolved humic substances catalyzed by peroxidase. Effects of pH and humic composition. *Organic Geochemistry* **33**, 281-294 (2002).
- 75 Senesi, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals : Part II. The fluorescence spectroscopy approach. *Analytica Chimica Acta* **232**, 77-106 (1990).
- 76 Conte, P. & Piccolo, A. Conformational Arrangement of Dissolved Humic Substances. Influence of Solution Composition on Association of Humic Molecules. *Environmental Science & Technology* **33**, 1682-1690 (1999).
- 77 McCarthy, J. F., Sanford, W. E. & Stafford, P. L. Lanthanide field tracers demonstrate enhanced transport of transuranic radionuclides by natural organic matter. *Environmental Science & Technology* **32**, 3901-3906 (1988).
- 78 Qaim, S. M. & Coenen, H. H. in *General and Interdisciplinary Band Vol. 3* (Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, 2004).
- 79 Schwantes, J. M. & Batchelor, B. in *Plutonium Futures - The Science*. (eds K. K. S. Pillay & K. C. Kim) 292-295 (AIP).
- 80 Zavarin, M. *et al.* in *Plutonium Futures - The Science*. (ed G. D. Jarvinen) 102-104 (AIP).

- 81 Wilson, M. A., Philp, R. P., Gillam, A. H., Gilbert, T. D. & Tate, K. R. Comparison of the structures of humic substances from aquatic and terrestrial sources by pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **47**, 497-502 (1983).
- 82 Mantoura, R. F. C. & Riley, J. P. The use of gel filtration in the study of metal binding by humic acids and related compounds. *Analytica Chimica Acta* **78**, 193-200 (1975).
- 83 Le Goff, F. & Bonnomet, V. Devenir et comportement des métaux dans l'eau : biodisponibilité et modèles BLM. Report No. DRC-03-46822-Flg/JL-03.0693, 85 (INERIS, Paris, 2004).
- 84 Grenthe, I. & Puigdomenech, I. *Modelling in Aquatic Chemistry*. (OECD, 1997).
- 85 Ephraim, J. & Allard, B. in *Ion exchange and solvent extraction. A series of advances* Vol. 11 (eds J.A. Marinsky & Y. Marcus) 335-367 (Marcel Dekker, 1993).
- 86 Norden, M., Ephraim, J. H. & Allard, B. The binding of strontium and europium by an aquatic fulvic acid-ion exchange distribution and ultrafiltration studies. *Talanta* **40**, 1425-1432 (1993).
- 87 Paxeus, N. & Wedborg, M. Calcium binding to an aquatic fulvic acid. *Lecture Notes in Earth System Sciences* **33**, 287-296 (1991).
- 88 Tipping, E. WHAM - a chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Computers & Geosciences* **20**, 973-1023 (1994).
- 89 Stockdale, A., Bryan, N. D., Lofts, S. & Tipping, E. Investigating humic substances interactions with Th⁴⁺, , and at high pH: Relevance to cementitious disposal of radioactive wastes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **121**, 214-228 (2013).
- 90 Tipping, E. Modeling the competition between alkaline earth cations and trace metal species for binding by humic substances. *Environmental Science & Technology* **27**, 520-529 (1993).
- 91 Choppin, G. R. & Labonne-Wall, N. Comparison of two models for metal-humic interactions. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **221**, 67-71 (1997).
- 92 Warwick, P., Hall, T. & Read, D. A comparative evaluation of metal humic and fulvic acid predictive models. *Radiochim. Acta* **73**, 11-19 (1996).
- 93 Higgo, J. J. W., Kinniburgh, D., Smith, B. & Tipping, E. Complexation of Co²⁺, Ni²⁺, UO₂²⁺ and Ca²⁺ by humic substances in groundwaters. *Radiochim. Acta* **61**, 91-103 (1993).
- 94 Saito, T., Nagasaki, S., Tanaka, S. & Koopal, L. K. Application of the NICA-Donnan model for proton, copper and uranyl binding to humic acid. *Radiochim. Acta* **92**, 567-574 (2004).
- 95 Benedetti, M. F., Milne, C. J., Kinniburgh, D. G., Van Riemsdijk, W. H. & Koopal, L. K. Metal ion binding to humic substances: application of the non-ideal competitive adsorption model. *Environmental Science & Technology* **29**, 446-457 (1995).
- 96 Marinsky, J. A., Reddy, M. M., Ephraim, J. H. & Mathuthu, A. S. Computational scheme for the prediction of metal ion binding by a soil fulvic acid. *Analytica Chimica Acta* **302**, 309-322 (1995).
- 97 Bion, L. *et al.* Influence of thermodynamic database on the modelisation of americium(III) speciation in a simulated biological medium. *Radiochimica Acta* **93**, 715-718 (2005).
- 98 Falck, W. E. The incorporation of natural organic matter - Cation interaction into speciation code PHREEQE. *Lecture Notes in Earth System Sciences* **33**, 277-285 (1991).
- 99 Allison, J. D. & Perdue, E. M. in *Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health* (eds N. Senesi & T.M. Miano) 927-942 (Elsevier, 1994).
- 100 Moulin, V. & Moulin, C. Fate of actinides in the presence of humic substances under conditions relevant to nuclear waste disposal. *Applied Geochemistry* **10**, 573-580 (1995).

- 101 Zhao, P. *et al.* Mobilization of actinides by dissolved organic compounds at the Nevada Test Site. *Applied Geochemistry* **26**, 308-318 (2011).
- 102 Reiller, P. E., Evans, N. D. M. & Szabo, G. Complexation parameters for the actinides(IV)-humic acid system: a search for consistency and application to laboratory and field observations. *Radiochim. Acta* **96**, 345-358 (2008).
- 103 Choppin, G. R. Actinide speciation in the environment. *Radiochimica Acta* **91**, 645-649 (2003).
- 104 Alfassi, Z. B. On the precipitation of salts/complexes of trivalent cations with humic acid. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **262**, 77-81 (2004).
- 105 Schmeide, K., Reich, T., Sachs, S. & Bernhard, G. Plutonium(III) complexation by humic substances studied by X-ray absorption fine structure spectroscopy. *Inorganica Chimica Acta* **359**, 237-242 (2006).
- 106 Mathuthu, A. S. & Ephraim, J. H. Calcium binding by fulvic acids studied by an ion selective electrode and an ultrafiltration method. *Talanta* **40**, 521-526 (1993).
- 107 Kim, J. I. & Sekine, T. Complexation of neptunium(V) with humic acid. *Radiochim. Acta* **55**, 187-192 (1991).
- 108 Gao, K., Pearce, J., Jones, J., Taylor, C. & Taylor, C. Interaction between peat, humic acid and aqueous metal ions. *Environmental Geochemistry Health* **21**, 13-26 (1999).
- 109 Czerwinski, K. R., Buckau, G., Scherbaum, F. & Kim, J. I. Complexation of the uranyl ion with aquatic humic acid. *Radiochimica Acta* **65**, 111-119 (1994).
- 110 Rao, L. F. & Choppin, G. R. Thermodynamic study of the complexation of neptunium(V) with humic acids. *Radiochim. Acta* **69**, 87-95 (1995).
- 111 Moulin, V. M., Caceci, M. S. & Theyssier, M. J. Complexation behaviour of humic substances from granitic groundwater towards Am(III). *Lecture Notes in Earth System Sciences* **33**, 305-313 (1991).
- 112 Chung, K. H., Lee, W., Cho, Y. H., Choi, G. S. & Lee, C. W. Comparison of synchronous and laser-induced fluorescence spectroscopy applied to the Eu(III)-fulvate complexation. *Talanta* **65**, 389-395 (2005).
- 113 Ephraim, J. H. & Allard, B. Copper binding by an aquatic fulvic acid: heterogeneity considerations. *Environment International* **20**, 89-95 (1994).
- 114 Zuyi, T., Jinzhou, D. & Jun, L. Use of the ion exchange method for determination of stability constants of uranyl ions with three soil fulvic acids. *Radiochim. Acta* **72**, 51-54 (1996).
- 115 Glaus, M. A., Hummel, W. & Van Loon, L. R. Trace metal-humate interactions. I. Experimental determination of conditional stability constants. *Applied Geochemistry* **15**, 953-973 (2000).
- 116 Czerwinski, K. R., Kim, J. I., Rhee, D. S. & Buckau, G. Complexation of trivalent actinide ions (Am^{3+} , Cm^{3+}) with humic acid: the effect of ionic strength. *Radiochimica Acta* **72**, 179-187 (1996).
- 117 Sachs, S. & Bernhard, G. Influence of humic acids on the actinide migration in the environment: suitable humic acid model substances and their application in studies with uranium—a review. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **290**, 17-29 (2011).
- 118 Stern, J. C., Foustoukos, D. I., Sonke, J. E. & Salters, V. J. M. Humic acid complexation of Th, Hf and Zr in ligand competition experiments: Metal loading and pH effects. *Chemical Geology* **363**, 241-249 (2014).
- 119 Szabo, G., Guczi, J., Reiller, P., Miyajima, T. & Bulman, R. A. Effect of ionic strength on the complexation of Pu(IV) with humic acid. *Radiochim. Acta* **98**, 13-18 (2010).
- 120 Franz, C., Herrmann, G. & Trautmann, N. Complexation of samarium(III) and americium(III) with humic acid at very low metal concentrations. *Radiochimica Acta* **77**, 177-181 (1997).

- 121 Bryan, N. D. *et al.* The effects of humic substances on the transport of radionuclides: Recent improvements in the prediction of behaviour and the understanding of mechanisms. *Applied Geochemistry* **27**, 378-389 (2012).
- 122 Grenthe, I. Thermodynamics in migration chemistry. *Radiochimica Acta* **52/53**, 425-432 (1991).
- 123 André, C. & Choppin, G. R. Reduction of Pu(V) by humic acid. *Radiochimica Acta* **88**, 613-616 (2000).
- 124 Zeh, P., Kim, J. I., Marquardt, C. M. & Artinger, R. The reduction of Np(V) in groundwater rich in humic substances. *Radiochim. Acta* **87**, 23-28 (1999).
- 125 Choppin, G. R. & Clark, S. B. The kinetic interactions of metal ions with humic acids. *Marine Chemistry* **36**, 27-38 (1991).
- 126 Monsallier, J.-M. *et al.* Spectroscopic study (TRLFS and EXAFS) of the kinetics of An(III)/Ln(III) humate interaction. *Radiochim. Acta* **91**, 567-574 (2003).
- 127 Makarov, A. & Scigelova, M. Coupling liquid chromatography to Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1217**, 3938-3945 (2010).
- 128 Cech, N. B. & Enke, C. G. Practical implications of some recent studies in electrospray ionization fundamentals. *Mass Spectrometry Reviews* **20**, 362-387 (2001).
- 129 Kebarle, P. & Verkerk, U. H. in *In Electrospray and MALDI mass spectrometry: fundamentals, instrumentation, practicalities, and biological applications* (ed John Wiley & Sons) (2010).
- 130 Kebarle, P. & Peschke, M. On the mechanisms by which the charged droplets produced by electrospray lead to gas phase ions. *Analytica Chimica Acta* **406**, 11-35 (2000).
- 131 Marshall, A. G., Hendrickson, C. L. & Jackson, G. S. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: A primer. *Mass Spectrometry Reviews* **17**, 1-35 (1998).
- 132 Heeren, R. M. A., Kleinnijenhuis, A. J., McDonnell, L. A. & Mize, T. H. A mini-review of mass spectrometry using high-performance FTICR-MS methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **378**, 1048-1058 (2004).
- 133 Comisarow, M. B. & Marshall, A. G. The Early Development of Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance (FT-ICR) Spectroscopy. *Journal of Mass Spectrometry* **31**, 581-585 (1996).
- 134 Kujawinski, E. B. *et al.* Identification of possible source markers in marine dissolved organic matter using ultrahigh resolution mass spectrometry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **73**, 4384-4399 (2009).
- 135 Kido Soule, M. C., Longnecker, K., Giovannoni, S. J. & Kujawinski, E. B. Impact of instrument and experiment parameters on reproducibility of ultrahigh resolution ESI FT-ICR mass spectra of natural organic matter. *Organic Geochemistry* **41**, 725-733 (2010).
- 136 Brown, T. L. & Rice, J. A. Effect of experimental parameters on the ESI FT-ICR mass spectrum of fulvic acid. *Analytical Chemistry* **75**, 384-390 (2000).
- 137 Piccolo, A. & Spiteller, M. Electrospray ionization mass spectrometry of terrestrial humic substances and their size fractions. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **377**, 1047-1059 (2003).
- 138 Nebbioso, A., Piccolo, A. & Spiteller, M. Limitations of electrospray ionization in the analysis of a heterogeneous mixture of naturally occurring hydrophilic and hydrophobic compounds. *RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY* **24**, 3163-3170 (2010).
- 139 Reemtsma, T. Determination of molecular formulas of natural organic matter molecules by (ultra-) high-resolution mass spectrometry: Status and needs. *Journal of Chromatography A* **1216**, 3687-3701 (2009).

- 140 Stenson, A. C., Landing, W. M., Marshall, A. G. & Cooper, W. T. Ionization and Fragmentation of Humic Substances in Electrospray Ionization Fourier Transform-Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **74**, 4397-4409 (2002).
- 141 Hockaday, W. C., Purcell, J. M., Marshall, A. G., Baldock, J. A. & Hatcher, P. G. Electrospray and photoionization mass spectrometry for the characterization of organic matter in natural waters: a qualitative assessment. *Limnology Oceanography: Methods* **7**, 81-95 (2009).
- 142 Klaus, U., Pfeifer, T. & Spiteller, M. APCI-MS/MS: A Powerful Tool for the Analysis of Bound Residues Resulting from the Interaction of Pesticides with DOM and Humic Substances. *Environmental Science & Technology* **34**, 3514-3520 (2000).
- 143 Pfeifer, T., Klaus, U., Hoffmann, R. & Spiteller, M. Characterisation of humic substances using atmospheric pressure chemical ionisation and electrospray ionisation mass spectrometry combined with size-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A* **926**, 151-159 (2001).
- 144 Hertkorn, N. *et al.* Natural Organic Matter and the Event Horizon of Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **80**, 8908-8919 (2008).
- 145 Piccolo, A., Spiteller, M. & Nebbioso, A. Effects of sample properties and mass spectroscopic parameters on electrospray ionization mass spectra of size-fractions from a soil humic acid. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **397**, 3071-3078 (2010).
- 146 Lin, P., Rincon, A. G., Kalberer, M. & Yu, J. Z. Elemental Composition of HULIS in the Pearl River Delta Region, China: Results Inferred from Positive and Negative Electrospray High Resolution Mass Spectrometric Data. *Environmental Science & Technology* **46**, 7454-7462 (2012).
- 147 Kujawinski, E. B. & Behn, M. D. Automated Analysis of Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectra of Natural Organic Matter. *Analytical Chemistry* **78**, 4363-4373 (2006).
- 148 Sleighter, R. L. & Hatcher, P. G. Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM) along a river to ocean transect of the lower Chesapeake Bay by ultrahigh resolution electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Marine Chemistry* **110**, 140-152 (2008).
- 149 Sleighter, R. L., McKee, G. A. & Hatcher, P. G. Direct Fourier transform mass spectral analysis of natural waters with low dissolved organic matter. *Organic Geochemistry* **40**, 119-125 (2009).
- 150 D'Andrilli, J., Foreman, C. M., Marshall, A. G. & McKnight, D. M. Characterization of IHSS Pony Lake fulvic acid dissolved organic matter by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry and fluorescence spectroscopy. *Organic Geochemistry* **65**, 19-28 (2013).
- 151 Rice, J. A. & MacCarthy, P. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. *Organic Geochemistry* **17**, 635-648 (1991).
- 152 Reiller, P., Amekraz, B. & Moulin, C. Sorption of Aldrich Humic Acid onto Hematite: Insights into Fractionation Phenomena by Electrospray Ionization with Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology* **40**, 2235-2241 (2006).
- 153 Kujawinski, E. B., Del Vecchio, R., Blough, N. V., Klein, G. C. & Marshall, A. G. Probing molecular-level transformations of dissolved organic matter: insights on photochemical degradation and protozoan modification of DOM from electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Marine Chemistry* **92**, 23-37 (2004).
- 154 Bezemer, T. M. *et al.* Plant species and functional group effects on abiotic and microbial soil properties and plant–soil feedback responses in two grasslands. *Journal of Ecology* **94**, 893-904 (2006).

- 155 Ebersberger, D., Wermbter, N., Niklaus, P. A. & Kandeler, E. Effects of long term CO₂ enrichment on microbial community structure in calcareous grassland. *Plant and Soil* **264**, 313-323 (2004).
- 156 Bossio, D. A., Scow, K. M., Gunapala, N. & Graham, K. J. Determination of soil microbial communities: effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles. *Microb Ecol* **36**, 1-12 (1998).
- 157 Zbytniewski, R. & Buszewski, B. Characterization of natural organic matter (NOM) derived from sewage sludge compost. Part 1: chemical and spectroscopic properties. *Bioresource Technology* **96**, 471-478 (2005).
- 158 Grannas, A. M., Hockaday, W. C., Hatcher, P. G., Thompson, L. G. & Mosley-Thompson, E. New revelations on the nature of organic matter in ice cores. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* **111**, D04304 (2006).
- 159 Bhatia, M. P., Das, S. B., Longnecker, K., Charette, M. A. & Kujawinski, E. B. Molecular characterization of dissolved organic matter associated with the Greenland ice sheet. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **74**, 3768-3784 (2010).
- 160 Singer, G. A. *et al.* Biogeochemically diverse organic matter in Alpine glaciers and its downstream fate. *Nature Geosci* **5**, 710-714 (2012).
- 161 Stubbins, A. *et al.* Anthropogenic aerosols as a source of ancient dissolved organic matter in glaciers. *Nature Geosci* **5**, 198-201 (2012).
- 162 Kim, S., Kapla, L. A. & Hatcher, P. G. Biodegradable dissolved organic matter in a temperate and a tropical stream determined from ultra-high resolution mass spectrometry. *Limnology Oceanography* **51**, 1054-1063 (2006).
- 163 Cody, R. B., Laramée, J. A., Nilles, J. M. & Dust, H. D. Direct Analysis in Real Time (DART) mass spectrometry. *JOEL News* **40**, 8-12 (2005).
- 164 Cooks, R. G., Ouyang, Z., Takats, Z. & Wiseman, J. M. Ambient Mass Spectrometry. *Science* **311**, 1566-1570 (2006).
- 165 Cody, R. B., Laramée, J. A. & Dust, H. D. Versatile new ion source for the analysis of materials in open air under ambient conditions. *Analytical Chemistry* **77**, 2297-2302 (2005).
- 166 Harris, G. A., Hostetler, D. M., Hampton, C. Y. & Fernandez, F. M. Comparaison of the internal energy deposition of direct analysis in real time and electrospray ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of American Society for Mass Spectrometry* **21**, 855-863 (2010).
- 167 Bos, S., van Leeuwen, S. & Karst, U. From fundamentals to applications: recent developments in atmospheric pressure photoionization mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **384**, 85-99 (2006).
- 168 Podgorski, D. C., McKenna, A. M., Rodgers, R. P., Marshall, A. G. & Cooper, W. T. Selective Ionization of Dissolved Organic Nitrogen by Positive Ion Atmospheric Pressure Photoionization Coupled with Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **84**, 5085-5090 (2012).
- 169 Robb, D. B., Covey, T. R. & Bruins, A. P. Atmospheric Pressure Photoionization: An Ionization Method for Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **72**, 3653-3659 (2000).
- 170 Robb, D. B. & Blades, M. W. State-of-the-art in atmospheric pressure photoionization for LC/MS. *Analytica Chimica Acta* **627**, 34-49 (2008).
- 171 Makarov, A. *et al.* Performance Evaluation of a Hybrid Linear Ion Trap/Orbitrap Mass Spectrometer. *Analytical Chemistry* **78**, 2113-2120 (2006).
- 172 Perry, R. H., Cooks, R. G. & Noll, R. J. Orbitrap mass spectrometry: Instrumentation, ion motion and applications. *Mass Spectrometry Reviews* **27**, 661-699 (2008).

- 173 Scigelova, M. & Makarov, A. Orbitrap Mass Analyzer – Overview and Applications in Proteomics (supplementary data). *Proteomics* **6**, 16-21 (2006).
- 174 Zubarev, R. A. & Makarov, A. Orbitrap Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **85**, 5288-5296 (2013).
- 175 Hu, Q. *et al.* The Orbitrap: a new mass spectrometer. *Journal of Mass Spectrometry* **40**, 430-443 (2005).
- 176 Reemtsma, T., These, A., Springer, A. & Linscheid, M. Differences in the molecular composition of fulvic acid size fractions detected by size-exclusion chromatography–on line Fourier transform ion cyclotron resonance (FTICR) mass spectrometry. *Water Research* **42**, 63-72 (2008).
- 177 Witt, M., Fuchser, J. & Koch, B. P. Fragmentation Studies of Fulvic Acids Using Collision Induced Dissociation Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **81**, 2688-2694 (2009).
- 178 Ramucal, C. K., Cory, R. M., Sander, M. & McNeill, K. Low molecular weight components in an aquatic humic substances as characterized by membrane dialysis and Orbitrap mass spectrometry. *Environmental Science & Technology* **46**, 9350-9359 (2012).
- 179 Hunt, S. M., Sheil, M. M., Belov, M. & Derrick, P. J. Probing the Effects of Cone Potential in the Electrospray Ion Source: Consequences for the Determination of Molecular Weight Distributions of Synthetic Polymers. *Analytical Chemistry* **70**, 1812-1822 (1998).
- 180 Gabelica, V. & Pauw, E. D. Internal energy and fragmentation of ions produced in electrospray sources. *Mass Spectrometry Reviews* **24**, 566-587 (2005).
- 181 Moulin, V., Reiller, P., Amekraz, B. & Moulin, C. Direct characterization of iodine covalently bound to fulvic acids by electrospray mass spectrometry. *RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY* **15**, 2488-2496 (2001).
- 182 Xu, C. *et al.* Novel molecular-level evidence of iodine binding to natural organic matter from Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Science of the Total Environment* **449**, 244-252 (2013).
- 183 Moulin, C. *et al.* Electrospray mass spectrometry for actinides and lanthanide speciation. *Journal of Alloys and Compounds* **408-412**, 1242-1245 (2006).
- 184 Colette, S. *et al.* Trivalent Lanthanide Interactions with a Terdentate Bis(dialkyltriazinyl)pyridine Ligand Studied by Electrospray Ionization Mass Spectrometry. *Inorganic Chemistry* **42**, 2215-2226 (2003).
- 185 Colette, S. *et al.* Use of Electrospray Mass Spectrometry (ESI-MS) for the Study of Europium(III) Complexation with Bis(dialkyltriazinyl)pyridines and Its Implications in the Design of New Extracting Agents. *Inorganic Chemistry* **41**, 7031-7041 (2002).
- 186 Kobarle, P. A brief overview of the present status of the mechanisms involved in electrospray mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* **35**, 804-817 (2000).
- 187 D'Andrilli, J. *et al.* Comprehensive characterization of marine dissolved organic matter by Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry with electrospray and atmospheric pressure photoionization. *RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY* **24**, 643-650 (2010).
- 188 Thurman, M. *Organic geochemistry of natural waters*. (Springer Science & Business Media, 1985).
- 189 Reiller, P. Prognosticating the humic complexation for redox sensitive actinides through analogy, using the charge modelisation model. *Radiochimica Acta* **93**, 43-55 (2005).
- 190 Walther, C., Rothe, J., Schimmelpfennig, B. & Fuss, M. Thorium nanochemistry: the solution structure of the Th(IV)-hydroxo pentamer. *Dalton Transactions* **41**, 10941-10947 (2012).

- 191 Cartwright, A. J., May, C. C., Worsfold, P. J. & Keith-Roach, M. J. Characterisation of thorium-ethylenediaminetetraacetic acid and thorium-nitrilotriacetic acid species by electrospray ionisation-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **590**, 125-131 (2007).
- 192 Reinoso-Maset, E., Worsfold, P. J. & Keith-Roach, M. J. Evaluation of electrospray ionisation mass spectrometry as a technique for the investigation of competitive interactions: A case study of the ternary Th-Mn-EDTA system. *RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY* **26**, 2755-2762 (2012).
- 193 Jaison, P. G., Kumar, P., Telmore, V. M. & Aggrawal, S. K. Electrospray ionization mass spectrometric studies on uranyl complex with α -hydroxisobutyric acid in water-methanol medium. *RAPID COMMUNICATIONS IN MASS SPECTROMETRY* **27**, 1105-1118 (2012).
- 194 Sleighter, R. L. & Hatcher, P. G. (ed Prof. Goran Nikolic) (InTech, 2011).
- 195 New, E. J., Congreve, A. & Parker, D. Definition of the uptake mechanism and sub-cellular localisation profile of emissive lanthanide complexes as cellular optical probes. *Chemical Science* **1**, 111-118 (2010).
- 196 Atkinson, P. *et al.* Azaxanthenes and azathioxanthenes are effective sensitizers for europium and terbium luminescence. *Organic & Biomolecular Chemistry* **4**, 1707-1722 (2006).
- 197 Murray, B. S., New, E. J., Pal, R. & Parker, D. Critical evaluation of five emissive europium(iii) complexes as optical probes: correlation of cytotoxicity, anion and protein affinity with complex structure, stability and intracellular localisation profile. *Organic & Biomolecular Chemistry* **6**, 2085-2094 (2008).
- 198 Lombard, G. L. & Dowell, V. R. Comparison of three reagents for detecting indole production by anaerobic bacteria in microtest systems. *Journal of Clinical Microbiology* **18**, 609-613 (1983).
- 199 Cheng, X. & van Breemen, R. B. Mass spectrometry-based screening for inhibitors of beta-amyloid protein aggregation. *Analytical Chemistry* **77**, 7012-7015 (2005).
- 200 Kato, M. *et al.* Analytical method for beta-amyloid fibrils using CE-laser induced fluorescence and its application to screening for inhibitors of beta-amyloid protein aggregation. *Analytical Chemistry* **79**, 4887-4891 (2007).
- 201 Khanna, S. *et al.* Evaluation of glycolamide esters of indomethacin as potential cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **14**, 4820-4833 (2006).
- 202 Badawi, H. M. & Forner, W. Analysis of the molecular structure and vibrational spectra of the indole based analgesic drug indomethacin. *Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **123**, 447-454 (2014).
- 203 Lee, M. J., Kim, S. C. & Kim, J. N. The first synthesis of 3,5-dimethylene-4-phenylpiperidine-2,6-dione from Baylis-Hillman adduct. *Bulletin of the Korean Chemical Society* **27**, 140-142 (2006).
- 204 Romeo, G. *et al.* Novel 4-phenylpiperidine-2,6-dione derivatives. Ligands for $\alpha(1)$ -adrenoceptor subtypes. *European Journal of Medicinal Chemistry* **46**, 2676-2690 (2011).
- 205 Ozeroglu, C. & Keceli, G. Kinetic and thermodynamic studies on the adsorption of U(VI) ions on densely crosslinked poly(methacrylic acid) from aqueous solutions. *Radiochimica Acta* **97**, 709-717 (2009).
- 206 Anirudhan, T. S. & Sreekumari, S. S. Synthesis and characterization of a functionalized graft copolymer of densified cellulose for the extraction of uranium(VI) from aqueous solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **361**, 180-186 (2012).
- 207 Anirudhan, T. S., Suchithra, P. S., Senan, P. & Tharun, A. R. Kinetic and Equilibrium Profiles of Adsorptive Recovery of Thorium(IV) from Aqueous Solutions Using Poly(methacrylic acid)

- Grafted Cellulose/Bentonite Superabsorbent Composite. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **51**, 4825-4836 (2012).
- 208 Chapiro, A. Controlled propagation in associated monomer aggregates. *Pure and Applied Chemistry* **30**, 77-86 (1972).
- 209 Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* **39**, 205-207 (1973).
- 210 Acher, R., Fromageot, C. & Jutisz, M. Séparations chromatographiques d'acides amines et de peptides: V. les acides amines individuels de l'insuline avec une note sur le dosage de la proline. *Biochimica et Biophysica Acta* **5**, 81-88 (1950).
- 211 Delauney, A. J. & Verma, D. P. S. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *The Plant Journal* **4**, 215-223 (1993).
- 212 Dephoure, N. *et al.* A quantitative atlas of mitotic phosphorylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **105**, 10762-10767 (2008).
- 213 Tewari, B. B. in *Metal Ions in Biology and Medicine, Vol 10* Vol. 10 *Metal Ions in Biology and Medicine* 511-515 (John Libbey Eurotext, 2008).
- 214 Hosny, W. M. Dioxouranium(VI) mixed ligand complexes containing 8-hydroxyquinoline and some amino acids. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry* **28**, 1029-1052 (1998).
- 215 Rama Mohana Rao, D. *et al.* Thermodynamic study of Eu(III) complexation by pyridine monocarboxylates. *The Journal of Chemical Thermodynamics* **55**, 67-74 (2012).
- 216 Garcia-Bueno, R. *et al.* Mono- and bidentate imidates of five-coordinate nickel(ii) with macrocyclic ligands: spectroscopic and photophysical properties. *Dalton Transactions* **39**, 5728-5736 (2010).
- 217 Zhang, J. F. *et al.* Naphthalimide Modified Rhodamine Derivative: Ratiometric and Selective Fluorescent Sensor for Cu²⁺ Based on Two Different Approaches. *Organic Letters* **12**, 3852-3855 (2010).
- 218 Parkesh, R., Clive Lee, T. & Gunnlaugsson, T. Highly selective 4-amino-1,8-naphthalimide based fluorescent photoinduced electron transfer (PET) chemosensors for Zn(ii) under physiological pH conditions. *Organic & Biomolecular Chemistry* **5**, 310-317 (2007).
- 219 Xu, Z., Qian, X., Cui, J. & Zhang, R. Exploiting the deprotonation mechanism for the design of ratiometric and colorimetric Zn²⁺ fluorescent chemosensor with a large red-shift in emission. *Tetrahedron* **62**, 10117-10122 (2006).
- 220 Mu, H., Gong, R., Ma, Q., Sun, Y. & Fu, E. A novel colorimetric and fluorescent chemosensor: synthesis and selective detection for Cu²⁺ and Hg²⁺. *Tetrahedron Letters* **48**, 5525-5529 (2007).
- 221 Plyusnin, V. F. *et al.* Photophysics of 1,8-naphthalimide/Ln(iii) dyads (Ln = Eu, Gd): naphthalimide [rightward arrow] Eu(iii) energy-transfer from both singlet and triplet states. *Photochemical & Photobiological Sciences* **12**, 1666-1679 (2013).
- 222 Pirc, E. T., Modec, B., Cer-Kercmar, K. & Bukovec, P. Synthesis, structure, antioxidant and SOD-mimetic activity of [Cu(xanthurenate)(nicotinamide)(H₂O)] complexes. *Monatshefte Fur Chemie* **145**, 911-920 (2014).
- 223 Tratar Pirc, E., Cer-Kerčmar, K., Modec, B. & Bukovec, P. Supramolecular framework of a dinuclear cadmium complex with a dianion of xanthurenic acid [Cd₂(Xan)₂(H₂O)₄]. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **143**, 1643-1648 (2012).
- 224 Farhadi, K., Maleki, R. & Nikkhahi, Y. The Use of Polyphenolic Compounds from Black Tea for the Solid Phase Extraction and Determination of Trace Iron in Drinking Water. *Clean Soil Air Water* **37**, 884-888 (2009).

- 225 Myasoedova, T. G., Revina, A. A. & Zharikova, N. B. Sorption of UO_2^{2+} ions by quercetin immobilized on various supports. *Radiochemistry* **40**, 353-356 (1998).
- 226 Inoue, K. & Alam, S. Refining and Mutual Separation of Rare Earths Using Biomass Wastes. *JOM* **65**, 1341-1347 (2013).
- 227 Delorme, A. *Le couplage électrophorèse capillaire - spectromètre de masse à source plasma en tant qu'instrument de spéciation des actinides à l'état de traces* Thèse de doctorat thesis, Université Paris XI (2003).
- 228 Gareil, P. L'électrophorèse de zone et la chromatographie électrocinétique capillaires principes et notions fondamentales. *Analysis* **18**, 221-241 (1990).
- 229 Knox, J. H. Thermal effects and band spreading in capillary electro-separation. *Chromatographia* **63**, 329-337 (1988).
- 230 Brunel, B., Philippini, V., Mendes, M. & Aupiais, J. Actinide oxalate complexes formation as a function of temperature by capillary electrophoresis coupled with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Radiochimica Acta* **Disponible en ligne** (2014).
- 231 Fetsch, D., Hradilová, M., Peña Méndez, E. M. & Havel, J. Capillary zone electrophoresis study of aggregation of humic substances. *Journal of Chromatography A* **817**, 313-323 (1998).
- 232 Schwer, C. & Kenndler, E. Electrophoresis in fused-silica capillaries – the influence of organic solvents on the electroosmotic velocity and ξ potential. *Analytical Chemistry* **63**, 1801-1807 (1991).
- 233 Kok, W. Capillary electrophoresis – instrumentation and operation. *Chromatographia supplement* **51**, 1-89 (2000).
- 234 Sarazin, C., Delaunay, N., Costanza, C., Eudes, V. & Gareil, P. Capillary electrophoresis analysis of inorganic cations in post-blast residue extracts applying a guanidinium-based electrolyte and bilayer-coated capillaries. *Electrophoresis* **32**, 1282-1291 (2011).
- 235 Cordova, E., Gao, J. M. & Whitesides, G. M. Noncovalent polycationic coatings for capillaries in capillary electrophoresis of proteins. *Analytical Chemistry* **69**, 1370-1379 (1997).
- 236 Towns, J. K. & Regnier, F. E. Capillary electrophoretic separations of proteins using nonionic surfactant coatings. *Analytical Chemistry* **63**, 1126-1132 (1991).
- 237 Horvath, J. & Dolnik, V. Polymer wall coatings for capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **22**, 644-655 (2001).
- 238 Aupiais, J. Electrophoretic mobilities of the Isotopes of chloride and bromide ions in aqueous solution at 25 °C and infinite dilution. *Journal of Solution Chemistry* **40**, 1629-1644 (2011).
- 239 Pan, Y.-L. Detection and characterization of biological and other organic-carbon aerosol particles in atmosphere using fluorescence. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* **150**, 12-35 (2014).
- 240 Wakida, S. *et al.* High-throughput characterization for organic pollutants in environmental waters using a capillary electrophoresis chip. *Electrophoresis* **22**, 3505-3508 (2001).
- 241 Shaheen, R. & Senn, J. P. Quantification of polysaccharides in water using capillary electrophoresis. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **85**, 177-198 (2005).
- 242 Chichester, K. D., Sebastian, M., Ammerman, J. W. & Colyer, C. L. Enzymatic assay of marine bacterial phosphatases by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Electrophoresis* **29**, 3810-3816 (2008).
- 243 Hewitt, J. D. & McGown, L. B. On-the-fly fluorescence lifetime detection of humic substances in capillary electrophoresis. *Applied Spectroscopy* **57**, 256-265 (2003).

- 244 Coble, P. G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry* **51**, 325-346 (1996).
- 245 Chen, W., Westerhoff, P., Leenheer, J. A. & Booksh, K. Fluorescence excitation - Emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology* **37**, 5701-5710 (2003).
- 246 Frimmel, F. H. & Huber, L. Influence of humic substances on the aquatic adsorption of heavy metals on defined mineral phases. *Environment International* **22**, 507-517 (1996).
- 247 Übner, M., Lepane, V., Lopp, M. & Kaljurand, M. Electrophoretic aggregation of humic acid. *Journal of Chromatography A* **1045**, 253-258 (2004).
- 248 Fetsch, D., Hradilova, M., Mendez, E. M. P. & Havel, J. Capillary zone electrophoresis study of aggregation of humic substances. *Journal of Chromatography A* **817**, 313-323 (1998).
- 249 Piccolo, A., Conte, P. & Cozzolino, A. Effects of mineral and monocarboxylic acids on the molecular association of dissolved humic substances. *European Journal of Soil Science* **50**, 687-694 (1999).
- 250 Piccolo, A., Conte, P., Trivellone, E., Van Lagen, B. & Buurman, P. Reduced heterogeneity of a lignite humic acid by preparative HPSEC following interaction with an organic acid. Characterization of size-separates by PYR-GC-MS and ¹H-NMR spectroscopy. *Environmental Science & Technology* **33** (2002).
- 251 Olesik, J., Kinzer, J. & Olesik, S. Capillary Electrophoresis Inductively Coupled Plasma Spectrometry for Rapid Elemental Speciation. *Analytical Chemistry* **67**, 1-12 (1995).
- 252 Liu, Y., Lopez-Avila, V. & Zhu, J. Capillary Electrophoresis Coupled On-Line with Inductively Coupled Mass Spectrometry for Elemental Speciation. *Analytical Chemistry* **67**, 2020-2025 (1995).
- 253 Lu, Q., Bird, S. & Barnes, R. Interface for Capillary Electrophoresis and Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry* **67**, 2949-2956 (1995).
- 254 Kinzer, J., Olesik, J. & Olesik, S. Effect of laminar flow in capillary electrophoresis : model and experimental results on controlling analysis time and resolution with inductively coupled plasma mass spectrometry detection. *Analytical Chemistry* **68**, 3250-3257 (1996).
- 255 Taylor, K., Sharp, B. & Lewis, D. Design and characterisation of a microconcentric nebuliser interface for capillary electrophoresis - inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **13**, 1095-1100 (1998).
- 256 Mei, E., Ichihashi, H. & Gu, W. Interface for coupling capillary electrophoresis to inductively coupled plasma and on-column concentration technique. *Analytical Chemistry* **69**, 2187-2192 (1997).
- 257 Day, J., Caruso, J. & Becker, J. Application of capillary electrophoresis interfaced to double focusing sector field ICP-MS for nuclide abundance determination of lanthanides produced via spallation reactions in an irradiated tantalum target. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **15**, 229-234 (2000).
- 258 Prange, A. & Schaumlöffel, D. Determination of element species at trace levels using capillary electrophoresis-inductively coupled plasma sector field mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **14**, 1329-1332 (1999²).
- 259 Bendahl, L., Gammelgaard, B. & Jons, O. Interfacing capillary electrophoresis with inductively coupled plasma mass spectrometry by direct injection nebulization for selenium speciation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **16**, 38-42 (2001).
- 260 Schaumlöffel, D., Encinar, J. & Lobinski, R. Development of a sheathless interface between reversed-phase capillary HPLC and ICPMS via a microflow total consumption nebulizer for selenopeptide mapping. *Analytical Chemistry* **75**, 6837-6842 (2003).

- 261 Langlois, B., Dautheribes, J. & Mermet, J. Comparison of a direct injection nebulizer and a micronebulizer associated with a spray chamber for the determination of iodine in the form of volatile CH_3I by inductively coupled plasma sector field mass spectrometer. *Journal of analytical Atomic Spectrometry* **18**, 76-79 (2003).
- 262 B'hymer, C., Sutton, R. & Sutton, K. The use of sol-gel frits to minimize suction effects in capillary electrophoresis - nebulizer interfaces for plasma spectrometry. *Analytical Communications* **36**, 349-353 (1999).
- 263 Mendes, M. *et al.* Thermodynamic Study of the Complexation of Protactinium(V) with Diethylenetriaminepentaacetic Acid. *Inorganic Chemistry* **52**, 7497-7507 (2013).
- 264 Mendes, M. *et al.* Thermodynamical and Structural Study of Protactinium(V) Oxalate Complexes in Solution. *Inorganic Chemistry* **49**, 9962-9971 (2010).
- 265 Petit, J. *et al.* Stability constants determination of successive metal complexes by hyphenated CE-ICPMS. *Electrophoresis* **31**, 355-363 (2010).
- 266 Topin, S., Aupiais, J. & Baglan, N. Determination of the stability constants of nitrate complexes of Np(V) and Pu(V) using CE-ICP-MS. *Radiochimica Acta* **98**, 71-75 (2010).

