Spéciation et bioaccumulation dans un organisme modèle de U, Np et Am en milieu marin

Melody Maloubier

▶ **To cite this version:**

Melody Maloubier. Spéciation et bioaccumulation dans un organisme modèle de U, Np et Am en milieu marin. Autre. Université Nice Sophia Antipolis, 2015. Français. NNT : 2015NICE4101 . tel-01407350

HAL Id: tel-01407350
https://theses.hal.science/tel-01407350

Submitted on 2 Dec 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.

UNIVERSITE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS - UFR Sciences
Ecole Doctorale de Sciences Fondamentales et Appliquées

T H E S E

pour obtenir le titre de

Docteur en Sciences

de l'UNIVERSITE de Nice-Sophia Antipolis

Discipline : Chimie

présentée et soutenue par
Melody MALOUBIER

SPECIATION ET BIOACCUMULATION DANS UN ORGANISME MODELE DE U, NP ET AM EN MILIEU MARIN

Thèse dirigée par ***Christophe DEN AUWER*** et ***Christophe MOULIN***
soutenue le *4 décembre 2015*

Jury :

M. Uwe MEIERHENRICH	Université de Nice-Sophia Antipolis	Examinateur
M. Richard ORTEGA	Université de Bordeaux	Rapporteur
M. Jérôme ROSE	Aix Marseille Université	Rapporteur
M. David SHUH	Lawrence Berkeley National Laboratory	Invité
Mme. Marguerite MONFORT	CEA	Examinateur
M. Christophe MOULIN	CEA	Directeur de thèse
M. Christophe DEN AUWER	Université de Nice-Sophia Antipolis	Directeur de thèse

Remerciements

Cette thèse a été effectuée au sein de l'Institut de Chimie de Nice dans le laboratoire de Processus Chimiques et Radiochimiques dans l'environnement. Je tiens tout d'abord à remercier Elisabet Dunac de m'avoir accueillie au sein de l'Institut afin de mener à bien ce travail de recherche. Je remercie également la Direction de la Propulsion Nucléaire ainsi que le CNRS/INC pour avoir financé cette thèse.

Je remercie chaleureusement mes directeurs de thèse, Christophe Den Auwer pour m'avoir initiée à l'EXAFS et m'avoir fait découvrir l'ambiance aux synchrotrons et Christophe Moulin pour avoir pris le temps de m'expliquer la SLRT. Merci à tous les deux de m'avoir guidée tout au long de ce travail. Merci pour votre enthousiasme, vos conseils et votre pédagogie.

Je tiens également à remercier Marguerite Monfort pour son encadrement. Merci Margot d'avoir pris le temps de m'expliquer les calculs d'impact, pour tes conseils et pour toute ton aide durant ces 3 ans.

Mes sincères remerciements à Richard Ortega et Jérôme Rose de m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de ce travail et à Uwe Meierhenrich et David Shuh pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Je remercie également l'ensemble des membres de l'équipe PCRE, en particulier Gaëlle Creff et Hervé Michel. Merci Gaëlle pour l'aide précieuse que tu m'as apportée, pour tout le temps que tu m'as consacré et pour ton soutien et surtout d'avoir supporté mes moments de stress! Merci Hervé pour ton aide pour la spectrométrie et pour ta pédagogie. Ça a été un réel plaisir de travailler avec vous tous.

Mes sincères remerciements aussi à l'ensemble du service SRCE du CEA-DAM. Merci de m'avoir accueillie au sein de votre service. Un grand merci à Olivier Marie pour les mesures MEB, d'avoir pris le temps de m'expliquer et surtout de passer mes échantillons. Je tiens également à remercier Benoît Brunel, Jean Aupiais, Amélie Hubert et Fabien Pointurier pour leur aide et leurs contributions. La liste serait longue si je devais énumérer tout le monde. Merci à tous de votre aide mais aussi de votre gentillesse.

Je tiens également à remercier toutes les personnes ayant collaboré de près ou de loin à ces travaux de thèse. La réalisation de ma thèse n'aurait pas été possible sans de nombreuses

collaborations, qui m'ont permis de découvrir différents domaines et de bénéficier des compétences de beaucoup de personnes. Dans un premier temps, je remercie toutes les personnes que j'ai pu côtoyer à l'AIEA de Monaco, pour leur accueil et leur gentillesse. Un grand merci à l'équipe de Radioécologie de m'avoir ouvert les portes de leur laboratoire. Je remercie Yasmine Bottein pour sa gentillesse, pour s'être intéressée à mon sujet et pour son aide. Merci également à Marc Metian pour les discussions très enrichissantes sur mes expériences de contamination et un grand merci à François Oberhaensli. Merci Franky pour le temps et l'aide que tu m'as accordés pendant mes expériences au laboratoire, pour ta connaissance sur le milieu marin, pour ta gentillesse et également ta grande taille !!

Je remercie également Sophie Pagnotta, du service de la microscopie de l'université de Nice, pour les images d'éponges mais également pour sa patience et les super coupes d'éponge malgré la difficulté. Merci également aux scientifiques de lignes que j'ai eu la chance de côtoyer lors des sessions synchrotrons. Merci à Pier Lorenzo Solari, pour ta bonne humeur et tout ton aide. Je tiens également à remercier Jean Vacelet, celui qui a découvert l'éponge *Aplysina cavernicola*, pour sa gentillesse et pour m'avoir expliqué le fonctionnement de cette éponge et tous les aspects biologiques. Je remercie également toutes les personnes que j'ai rencontrées et qui m'ont aidé sur différent sujet : Philippe Moisy, Eric Ansoborlo, Alain Michalowicz. Merci également aux personnes du Lawrence Berkeley National Laboratory dont David Shuh, Stefan Minasian et Rebecca Abergel.

Enfin j'adresse mes remerciements à tous les non permanents que j'ai pu côtoyer et qui m'ont aidé à garder le moral : Julien, Claire, Johana, Kévin, Florian, Vincent, Sébastien, Amandine, Pierrick et tous les autres. Une attention particulière à Eva pour ton écoute et ta bonne humeur ainsi que pour Daniel et Marie-Aude pour avoir plongé aussi pour moi et pour votre sympathie depuis le début. Merci pour ces bons moments. Merci aussi à Isa, pour son aide à Monaco et pour sa gentillesse. Un merci également à Christelle Colin, pour sa contribution lors de son stage.

Je tenais aussi à remercier Alexandre Ruas de m'avoir aidé et encouragé pour avoir cette thèse.

Une grand merci à ma famille, mes amis et une attention particulière pour mon mari Fabrice. Je les remercie pour leur soutien et surtout pour m'avoir supporté même dans les moments de grand stress.

Table des matières

Liste des abréviations 4

Introduction 6

Chapitre 1 : Comportement des radionucléides dans le milieu marin : Etat de l'art 9

I. Généralités sur les radionucléides 10

II. Les sources de radionucléides dans l'eau de mer 12

A. Radionucléides naturels 12

B. Radionucléides anthropogéniques 13

1. Les essais nucléaires 13

2. Les installations nucléaires 16

3. Tchernobyl 18

4. Fukushima 19

C. Inventaire des sources 20

D. Cas de la mer Méditerranée 21

III. Accumulation des RN dans les organismes marins 24

A. Végétaux marins 24

B. Mollusques, crustacés et poissons 25

C. Eponges 27

IV. La spéciation des radionucléides dans l'eau de mer 28

A. Propriétés de l'eau de mer/ Complexité du milieu marin 28

1. Espèces inorganiques 28

2. Espèces organiques 30

B. Utilisation de bases de données 30

C. Césium 32

D. Américium 32

E. Neptunium 35

F. Uranium 36
V. Positionnement de ce travail 38
Chapitre 2 : Méthodologie 40
I. Stratégie générale 41
II. Spéciation des radionucléides dans l'eau de mer 44
A. Quels outils pour la spéciation dans l'eau de mer ? 44
B. Spectroscopie Laser Résolue en Temps (SLRT) 46
C. Spectroscopie d'Absorption X (SAX) 47
D. Montages en SAX 49
E. L'apport de la modélisation de la spéciation 52
F. Méthodologie et dopage 54
III. Processus de bioaccumulation des spongiaires 56
A. L'éponge Aplysina cavernicola 56
B. Méthode de contamination 57
C. Spectrométrie γ 60
D. Localisation et spéciation du radionucléide accumulé 61
E. Scanning Transmission X-ray Microscopy (STXM) 62
IV. Conclusion 63
Chapitre 3 : Spéciation et bioaccumulation de l'américium(III) dans l'éponge *A. cavernicola* 65
I. Spéciation de l'américium dans l'eau de mer 66
A. Spéciation théorique de l'américium dans l'eau de mer 66
B. Spéciation expérimentale de l'europium dans l'eau de mer, phases soluble et insoluble. 68
1. Effet de matrice de l'eau de mer 72
2. Cinétique de la précipitation 76
3. Spéciation expérimentale de l'europium dans l'eau de mer par spectroscopie d'absorption X 78

4. Conclusion sur la spéciation de l'europium dans l'eau de mer 80
C. Spéciation expérimentale de l'américium dans l'eau de mer par spectroscopie d'absorption X 81
D. Conclusion sur la spéciation de l'américium dans l'eau de mer 84
II. Accumulation de l'américium et de l'europium dans l'éponge *Aplysina cavernicola* 84
III. Localisation et spéciation de l'europium dans l'éponge 89
A. Localisation de l'europium dans l'éponge 89
B. Spéciation de l'europium dans l'éponge 95
IV. Conclusion 98
Chapitre 4 : Spéciation de l'uranium(VI) et du neptunium(V) dans l'eau de mer 101
I. Modélisation de la spéciation dans l'eau de mer 102
II. Spéciation expérimentale et impact de l'uranium(VI) dans le milieu marin 105
A. Détermination de la spéciation de l'uranium(VI) dans l'eau de mer par SLRT .. 105
B. Détermination de la spéciation de l'uranium(VI) par EXAFS 110
C. Evaluation de l'impact de l'uranium sur *A. cavernicola* 112
III. Spéciation expérimentale du neptunium(V) dans l'eau de mer 115
A. Détermination de la spéciation du neptunium(V) par EXAFS 115
B. Etude de la spéciation du neptunium dans l'eau de mer par spectrophotométrie UV-visible 120
IV. Conclusion sur la spéciation de l'uranium et du neptunium dans l'eau de mer 126
Conclusion et perspectives 129
Références 136
Annexes 145

Liste des abréviations

AIEA	Agence Internationale de l'Energie Atomique
ALS	Advanced Light Source
AMS	Accelerator Mass Spectrometry
ATR-FTIR	Attenuated Total Reflectance - Fourier Transform Infra-Red
BASSIST	Base applied to speciation in solution and at Interfaces and solubility thermodynamic database
CEA	Commissariat à l'Energie Atomique
ESRF	European Synchrotron Radiation Facility
EXAFS	Extended X-Ray Absorption Fine Structure
FC	Facteur de Concentration
GRNC	Groupe Radioécologique Nord Contentin
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry
INB	Installation Nucléaire de Base
INES	International Nuclear Event Scale
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD	Limite de détection
LISA	Linea Italiana per la Spettroscopia d'Assorbimento X (ligne italienne pour la spectroscopie d'absorption X)
MARS	Multi Analyses on Radioactives Samples
MET	Microscope Electronique à Transmission
NEA-TDB	Nuclear Energy Agency – Thermochemical Database
NEXAFS	Near Edge X-ray Absorption Fine Structure
OECD	Organisation for Economic Co-operation and developement nuclear Energy agency
SAX	Spectroscopie d'Absoprtion X
SEM/EDX	Scanning Electron Microscopy with Energy Dispersive X-ray spectroscopy
SH	Substances Humiques

SLRT	Spectroscopie Laser Résolue en Temps
SOLEIL	Source Optimisée de Lumière d'Energie Intermédiaire du LURE
STXM	Scanning Transmission X-ray Microscopy
UNSCEAR	United Nations Scientific Commitee on the Effects of Atomic Radiation
UV-vis	Ultraviolet-Visible
XANES	X-ray Absorption Near Edge Structure

Introduction

Le devenir des radionucléides naturels et anthropogéniques dans l'environnement demeure une préoccupation majeure des sociétés modernes nucléarisées. Parmi les compartiments environnementaux possiblement impactés, l'hydrosphère est ubiquitaire et peut transporter des composés ou éléments sur de très longues distances. En particulier, les océans recouvrent les trois quart du globe et sont le siège de nombreuses interactions et d'échanges. De plus, les océans sont les réceptacles ultimes des rivières contenant des radionucléides à l'état de traces. Aussi l'étude du comportement des radionucléides dans ce milieu est essentielle. L'évènement récent de Fukushima (2011) a démontré que le milieu marin pouvait être également directement impacté ce qui amène à des questionnements tant scientifiques que sociétaux. Même si les concentrations introduites dans l'Océan Pacifique suite à cet accident sont très faibles, ce dernier a mis en lumière le besoin de déterminer rapidement les quantités de radionucléides présents dans l'eau de mer mais a également souligné le manque de connaissance concernant la spéciation de ces derniers dans ce milieu.

Le milieu marin est en effet complexe du fait de sa composition (nombreux anions et cations, matière organique), de son hétérogénéité selon les profondeurs et des divers courants marins. A ce jour et bien que de nombreuses études se soient attachées à décrire la spéciation (distribution d'un élément parmi les espèces chimiques définies dans un système, selon l'IUPAC) des radionucléides dans les divers compartiments de l'environnement, les concentrations mises en jeu (trace ou plus généralement ultra trace) excluent les techniques directes de spéciation. Cependant, le comportement des radionucléides tel que l'adsorption, la migration ou la biodisponibilité est principalement gouverné par les formes physicochimiques. Alternativement, la modélisation de la spéciation à l'aide de données thermodynamiques constitue une aide à l'observation des espèces chimiques en présence, sans pour autant s'y substituer. La connaissance expérimentale de la spéciation moléculaire des actinides en particulier présents dans l'environnement marin reste donc limitée. Dans ce travail, nous avons choisi de déterminer expérimentalement la spéciation de trois actinides dans l'eau de mer : l'uranium(VI), le neptunium(V) et l'américium(III) (via l'analogue Eu(III)). Pour cela, nous avons opté pour la combinaison de la modélisation de la spéciation et de techniques spectroscopiques telles que la Spectroscopie d'Absorption X (SAX) et de la Spectroscopie Laser Résolue en Temps (SLRT). Pour réaliser cette étude et acquérir des données de spéciation

les plus représentatives possibles, nous avons décidé de travailler en dopant l'eau de mer naturelle à 5.10^{-5} M, étant donné la sensibilité des techniques spectroscopiques ci-dessus mentionnées. Cette valeur constitue un compromis entre la plus faible concentration mesurable par Spectroscopie d'Absorption X et la concentration impactant le moins possible la spéciation.

En outre, de nombreuses études ont déjà montré que les radionucléides présents dans l'eau de mer peuvent être fortement accumulés par les organismes marins (phytoplanctons, mollusques, poissons, etc.) sans pour autant connaître la spéciation. La connaissance des interactions entre les radionucléides et le compartiment marin est donc essentielle afin de mieux comprendre les mécanismes de transfert entre l'hydrosphère et la biosphère et pour évaluer *in fine* l'impact global sur l'Homme. Pour ce travail nous avons choisi les spongiaires qui sont des animaux aquatiques qui se fixent sur des supports étrangers. Ce sont des organismes filtreurs qui inhalent et exhalent par des pores pour se nourrir. Des études antérieures ont d'ailleurs montré que ces organismes peuvent servir de biomoniteurs de pollution. En effet, les éponges sont très représentées sur les côtes méditerranéennes et présentent un fort taux d'accumulation pour un grand nombre d'éléments métalliques. L'accumulation de l'europium(III), de l'américium(III) et de l'uranium(VI) dans l'éponge méditerranéenne *A. cavernicola* a été investiguée. Les contaminations ont été réalisées à l'échelle d'ultra traces afin d'obtenir les courbes d'accumulation mais aussi à l'échelle pondérable quand cela a été possible (Eu). Ces contaminations à l'échelle pondérable ont ainsi permis de localiser les radionucléides accumulés dans l'éponge et d'en étudier la spéciation par le biais de différentes spectroscopies telles que la microscopie STXM Scanning Transmission X-ray Microscopy (STXM), la SAX et la SLRT.

Ce travail s'articule ainsi autour de trois objectifs qui peuvent être résumés comme :

- Décrire et mieux comprendre la spéciation des radionucléides dans le milieu marin en couplant les calculs de spéciation avec les techniques spectroscopiques.
- Etudier les processus d'accumulation en milieu marin par des spongiaires
- Localiser et caractériser la forme chimique des radionucléides dans les éponges de mer.

Il a par ailleurs donné lieu à deux publications : « XAS and TRLIF spectroscopy of uranium and neptunium in seawater » dans Dalton Transactions et « Speciation of americium in seawater and accumulation in marine sponge *Aplysina cavernicola* » également dans Dalton Transactions. Un troisième article sur la localisation et la spéciation de l'europium dans l'éponge *A. cavernicola* est en cours de rédaction.

Ce mémoire de thèse est structuré en quatre chapitres.

La première partie présente l'état de l'art sur le devenir des radionucléides dans le milieu marin. Nous y rappelons les données existantes dans la littérature concernant les sources des radionucléides, leurs inventaires et leurs comportements dans l'eau de mer, notamment vis à vis des organismes marins.

Dans le second chapitre est exposée notre stratégie. La méthodologie générale y est brièvement décrite ainsi que les outils pour déterminer la spéciation des radionucléides dans l'eau de mer et pour étudier les phénomènes d'accumulation dans l'éponge *A. cavernicola*.

Puis dans le troisième chapitre sont discutés les résultats obtenus sur la spéciation et la bioaccumulation de l'américium dans l'éponge *Aplysina cavernicola*. A cette fin, et dans le but d'approfondir l'interprétation des données acquises, l'europium a été utilisé comme simulant stable de la chimie de l'américium. Ceci nous a également permis de détailler la localisation et la spéciation de l'europium dans l'éponge.

Le quatrième chapitre enfin détaille les résultats obtenus concernant la spéciation de l'uranium(VI) et du neptunium(V) dans l'eau de mer. Différentes techniques spectroscopiques ont été employées, telles que l'EXAFS, la SLRT et l'UV-visible.

Enfin en conclusion nous proposons une réflexion générale sur les comportements des radionucléides dans le milieu marin et l'apport de la spéciation sur les calculs d'impact.

Chapitre 1 : Comportement des radionucléides dans le milieu marin : Etat de l'art

Les mers et océans représentent 71 % de la surface du globe, soit 360 millions de km². Le volume d'eau des mers et océans correspond à 97 % de l'eau disponible sur Terre. Les océans recouvrant les trois quart du globe et étant le siège de nombreux échanges à large échelle, l'étude des flux et des transports des contaminants au sens large est essentiel.

Les activités nucléaires humaines, comme nous le détaillerons dans ce chapitre ont contribué, quoique très faiblement, à l'impact anthropogénique sur les mers et océans. De ce fait, à la fois pour répondre aux enjeux scientifiques et technologiques liés au développement du nucléaire mondial, mais également aux attentes sociétales particulièrement prégnantes dans ce domaine, la connaissance du devenir des radionucléides et en particulier des actinides en milieu naturel est un enjeu crucial.

I. Généralités sur les radionucléides

Selon l'Union internationale de chimie pure et appliquée (IUPAC), un radionucléide est un noyau qui est radioactif [1]. Les radionucléides peuvent exister naturellement mais peuvent également être produits artificiellement. Parmi les radionucléides, on distingue les radioéléments, c'est-à-dire des éléments chimiques dont tous les isotopes connus sont des radionucléides.

Les produits de fission résultent de la fission d'un élément fissile. Ce sont très souvent des isotopes instables, avec un temps de vie court et sont responsables de pratiquement toute la radioactivité des combustibles irradiés. Ils sont dans la plupart des cas émetteurs β. Parmi eux, se trouvent entre autres le ^{137}Cs, le ^{90}Sr et le ^{85}Kr. Cependant, malgré le fait que ces radionucléides représentent la majorité de la radioactivité des déchets nucléaires pendant environ 1000 ans, les actinides, quant à eux, ont un impact toxicologique non négligeable de par leurs durées de vie plus longues. Par exemple, Figure 1, l'inventaire radiotoxique du plutonium est divisé par 1000 en 10^5 ans, comme celui des actinides mineurs (Am, Np, Cm). A partir de 1000 ans, la radiotoxicité est dominée par le plutonium, l'uranium et les actinides mineurs. Les actinides sont pour la plupart des émetteurs α qui sont les plus radiotoxiques en cas de contamination interne.

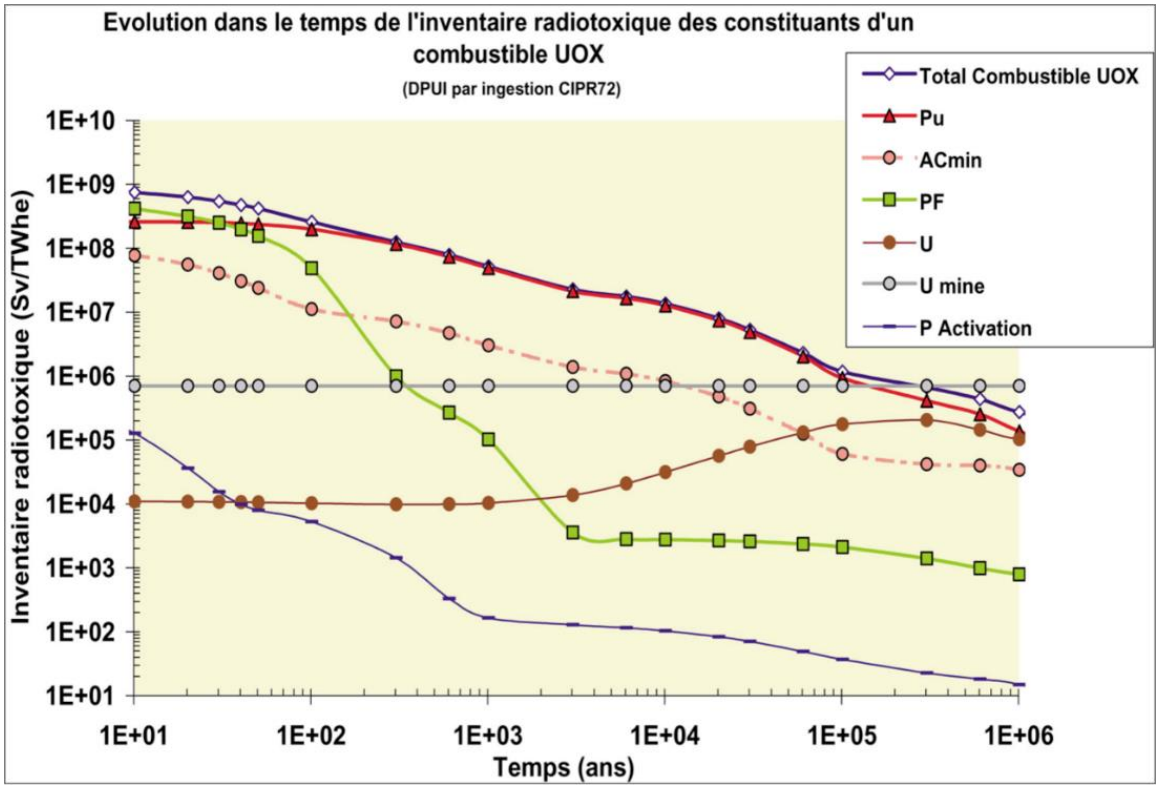


Figure 1 : Evolution dans le temps de l'inventaire des constituants d'un combustible UOX [2]

Les actinides sont des radioéléments. La série des actinides correspond à la septième ligne du tableau périodique (Figure 2), soit au remplissage des orbitales 5f. Cette série est composée de 15 éléments allant de l'actinium (Ac) au lawrencium (Lr) dont le numéro atomique est compris entre 89 et 103. Parmi les actinides, quatre sont présents à l'état naturel : l'actinium, le thorium, le protactinium et l'uranium. Les autres, produits artificiellement, sont aussi appelés transuraniens. Ces derniers sont produits par capture neutronique dans les réacteurs nucléaires ou dans un accélérateur de particules pour les masses les plus élevées.

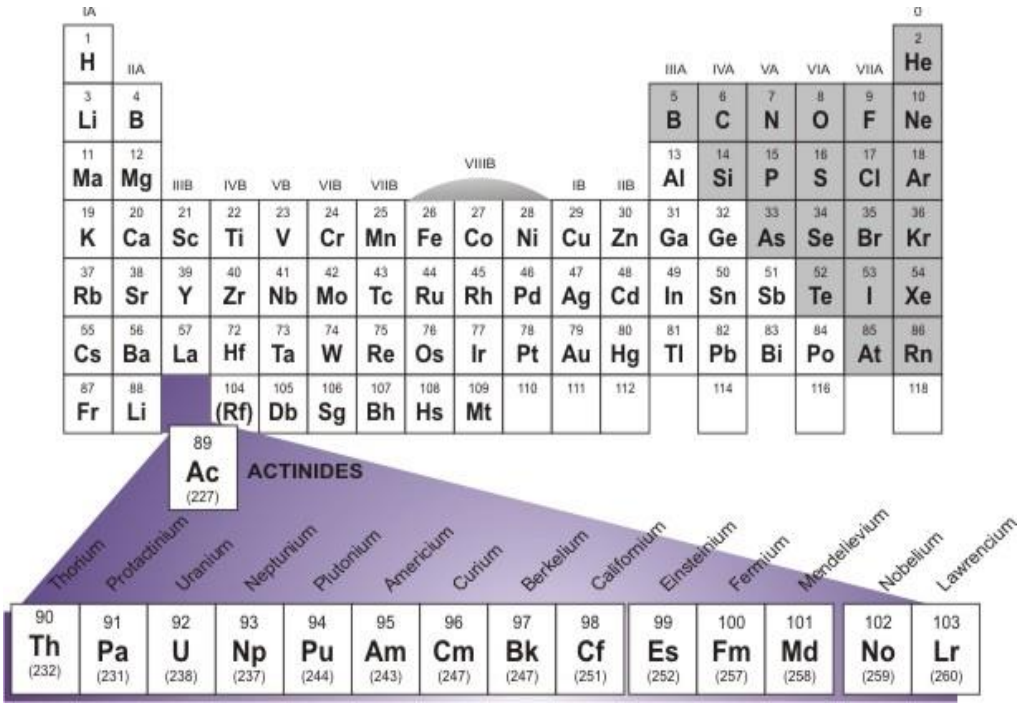


Figure 2 : La place des actinides dans le tableau périodique.

II. Les sources de radionucléides dans l'eau de mer

Les origines des radionucléides dans le milieu marin sont multiples. Elles peuvent être de deux sortes : naturelles ou anthropogéniques, dont la cause peut être relative aux essais nucléaires du passé ou au fonctionnement des installations industrielles et médicales.

A. Radionucléides naturels

La radioactivité naturelle provient des radionucléides primordiaux, secondaires et cosmogéniques. Les radionucléides primordiaux sont ceux présents sur Terre depuis sa formation, possédant une période radioactive plus longue que l'âge de la Terre, soit ^{40}K, ^{238,235}U et ^{232}Th. Les radionucléides secondaires correspondent aux descendants des radionucléides primordiaux. Dans le cas de ^{238,235}U et ^{232}Th, leur désintégration conduit à la formation de noyaux radioactifs. Ces radionucléides sont à l'origine de plusieurs chaînes de désintégration. Par exemple, l'uranium 238 conduit à la formation d'une succession de radionucléides par désintégration α et β jusqu'à ce qu'un noyau stable comme le plomb (^{206}Pb) soit produit.

L'introduction d'uranium naturel dans le milieu marin, par exemple, se fait essentiellement via l'érosion des sols. L'eau de mer contient ainsi environ 12 600 Bq/m^3 de radioactivité naturelle dont plus de 90 % est due à l'isotope ^{40}K, 1 % à ^{238,235}U et environ 0,3 % à ^{232}Th.

En plus des radionucléides primordiaux et secondaires, les radionucléides cosmogéniques sont formés dans la haute atmosphère sous l'effet des rayons cosmiques (^{14}C, ^{3}H, ^{7}Be et ^{22}Na). Les rayons cosmiques sont des flux de particules chargées dont l'énergie est importante, essentiellement composés de noyaux d'hydrogène, d'hélium et d'électrons. Dans l'atmosphère, ils libèrent des neutrons, photons et des mésons qui, au contact d'autres éléments tels que l'azote et l'oxygène, forment les radionucléides cosmogéniques. Ces derniers se déposent sur la surface de la mer et sont transportés dans l'océan par des processus biogéochimiques et physiques tels que l'érosion des roches ou via l'interface atmosphère-océan.

B. Radionucléides anthropogéniques

La seconde origine est anthropogénique. Les sources principales sont essentiellement les retombées des essais nucléaires. L'apport des radionucléides est également lié aux rejets des installations nucléaires ou aux accidents tels que Tchernobyl en 1986 ou Fukushima en 2011. Lors de ces accidents, les rejets les plus importants sont les rejets atmosphériques même si de la matière radioactive a été disséminée au sein même des océans dans le cas de l'accident de Fukushima. Les principales causes des rejets réalisés directement dans l'eau de mer sont les accidents de sous-marins nucléaires, le rejet des installations de traitement du combustible nucléaire et, plus récemment l'accident de Fukushima.

1. Les essais nucléaires [3, 4]

Les rejets atmosphériques issus des essais nucléaires sont les principales sources de radionucléides anthropogéniques dans le milieu marin. De 1945 à 1980, 543 essais d'armes nucléaires ont été réalisés essentiellement dans l'hémisphère Nord. Jusqu'en 1963, les Etats-Unis, l'URSS, le Royaume-Unis et la France ont réalisé le plus grand nombre d'essais atmosphériques. La Figure 3 représente le nombre d'essais nucléaires réalisés entre 1945 et 1997 et montre que la majorité des essais a essentiellement été réalisée par les Etats-Unis et l'URSS. A partir de 1963, après avoir signé le traité d'interdiction partielle des essais nucléaires, seuls des essais souterrains ont été réalisés. En effet, dans le but de limiter les rejets dans l'atmosphère les tirs aériens ont été arrêtés laissant place à des tirs réalisés en sous-sol.

Ces derniers étaient enterrés à des profondeurs suffisantes de façon à ce qu'aucune matière radioactive n'atteigne l'atmosphère. La France, quant à elle, a continué les essais atmosphériques jusqu'en 1974 et la Chine jusqu'en 1980 comme le montre la Figure 3.

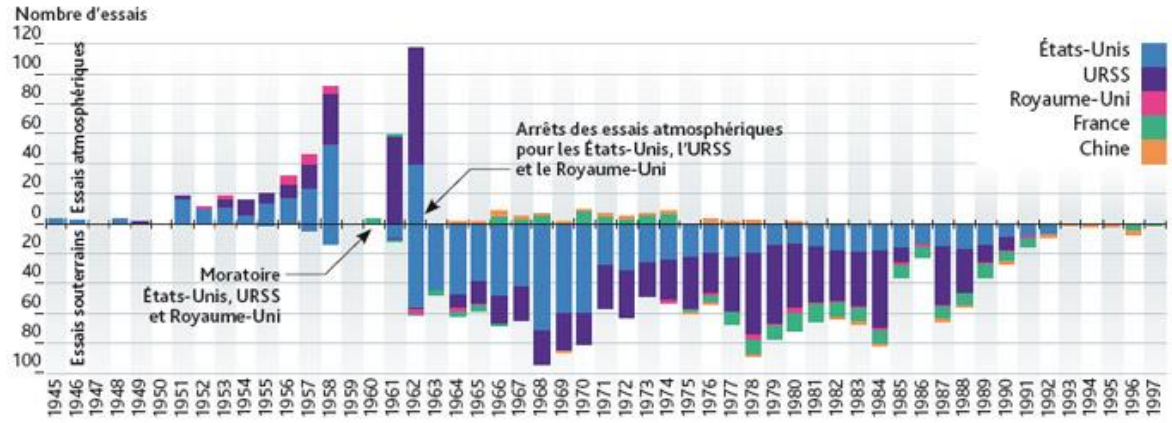


Figure 3 : Nombre d'essais nucléaires par pays au cours de 1945 à 1997 [5].

La puissance des armes nucléaires s'exprime en tonne d'explosif traditionnel. La puissance totale de tous les essais représente 440 Mt. Au final, les essais nucléaires atmosphériques ont libéré dans l'environnement de nombreuses quantités de radionucléides dont plus de 80 % dans l'hémisphère Nord (Tableau 1). L'UNSCEAR (United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation) a publié en 2000 un rapport dans lequel les sources anthropogéniques sont inventoriées [6].Le Tableau 1 indique que la majeure partie de la radioactivité est due aux radioéléments ayant des périodes radioactives courtes (de quelques jours à 1 an). Actuellement, les radionucléides restants sont essentiellement des actinides ^{241}Am, ^{239,240}Pu, ^{237}Np mais aussi ^{137}Cs et ^{90}Sr.

Tableau 1 : Radionucléides rejetés dans l'atmosphère lors des essais nucléaires [6].

Radionucléide	Période	Quantités libérées (PBq)[1]
^{131}I	8,02 j	$6{,}75.10^{5}$
^{140}Ba	12,75 j	759 000
^{141}Ce	33 j	$3{,}15.10^{5}$

[1] 1 PBq = 10^{15} Bq

Radionucléide	Période	Quantités libérées (PBq)[1]
^{103}Ru	39,26 j	247 000
^{89}Sr	50,53 j	117 000
^{91}Y	58,51 j	120 000
^{95}Zr	64,02 j	148 000
^{144}Ce	280 j	$2{,}2.10^{4}$
^{54}Mn	312,3 j	3 980
^{106}Ru	370 j	12 200
^{55}Fe	2,73 a	1 530
^{125}Sb	2,8 a	524
^{3}H	12,33 a	$2{,}4.10^{5}$
^{241}Pu	14 a	170
^{90}Sr	28,78 a	622
^{137}Cs	30 a	948
^{241}Am	433 a	5,5
^{14}C	5730 a	350
^{240}Pu	6600 a	13
^{239}Pu	24110 a	
^{237}Np	2140000 a	0,04

Des accidents de sous-marins ont également eu lieu : 6 accidents ont été confirmés depuis 1963 conduisant entre autres à l'introduction de radionucléides dans l'océan Atlantique. Les rejets ont été estimés, par exemple dans le cas du Thresher en 1963 (sous-marin américain) à 4.10^{7}

Bq et, dans le cas du Komsomolet, en 1989 (sous-marin soviétique) à un peu moins de 370.10^9 Bq [7].

Dans le cas du plutonium, s'ajoutent les retombées dues à des accidents de satellites tels que le SNAP-9A en 1964, alimenté en énergie nucléaire. Les retombées de cet accident ont été localisées dans l'hémisphère sud (77 % du plutonium total), et sont de l'ordre de 100 TBq de ^{238}Pu [4, 8].

2. Les installations nucléaires

Une autre source de radionucléides dans l'eau de mer a pour origine certaines installations nucléaires via de faibles rejets contrôlés ou accidentels d'effluents dans les rivières ou dans l'eau de mer. Les usines de retraitement du combustible ou de fabrication du combustible sont responsables de 98 % des rejets de radionucléides artificiels (^{99}Tc, ^{137}Cs, ^{239,240}Pu et ^{3}H) provenant du secteur nucléaire. Les installations nucléaires de base (INB) génèrent des produits secondaires qui sont en partie traités puis dispersés dans l'environnement sous la forme d'effluents liquides. Pour la mer du Nord par exemple, des rejets ont été réalisés conduisant à la présence de ^{106}Ru, ^{90}Sr, ^{129}I et ^{137}Cs essentiellement (Figure 4). Une diminution significative de ces concentrations a été observée autour des années 90 suite aux progrès technologiques et aux nouvelles règlementations. Au niveau européen, l'usine de Sellafield, en Angleterre, a été une des principales sources de contamination de la mer d'Irlande, la mer du Nord et du Nord de l'Atlantique [6]. Les rejets de ^{137}Cs, ^{90}Sr, ^{241}Am, ^{237}Np et ^{239,240}Pu ont commencé en 1952 avec un pic dans les années 70 [4], les rejets en ^{137}Cs, ^{239,240}Pu, ^{241}Am ayant augmenté [9]. De 1967 à 1999, les rejets réalisés dans le milieu marin ont été estimés à 9,5 TBq de ^{237}Np, 120 TBq de ^{238}Pu et 610 TBq de ^{239,240}Pu [4]. En 1999, les rejets en ^{137}Cs et ^{237}Np s'élevaient respectivement à 7,9 TBq et 30 GBq alors que l'usine de la Hague rejetait 1,3 TBq et 0,2 GBq. Dans le cas de La Hague, les rejets ont impacté le nord de l'Atlantique et la mer du Nord. Les quantités de ^{90}Sr rejetées par l'usine de la Hague représentant 20 % de ceux de Sellafield et celles de ^{137}Cs étaient inférieures à 3 %. Cette différence est due à l'utilisation d'un système de concentrations des radionucléides, puis de vitrification de ces derniers. Ces deux usines représentent les deux sources majeures dans les océans de ^{99}Tc et ^{129}I pour l'Europe de l'Ouest.

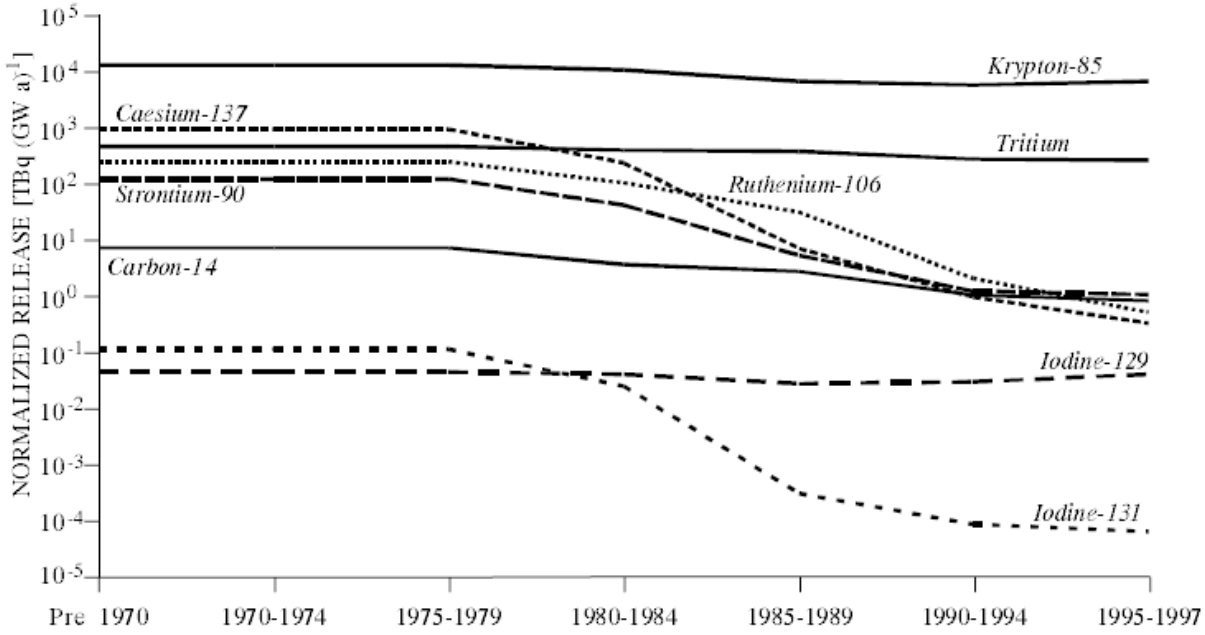


Figure 4 : Moyennes des rejets de radionucléides pour les usines de retraitement du Cap de la Hague (France), de Sellafield (Angleterre) et Tokai (Japon) de 1970 à 1997 [6].

De plus, entre 1961 et 1969 et entre 1975 et 1991, des rejets provenant du site nucléaire de Marcoule (dans le Gard) ont été observés en mer Méditerranée. Ces radionucléides ont été transportés par le Rhône via le Golfe du Lion. Un total de 628 GBq (10^9 Bq) de ^{238,239,240}Pu a été introduit dans le Rhône de 1945 à 1997 avant la mise en démantèlement en 1997. Le plutonium étant essentiellement transporté par les particules en suspension, il est essentiellement stocké dans les sédiments du Rhône. Cependant, lorsque les débits deviennent plus forts à cause des orages et des inondations, des phénomènes de remises en suspension ont lieu conduisant à la mise en mouvement du plutonium [10].

En 1995, un décret a été mis en place fixant un nouveau cadre règlementaire conduisant à la réduction des limites autorisées. En 1998, la convention pour la protection du milieu marin de l'Atlantique du Nord-Est ou convention OSPAR, à Sintra, a entraîné la diminution des rejets de substances radioactives dans le milieu marin [11]. La distribution des rejets est très hétérogène que ce soit dans le temps et dans l'espace, et ceci dépend de l'activité des usines mais également des courants marins. L'activité dans l'eau de mer est toujours sujette à fluctuations à cause de la remise en suspension des radionucléides présents dans les sédiments.

3. Tchernobyl

L'accident de Tchernobyl a eu lieu le 26 avril 1986. La montée en pression du réacteur n°4 a provoqué deux explosions soulevant la dalle du réacteur et laissant à l'air libre la partie supérieure du cœur du réacteur. Durant les explosions, la majeure partie des rejets radioactifs a eu lieu sous forme de gaz et de particules contenant des produits de fissions tels que ^{137}Cs, ^{90}Sr et ^{131}I et des transuraniens. Des rejets ont ensuite perduré, suite aux incendies, pendant une dizaine de jours jusqu'à ce que le réacteur soit recouvert par du ciment. Au total, les rejets s'élèvent à 1 à 2.10^{18} Bq [4]. La majorité de l'activité rejetée est liée aux radionucléides ayant des temps de vie courts (< 1 mois). Après plusieurs années, seuls restent les isotopes du plutonium, ^{241}Am, ^{90}Sr et ^{137}Cs (Tableau 2).

Les retombées de ces rejets dans l'atmosphère ont eu lieu sur toute l'Europe, soit par dépôt sec, soit par dépôt humide (pluie, neige).

Au niveau du compartiment marin, les plus fortes concentrations en ^{137}Cs et ^{90}Sr ont été localisées au niveau de la mer Baltique et de la mer Noire. En effet, les quantités de ^{137}Cs et de ^{90}Sr dans la mer Baltique provenant de l'accident de Tchernobyl s'élevaient à respectivement 4700 TBq (10^{12}Bq) et 80 TBq [4]. En 2006, la quantité de ^{137}Cs était de 870 TBq correspondant à une concentration de 48 Bq.m^{-3}. La concentration en ^{239,240}Pu varie entre 0,001 Bq.m^{-3} et 0,01 Bq.m^{-3}. Bien que l'accident de Tchernobyl ait été classé comme accident majeur sur l'échelle INES (International Nuclear Event Scale), les teneurs en radionucléides résultantes dans l'eau de mer restent faibles.

Tableau 2 : Estimation des rejets lors de l'accident de Tchernobyl [12].

Type d'élément	Radionucléide	Période radioactive	Activité totale rejetée (PBq)
Gaz inerte	^{133}Xe	5.25 j	6 500
	^{85}Kr	10.72 a	33
Eléments volatils	^{131}I	8,04 j	≈ 1760
	^{134}Cs	2,60 a	≈ 47
	^{137}Cs	30,0 ans	≈ 85
	^{132}Te	78 h	≈ 1150
	^{129m}Te	33,6 j	240
	^{133}I	20,8 h	910
	^{136}Cs	13,1 j	36

Type d'élément	Radionucléide	Période radioactive	Activité totale rejetée (PBq)
Eléments volatilité intermédiaire	^{103}Ru	39,3 j	> 168
	^{106}Ru	368 j	> 73
	^{89}Sr	50,5 j	≈ 115
	^{90}Sr	29,12 a	≈ 10
	^{140}Ba	12,7 j	240
Eléments réfractaires	^{95}Zr	64 j	84
	^{141}Ce	32,5 j	84
	^{144}Ce	284 j	≈ 50
	^{99}Mo	2,75 j	> 72
	^{239}Np	2,35 j	400
	^{238}Pu	87,74 a	0.015
	^{239}Pu	24065 a	0.0013
	^{242}Cm	162,8 j	≈ 0.5
	^{240}Pu	6 537 a	0.018
	^{241}Pu	14,4a	≈ 2.6
	^{242}Pu	376 000a	0.00004

4. Fukushima

Le 11 mars 2011, suite à un tremblement de terre de magnitude 9 suivi d'un tsunami, le site de Fukushima a perdu le système de refroidissement des réacteurs provoquant la fusion des cœurs des réacteurs n° 1 à 3 en fonctionnement. Ces réacteurs ont subi par la suite des dégâts irrémédiables suite à des explosions d'hydrogène. Les explosions et les dépressurisations des enceintes de confinement des réacteurs ont ainsi provoqué des rejets atmosphériques discontinus. L'accident de Fukushima est le premier accident pour lequel les concentrations de radionucléides déversées directement dans l'eau de mer sont importantes. Par exemple, dans le cas du ^{137}Cs, le conseil scientifique du Japon (SCJ) a estimé les quantités rejetées directement dans le milieu marin à 2,3-26,9.10^{15} Bq pour la période du 11 mars au 15 avril 2011 [13]. Dans l'atmosphère, le rejet de ^{137}Cs s'élève à 9-37.10^{15} Bq pour la même période [13]. La quantité totale de radionucléides rejetés dans l'environnement est supérieure à 10^{19}Bq [14]. Ces rejets ont été essentiellement composés de produit de fission ^{131}I, ^{137}Cs, ^{134}Cs (10^{17}Bq) [14, 15]. Les voies de contamination sont multiples : le déversement direct des eaux contaminées, le transfert via les rivières (lessivage des sols,…) et les retombées du panache atmosphérique. Avant l'accident, les concentrations dans l'eau de mer autour du site n'étaient pas mesurables pour

l'iode ^{131}I et étaient de l'ordre de 1 à 3 mBq/l pour le césium ^{137}Cs. Au 30 mars 2011, ces concentrations sont passées respectivement à 180 et 47 kBq/l. Les retombées atmosphériques ont été détectables, dans les jours qui suivirent l'accident, à 30 km au large et se sont faites par dépôt sur la surface. Après l'accident, les concentrations en ^{137}Cs variaient de 2 à 27 Bq/l. Ces dernières ont diminué au cours du temps par effet de dilution dû au mélange avec les eaux profondes.

La mesure des concentrations en uranium et plutonium dans l'eau de mer dues à l'accident de Fukushima est difficile. Ces concentrations restent très faibles et sont difficilement distinguables des quantités dues aux retombées des essais nucléaires. L'impact de l'accident de Fukushima a cependant pu être évalué en réalisant des mesures isotopiques par AMS (spectrométrie de masse par accélérateur) et spectrométrie gamma, en suivant l'isotope ^{236}U et le rapport $^{236}U/^{238}U$. En effet, l'uranium 236 est principalement obtenu par réaction nucléaires. La concentration obtenue dans l'eau de mer près de Fukushima est de 10^6 atomes/kg [14] entre juin et août 2011.

Enfin, plus de 4000 tonnes d'eau de mer ont été introduites dans les réacteurs pour permettre leur refroidissement [16] conduisant à des grands volumes d'eau contaminée essentiellement par $^{137,134}Cs$, ^{90}Sr et ^{3}H. Seule la concentration en $^{137,134}Cs$ a été estimée à quelques GBq (10^9 Bq) par TEPCO, le détail des mesures n'étant pas mentionné. Lors du traitement de ces eaux, après élimination du césium, la présence de ^{238}Pu, ^{239}Pu, ^{240}Pu, ^{241}Am et ^{244}Cm a été observée. Ainsi, dans ces eaux contaminées, les concentrations sont de 2,1 Bq/l pour ^{238}Pu, 0,83 Bq/l pour $^{239,240}Pu$, 0,56 Bq/l pour ^{241}Am et 0,63 Bq/l pour ^{244}Cm [16].

C. Inventaire des sources

Nous venons de le voir, les concentrations en radionucléides anthropogéniques sont différentes selon les localisations (selon les sources). De nombreuses études ont été réalisées selon les océans, les courants et les profondeurs [4, 17]. Dans le cas où il n'y a pas de contamination importante (accident à proximité), des concentrations moyennes nominales ont pu être établies. Ces dernières sont référencées dans le Tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3 : Concentrations moyennes nominales des radionucléides dans l'eau de mer et valeurs référencées dans le cas de la Méditerranée [4, 18, 19]

Actinide	Concentrations typiques (M)	Concentrations en Méditerranée (M)
^{232}Th	$4{,}3.10^{-13}$	$< 3.10^{-12}$
$^{234,238}U$	$1{,}3.10^{-8}$	$^{238}U = 1{,}4$ à $1{,}6.10^{-8}$
^{238}Pu	3.10^{-18}	
^{239}Pu	1.10^{-14}	$^{239,240}Pu \approx 1.10^{-17}$
^{240}Pu	3.10^{-15}	
^{241}Pu	8.10^{-17}	
^{241}Am	4.10^{-17}	5.10^{-20} à 1.10^{-19}
^{237}Np	2.10^{-14}	
^{90}Sr	$4{,}3.10^{-15}$	
^{137}Cs	4 à 7.10^{-18}	$5{,}7.10^{-18}$

Le cas du plutonium dans l'eau de mer peut être un bon exemple de variabilité. En effet, dans la Manche, les concentrations en $^{239,240}Pu$ sont de l'ordre de 5 à 30 $mBq.m^{-3}$ alors qu'à proximité du centre de La Hague, les concentrations sont de l'ordre de la centaine de $mBq.m^{-3}$. Autour de Sellafield, dans les années 80, les concentrations étaient de quelques $Bq.m^{-3}$ et dix fois plus faibles à 300 km. En ce qui concerne l'Atlantique, les teneurs en plutonium s'élèvent à 6-9 $mBq.m^{-3}$, les valeurs les plus hautes étant retrouvées dans l'Atlantique Nord [8].

D. Cas de la mer Méditerranée

Les échantillons d'eau de mer utilisés dans cette étude proviennent de la Mer Méditerranée. Cette dernière est considérée comme un « bassin laboratoire » pour de nombreuses études océanographiques. Bien que les concentrations soient souvent faibles, beaucoup de radionucléides sont utilisés comme traceurs pour estimer l'échelle de temps des processus

marins (déplacement de masse d'eau, temps de renouvellement, taux d'accumulation des sédiments…).

La Méditerranée est un bassin profond (1500 m en moyenne) d'une superficie de 2 510 000 km², mi-clos. Il communique avec l'océan Atlantique via le détroit de Gibraltar à l'ouest, avec la Mer Noire via le détroit de Bosphore et des Dardanelles, et au sud-est avec la Mer Rouge par le canal de Suez (Figure 5).

Figure 5 : La Mer Méditerranée avec ses différents flux [20]

La Méditerranée est un bassin de concentration : le phénomène d'évaporation est beaucoup plus important par rapport aux précipitations et aux ruissellements des rivières ce qui entraîne une augmentation de la salinité. A l'entrée, au détroit de Gibraltar, la salinité est de 36 g/kg d'eau tandis qu'en sortie, elle peut atteindre 39 g/kg d'eau.

Le radionucléide anthropogénique le plus abondant est le césium ^{137}Cs. Actuellement, la concentration en surface est de l'ordre de 4 à 7.10^{-18} M. L'évolution de la concentration selon la profondeur est différente selon les régions. En général, les concentrations en ^{137}Cs diminuent de façon exponentielle de la surface vers les profondeurs avec une zone entre 200 à 400 m où la concentration est maximale.

De 1994 à 2001, la concentration en surface de ^{239,240}Pu était de 1.10^{-17} M. Dans le cas du plutonium, comme nous l'avons évoqué, la migration est contrôlée à la fois par la dynamique de l'eau mais également par l'association avec les particules en suspension. La mer Méditerranée est relativement riche en matière en suspension : 10 % du plutonium et jusqu'à 45 % de l'américium sont retrouvés dans la fraction particulaire. La concentration maximale en plutonium est mesurée à des profondeurs allant de 250 à 500 m. Ceci est dû à la décomposition

de la matière organique à cette profondeur et donc au relargage des radionucléides associés à la phase soluble. Dans le cas de l'américium (^{241}Am), il existe une légère augmentation de la concentration avec la profondeur. De plus, l'évolution de la concentration selon les profondeurs est différente, des pics de concentration ont été détectés à plusieurs profondeurs. L'américium a donc un comportement différent de celui du plutonium.

Pates et Muir [21] ont montré que, dans le cas de l'uranium, la concentration peut être déterminée par rapport à la valeur de la salinité. La salinité étant importante en Méditerranée, l'équation empirique est la suivante :

Équation 1 : Détermination de la concentration en uranium à partir de la salinité

$$^{238}U\ (Bq.l^{-1}) = (\ 0{,}0713\ \pm 0{,}0012\ ) \times \frac{salinité}{60}$$

La présence de la plupart des radionucléides artificiels, dont le plutonium et l'américium, est principalement due aux retombées atmosphériques des essais nucléaires. Cependant, l'accident de Palomares (Espagne), le 17 janvier 1966, a également occasionné l'introduction de plutonium dans la Mer Méditerranée. Lors de cet accident, une collision a eu lieu entre deux avions lors du ravitaillement en vol d'un bombardier nucléaire B-52 par un KC-135 de l'US Air Force. Quatre bombes thermonucléaires étaient transportées par le bombardier. Deux de ces bombes ont été retrouvées intactes alors que deux ont explosé en impactant le sol, conduisant à un rejet de plutonium sous la forme d'aérosols sur toute la région. La présence de plutonium et d'américium a été détectée par la suite dans les sédiments et les algues de Palomares [22].

Les concentrations des radionucléides dans le milieu marin dépendent de nombreux facteurs : le transport horizontal et vertical [23], la sédimentation, la remise en suspension, l'absorption par les organismes marins [24-26] et le transfert via la chaîne alimentaire [27]. De nombreuses études ont été réalisées sur les profils de concentrations selon la profondeur [4] ainsi que sur les sédiments [13, 24, 28-31]. De plus, très souvent les rejets accidentels ont permis d'utiliser les radionucléides comme traceurs afin de comprendre les différents mouvements marins et d'évaluer la migration des polluants. L'utilisation des rapports isotopiques a également permis d'étudier les phénomènes de migration. En effet, la détermination des rapports isotopiques permet de déterminer l'origine de la pollution. Par exemple, dans le cas du plutonium, le rapport ^{238}Pu/^{239,240}Pu est égal à 0,04 pour les retombées des essais nucléaires, à 0,2 voire supérieur à 1 pour les rejets industriels. Le rapport ^{240}Pu/^{239}Pu est de 0,18 pour les essais nucléaires et de 0,42 pour Tchernobyl [8].

En conclusion, même si les concentrations des radionucléides dans le milieu marin restent faibles, elles sont source de préoccupation dans la société actuelle. Nous l'avons vu, de nombreuses études ont permis d'évaluer les très faibles concentrations dans l'eau de mer. Cependant, la spéciation des radionucléides est quant à elle peu renseignée. Or, cette connaissance permettrait de mieux comprendre et d'évaluer les mécanismes de transfert de l'hydrosphère vers la biosphère. De même l'accumulation des radionucléides dans le biotope a été très largement étudiée, sans pour autant connaître la spéciation.

III. Accumulation des RN dans les organismes marins

La bioaccumulation des radionucléides a déjà été évaluée dans les organismes tels que les algues, les moules, les poissons. Ces organismes sont très souvent considérés comme de bons bioindicateurs. Un bioindicateur est une espèce végétale, fongique ou animale qui permet d'évaluer la qualité de l'environnement et de détecter des pollutions. Un bon bioindicateur doit être suffisamment répandu sur le territoire d'étude, relativement sédentaire et avoir une taille permettant son étude. Il doit exister une relation entre la concentration du polluant dans le milieu et l'organisme. Une façon de suivre la bioaccumulation de ces radionucléides est de suivre le facteur de concentration (FC). Ce facteur correspond au rapport entre l'activité du radiotraceur dans l'organisme et celle dans le milieu (ici l'eau de mer) [32]. La partie suivante présente, de façon non-exhaustive, différents facteurs d'accumulation qui ont été obtenus dans des études déjà réalisées sur la bioaccumulation des radionucléides selon les espèces dans le milieu marin.

A. Végétaux marins

Dans les végétaux, que ce soit pour les actinides ou le césium, les mesures ont montré que les facteurs de concentration varient de façon significative au sein d'un même genre pour le même élément. Par exemple, dans le cas de l'uranium, le FC varie de 61 à 350 selon la variété de macroalgues [33]. Cependant les valeurs qui ont été déterminées sont du même ordre de grandeur et les distinctions se font essentiellement selon la masse de l'organisme considéré pour le calcul du FC (masse sèche ou humide). L'Agence Internationale de l'Energie Atomique (AIEA) ainsi que le Groupe Radioécologique Nord Contentin (GRNC) [34, 35] ont répertorié les principaux facteurs de concentrations des organismes marins en donnant des valeurs moyennes.

Le Tableau 4 répertorie ces facteurs de concentration pour certains radionucléides dans le cas des végétaux marins.

Tableau 4 : Facteurs de concentration (FC), exprimés selon la masse humide des organismes, pour les végétaux marins [35, 36]

Végétaux	$^{134,137}Cs$	^{241}Am	$^{239,240}Pu$	^{232}Th	^{237}Np	$^{235,238}U$
Phytoplancton	20	200 000	200 000	400 000	100	20
Macroalgues	50	8000	4000	200	50	100 ou inférieur

L'observation de ces valeurs montre un comportement assez similaire pour l'américium, le plutonium et le thorium. Cependant, bien que le thorium soit souvent considéré comme un analogue du plutonium, son facteur de concentration (dans les macroalgues) est 20 fois plus faible. Dans le cas de l'américium, il a été montré que le transfert aux plantes aquatiques se faisait par des mécanismes d'adsorption [37]. L'uranium, le césium et le neptunium sont quant à eux, relativement peu accumulés dans les végétaux marins. Dans le cas du césium, les concentrations observées dans les algues, par exemple, évoluent en parallèle avec celle du milieu mais sont modulées par la vitesse des échanges [38]. De plus, il a été montré que l'accumulation dépend du cycle saisonnier des algues qui influence leur composition minérale. Dans l'ensemble de ces études, la spéciation des radionucléides n'a pas été étudiée. De plus, la forme (degré d'oxydation) sous laquelle le contaminant a été introduit lors de ces expériences n'a pas été spécifiée.

B. Mollusques, crustacés et poissons

Cette variabilité est également observée selon les espèces dans le cas des mollusques et crustacés. Tout comme pour les végétaux, des tendances différentes ont été distinguées selon le radionucléide (Tableau 5). En effet, l'uranium est également très faiblement accumulé. De façon moins significative, le césium et le neptunium sont également peu accumulés alors que le thorium, le neptunium et l'américium sont très fortement accumulés avec des facteurs de concentrations allant de 100 à 10 000.

Les mécanismes d'accumulation ont également été précisés. Par exemple, dans le cas de l'américium et du plutonium, ce dernier se fixe préférentiellement sur les surfaces externes

(coquilles, exosquelette, branchies) et sur les glandes digestives, essentiellement là où se trouve le périphyton (couverture biologique constituée d'organismes microscopiques se développant à la surface d'un objet immergé). Dans ce cas, la mue peut alors être un moyen très efficace de décontamination ou de passage de la contamination vers les sédiments. Sanchez-Cabeza et al., [22] ont étudié l'accumulation de l'américium et du plutonium dans le plancton. Le microplancton contient 50 % du plutonium présent sous forme particulaire. L'étude a également montré que les sédiments pouvaient jouer un rôle dans le transfert du plutonium. De plus, le facteur de bioamplification a été quantifié sur deux niveaux de la chaîne alimentaire, de l'eau au mesoplancton en passant par les microplanctons (le facteur de bioamplification correspond au transfert de l'élément via la chaîne alimentaire). Ce facteur diminue le long de la chaîne trophique (ensemble des relations alimentaires qui s'établissent entre des organismes).

Le cas du plutonium est celui qui, actuellement, a été le plus étudié. Les études de Guary et al. [39] ont montré que la connaissance de la spéciation pourrait expliquer les phénomènes d'accumulation. Dans le cas du tourteau *Cancer parugus*, par exemple, le plutonium et l'américium sont associés aux concrétions minérales (précipité de phosphate de calcium) alors que dans le homard, *Homaru gammarus*, le plutonium se trouve essentiellement dans l'hépatopancréas (organe de l'appareil digestif). Le lien entre le plutonium et la ferritine a été mis en évidence et a permis d'expliquer en partie sa distribution [40]. Le plutonium accompagnerait le fer dans l'organisme. De plus, Bjerregaard et al. ont montré que le taux d'assimilation (fraction ingérée retenue par les organes) est variable selon les espèces [41]. En effet, dans le cas d'animaux brouteurs tels que l'oursin, le taux est inférieur à 10 %. Pour des animaux filtreurs comme les moules, il varie de 1 à 15 %, pour les crustacés de 10 à 40 % alors que, pour des animaux carnivores, le taux s'élève à 90 %. La distribution n'est pas uniforme entre les différents organes et tissus.

Le même phénomène a été observé par Ryan [42], sur le zooplancton, dans le cas du neptunium. Ce dernier est essentiellement retrouvé sur les surfaces externes (coquilles et exosquelettes) bien que les facteurs de concentration observés soient plus faibles. Les études concernant l'accumulation du neptunium sont très peu nombreuses, cependant, sa biodisponibilité est inférieure à celle des autres actinides, un ordre de grandeur inférieur à celle du plutonium.

Pour le césium, il n'y pas de rôle biologique connu à l'heure actuelle mais le comportement est similaire à celui du potassium et semble suivre les mêmes mécanismes de transfert.

Tableau 5 : Valeurs moyennes des facteurs de concentrations dans les animaux marins [34, 35]

Espèces	$^{134,137}Cs$	^{241}Am	$^{239,240}Pu$	^{232}Th	^{237}Np	$^{235,238}U$
Zooplancton	40	4000	4000	10 000	400	30
Crustacés	50 - 100	400	200	1000	100	10
Mollusques (sauf céphalopodes)	50 - 60	1000	3000	1000	400	30
Poissons	100 - 400	100	100	600	1	1

C. Eponges

Parmi les différents organismes marins, les éponges sont des organismes immobiles et filtreurs et qui ont déjà été reconnues comme étant hyper accumulateurs de nombreux métaux lourds [43-46]. Plusieurs études ont montré que les éponges étaient également de bons bioindicateurs de métaux traces. L'éponge indienne *Spirastrella cuspidifera* accumule, par exemple Cd, Cr et Sn jusqu'à des concentrations de 5 à 7 ordres de grandeur supérieurs à celles dans l'eau [44]. L'accumulation des métaux dans les éponges est très dépendante de l'espèce. En effet, sur quatre espèces Méditerranéennes, seulement trois se sont révélées être de bons bioindicateurs du cuivre : *Crambe Crambe, Phorbas tenacior* et *Dysidea avara* [46]. Toutefois, très peu de données existent concernant l'accumulation des radionucléides. Seule l'accumulation de l'américium et du césium à l'état de traces a été étudiée sur différentes éponges Méditerranéennes : *Chondrosia reniformis, Agelas oroides, Ircinia variabilis, Acanthella acuta, Cymbaxinella damicornis* et *Cymbaxinella verrucosa* [43]. Dans cette étude, les auteurs ont ajouté un mélange de huit radiotraceurs (^{110m}Ag, ^{241}Am, ^{109}Cd, ^{60}Co, ^{134}Cs, ^{54}Mn, ^{75}Se and ^{65}Zn) avec une concentration en ^{241}Am de $6{,}5.10^{-12}$ M et en ^{134}Cs de $1{,}6.10^{-13}$ M.

En fait lors de ces études de bioaccumulation dans le milieu marin, seules les concentrations dans les différents organismes ont été mesurées afin de déterminer les facteurs de concentration

sans prendre en compte la spéciation. Or, l'étude de la spéciation est essentielle pour permettre d'expliquer les différences d'accumulation observées entre l'uranium et le plutonium par exemple. En effet, les données de la littérature indiquent que les facteurs de bioaccumulation de l'uranium sont dix à cent fois plus faibles que ceux du plutonium. La connaissance des interactions mises en jeu serait un moyen de comprendre les mécanismes de transfert qui interviennent et de comprendre les différences de biodisponibilité. Cependant, très peu de données existent, essentiellement pour les actinides du fait des faibles concentrations présentes dans l'eau de mer, des différents degrés d'oxydation sous lesquels ils peuvent être présents et de la complexité de la matrice.

IV. La spéciation des radionucléides dans l'eau de mer

A. Propriétés de l'eau de mer/ Complexité du milieu marin

La spéciation des radionucléides dans l'eau de mer dépend de plusieurs paramètres tels que le potentiel redox, le pH, les différentes concentrations en ions et cations. Une première étape consiste donc à connaître la constitution et les propriétés de l'eau de mer.

Les caractéristiques moyennes de l'eau de mer sont les suivantes :

- Salinité moyenne : 35 g/ kg d'eau (gamme allant de 10 à 40 g/ kg d'eau)
- pH moyen = 8,2 (gamme de pH allant de 7,5 à 8,4)
- Force ionique : 0,7 M
- E = 0,8 V

1. Espèces inorganiques

La proportion des constituants majoritaires inorganiques dans l'eau de mer est relativement constante [47]. En 1884, après avoir analysé 77 échantillons d'eau de mer prélevés à travers le monde, Dittmar a établi la loi suivante : « Dans l'eau de mer, quelle que soit la salinité, à condition qu'elle ne soit pas trop faible, les proportions relatives des principaux constituants sont pratiquement constantes et le dosage de l'un d'eux donne la teneur des autres et aussi la salinité» [48].

Les courants dans les mers et océans font que l'eau est régulièrement mélangée, ce qui conduit à des concentrations en ions majeurs (Cl^-, Na^+, SO_4^{2-}, Mg^{2+}, Ca^{2+} et K^+) relativement stables. Par contre, la concentration en éléments minoritaires peut varier selon la profondeur.

La particularité de l'eau de mer est sa richesse en sels à l'inverse des autres eaux naturelles comme les eaux lacustres par exemple. Cette différence est observable dans le Tableau 6 qui rassemble les concentrations moyennes des éléments majoritaires.

Tableau 6 : Concentrations moyennes des majeurs constituants de l'eau de mer [18, 49] comparées à celles des eaux lacustres [50]. Valeurs basées sur la compilation de plusieurs valeurs de la littérature.

	Eau de mer	**Eau lacustre**
	mM	**mM**
Cl^-	535	0,054 à 0,68
SO_4^{2-}	9 à 28	0,03 – 0,53
HCO_3^-	2,3	0,31 – 1,85
Br^-	0,84	-
F^-	0,068	0,011 à 0,016
SiO_2	0,11	0,12 – 0,17
B	0,42	-
Na^+	465	-
Mg^{2+}	52,7	0,045 – 0,41
Ca^{2+}	10,0	0,11 – 0,95
K^+	9,7	0,033 – 0,074
Sr^{2+}	0,15	-

2. Espèces organiques

La matière organique dans les océans se présente sous de nombreuses formes. Les acides organiques tels que les acides formiques et acétiques, par exemple, sont présents mais dans des concentrations tellement faibles qu'ils n'affectent que très peu la spéciation. La matière organique est constituée à 40 % par les substances humiques, le reste comprenant également les organismes vivants et leurs métabolites [51].

Les substances humiques sont issues de la décomposition de la matière organique. Selon l'acidité et la composition chimique, les substances humiques se présentent sous trois formes :

- Les acides humiques, solubles à pH > 3,
- Les acides fulviques, solubles à pH < 3,
- Les humines, insolubles.

Dans les océans, la concentration en substances humiques s'élève à 0,5 – 1,2 mg/l.

B. Utilisation de bases de données

Actuellement, les données existantes sur la spéciation des radionucléides dans le milieu marin sont issues de calculs de spéciation, aucune mesure expérimentale n'ayant été réalisée jusqu'à présent sur l'eau de mer. La modélisation de la spéciation est un outil permettant de déterminer, en dérivant les constantes de complexation, par calcul la solubilité et la distribution des espèces en solution.

Ces techniques de modélisation nécessitent avant tout la connaissance des caractéristiques du milieu (espèces présentes, concentrations, pH, Eh, I) ainsi que la connaissance des différentes constantes d'équilibres.

Différentes bases de données sont utilisées contenant les constantes de formation concernées [52]. Les plus utilisées sont BASSIST (Base Applied to Speciation in Solution and at Interfaces and Solubility Thermodynamic database) [53] et surtout la NEA-TDB (NEA Common Thermodynamic Database Project)[54].

Les constantes sont, soit des valeurs calculées, soit des valeurs issues de données expérimentales. La difficulté repose sur la sélection des valeurs utilisées. En effet, selon les espèces, des écarts importants peuvent être observés entre les valeurs reportées dans la littérature.

Les constantes thermodynamiques sont souvent exprimées pour des conditions standards, c'est-à-dire à une température de 25°C et avec une force ionique I = 0. Dans le cas de l'eau de mer, où la force ionique est de 0,7 M, il est nécessaire de réaliser une correction. Une bonne approximation peut être faite en considérant NaCl comme l'électrolyte dominant.

La correction de la force ionique peut s'effectuer à partir de l'équation SIT (Specific Ion interaction Theory) [55]. En considérant un ion X^z de charge z avec un coefficient d'activité molaire γ_x, l'expression du coefficient d'activité s'exprime alors selon l'Equation 2

Équation 2 : Expression du coefficient d'activité molaire γ_x

$$\log \gamma_x = -z^2 D_{DH} + \sum \varepsilon\,(X^2, M) m_M$$

où ε correspond aux coefficients d'interaction entres les espèces ioniques,

et l'expression du terme de Debye-Hückel

Équation 3 : Expression du terme de Debye-Hückel.

$$D_{DH} = \frac{0{,}509\sqrt{I}}{1+1{,}5\sqrt{I}}$$

où I est la force ionique, en M. Dans le cas de l'eau de mer, I est de 0,7 M, donc D_{DH} vaut 0,19.

En considérant une réaction de complexation de type : $mM + qL \Leftrightarrow M_m L_q$

La détermination de la constante de formation (log β) à la force ionique souhaitée se fera à partir de l'Equation 4.

Équation 4 : Détermination de la constante de formation (log β) à la force ionique désirée.

$$\log \beta = \log \beta° + \Delta z^2 D_{DH} - \Delta\varepsilon . I$$

Où log β^0 est la constante de formation à I = 0 et $\Delta z^2 = (mz_M - qz_L - n)^2 + n - mz_M{}^2 - qz_L{}^2$.

Actuellement, il existe peu de diagrammes de spéciation relatifs à la matrice eau de mer. De plus, les systèmes de modélisation utilisés sont essentiellement axés sur la thermodynamique mettant de côté l'aspect cinétique. La plupart du temps, les formes colloïdales et les substances humiques ne sont pas prises en compte.

Un modèle a commencé à prendre en compte les interactions avec les substances humiques, colloïdes et particules en suspension : Le Windermere Humic Aqueous Model (WHAM), couplé au Surface Chemistry Assemblage Model for Particles (SCAMP) [51]. Jusqu'à présent, ce modèle a obtenu des résultats satisfaisants pour des métaux à l'état de trace mais nécessite d'être développé pour l'application aux actinides.

Nous décrivons ci-après les propriétés de certains radionucléides en solution importantes pour ce travail. Le choix de ces radionucléides sera pleinement justifié dans le chapitre 2.

C. **Césium[56]**

Le césium en solution complexe très faiblement et est essentiellement présent sous la forme cationique Cs^+ donc au degré d'oxydation +I. Les ions césium sont solvatés et très stables. Ils n'interagissent quasiment pas avec les substances humiques[57].

Le césium déposé dans **l'eau de mer** reste dans les eaux superficielles. La migration de ce dernier va essentiellement être réalisée par sorption sur les particules et les micro-organismes. Récemment, une étude sur le comportement du ^{137}Cs dans la mer Baltique a montré le rôle d'un phénomène complexe de sorption-désorption suite auquel le césium peut être mobilisé par les particules en suspension ou être libéré dans l'eau de mer. Par ailleurs, le comportement du césium peut être affecté par la composition minéralogique des sédiments en suspension dans les fonds marins et par la présence d'autres polluants [58, 59].

D. **Américium [60]**

Par rapport aux autres actinides tels que l'uranium, le plutonium et le neptunium, il est difficile de trouver des valeurs de potentiels standard des couples oxydant/réducteur de l'américium à pH 8 et pour une force ionique de 0,7. A titre indicatif, les potentiels standards de l'américium en milieu acide perchlorique 1 M et en milieu basique NaOH 1 M, en V/ESH, sont donnés respectivement sur la Figure 6 et Figure 7.

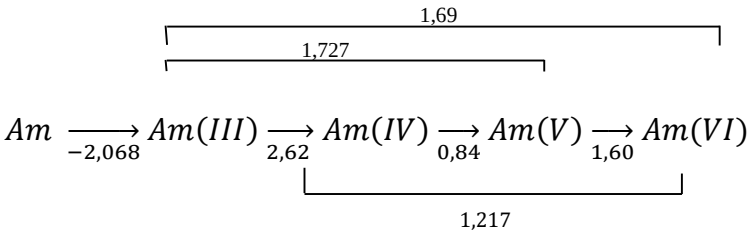


Figure 6 : Potentiels standard des couples de l'américium en milieu acide perchlorique 1M d'après [4]

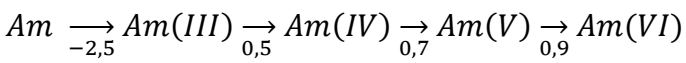


Figure 7 : Potentiels standard des couples de l'américium en milieu NaOH 1M d'après [4]

En milieu acide, l'américium est principalement trouvé au degré d'oxydation +III. En effet, le potentiel Am(IV)/Am(III) est très élevé, ce qui rend instable l'américium au degré d'oxydation + IV. Cette instabilité conduit à la dismutation de ce dernier, formant ainsi Am(III) et Am(VI). De plus, dans le cas de l'américium, la décroissance radioactive entraîne une auto absorption des radiations α qui a pour effet de réduire les hauts degrés d'oxydation (+V et +VI). Par contre, en milieu basique (pH = 9,5 - 10,5), coexistent essentiellement en milieu carbonate, les degrés d'oxydation +III, +IV, +V et + VI.

Les principaux ligands naturels susceptibles d'interagir avec l'américium sont les hydroxydes, les carbonates et les substances humiques. Lorsque la matière organique n'est pas prise en considération, les espèces présentes en solution sont : Am^{3+}, $Am(OH)^{2+}$,$Am(CO_3)^{+}$, $Am(CO_3)_2^{-}$ et $Am(OH)_2^{+}$ [4, 51]. L'hydrolyse reste néanmoins la réaction la plus importante devant la complexation des carbonates. Cependant, dans les eaux naturelles, l'espèce hydroxo-carbonate semblerait être formée même avec des concentrations faibles en carbonate [56]. La solubilité de l'américium serait alors limitée par la formation du solide $Am(CO_3)(OH)$. Aux conditions standard (I= 0 M), $\log K^0_{sp}$= 21,2 ± 1,4 [56, 61]. L'américium est fortement adsorbé sur les colloïdes, les sédiments et les substances humiques. Dans les eaux naturelles, à pH quasi neutre, même aux faibles concentrations en substances humiques (0,1 mg/l) la complexation avec les acides humiques supplante la complexation avec les carbonates et l'hydrolyse. Les complexes carbonatés deviennent significatifs à pH > 8 et pCO_2 > 0,1 atm [56]. Les espèces hydrolysées s'adsorbent rapidement sur les surfaces minérales telles que les calcites et les aragonites qui sont toutes les deux des espèces minérales de $CaCO_3$. Cependant, la compétition avec le magnésium présent dans la calcite limite la sorption de l'américium sur cette dernière [62].

Dans l'eau de mer comme dans les eaux naturelles, l'américium est généralement sous forme trivalente, qui est l'état le plus stable en solution aqueuse. Peu d'études de spéciation ont été réalisées jusqu'à présent et aucune de façon expérimentale. En utilisant la modélisation de la spéciation, Choppin a étudié la spéciation de l'américium dissous dans l'eau de mer, dans un premier temps sans prendre en compte les espèces colloïdales (Figure 8) [51]. D'après ces calculs, les mêmes complexes que dans les eaux naturelles sont retrouvés. L'augmentation des concentrations en carbonate conduit à la présence en plus forte proportion des espèces $Am(CO_3)^+$ et $Am(CO_3)_2^-$. En effet, pour une concentration en HCO_3^- de 10^{-3} M, d'après les calculs de spéciation, 40% de l'américium serait sous la forme $Am(CO_3)^+$, 30 % sous la forme $Am(OH)_2^+$, 20 % sous la forme $Am(CO_3)_2^-$ et 10 % sous la forme $AmOH^{2+}$. Choppin [51] a, par la suite, montré que les complexes avec les substances humiques seraient les espèces majoritaires dans l'eau de mer dans le cas de l'américium. Pour des concentrations supérieures à 0,01 mg/l en substances humiques, l'américium serait majoritairement complexé par les substances humiques.

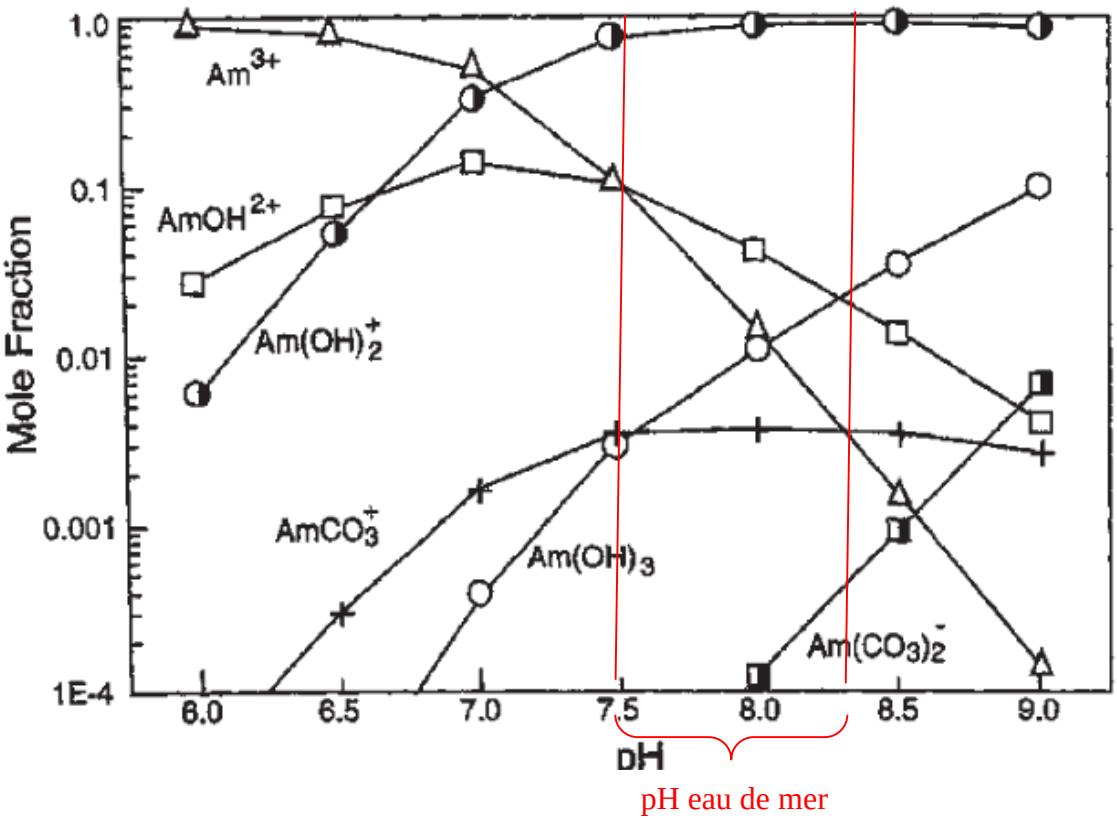


Figure 8 : Diagramme de spéciation de Am(III) dissous dans les eaux naturelles en fonction du pH d'après [62].

E. Neptunium

Les potentiels standards du neptunium en milieu acide perchlorique 1 M et en milieu basique NaOH 1 M, en V/ESH, sont donnés respectivement sur la Figure 9 et Figure 10 ci-dessous.

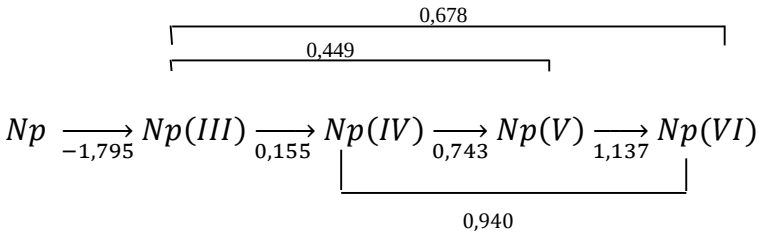


Figure 9 : Potentiels standard des couples du neptunium en milieu perchlorique 1M d'après [61]

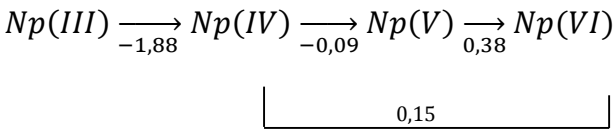


Figure 10 : Potentiels standard des couples du neptunium en milieu NaOH 1M d'après [60, 61]

Dans l'environnement, en solution aqueuse, la spéciation du neptunium est dominée par le degré d'oxydation +V [4]. Il a une très forte tendance à rester sous sa forme non complexée au degré d'oxydation +V $\{NpO_2^+\}$, il est très soluble et est faiblement hydrolysé. Sa solubilité peut aller jusqu'à 10^{-4} M et est limitée par la formation de $Np(OH)_4$ ou NpO_2 [51].

L'analyse des constantes thermodynamiques et les calculs de spéciation ont montré que dans les eaux naturelles, une petite fraction de Np(IV) peut être présente selon le potentiel redox du milieu. Au degré d'oxydation +V, le neptunium est plus mobile que le neptunium tétravalent dont la solubilité est plus restreinte. Dans les eaux naturelles, un mélange de $\{NpO_2^+\}$ et $NpO_2CO_3^-$ est principalement présent [63]. Dans certaines conditions, il y a compétition entre l'hydrolyse et la complexation avec les carbonates entraînant la formation de composés mixtes. Une étude par spectroscopie Raman a montré la présence de deux complexes en solution basique carbonatée : $NpO_2(OH)(CO_3)_2^{4-}$ et $NpO_2(OH)_2(CO_3)^{3-}$ [63]. Clark D.L. et al [64] ont étudié les complexes de carbonate de neptunium pentavalent par EXAFS dans le but de déterminer la structure des principaux constituants de ce dernier dans les eaux souterraines. Les mesures ont été réalisées avec des concentrations de 10^{-3} M en neptunium au seuil L_{III}. Ainsi, ils ont étudié trois complexes carbonatés : $NpO_2(CO_3)^-$, $NpO_2(CO_3)_2^{3-}$ et $NpO_2(CO_3)_3^{5-}$.

Selon le potentiel de l'eau de mer, le neptunium est présent aux degrés d'oxydation +IV, +V et +VI [51]. Cependant, d'après les calculs de spéciation réalisés par Choppin, il se trouverait majoritairement sous la forme Np(V) [51, 65]. Comme dans les eaux naturelles, Np(V) se présenterait sous la forme $\{NpO_2^+\}$ et $NpO_2CO_3^-$ [56, 60].

Les potentiels d'oxydoréduction des différents couples d'oxydant/réducteur du neptunium à pH = 8 et I = 0,7 M ont été compilés par Choppin [62] (Figure 11).

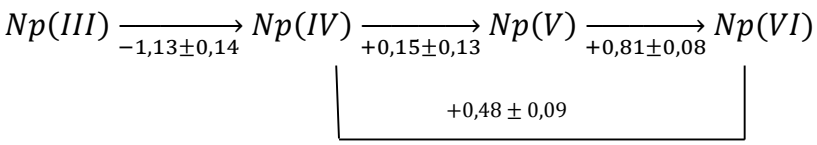


Figure 11 : Potentiels standard des couples du neptunium à I=0,7 m et pH = 8 d'après [66].

Selon Choppin, le cation aqueux représente environ 95% de la concentration totale en neptunium dans l'eau de mer [51]. Sous cette forme, le neptunium se sorbe plus facilement sur les sédiments. Cependant, ce phénomène d'adsorption dépend fortement du pH, de la concentration en carbonate et de la présence en Mg^{2+} et Ca^{2+} dans l'eau. En effet, l'espèce carbonate s'adsorbe au moins quatre fois moins sur les sédiments que $\{NpO_2^+\}$ et les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} inhibent la sorption [67]. A l'inverse du plutonium, les substances humiques n'ont pas un rôle de réducteur concernant le neptunium pentavalent [51].

F. Uranium

L'uranium est le seul des actinides étudiés qui est présent naturellement dans l'environnement. De plus, ce dernier est ubiquitaire et est représentatif des actinides (VI).

Les potentiels standards de l'uranium en milieu acide perchlorique 1 M et en milieu basique NaOH 1 M, en V/ESH, sont donnés respectivement sur la Figure 12 et Figure 13 ci-dessous :

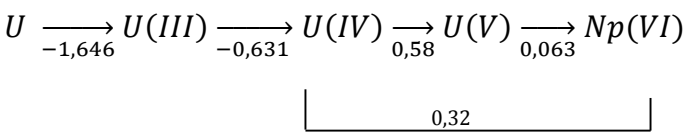


Figure 12 : Potentiels standard des couples de l'uranium en milieu acide perchlorique 1 M d'après [61]

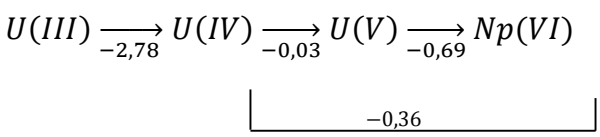


Figure 13 : Potentiels standard des couples de l'uranium en milieu NaOH 1 M d'après [60, 61]

Dans le cas de l'uranium, les degrés d'oxydation stables sont les degrés +IV, +V et +VI en milieu acide et non complexant.

Pour les eaux naturelles, étant donné leur potentiel redox, l'uranium hexavalent est prédominant. A pH élevé, les complexes formés sont des complexes hydroxydes et carbonates. A des pH supérieurs à 7,5, le complexe carbonate chargé négativement, $UO_2(CO_3)_3^{4-}$, prédomine et est très stable en solution et très peu adsorbé [4]. Cependant, différentes études ont montré l'impact de la présence du calcium. En effet, la formation de complexe ternaire Ca-UO_2-CO_3 a été mise en évidence dans des eaux de ruissellement [68] et dans des eaux potables [69]. La prise en considération de ces complexes entraîne une modification au niveau des espèces majoritaires, qui deviennent alors : $UO_2(CO_3)_3^{4-}$, $UO_2(CO_3)_2^{2-}$, $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ et $Ca_2UO_2(CO_3)_3(aq)$[68-71].

En 1996, Bernhard [68] a observé par SLRT la présence majoritaire (95 %) de $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ dans des eaux de ruissellement (pH = 7,8). Puis, en 2001, il a tenté de confirmer ce résultat par EXAFS et mis en évidence la superposition des signaux issus du calcium et des oxygènes du carbonate [72]. En 2007, Kelly [70] a poursuivi la détermination par EXAFS du complexe Ca-UO_2-CO_3 aux concentrations environnementales (de l'ordre du µM) en se basant sur la liebigite. La présence du complexe a été confirmée mais la détermination de la coordination reste difficile. De plus, Kalmyhov [73] et Choppin ont également soulevé la question de la présence du complexe Na-UO_2-CO_3. Kelly a démontré que le nombre d'atomes de calcium et de sodium liés au tricarbonate d'uranium dépend de la concentration en Ca^{2+}. L'augmentation de la concentration en Ca^{2+} favorise la présence du complexe ternaire et augmente le nombre d'atomes de calcium par atome d'uranium (N_{Ca}) alors que cela provoque la diminution du nombre d'atomes de sodium par atome d'uranium (N_{Na}). Aux plus fortes concentrations de calcium (> 5mM), en moyenne deux atomes de calcium (2,0 ± 0,6) sont liés au tricarbonate pour un atome de sodium. Les complexes $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ et $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ ont également été détectés dans des eaux potables finlandaises [69]. Des études toxicologiques ont montré que ces complexes sont non toxiques car non biodisponibles.

Selon le potentiel redox de l'**eau de mer**, l'uranium devrait être principalement présent aux degrés d'oxydation + IV et + VI. Les potentiels d'oxydoréduction des différents couples d'oxydant/réducteur de l'uranium sont les suivants à pH = 8 et I = 0,7 M [51] (Figure 14):

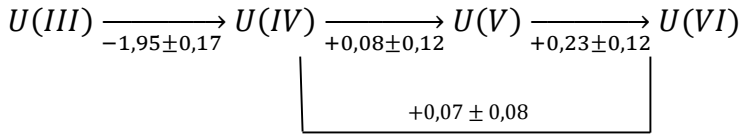


Figure 14 : Potentiels standard des couples de l'uranium à I=0,7 M et pH = 8 d'après [51].

Cependant, d'après les calculs de spéciation réalisés, la forme du cation $\{UO_2^{2+}\}$ est la forme prédominante en surface des océans. L'uranium hexavalent se complexe fortement avec les carbonates. Les complexes carbonatés représentent 90 à 100 % de l'uranium dissous [60]. Comme dit précédemment dans le paragraphe concernant l'utilisation des bases de données, les premières tentatives de spéciation théorique ont montré que les espèces majoritaires sont $UO_2(CO_3)_3^{4-}$ (fraction molaire 0,7) et $UO_2(CO_3)_2^{2-}$ [18]. Cependant, en comparant avec les résultats obtenus dans les eaux naturelles, pour un pH presque similaire, les concentrations en sodium et calcium sont plus importantes (respectivement 465 et 10 mM). Il est donc probable de retrouver ces complexes ternaires. Récemment, en 2014, Endrizzi a étudié la spéciation de l'uranium en milieu NaCl (0,1 M) au pH de l'eau de mer en présence de calcium et de magnésium [74]. Les constantes de formation (log β) des complexes $Ca_2UO_2(CO_3)_3$, $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ et $MgUO_2(CO_3)_3^{2-}$ ont été évaluées respectivement à 30,84, 27,00 et 26,25. Ces constantes ont permis de revoir la spéciation de l'uranium dans l'eau de mer. L'espèce prédominante serait l'espèce neutre $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ (60 %) et ensuite les espèces $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ et $MgUO_2(CO_3)_3^{2-}$ (à environ 20 % chacun) [74]. Concernant les substances humiques, $\{UO_2^{2+}\}$ ne forme que très peu de complexe avec ces dernières (< 1 %) [51, 75], l'interaction avec les carbonates étant beaucoup trop importante.

V. Positionnement de ce travail

Pour conclure, nous avons vu dans ce chapitre que la présence de radionucléides dans l'eau de mer est essentiellement due à la radioactivité naturelle, la concentration la plus importante, celle de l'uranium étant de l'ordre de 10^{-8} M. Cependant, une partie des radionucléides présents dans l'eau de mer est d'origine anthropogénique. Parmi ces radionucléides, la majorité provient des retombées des essais nucléaires, des accidents de sous-marins nucléaires et, plus récemment, de l'accident de Fukushima. Les concentrations en radionucléides dans l'eau de mer sont très faibles et, pourtant, leur devenir en milieu naturel est un enjeu sociétal essentiel. De par ces faibles concentrations mais également de par la complexité de la matrice eau de mer (forte salinité), le compartiment marin a jusqu'à présent été peu étudié. Des études ont donné accès à

ces très faibles concentrations à l'aide de différentes techniques analytiques. Des mesures de bioaccumulation des radionucléides dans les organismes marins ont également été réalisées afin d'obtenir les facteurs de concentration. Ces dernières ont mis en avant des différences de comportement selon les radionucléides. Ainsi, l'uranium semble être très peu bioaccumulé. En effet, les données de la littérature indiquent que les facteurs de concentration sont dix à cent fois plus faibles que pour le plutonium. En général, l'uranium, le neptunium et le césium s'accumulent beaucoup moins que le thorium, l'américium et le plutonium. Lors de ces études, seuls les facteurs de concentration ont été calculés, sans déterminer les différents mécanismes intervenants. La connaissance des interactions mises en jeu serait un moyen de mieux comprendre les mécanismes de transfert qui interviennent et de comprendre les différences de comportement. Cependant, la spéciation des radionucléides est quant à elle peu renseignée. Seuls des calculs de spéciation ont été effectués jusqu'à présent conduisant pour chacun des radionucléides d'intérêt à la présence de complexe carbonate dans l'eau de mer. Dans aucun cas, ces complexes n'ont été observés directement.

Ce travail vise donc à mieux comprendre le comportement des radionucléides dans le milieu marin, en précisant la spéciation des radionucléides. Parmi les radionucléides d'intérêt pouvant être dispersés dans le milieu marin, ce projet en cible quatre : ^{nat}U(VI), ^{237}Np(V), ^{241}Am(III) avec son analogue ^{152}Eu(III) et ^{137}Cs(I), le cas du césium ayant été seulement abordé. La justification du choix de ces radionucléides est développée dans le chapitre suivant. La détermination de la spéciation a été réalisée par combinaison de plusieurs spectroscopies telles que la spectroscopie d'absorption X et la spectroscopie laser résolue en temps. Enfin, dans le but de mieux comprendre les mécanismes de transfert entre l'hydrosphère et le biotope, l'accumulation dans les spongiaires, organismes accumulateurs de métaux lourds a également été étudiée. Dans ce travail, le choix s'est porté sur l'éponge *Aplysina cavernicola,* une éponge marine, communément trouvée dans la Méditerranée.

Il ressort de l'ensemble des données produites à ce jour que la compréhension des processus chimiques et biochimiques impliqués dans la dispersion et l'accumulation des radionucléides en milieu marin est nécessaire afin de mieux évaluer leur impact sur l'environnement mais également sur l'Homme *via* la chaîne alimentaire.

Chapitre 2 : Méthodologie

Dans ce chapitre est exposée de façon synthétique la méthodologie générale de notre travail ainsi que les choix que nous avons faits concernant les radionucléides étudiés, leurs concentrations ainsi que la variété d'éponge utilisée.

Dans l'eau de mer, comme nous avons pu le voir dans le chapitre précédent, la concentration des radionucléides et, en particulier, des actinides est extrêmement faible (10^{-8} M dans le cas de l'uranium et $< 10^{-13}$ M pour les autres actinides). Alors que les méthodes spectrométriques telles que la spectrométrie de masse couplée à un plasma induit par haute fréquence (ICP-MS) ou la spectrométrie de masse par accélérateur (AMS) permettent d'inventorier de l'ordre du ppt, les techniques spectroscopiques donnant accès à la spéciation moléculaire ne permettent pas d'accéder à des concentrations aussi faibles. Pour contourner cette difficulté tout en restant le plus représentatif possible du milieu naturel, nous avons travaillé sur des solutions naturelles d'eau de mer dopées à 5.10^{-5} M en radionucléides. Le choix de cette concentration est expliqué en détail dans ce chapitre ainsi que la mise en œuvre générale de ces dopages. Il s'agit également de montrer comment la complémentarité des techniques analytiques et spectroscopiques nous a permis de déterminer les différentes spéciations des radionucléides dans le milieu marin. La préparation des échantillons, les modes opératoires ainsi que les conditions analytiques sont consignés dans les Annexes A et B.

I. Stratégie générale

Nous avons vu dans le chapitre précédent, que, que ce soit par apport naturel ou anthropogénique, les radionucléides présents dans le milieu marin peuvent être très variés (césium, strontium, uranium, plutonium, etc.). La plupart ont des périodes radioactives courtes, inférieures à un mois. Parmi les radionucléides pouvant être dispersés dans le milieu marin, notre attention s'est focalisée sur l'uranium(VI), le neptunium(V), l'américium(III) (avec l'analogue Eu(III)) et sur le césium(I) (Figure 15).

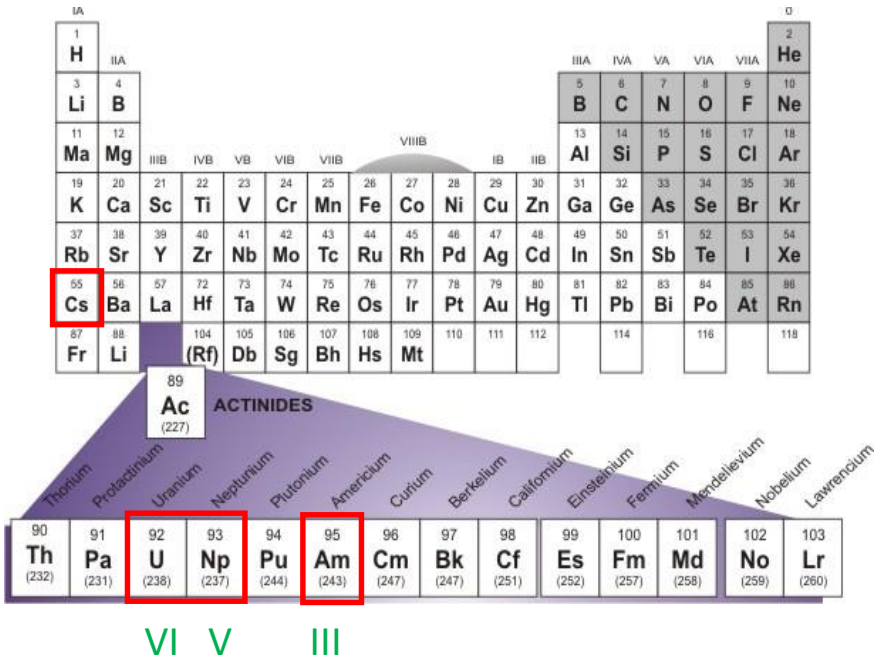


Figure 15 : Tableau périodique localisant les radionucléides d'intérêt.

En effet, ces radionucléides ont des temps de vie longs, allant de quelques années à quelques milliers d'années. Dans le cas du césium, en cas d'accident, les quantités rejetées peuvent être relativement importantes (47 kBq/l mesurés dans l'eau de mer près de Fukushima juste après l'accident). En ce qui concerne les actinides, les concentrations sont très faibles dans le milieu marin. Cependant, aux yeux de la société, une contamination même très faible représente un réel danger qu'il soit avéré ou non. Ainsi suite à l'accident de Fukushima, certains journaux ont parlé de « contamination préoccupante du milieu marin » et se faisaient l'écho d'une inquiétude générale compréhensible vis à vis des taux de contamination de la mer par des radionucléides tels que le plutonium, le césium et l'iode. En effet, de par les évènements passés (Tchernobyl, les deux bombes atomiques), ces radionucléides sont les plus communément cités. La connaissance de leur comportement dans l'hydrosphère est donc nécessaire et liée à des impératifs tant scientifiques que sociétaux. Néanmoins, très peu de données existent sur la spéciation de ces éléments dans le milieu marin. Jusqu'à présent, les études ont uniquement consisté en de la modélisation de la spéciation sans jamais réaliser d'observations expérimentales. De plus, dans le cas des actinides, plusieurs degrés d'oxydation peuvent être présents dans l'eau de mer. Pour autant, pour un degré d'oxydation donné, des analogies peuvent être faites. Ainsi, l'étude de la spéciation de l'américium (III), du neptunium(V) et de l'uranium(VI) peut servir également de guide à l'étude du comportement du plutonium à ces

trois états d'oxydation. Des différences de comportement peuvent néanmoins apparaître entre le plutonium et les analogues.

La méthodologie générale adoptée dans le cadre de mon travail de thèse est résumée sur la Figure 16. Elle se décompose en trois parties :

- La détermination expérimentale de la spéciation des radionucléides dans l'eau de mer
- L'étude des processus de bioaccumulation des spongiaires
- La spéciation des radionucléides bioaccumulés.

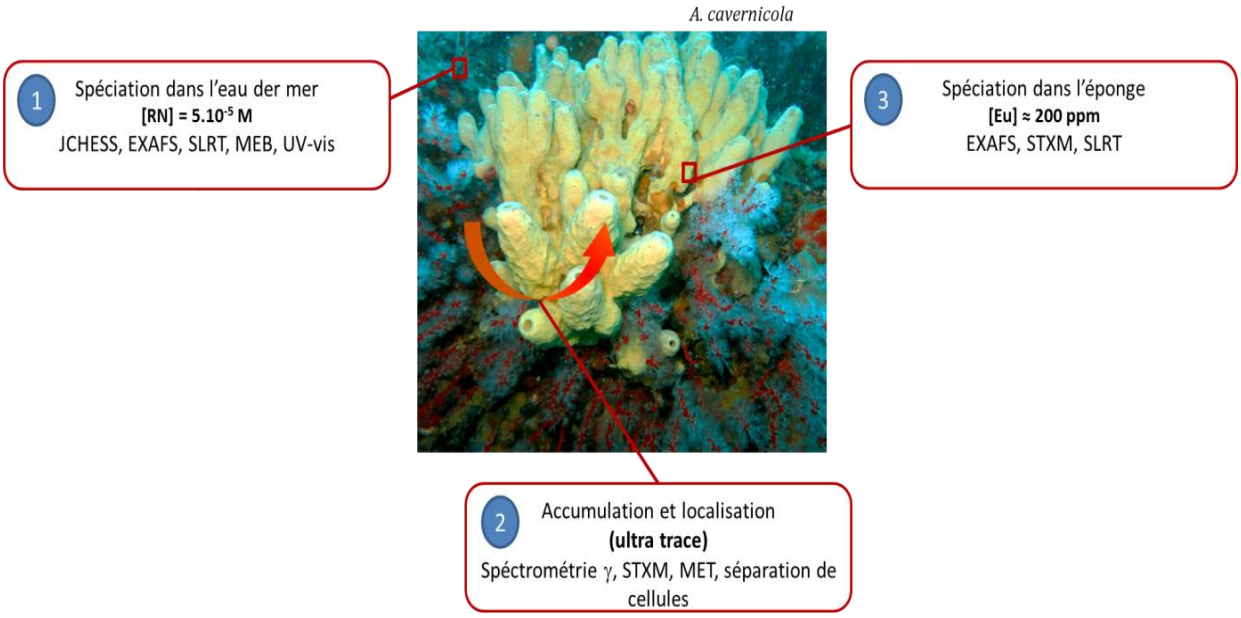


Figure 16 : Schéma de méthodologie générale de ce travail

La première étape de ce travail a consisté à déterminer la spéciation des radionucléides d'étude dans l'eau de mer à l'aide de calculs de spéciation et de la spéciation expérimentale. La détermination de la spéciation expérimentale a été réalisée sur des solutions d'eau de mer dopées (voir après) par combinaison de plusieurs spectroscopies et d'imagerie. Une deuxième partie a ensuite consisté à étudier le comportement de ces radionucléides avec les éponges *A. cavernicola* communément trouvées le long des côtes de la Méditerranée. Les quantités de radionucléides intégrées par ces dernières ont été mesurées par spectroscopie gamma ou par ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry), selon le radionucléide étudié, dans le but d'évaluer la courbe d'accumulation au cours du temps. La combinaison du STXM (Scanning Transmission X-ray Microscopy), du TEM (Transmission Electron Microscopy) ainsi que la séparation des cellules d'éponge ont ensuite permis de localiser les zones

d'accumulation. Enfin, la dernière partie de ce travail nous a amené à étudier la spéciation dans l'éponge. Pour cela, plusieurs techniques spectroscopiques ont également été employées : SLRT (Time-Resolved Laser-Induced Fluorescence Spectroscopy), EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structure) et STXM. Chacun de ces points sera détaillé dans la suite de ce chapitre.

II. Spéciation des radionucléides dans l'eau de mer

A. Quels outils pour la spéciation dans l'eau de mer ?

Les techniques de spéciation pouvant être utilisées sont nombreuses et diffèrent selon l'information désirée (concentration, isotopie, degré d'oxydation, structure moléculaire….). Cependant, dans le cas de l'étude en milieu marin, la variété des techniques utilisables est nettement réduite (Tableau 7). La matrice eau de mer empêche l'utilisation de nombreuses techniques, essentiellement à cause de la forte présence de sel. De plus, les teneurs en radionucléides dans l'environnement sont très faibles et, la plupart du temps, en dessous des limites de détection des techniques de spéciation actuelles (Tableau 3 du Chapitre 1). Dans le cas d'échantillons contenant des éléments à l'état de traces, très peu de techniques permettent de travailler sur de si faibles teneurs. Pour obtenir la spéciation, il convient donc de développer ou d'adapter des outils capables de renseigner sur les différentes formes physico-chimiques des radionucléides en milieu dilué. Les techniques SLRT et SAX sont celles qui présentent le plus d'avantages dans le cas de l'eau de mer car elles sont, soit indépendantes de la matrice, soit moins sensibles à cette dernière. Elles sont par ailleurs complémentaires au niveau des informations qu'elles apportent. Ces techniques seront détaillées plus tard dans le chapitre.

Les domaines de sensibilité de ces techniques peuvent être séparés de plusieurs ordres de grandeurs des teneurs environnementales (Tableau 7). Même pour l'uranium, dont les concentrations sont les plus importantes dans l'eau de mer, de l'ordre de 10^{-8} M, ces techniques sont inapplicables. Pour pallier ces difficultés, une approche dite intermédiaire a été utilisée. La Figure 17 indique les concentrations des ions majeurs présents dans l'eau de mer (Na^+, Cl^-, HCO_3^-, Ca^{2+} selon le Tableau 6 du chapitre 1) et les compare à la concentration d'étude choisie.

Tableau 7 : Synthèse des techniques de spéciation utilisées dans le cas de la spéciation des actinides dans l'eau de mer.

Techniques	Limites de détection	Informations recueillies	Commentaires
RMN	10^{-1} à 10^{-4} M	Structure	
SLRT : Spectroscopie Laser Résolue en Temps	U (VI) 10^{-8} M Cm(III) 10^{-8} M Am(III) 10^{-6} M	Identification et quantification complexe	Limitation dans la matrice eau de mer pour U. Diminution fluorescence avec pH, I à faible concentration (<30µg/L)
SAX : spectroscopie d'absorption X	10^{-1} à 10^{-5} M	EXAFS : Structure de coordination XANES : Degré d'oxydation	
Spectrométrie d'absorption visible	> 10^{-5} M 10^{-7} M Np(V)	Identification et détermination d'espèces	
Spectrométrie alpha et gamma	Th(IV) et U(VI) de 10^{-8} à 10^{-12} M	Degré d'oxydation, Quantification	(nécessite une séparation au préalable) Concentration + séparation nécessaire
Couplages avec ICP-MS : **LC-ICPMS/ EC-ICPMS/ IEC-ICPMS/ FC-ICPMS**	Quelques ppb	Degré d'oxydation, Quantification	Limitation due aux sels dissous (besoin de réaliser de nombreuses dilutions)

Ces ions sont susceptibles de jouer un rôle dans la complexation étant donné leurs concentrations dans l'eau de mer (> 2.10^{-3} M). Les quantités de radionucléides introduites ne peuvent donc pas être supérieures à ces valeurs. D'autre part, afin de pouvoir réaliser des mesures EXAFS, la concentration en radionucléide doit être supérieure à 10^{-6} - 10^{-5} M, limite actuellement admise comme étant atteignable sur la plupart des lignes d'absorption X. Un compromis a dû être fait entre ces deux conditions pour déterminer la quantité dopée. Le choix a été de limiter au plus les ajouts de radionucléides dans l'eau de mer. Les solutions mesurées ont donc été réalisées dans des conditions pseudo naturelles par dopage en se plaçant à 5.10^{-5} M.

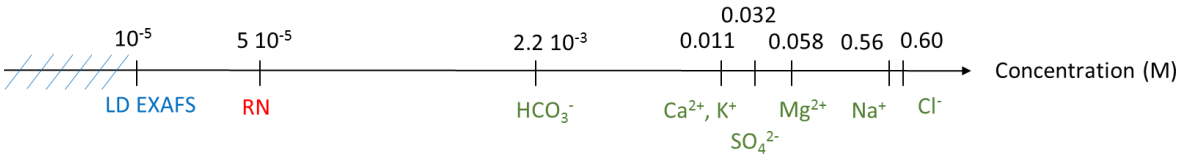


Figure 17 : Echelle de concentrations des ions majoritaires présents dans l'eau de mer comparée à la concentration choisie pour le dopage

L'étude de la spéciation nécessite souvent l'utilisation de plusieurs techniques spectroscopiques ou analytiques. La combinaison de ces différentes techniques est essentielle afin d'obtenir le plus d'informations possibles sur l'espèce présente, d'autant plus lorsque le milieu d'étude est complexe. L'utilisation de la SLRT en association avec l'EXAFS a permis de compléter notre approche dans l'eau de mer ainsi que dans les éponges. Cette complémentarité nous a conduit à l'identification des complexes présents, la détermination des degrés d'oxydation et la structure de coordination. Ces techniques ont l'avantage de pouvoir être utilisées malgré la complexité du milieu (force ionique).

B. Spectroscopie Laser Résolue en Temps (SLRT)

La SLRT est une technique spectroscopique pour laquelle un faisceau laser de longueur d'onde spécifique excite un élément fluorescent par absorption de photon. Le retour à l'état fondamental entraîne alors l'émission d'un photon de fluorescence de durée de vie dépendante de la forme chimique. La détection de la fluorescence pendant un intervalle de temps défini va permettre d'obtenir les temps de vie et les spectres d'émissions caractéristiques d'une espèce. La SLRT permet ainsi la détermination des différentes formes chimiques en solution aqueuse, des concentrations des espèces en solution et du degré d'hydratation dans le cas des éléments trivalents. Cette technique a l'avantage d'être rapide et de posséder de très faibles limites de

détection (cf. Tableau 7). De plus, il est possible de distinguer les différentes espèces chimiques composant une même solution. Néanmoins, la SLRT présente quelques limitations. Dans le cas des actinides, par exemple, seuls l'uranium, l'américium et le curium fluorescent et peuvent donc être observés par SLRT. De plus, la présence de chlorures en forte concentration provoque une diminution de l'intensité de fluorescence de l'uranium. Certains lanthanides (7), tel que l'europium, sont également observable par SLRT.

La SLRT a été utilisée afin d'étudier la complexation de l'europium et de l'uranium dans les solutions d'eau de mer dopées.

C. Spectroscopie d'Absorption X (SAX)

Les mesures de spectroscopies X ont été réalisées sur grands instruments, aux synchrotrons de l'European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) à Grenoble et le synchrotron SOLEIL à Paris. Le rayonnement synchrotron est un rayonnement électromagnétique. Son utilisation est très intéressante de par sa large gamme de longueur d'onde spectrale, allant de l'infra-rouge aux rayons X durs, et son flux (détails en Annexe B). Les caractéristiques de ces grands instruments ne sont pas décrites ici. Le lecteur pourra trouver sur les sites web respectifs toutes les informations nécessaires : http://www.esrf.eu et http://www.synchrotron-soleil.fr/ .

La spectroscopie d'absorption X est basée sur l'effet photoélectrique. Très schématiquement, il s'agit d'une technique permettant d'avoir accès à des informations sur le degré d'oxydation de l'atome central et de sonder l'environnement local de l'atome absorbeur (atomes voisins, distances interatomiques). Ces informations sont extraites à partir du spectre d'absorption obtenu, composé de deux parties : le seuil d'absorption et les oscillations EXAFS (Figure 18). La première partie du spectre, le seuil, correspond au spectre XANES (X-ray Absorption Near Edge Structure). L'étude du XANES permet entre autre d'obtenir des informations sur la charge du cation central. Les oscillations, quant à elles, correspondent au spectre EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structure). Ces oscillations sont dues aux interférences constructives ou destructives entre l'onde du photoélectron sortant de l'atome central et les ondes rétrodiffusées par les atomes voisins. L'étude du spectre EXAFS permet d'obtenir des informations sur la structure locale autour de l'atome central. Ici encore, le lecteur pourra trouver de plus amples informations concernant l'EXAFS dans les écrits de Michalowicz et Stern [76, 77].

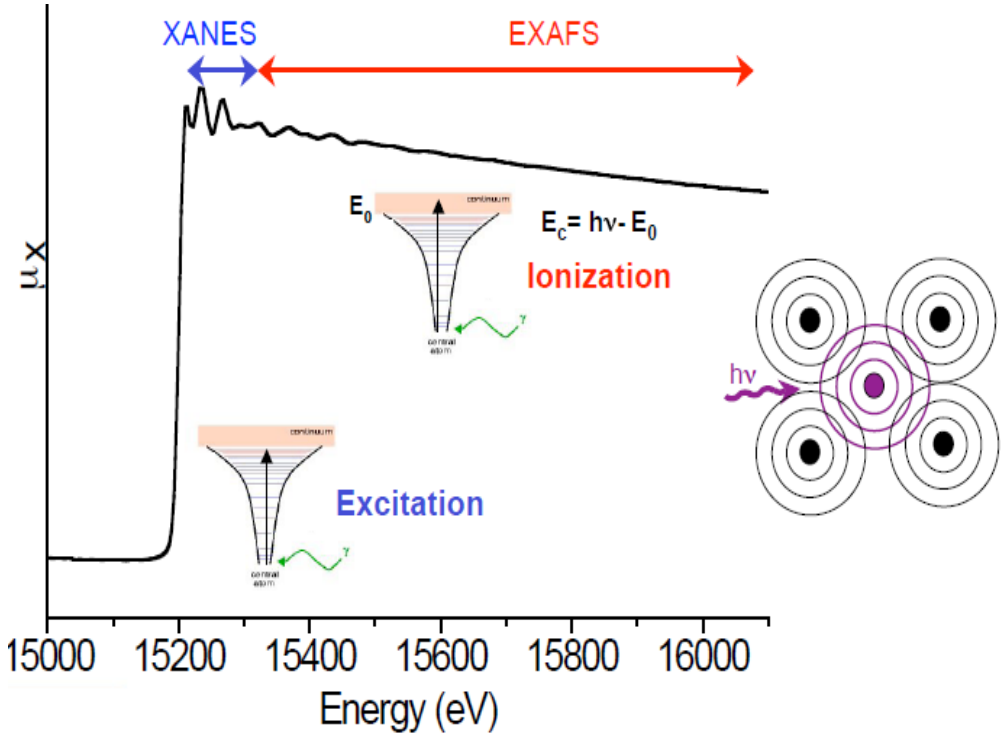


Figure 18 : Schéma de décomposition d'un spectre d'absorption X

La spectroscopie d'absorption X va donc permettre d'obtenir des informations sur la valence de l'atome central. Cette technique permet ainsi de compléter les informations obtenues par SLRT car la spectroscopie laser résolue en temps permet vu d'étudier les phénomènes de complexation. Le spectre obtenu dépend de la géométrie du complexe. De plus, la mesure du temps de vie permet de déterminer si une solution contient plusieurs espèces.

La spectroscopie des rayons X a été souvent utilisée pour l'étude de la spéciation des actinides. En effet, c'est une méthode sélective, le choix de l'énergie des photons incidents est spécifique à l'atome central étudié. Cependant, cette spectroscopie n'est pas une méthode sensible et est souvent utilisée avec des concentrations de l'ordre du mM bien que de rares mesures aient été réalisées au µM.

La spectroscopie d'absorption X a été utilisée ici afin de déterminer la structure locale et le degré d'oxydation des différents actinides étudiés et du césium dans le milieu marin (solutions d'eau de mer dopées et éponge). Les différentes mesures effectuées sont référencées dans le Tableau 8 ci-dessous avec les seuils d'énergie étudiés ainsi que les lieux où les mesures ont été réalisées.

Tableau 8 : Seuils d'études et lieux où les échantillons ont été mesurés par EXAFS

Echantillons	Seuils étudiés	Spectroscopie	Lieux
Solutions d'eau de mer dopées en europium	L_{III}	EXAFS	Ligne MARS, Soleil
Solutions d'eau de mer dopées en uranium	L_{III}	EXAFS	
Solutions d'eau de mer dopées en neptunium	L_{II}, L_{III}	EXAFS	
Solutions d'eau de mer dopées en césium	K	EXAFS	
Eponge contaminée en europium	L_{II}, L_{III}, K	EXAFS	Ligne MARS, Soleil Ligne LISA, ESRF

Le seuil K correspond à l'excitation d'un électron 1s, le seuil L_{II} l'excitation d'un électron $2p_{1/2}$, le seuil L_{III} d'un électron $2p_{3/2}$. Le domaine d'énergie de la ligne MARS (SOLEIL) s'étend de 3,5 à 36 keV. Le seuil K du césium, à 35 985 eV, correspond à l'énergie maximale qui peut être utilisée sur la ligne. A cette énergie, le faisceau est très rasant au niveau du monochromateur, ce qui conduit à des instabilités. Des mesures tests ont donc été réalisées au seuil K sur un modèle CsCl mais également sur des solutions d'eau de mer dopées en césium à 0,1 et 10^{-3} M. Les spectres obtenus ne présentent que de très faibles oscillations et un très mauvais rapport signal sur bruit. Il conviendra de réaliser une nouvelle campagne de mesures sur une ligne dédiée aux plus fortes énergies comme LISA à l'ESRF.

D. Montages en SAX

Les mesures EXAFS effectuées sur les lignes MARS (SOLEIL) et LISA (ESRF) ont permis de réaliser des mesures sur l'échantillon dans sa globalité. Les différentes mesures EXAFS ont été

exécutées en mode fluorescence du fait des faibles concentrations présentes dans les solutions. Les échantillons d'actinides nécessitent des précautions dues aux risques radiologiques. La mesure des échantillons radioactifs se fait donc dans des cellules spécifiques à double enveloppe. La cellule est composée de deux sous-unités formant deux barrières de confinement : la cellule interne et le cadre. En spectroscopie X, dans le cas d'échantillons dilués, le but est de maximiser la quantité d'atomes vue par le faisceau. Il faut donc trouver un compromis entre l'augmentation de la profondeur de pénétration des photons et l'atténuation de ces derniers par la matrice. La profondeur de pénétration correspond à l'atténuation exponentielle de l'onde perpendiculairement à la surface. La Figure 19 ci-dessous représente la profondeur de pénétration en fonction de l'énergie pour récupérer 63 % des photons incidents basé sur un échantillon d'eau pure placé à 90°. Dans le cas de l'europium, un parcours optique de 665 µm permet de récupérer 63 % des photons incidents. Pour l'uranium, le parcours optique est d'environ 9 650 µm, pour le neptunium; il est de 10 300 µm.

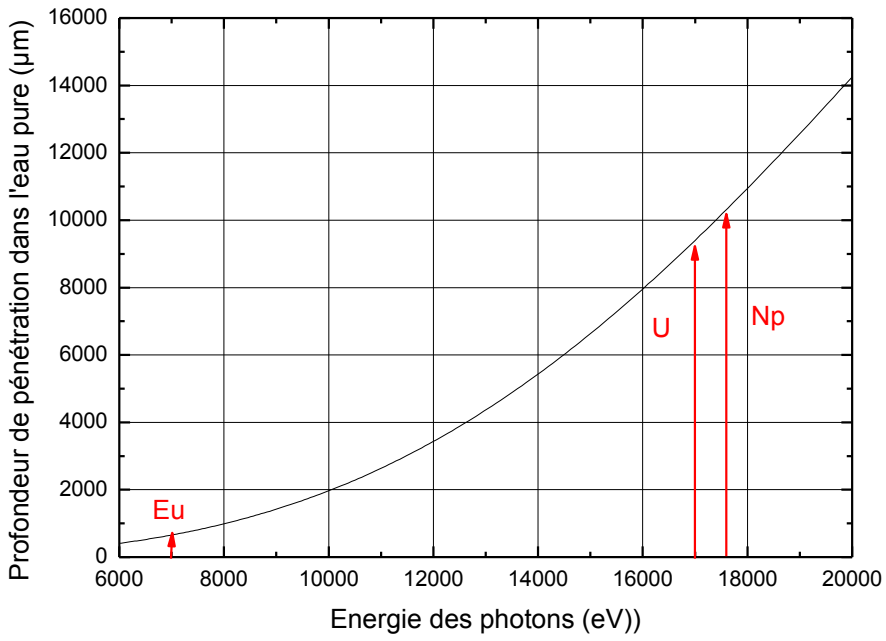


Figure 19 : Profondeur de pénétration dans l'eau pure selon l'énergie pour récupérer 63 % du rayon incident

Ainsi, pour les mesures réalisées en EXAFS, où les concentrations sont inférieures ou égales à 5.10^{-5} M, le choix de la géométrie de la cellule a été important. Dans le cas des actinides, pour lesquels les seuils L_{III} sont à des hautes énergies (autour de 17-19 keV), la profondeur de pénétration des rayons X est plus importante, de l'ordre du mm (Figure 20). Une nouvelle

géométrie permettant de sonder plus de matrice avec une plus grande pénétration des rayons X a donc été utilisée. Cette nouvelle cellule, composée de trois alvéoles pouvant contenir 500 µl de solution, est adaptée à la mesure en mode fluorescence. L'arrivée du faisceau se fait par un côté de la cellule au travers d'une fine épaisseur de Téflon (Figure 20).

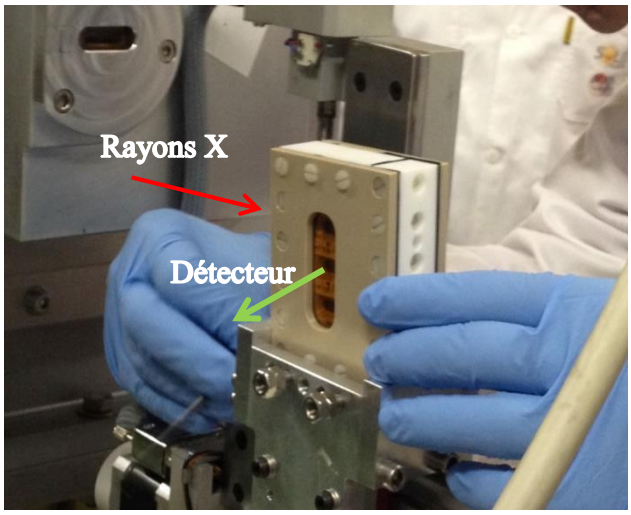


Figure 20 : Cellule pour solution diluée utilisée pour la mesure des solutions d'eau de mer dopées

Aucun acier n'a été utilisé pour éviter la fluorescence du fer. Normalement, les mesures de fluorescence se font en positionnant la cellule à 45° par rapport au détecteur mais, dans ce cas, la cellule est placée à 90° (Figure 21). Ce positionnement permet d'augmenter géométriquement la profondeur de pénétration.

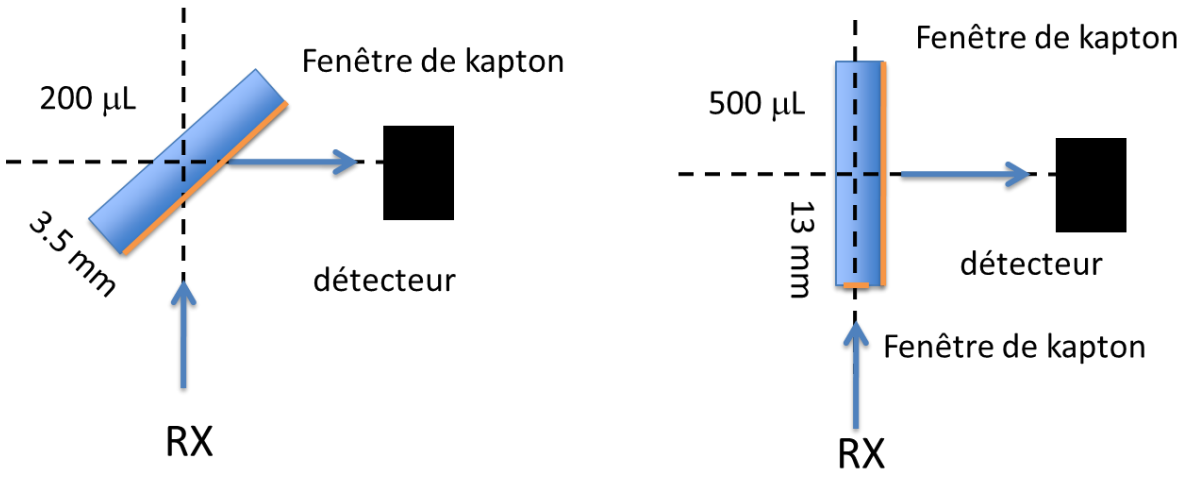


Figure 21 : Positionnement de la cellule par rapport au détecteur selon le type de cellule : à gauche cellule pour échantillon concentré et à droite cellule pour échantillon dilué.

Une comparaison sur deux scans a été réalisée sur une solution d'eau de mer dopée en neptunium à 10^{-5} M dans une cellule contenant 200 µl de solution placée à 45° puis dans la cellule contenant 500 µl placée à 90° par rapport au détecteur. Les spectres obtenus ont montré une amélioration au niveau du rapport signal sur bruit lorsque la cellule était à 90° (Figure 22). En effet, lorsque la cellule est à 45°, le bruit moyen est de 0,043 alors qu'il est de 0,018 à 90° soit un gain en rapport signal sur bruit >2.

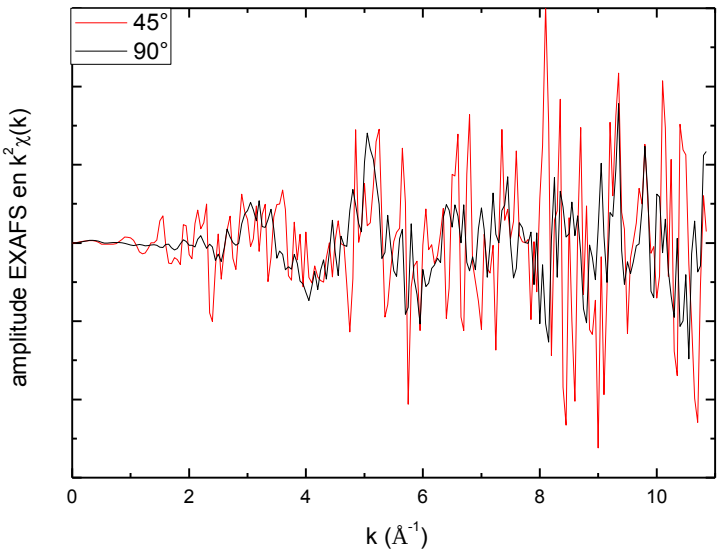


Figure 22 : Spectres EXAFS de la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 10^{-5} M au seuil L_{III} dans la cellule pour solution diluée placée à 45° puis 90° par rapport au détecteur pour un temps d'acquisition de 3,5 h.

Dans le cas de l'europium, pour lequel le seuil L_{III} est à une énergie relativement faible (6977 eV), la profondeur de pénétration est plus petite. Une autre géométrie a dû être utilisée en augmentant la taille de la fenêtre et en défocalisant légèrement le faisceau afin de sonder un maximum d'échantillons. L'utilisation du plastique a également permis de limiter la présence de fer dans l'environnement de l'échantillon. En effet, le fer est présent dans de nombreux matériaux et étant donné les faibles concentrations mesurées, l'émission de fluorescence du fer devient vite significative. Le seuil du fer est très proche de celui de l'europium et empêche la mesure.

E. L'apport de la modélisation de la spéciation

L'utilisation de la spéciation théorique permet d'obtenir une première estimation des espèces chimiques présentes dans le milieu d'étude sans pour autant remplacer l'observation

expérimentale. Les diagrammes de spéciation sont en effet conditionnés par l'estimation des constantes de complexation considérées et les approximations liées aux limites de la thermodynamique classique au niveau des domaines des traces voire des ultra traces. De plus, actuellement les outils utilisés sont essentiellement des outils thermodynamiques ne prenant pas en compte les cinétiques de transfert. Dans ce travail, les données de la spéciation prédictive dans l'eau de mer ont servi de guide à l'interprétation des données spectroscopiques expérimentales. La première étape a été de réaliser différentes mesures sur l'eau de mer afin d'obtenir les valeurs de pH, de potentiel, de salinité ainsi que les différentes concentrations en anions, cations et substances humiques. Les résultats obtenus, qui ont ensuite été utilisés dans les calculs de spéciation, sont référencés dans le Tableau 9. La salinité a été mesurée par le Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée (LEAV). La valeur obtenue est de 38 g/kg d'eau, ce qui correspond aux valeurs retrouvées dans la littérature pour la Mer Méditerranée. Le LEAV a également réalisé les mesures de concentrations en Cl^-, Br^-, F^- et K^+ et le laboratoire de Toulon, PROTEE (PRocessus de Transferts et d'Echanges dans l'Environnement) a réalisé les mesures de carbone total et de carbone inorganique total (CT/CIT).

Tableau 9 : Principaux paramètres physico-chimiques de l'eau de mer utilisés dans ce travail.

	Valeurs moyennes publiées	Valeurs mesurées	
pH	8,2	7,8 ± 0,8	
E_h (18°C)	800 mV	210 mV vs. NHE	
Salinity	35 g/kg	38 ± 2 g/kg	
Cl^- (mM)	535	603 ± 60	NF ISO 9297 : titrage au nitrate d'argent avec du chromate comme indicateur
SO_4^{2-} (mM)	9 – 28	32 ± 5	NF EN ISO 10304-1 : chromatographie ionique
HCO_3^- (mM)	2,3	2,2 ± 0,2	Alcalinité / CT-CIT
NO_3^- (mM)	0,080	0,0018 ± 0,0007	NF EN ISO 13395 : analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique
PO_4^{3-} (mM)	0,00028	0,0025 ± 0,0006	NF EN ISO 15681-2: analyse en flux continu (CFA)
Br^- (mM)	0,84	0,9 ± 0,2	NF EN ISO 10304-1 : chromatographie ionique
F^- (mM)	0,068	0,051 ± 0,008	NF T 90-004 : dosage par électrode spécifique
Na^+ (mM)	465	560 ± 70	ICP-MS
Mg^{2+} (mM)	52,7	58 ± 7	ICP-MS
Ca^{2+} (mM)	10,0	11 ± 1	ICP-MS
NH_4^+ (mM)	-	< 0,0004	NF T 90-015-2
K^+ (mM)	9,7	11 ± 1	ISO 15587-2/11885 : digestion à l'eau régale
Sr^{2+} (mM)	0,15	0,10 ± 0,02	ICP-MS
SH (mg/l)	0,5 – 1,2	0,84 ± 0,08	CT – CIT

Les valeurs mesurées sont en accord avec les valeurs moyennes publiées dans la littérature. Les constituants principaux de l'eau de mer sont les ions Cl^- et Na^+ avec des concentrations respectives de l'ordre de 600 mM et 560 mM. Ces concentrations jouent un rôle très important au niveau de la valeur de la force ionique de l'eau de mer (qui est essentiellement due à la teneur en Na^+ et Cl^-). La prédominance de ces ions peut donc avoir un impact au niveau de la complexation des actinides.

La spéciation théorique a été réalisée grâce au logiciel JCHESS [78]. Actuellement, les bases de données telles que BASSIST (Base Applied to Speciation in Solution and at Interfaces and Solubility Thermodynamic database) [53], mise à jour au CEA Marcoule à partir des constantes issues de la NEA-OCDE [61] permet de se focaliser tout particulièrement sur les actinides. Les constantes thermodynamiques utilisées dans les calculs sont toutes référencées en Annexe C.

De plus, des calculs de spéciation ont été réalisés afin de contrôler que le dopage à 5.10^{-5} M comparé aux concentrations naturelles n'impacte pas sur la spéciation. Les diagrammes obtenus à 5.10^{-5} M, 10^{-8} et 10^{-14} M sont représentés en Annexe C. Le choix de cette concentration est l'unique compromis possible afin de pouvoir déterminer la spéciation des radionucléides expérimentalement tout en limitant les changements de spéciation dus à l'augmentation de la concentration.

F. Méthodologie et dopage

Les solutions d'eau de mer dopées en radionucléide ont été réalisées à partir d'eau de mer prélevée à Monaco par l'AIEA. Des échantillons d'eau de mer ont été prélevés régulièrement à 30 m de profondeur à 30 m des terres (Figure 23). L'eau de mer a été filtrée à 0,2 µm et a subi un traitement UV afin d'éliminer les particules en suspension et les bactéries présentes naturellement dans l'eau de mer.

Figure 23 : Localisation du point de prélèvement de l'eau de mer utilisée au cours de l'étude.

Les solutions dopées en radionucléide ou analogue ont été préparées par dissolution du sel correspondant (dans le cas de l'europium : $Eu(NO_3)_3.6H_2O$, dans le cas de l'uranium : $UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ et enfin pour le césium : $CsNO_3$) dans un grand volume d'eau de mer afin d'obtenir une concentration en radionucléide ou analogue de 5.10^{-5} M sans entraîner de variation de pH. Dans le cas de l'europium, à cette concentration, une suspension colloïdale est obtenue très rapidement et précipite après quelque jour. Nous reviendrons sur ce point au chapitre 3.

Dans le cas du neptunium, la solution d'eau de mer dopée a été obtenue par dilution d'un faible volume d'une solution stock de nitrate de neptunyle en milieu chlorhydrique dans de l'eau de mer. La solution a été réalisée en boîte à gant. Seule la solution d'eau de mer dopée en américium n'a pas été préparée au sein de l'Institut au vue de l'activité spécifique importante de l'américium 241 et de la limite maximale pouvant être manipulée au sein du laboratoire (1500 Bq). Cette solution a donc été préparée au CEA Marcoule en boîte à gants. La solution d'eau de mer dopée en américium a été préparée à partir d'une solution purifiée de ^{241}Am dans

de l'acide nitrique qui, après évaporation, a été reprise dans l'eau de mer. Dans le cas du neptunium, la solution a été préparée par dilution d'une solution mère de neptunium à 5.10^{-3} M. Cette solution mère a été obtenue par dissolution d'un stock purifié de $^{237}NpO_2(OH).nH_2O$ dans de l'acide chlorhydrique. Le Tableau 10 résume les différents réactifs utilisés pour les différentes solutions d'eau de mer dopées.

Tableau 10 : Lieux de préparation et réactifs utilisés pour la préparation des solutions d'eau de mer dopées à 5.10^{-5} M

	Réactifs	Lieu de préparation
Uranium(VI)	$^{nat}UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	ICN
Césium(I)	$^{133}CsNO_3$	ICN
Europium(III)	$^{151,153}Eu(NO_3)_3.6H_2O$	ICN
Neptunium(V)	solution ^{237}Np dans HCl	ICN
Américium(III)	solution ^{241}Am dans HNO_3	CEA Marcoule

Les modes opératoires détaillés sont répertoriés dans l'Annexe A.

III. Processus de bioaccumulation des spongiaires

A. L'éponge Aplysina cavernicola

Dans le premier chapitre, nous avons vu que les éponges marines montrent une forte capacité d'accumulation d'éléments traces, essentiellement dans le cas des métaux lourds. Un fort taux d'accumulation pour le cuivre, l'argent et le cadmium, entre autre, a été observé pour différentes espèces d'éponges Méditerranéennes. Le taux d'accumulation dépend fortement de l'espèce de l'éponge. Nous avons également pu remarquer que peu d'études d'accumulation avaient été réalisées sur les radionucléides. De plus, des essais préliminaires de contamination par l'europium avaient été réalisés à l'AIEA de Monaco sur différentes espèces d'éponges marines Méditerranéennes. Les résultats de ces essais avaient permis de valider l'éponge d'étude. Le choix s'est porté sur l'éponge *Aplysina cavernicola* (Figure 24).

Cette éponge est communément trouvée dans la Méditerranée, dans des endroits peu éclairés et est facile à manipuler. *Aplysina cavernicola* est une éponge digitiforme de couleur jaune avec un squelette composé de fibre de spongine (protéine de collagène iodée riche en liaisons disulfures) en réseau. Chaque tubulure possède en son sommet un oscule qui est un pore exhalant de l'éponge (Figure 24). C'est un animal filtreur qui se nourrit de microparticules (bactéries, débris organiques).

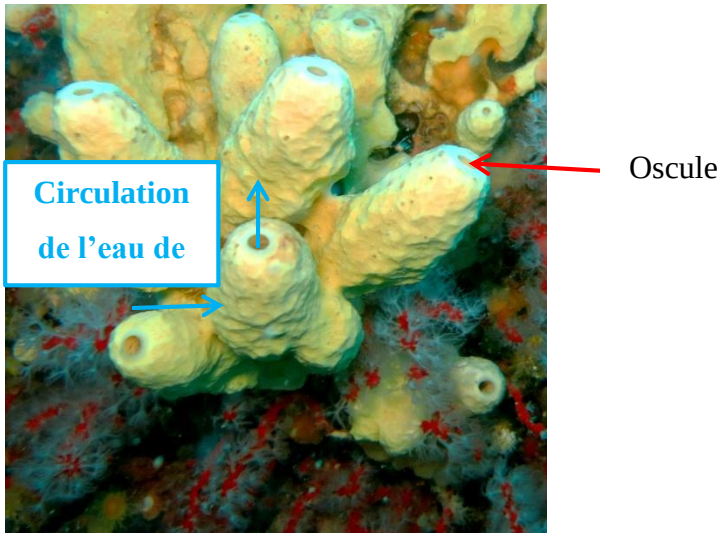


Figure 24 : Schéma de fonctionnement de l'éponge A. cavernicola.

Plusieurs morceaux d'éponges ont été collectés par O. Thomas et M-A. Tribalat en plongée sous-marine à 25 m de profondeur à l'entrée d'une cave près de la côte de Saint-Jean-Cap-Ferrat (43° 41′ 29″ N, 7° 19′ 11″ E). Les tailles des éponges étaient relativement homogènes, avec une longueur moyenne proche de 3,0 cm et un diamètre moyen de 1,4 cm. Les éponges ont ensuite été mises dans un aquarium d'eau de mer, dans le laboratoire de Radioécologie de l'AIEA à Monaco, à l'abri de la lumière, en système d'eau ouvert afin qu'elles s'acclimatent pendant au moins une semaine.

La description des cycles de fonctionnement des aquariums est détaillée en Annexe B.

B. Méthode de contamination

Les expériences de contamination ont été réalisées en aquarium à l'AIEA à Monaco au sein du laboratoire de radioécologie ou à l'ICN avec ^{nat}U, ^{241}Am, le mélange ^{152}Eu + $^{151,153}Eu$ et ^{137}Cs. Quel que soit le radionucléide, la méthodologie a été la même, seules les quantités introduites ont varié. Deux types de contamination ont été réalisés : une contamination à l'échelle des ultra traces afin d'évaluer les facteurs d'accumulation et une contamination à l'échelle pondérable

(plusieurs ppm) afin de pouvoir étudier la spéciation dans l'éponge (Figure 25). En effet, dans le cas des contaminations à l'échelle de traces, la radioprotection est moins contraignante et ne nécessite donc pas d'installation particulière. Seuls les radionucléides faiblement radioactifs ont pu être étudiés car, ni le laboratoire de radioécologie de l'AIEA, ni notre laboratoire ne sont équipés pour manipuler des activités trop importantes. La Figure 25 indique les quantités de contaminant ajoutées dans l'eau de mer par spike en termes d'activité et de nombre d'atomes selon le radionucléide. Comme le montre la Figure 25, les contaminations à l'échelle pondérable ont été uniquement réalisées avec l'uranium et l'europium (ajout d'europium naturel ^{151,153}Eu en plus de ^{152}Eu). Dans le cas de l'américium, la contamination à l'échelle pondérable n'a pu être réalisée. En effet, l'américium-241 est celui pour lequel l'activité par spike est la plus importante alors que le nombre d'atomes introduit est parmi les plus faibles. Les quantités nécessaires pour réaliser une contamination à l'échelle pondérable dépassent les limites autorisées au sein du laboratoire (1500 Bq).

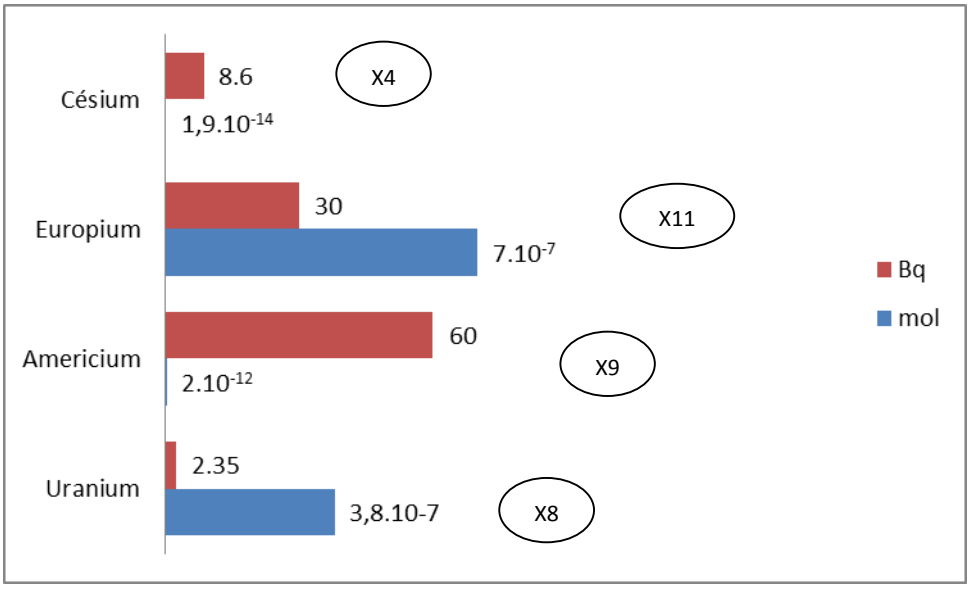


Figure 25 : Quantités introduites dans l'eau de mer par spike pour chaque radionucléide étudié

La méthodologie générale de contamination est représentée sur la Figure 26.

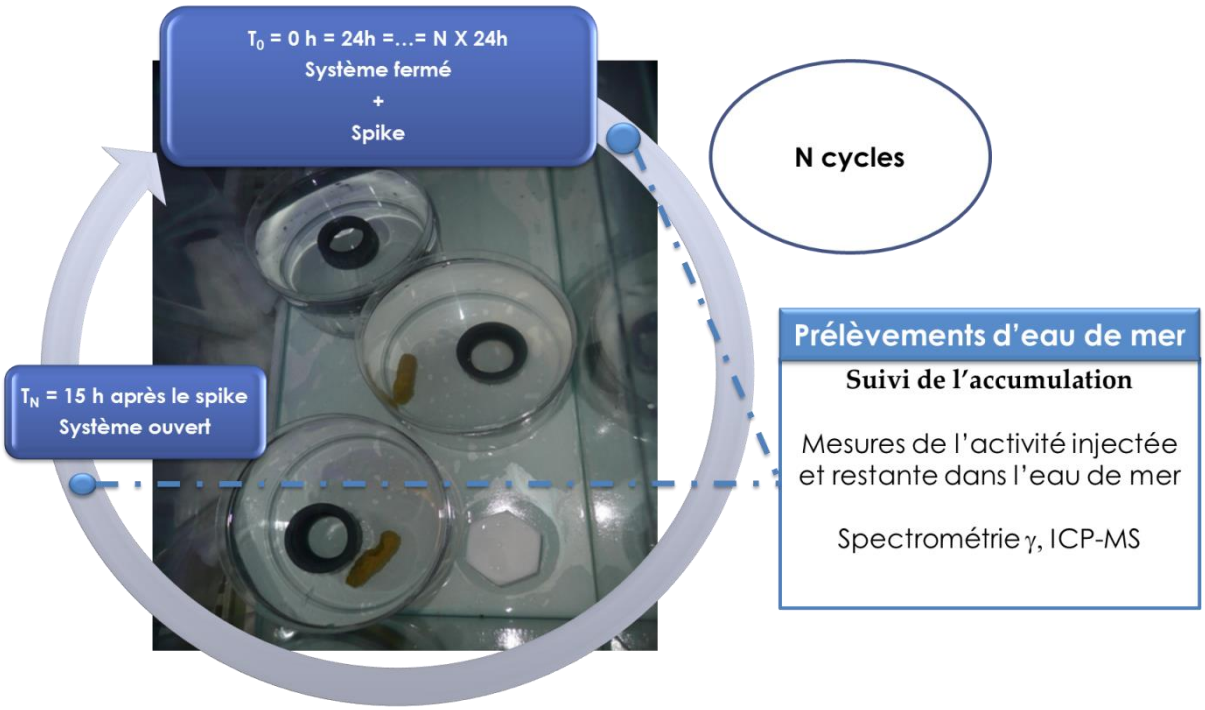


Figure 26 : Schématisation de l'expérience d'accumulation de l'europium par les éponges.

Le cycle représenté Figure 26 se déroule comme suit. Après acclimatation des éponges dans l'aquarium, les courbes d'accumulation de ces dernières ont été étudiées en dopant régulièrement l'eau de mer. Pour cela, un cycle de contamination a été mis en place tous les jours. Les éponges sont placées, au début de l'expérience, dans des boîtes de 735 ml et maintenues dans un système d'eau fermé. Le radiotraceur est ensuite introduit dans chacune des boites. Après 15 h d'exposition, le système est de nouveau ouvert afin que les éponges récupèrent et ne meurent pas. Elles sont maintenues dans un système d'eau ouvert pendant 9 h. Ce cycle a été par la suite répété plusieurs fois. En général, la contamination a eu lieu sur 10 jours sauf en cas de mort de l'éponge avant la fin de l'expérience. La culture de l'éponge étant complexe, surtout en système fermé, il a souvent été difficile de poursuivre l'expérience après 10 jours. A la fin de chaque séquence de 15 h, un volume d'eau contaminée a été prélevé et la radioactivité associée a été mesurée par spectrométrie γ ou par ICP-MS (selon le radionucléide).

Une partie des éponges a ensuite été congelée à l'azote puis lyophilisée. Une fois sèches, elles ont été broyées puis pressées sous la forme de pastille afin de mesurer l'activité massique. Dans le cas de contamination en europium à l'échelle pondérale, la contamination a également été réalisée en ajoutant uniquement de l'europium naturel dans les mêmes conditions qu'avec le radiotraceur. Cette pastille a permis de réaliser des mesures de spéciation. Les autres éponges

ont permis de faire des coupes pour réaliser des expériences d'imagerie. Cette partie de l'étude n'a pu être effectuée qu'avec l'europium.

C. Spectrométrie γ

Afin d'évaluer l'assimilation des radionucléides dans les éponges, la spectrométrie gamma a été utilisée afin de quantifier les teneurs accumulées. Contrairement à la spectroscopie, la spectrométrie γ ne permet pas de distinguer les différents complexes présents mais permet de quantifier les radionucléides présents dans une matrice. Lors des désintégrations radioactives du noyau, des photons γ peuvent être émis. Ces photons ont des énergies spécifiques, qui sont caractéristiques des transitions ayant lieu lors de la désexcitation du noyau. Ainsi, chaque isotope émetteur γ possède un spectre caractéristique correspondant aux différentes transitions et donnant lieu à des raies à des énergies spécifiques. La spectrométrie γ permet donc d'identifier les radionucléides présents dans le milieu étudié mais également de les quantifier. L'avantage de cette technique est qu'elle est non destructive, sensible, multi-élémentaire et rapide.

Le Tableau 11 présente les raies d'émission caractéristiques des différents radionucléides étudiés.

Tableau 11 : Raies caractéristiques utilisées lors des mesures par spectrométrie γ.

Radioémetteur γ	Energie des raies γ (keV)	I (%)
^{152}Eu	121,8	28,6
	244,7	7,58
	344,3	26,5
^{241}Am	59,5	35,9
^{137}Cs	661,7	85,1

Cette technique a été utilisée essentiellement pour suivre l'accumulation des radionucléides dans l'éponge soit sur des échantillons d'eau de mer, soit sur l'éponge directement pour quantifier l'europium, le césium ou encore l'américium présents. La spectrométrie γ a

également servi à localiser l'europium dans l'éponge en mesurant l'europium de façon semi-qualitative dans chaque fraction obtenue après la séparation des cellules par gradient de centrifugation.

D. Localisation et spéciation du radionucléide accumulé

Toujours dans l'optique de comprendre au mieux les mécanismes de transfert entre l'hydrosphère et la biosphère, notre intérêt s'est porté sur la localisation et la spéciation des radionucléides une fois accumulé dans *A. cavernicola*. La localisation de l'europium dans l'éponge doit permettre de distinguer si l'europium est uniquement adsorbé sur l'éponge ou s'il est uniformément réparti dans l'animal. L'étude de la localisation et de la spéciation n'a pu être réalisée que pour les contaminations correspondant à au moins 100 ppm d'europium.

Dans le cas de l'étude de la spéciation, trois techniques ont été utilisées : le STXM, la SLRT et l'EXAFS. Dans le cas de l'EXAFS et de la SLRT, une des éponges a été lyophilisée puis broyée afin d'éviter le changement de spéciation lors de la dégradation de l'éponge après la mort de cette dernière. De plus, le fait de la broyer a permis de réaliser la mesure sur un maximum de matière.

La localisation s'est faite grâce à la combinaison de deux techniques : le STXM et la séparation des cellules (cf. Annexe B). Pour pouvoir réaliser ces mesures, une préparation d'échantillon est nécessaire afin que l'éponge ne se dégrade pas au cours du temps. Une des éponges a été rincée à l'eau de mer puis des cubes ont été découpés aux endroits d'intérêt (cf. Annexe B). Les cubes d'éponges ont très rapidement été fixés (mélange eau de mer - glutaraldéhyde) puis séchés et inclus dans une résine.

La localisation de l'europium a été étudiée à trois endroits différents de l'éponge (Figure 27) :

- Proche de la surface externe de l'éponge,
- A l'intérieur de l'éponge,
- Proche de l'oscule.

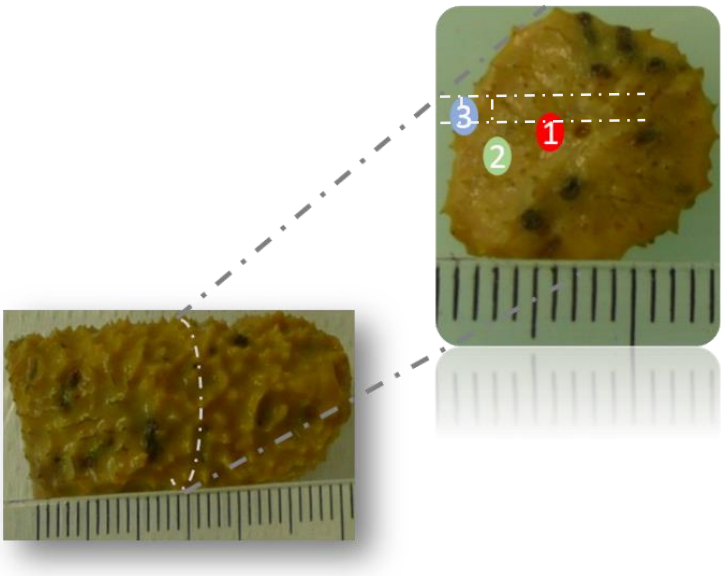


Figure 27 : Repérage des différents points de prélèvements pour réaliser les mesures STXM.

Le choix de ces trois parties de l'éponge permet de voir si l'europium est réparti uniformément dans l'éponge ou non, s'il passe au travers de l'éponge ou non et s'il est métabolisé. A partir de ces inclusions, des coupes fines d'éponges ont été réalisées à l'aide d'un microtome au service de microscopie de l'université Nice Sophia Antipolis. Ces découpes ont ensuite été observées par STXM (Scanning Transmission X-ray Microscopy) à l'ALS (Berkeley) sur la ligne 11.0.2 et étudiées par MET (Microscopie Electronique en Transmission) dans le but d'obtenir plus d'informations et des images avec une meilleure résolution.

E. Scanning Transmission X-ray Microscopy

Les mesures STXM ont été réalisées sur grands instruments à l'Advanced Light Source (ALS) à Berkeley.

La spectroscopie d'absorption X couplée à la microscopie a permis de réaliser des mesures surfaciques et de localiser les radionucléides dans l'éponge une fois accumulés. En spectroscopie d'absorption X, lorsque l'énergie du faisceau incident est plus faible, correspondant à des rayons X mous, le terme NEXAFS (Near Edge X-ray Absorption Fine Structure) est essentiellement utilisé au lieu de XANES. La microscopie STXM est une spectroscopie de microscopie en transmission par balayage dans le domaine des rayons X mous (< 2 keV). Ceci permet d'obtenir des informations sur le degré d'oxydation de l'élément étudié par l'obtention de spectres NEXAFS. De plus, le STXM permet de réaliser des images à une énergie donnée avec une résolution spatiale d'environ 25 nm. La microscopie permet alors de

localiser l'élément d'intérêt par imagerie et réalisation de cartographie chimique et également de déterminer le degré d'oxydation par la réalisation d'image de contraste en soustrayant l'image obtenue avant seuil à celle obtenue après seuil.

Les seuils d'énergie étudiés sont référencés dans le Tableau 12 avec le lieu où les mesures ont été réalisées.

Tableau 12 : Seuils d'études et lieux où les échantillons ont été mesurés par STXM

Echantillon	Seuils étudiés	Spectroscopie	Lieux
Eponge contaminée en europium	$M_{IV,V}$	STXM	Ligne 11.0.2, ALS

Le seuil $M_{IV,V}$ correspond à la transition d'un électron de la couche 3d vers la couche 4f.

Les échantillons doivent être transparents aux rayons X ; pour cela, une faible épaisseur est nécessaire (de l'ordre de la centaine de nm jusqu'au µm selon les éléments étudiés) justifiant l'utilisation du microtome. Les coupes d'éponges ont été déposées entre deux fenêtres SiN de 1 mm^2 avec une épaisseur de 100 nm. Les membranes en nitrure de silicium forment un substrat non-organique peu diffusant pour la microscopie et l'analyse aux rayons X. De plus, ces fenêtres ont l'avantage d'être très résistantes chimiquement et mécaniquement malgré leur faible épaisseur. En effet, elles résistent aux solvants tels que l'acétone ou les alcools, à l'acide mais également aux hautes températures. Dans le cas de l'uranium, les fenêtres ont été doublées afin d'obtenir une double couche de confinement. Ces grilles sont elles-mêmes montées sur un porte échantillon.

IV. Conclusion

Pour conclure, nous avons vu dans ce chapitre la méthodologie générale appliquée lors de ce travail. Parmi les radionucléides pouvant être dispersés dans le milieu marin, nous nous sommes focalisés sur **^{nat}U, ^{237}Np, ^{241}Am** (avec l'utilisation de l'europium en tant qu'analogue) et sur le césium. Les résultats obtenus dans le cas du césium n'étant pas exploitables, le cas du césium ne sera pas plus détaillé. Afin de mieux comprendre les mécanismes de transfert entre

l'hydrosphère et la biosphère, nous avons choisi de décomposer ce travail en trois points : la **détermination expérimentale de la spéciation des radionucléides dans l'eau de mer, l'étude des processus de bioaccumulation des éponges et la spéciation des radionucléides bioaccumulés**. Les faibles concentrations en radionucléides dans l'eau de mer ainsi que la forte salinité ne permettant pas d'utiliser les techniques de spéciation actuelles, nous avons donc opté pour une méthodologie de dopage à $\mathbf{5.10^{-5}}$ **M**. Cette méthode n'est pas rigoureusement représentative du milieu naturel mais elle permet d'accéder à des données structurales tout en restant inférieur à la concentration des majeurs susceptibles de jouer un rôle dans la complexation. Ce chapitre a montré l'intérêt de la complémentarité des techniques de spéciation utilisées lors de ces travaux. La combinaison de l'EXAFS et de la SLRT nous permet ainsi d'obtenir des informations sur la valence de l'atome central mais également les phénomènes de complexation.

Chapitre 3 : Spéciation et bioaccumulation de l'américium(III) dans l'éponge *A. cavernicola*

Comme souligné dans les chapitres précédents, il existe très peu de données concernant la spéciation des actinides dans le milieu marin. Jusqu'à présent dans la littérature, et en raison de la forte salinité et des faibles concentrations présentes en actinides dans l'eau de mer, les études ont été réalisées à partir de calculs de spéciation. D'après ces calculs, l'américium serait majoritairement sous la forme $AmCO_3^+$ puis, en moindre teneur, sous les formes $Am(OH)_2^+$, $Am(CO_3)_2^-$ et $AmOH^{2+}$ [4, 18]. L'approche utilisée dans ce travail consiste à effectuer des mesures à une concentration de contaminant de 5.10^{-5} M, donc beaucoup plus élevée que celle observée dans l'eau de mer mais cependant en dessous des concentrations des ions majoritaires, comme expliqué dans le chapitre précédent. Dans ce chapitre, nous nous sommes intéressés au cas de l'américium. L'américium appartient à la seconde moitié de la série des actinides. En solution, dans des conditions qui ne sont pas fortement oxydantes, la chimie de l'américium est principalement régie par l'état d'oxydation +III. L'activité spécifique de l'américium, quel que soit l'isotope, est relativement élevée ($1{,}27.10^{11}$ $Bq.g^{-1}$ pour ^{241}Am), ce qui le rend très difficilement manipulable [79]. Or, l'américium, ainsi que les actinides les plus lourds, partagent avec la plupart des lanthanides une certaine analogie chimique. Pour l'américium, il s'agit de l'europium. Cette affirmation doit tout de même être prise avec précaution. En effet, même si les propriétés chimiques sont similaires concernant la chimie de coordination ou la formation des complexes en solution, des différences sont observables au niveau des propriétés redox et au niveau de la solubilité [80, 81]. Certaines des techniques spectroscopiques qui ont été mises en place pour cette étude ont uniquement été réalisées sur l'europium en tant qu'analogue de l'américium.

Ce chapitre est composé de deux parties. Dans un premier temps, la spéciation de l'américium dans l'eau de mer a été explorée. Dans un deuxième temps, le travail a porté sur l'accumulation de l'américium dans l'éponge marine *Aplysina cavernicola.* Nous avons également étudié la localisation et la spéciation dans l'éponge à l'aide de l'analogue Eu.

I. Spéciation de l'américium dans l'eau de mer

A. Spéciation théorique de l'américium dans l'eau de mer

Le résultat des calculs de spéciation pour l'américium à 5.10^{-5} M dans l'eau de mer, réalisé à partir des bases de données de la NEA et du logiciel JCHESS [78], est représenté Figure 28a. Ces calculs prennent en compte les concentrations des différents ions présents dans l'eau de mer (cf. Tableau 3 du Chapitre 2). Les diagrammes obtenus sont en accord avec les données de

la littérature [56]. En effet, les calculs de spéciation suggèrent que le complexe carbonate $AmCO_3^+$ est l'espèce majoritaire. $Am(CO_3)_2^-$ ainsi que $Am(OH)_2^+$ seraient également présents mais de façon significative. Pour comparer, la même simulation a été réalisée, dans les mêmes conditions, avec l'europium (Figure 28b). Le comportement de l'europium apparait similaire et l'europium formerait préférentiellement dans l'eau de mer le monocarbonate $EuCO_3^+$ ainsi que $Eu(CO_3)_2^-$ et $Eu(OH)_2^+$ en moindre quantité. Cependant, dans le cas de l'américium, la contribution des autres espèces par rapport à l'espèce principale est plus importante. Il y a environ 10 % d'$Am(CO_3)_2^-$, $AmSO_4^+$ et $Am(OH)_2^+$ et seulement 55 % d'$AmCO_3^+$ tandis que dans le cas de l'europium, $EuCO_3^+$ est présent à 80 % et les autres espèces à moins de 10 %. En conclusion, la spéciation dans l'eau de mer de l'américium et de l'europium est majoritairement la même mais, pour l'américium, la spéciation semble plus dispersée.

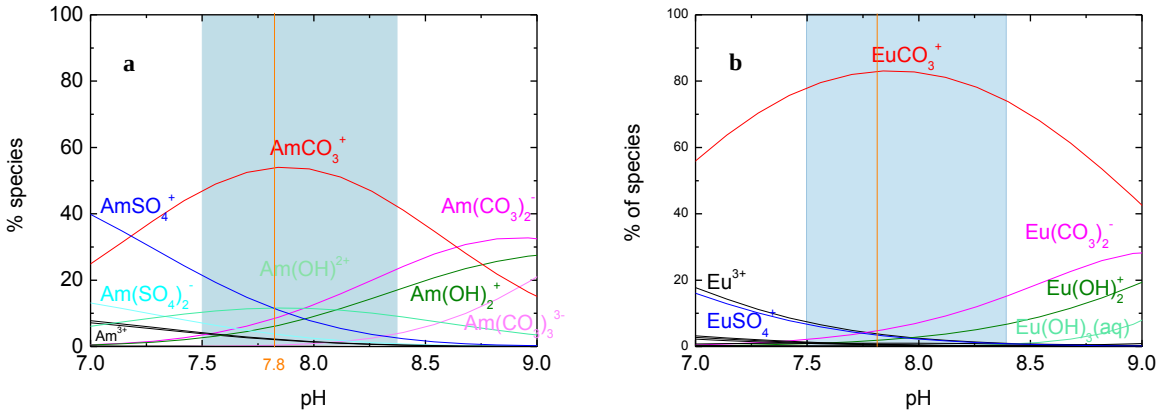


Figure 28 : Diagrammes de spéciation de l'américium (a) et de l'europium (b) dans l'eau de mer à 5.10^{-5} M

Comme nous l'avons dit, à cause de la forte activité spécifique de l'américium, nous avons dans un premier temps travaillé avec l'europium à 5.10^{-5} M. L'utilisation de l'europium comme analogue de l'américium est essentielle pour pouvoir utiliser différentes techniques de spéciation et ainsi obtenir le maximum d'informations. Un point important doit cependant être mentionné ; à cette concentration, un précipité a été observé dans la solution d'eau de mer dopée en europium alors que ça n'a pas été le cas pour l'américium. La dispersion de la spéciation de l'américium pourrait a priori expliquer cette différence. La quantité de monocarbonate formée dans le cas de l'américium est donc plus faible, ce qui réduit la possibilité de dépasser la limite de solubilité. De plus, la solubilité des complexes d'américium est connue pour être plus importante que la solubilité des complexes d'europium. Par exemple, pour les complexes $M_2(CO_3)_3$ et $NaM(CO_3)_2.5H_2O$, les produits de solubilité sont plus faibles pour l'europium. Les

valeurs de log Ks sont respectivement de -31.78 et -17.5 tandis que pour l'américium, elles sont de -29,45 et -16,5 [82, 83].

B. Spéciation expérimentale de l'europium dans l'eau de mer, phases soluble et insoluble.

Le spectre de fluorescence de l'europium est caractérisé par des bandes d'émissions aux alentours de 580, 593, 617, 650 et 700 nm ($^5D_0 \rightarrow {}^7F_J$, J= 0-4). Les principales longueurs d'onde de fluorescence utilisées sont celles à 593 nm ($^5D_0 \rightarrow {}^7F_1$), l'hypersensible à 617 nm ($^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$: dipôle électrique) ainsi que celle à 580 nm ($^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$: dipôle magnétique) [84-86]. Les longueurs d'ondes correspondant au maximum d'intensité ainsi que l'intensité de l'hypersensible sont modifiées selon la coordination. Plusieurs études ont déjà été réalisées sur les complexes de l'europium permettant de connaitre les différentes longueurs d'onde caractéristiques ainsi que les temps de vie de ces derniers [84, 85]. En milieu acide, le spectre de fluorescence de l'espèce aquo est caractérisé par une intensité plus importante à 593 nm qu'à 617 nm (Figure 29). La complexation de l'europium(III) se traduit par une inversion des intensités de ces bandes, avec une augmentation de l'intensité de l'hypersensible.

Au vu des résultats obtenus par la spéciation théorique, les données SLRT obtenues pour l'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M sont comparées aux signaux des différentes espèces : Eu^{3+}, $EuCO_3^+$, $Eu(CO_3)_2^-$, $Eu(OH)^{2+}$ et $Eu(OH)_2^+$ dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Données spectroscopiques (longueurs d'onde de fluorescence, largeur à mi-hauteur, temps de vie) du complexe d'europium dans l'eau de mer et comparaison avec les données de la littérature.

Espèces	λ fluorescence (nm)	FWHM (nm)	Rapport 617 nm /593 nm	Temps de vie (µs)	n H_2O	Ref
Solution d'eau de mer dopée, [Eu] = 5 x 10^{-5} M	580-594-616	1.6/5.7/8.5	3	140 ± 10	7	Cette étude
Précipité de la solution d'eau de mer dopée, [Eu] = 5 x 10^{-5} M	580-(592-597)-(616-620)	2.1/7.3/8.7	3	6 ± 1 µs 99 ± 10 µs	-	Cette étude
Eu^{3+}	593-617	6.5/9.5	1/8	110 ± 10	9	[84]
$Eu(CO_3)^+$	580-591-616	3.2/11/10	2	180 ± 20	5	[84]
$Eu(CO_3)_2^-$	580-592-616	3.3/10/9	3	290±30	3	[84]
	580-(590-596)-(614-620)	4-9.5	3.1 ± 0.1	140 ± 10	7	[85]
$Eu(OH)^{2+}$	580-592-616	3.8/12/-	1	50±5	-	[84]
$Eu(OH)_2^+$	580-593-615	3.8/12/-	1	40 ± 5	-	[84]

Comme mentionné, lors de la préparation de la solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M un précipité est apparu. Le précipité ainsi que le surnageant ont donc été analysés en SLRT. Le spectre de fluorescence du surnageant de la solution d'eau de mer dopée à 5.10^{-5} M en europium est présenté sur la Figure 29 ci-dessous. Dans l'eau de mer, l'intensité de l'hypersensible est plus importante, ce qui est signe d'une complexation. Le spectre possède les trois raies caractéristiques à 580, 593 et 616 nm. Le rapport I_{592}:I_{616} est de 1:3 et le temps de vie de la raie d'émission est de 140 ± 10 µs. Le rapport d'intensité de 1/3 est représentatif d'un dicarbonate d'europium, $Eu(CO_3)_2^-$ [84, 85]. Dans la littérature, le temps de vie du dicarbonate est répertorié à 290 ± 30 µs dans le cas d'une solution préparée dans K_2CO_3 [84] et de 140 ± 10 µs [85] pour une eau naturelle comportant une quantité conséquente de sodium (0,02 M)

comparée à la quantité d'europium (5.10^{-6} M). Le temps de vie obtenu pour la solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M est similaire à celui obtenu dans le cas de l'eau naturelle (140 ± 10 µs). Dans l'eau naturelle, comme dans l'eau de mer, la quantité de sodium (environ 0,6 M) est plus importante que la quantité d'europium (5.10^{-5} M). Le sodium pourrait donc avoir une influence sur la spéciation de l'europium.

En SLRT, en solution, une relation empirique permet de déterminer le nombre de molécules d'eau présentes autour de l'espèce fluorescente à partir du temps de vie : $n_{H_2O} \pm 0.5 = \frac{1.07}{\tau} - 0.62$ avec τ en ms [84].

L'application de cette relation à la solution d'europium dans l'eau de mer donne un nombre de molécules d'eau autour de l'europium de 7. Si l'on admet une coordinance totale typique de 9, cela signifie, soit que les deux groupements carbonates sont monodentes, soit qu'ils sont bidentes et que l'incertitude sur la mesure SLRT est plus importante. Ce point sera de nouveau abordé plus tard dans ce chapitre.

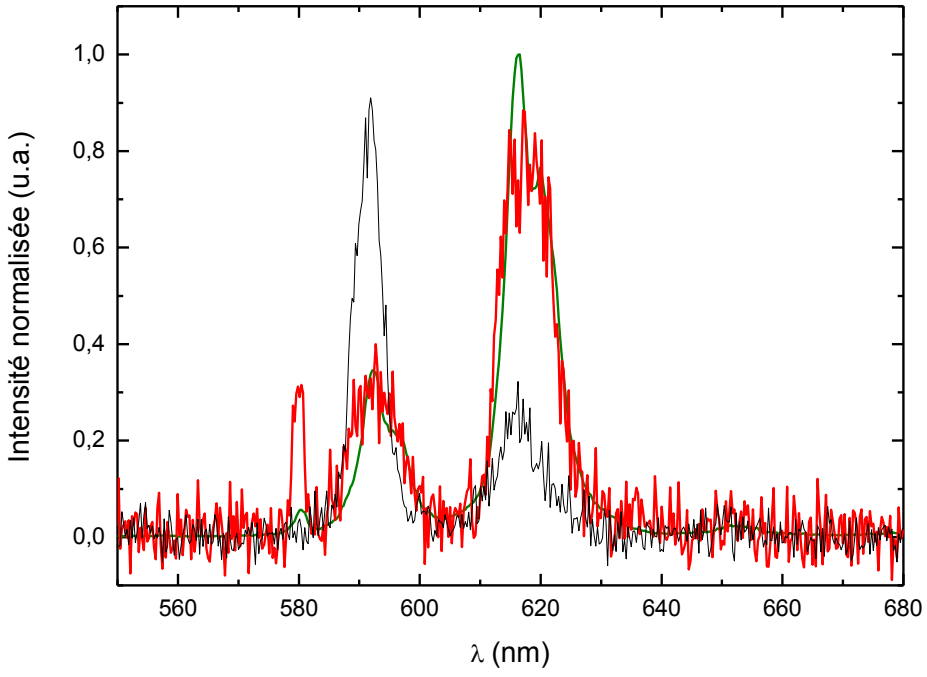


Figure 29: Spectres de fluorescence de la solution standard d'europium à pH = 2 (en noir), de la phase soluble de la solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M à pH = 7,8 (en rouge) et de la phase solide (en vert).

Dans le cas du précipité, le spectre obtenu montre également la présence des trois pics caractéristiques et le rapport d'intensité I_{593}/I_{617} est également de 1/3 (Figure 29) ce qui correspond à la présence d'un dicarbonate d'europium. Cependant, dans ce cas, deux temps de vie ont été mesurés. Un très court de 6 ± 1 µs et un plus long de 99 ± 10 µs. Il est difficile de déterminer le complexe présent selon ces temps de vie car il existe peu de données sur les solides et il n'est pas possible de les comparer aux temps de vie obtenus en solution. Cependant, cela signifie qu'il existe deux environnements différents pour l'europium qui pourraient résulter de deux arrangements spatiaux différents apparus lors de la précipitation. La modification des temps d'acquisition en fonction des deux temps de vie mesurés ont conduit à l'obtention de deux spectres de fluorescences différents correspondant aux deux environnements de l'europium (Figure 30). Dans les deux cas, le rapport I_{593}/I_{617} est identique et égal à 1/3. Par contre, un dédoublement des bandes caractéristiques de l'europium est observé pour une des conformations de l'europium. Néanmoins, une deuxième mesure de temps de vie a été réalisée sur un précipité obtenu après un mois d'équilibre avec la solution d'eau de mer. Le spectre de fluorescence observé met en évidence le dédoublement et un seul temps de vie de 6 µs.

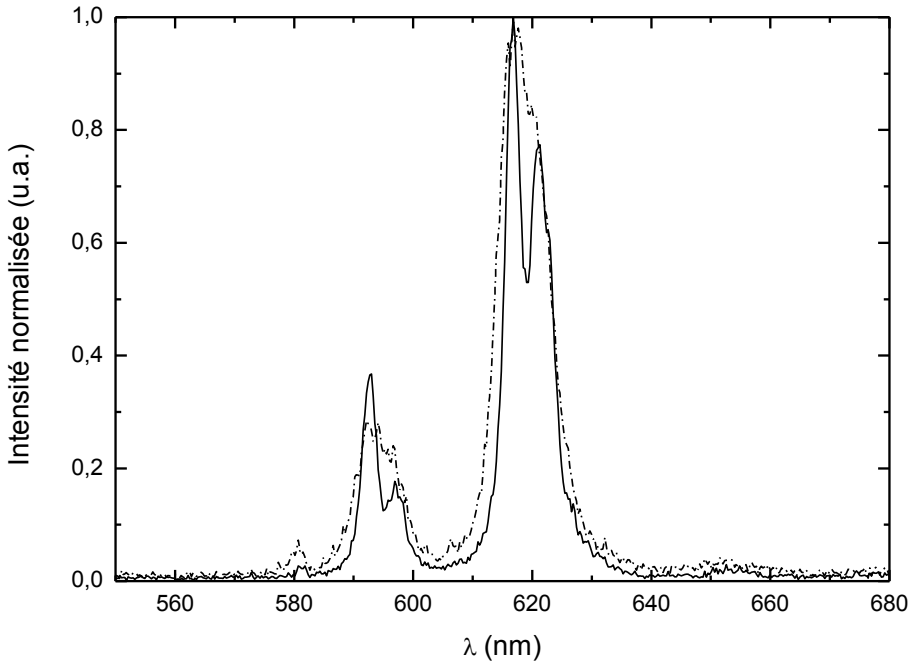


Figure 30 : Spectres de fluorescences obtenu sur le précipité de la solution d'eau de mer dopée en europium, [Eu] = 5.10^{-5} M, temps après impulsion de 5 µs, temps d'ouverture 100 µs, nombre d'accumulation 50 (--) et temps après impulsion de 500 µs, temps d'ouverture 500 µs, nombre d'accumulation 50 (- -).

De plus, la comparaison des spectres du solide et de la solution a montré que le pic à 580 nm est plus intense dans le cas de la solution (Figure 29). Ce pic correspond à la transition $^5D_0 \rightarrow {}^7F_0$ et dépend de la symétrie du complexe. L'intensité à cette longueur d'onde est d'autant plus importante que le complexe possède une faible symétrie [86]. En solution, l'interaction électrostatique entre Na^+ et $Eu(CO_3)_2^-$ doit être écrantée par rapport au solide. Ainsi, plus de désordre pourrait expliquer la perte de symétrie.

Pour résumer, l'europium dans l'eau de mer se présente sous la forme d'un dicarbonate d'europium que ce soit en solution ou dans la phase insoluble. En solution, le dicarbonate d'europium serait composé de groupements carbonates monodentes ou bidentes et semble se distinguer des solutions standards de dicarbonate d'europium. La forme insoluble quant à elle peut être présente sous deux conformations différentes. Deux effets semblent donc se dégager : un effet dû à la forte salinité de l'eau de mer avec la présence de sodium en forte concentration et une cinétique de précipitation relativement lente.

1. Effet de matrice de l'eau de mer

Afin d'estimer l'effet de la forte salinité de l'eau de mer sur la spéciation de l'europium, différentes mesures spectroscopiques ont été réalisées essentiellement sur le précipité. Dans un premier temps, de l'imagerie par SEM/EDX a été réalisée après évaporation d'une goutte de la solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M, contenant à la fois les fractions soluble et insoluble. Les images obtenues ainsi que les spectres EDX correspondants sont présentés sur la Figure 31. Les images SEM, tout comme la SLRT, révèlent également la présence de deux formes différentes. En effet, le solide obtenu sur la Figure 31a est très structuré avec une forme en bâtonnet alors que, sur la Figure 31b, une forme sphérique plus amorphe est observée. Cependant, entre ces deux cas, aucune différence significative n'est visible au niveau de l'analyse élémentaire. La composition est donc identique et révèle la présence de sodium, de magnésium et de chlore essentiellement.

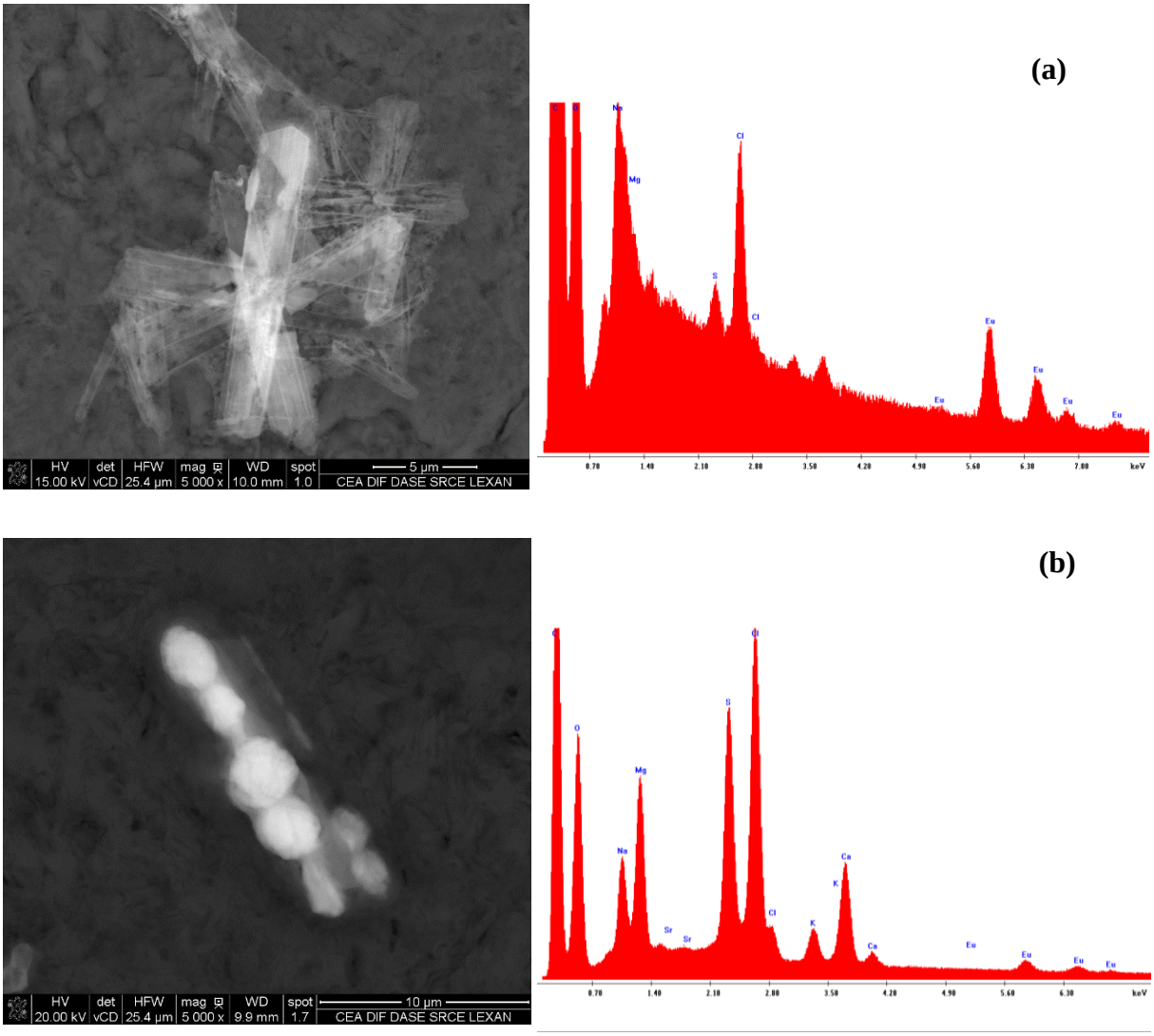


Figure 31 : Analyses MEB/EDX de la solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M.

Pour évaluer l'influence de l'ion sodium, les mêmes mesures ont été réalisées sur une solution d'europium à 5.10^{-5} M dans de l'eau ultrapure (milliQ) avec la même quantité de carbonate (milieu K_2CO_3) que dans l'eau de mer à pH=7,8. Les particules d'europium obtenues dans l'eau de mer sont très différentes de celles obtenues dans l'eau milliQ carbonatée (Figure 32). En effet, dans l'eau milliQ, une structure en forme d'étoile est observée mais la taille est nettement inférieure à la taille obtenue dans l'eau de mer. Une particule dans l'eau milliQ représente environ 4 µm alors que dans l'eau de mer elle représente environ 15 µm. Un effet de la matrice eau de mer dû à la forte salinité serait donc possible.

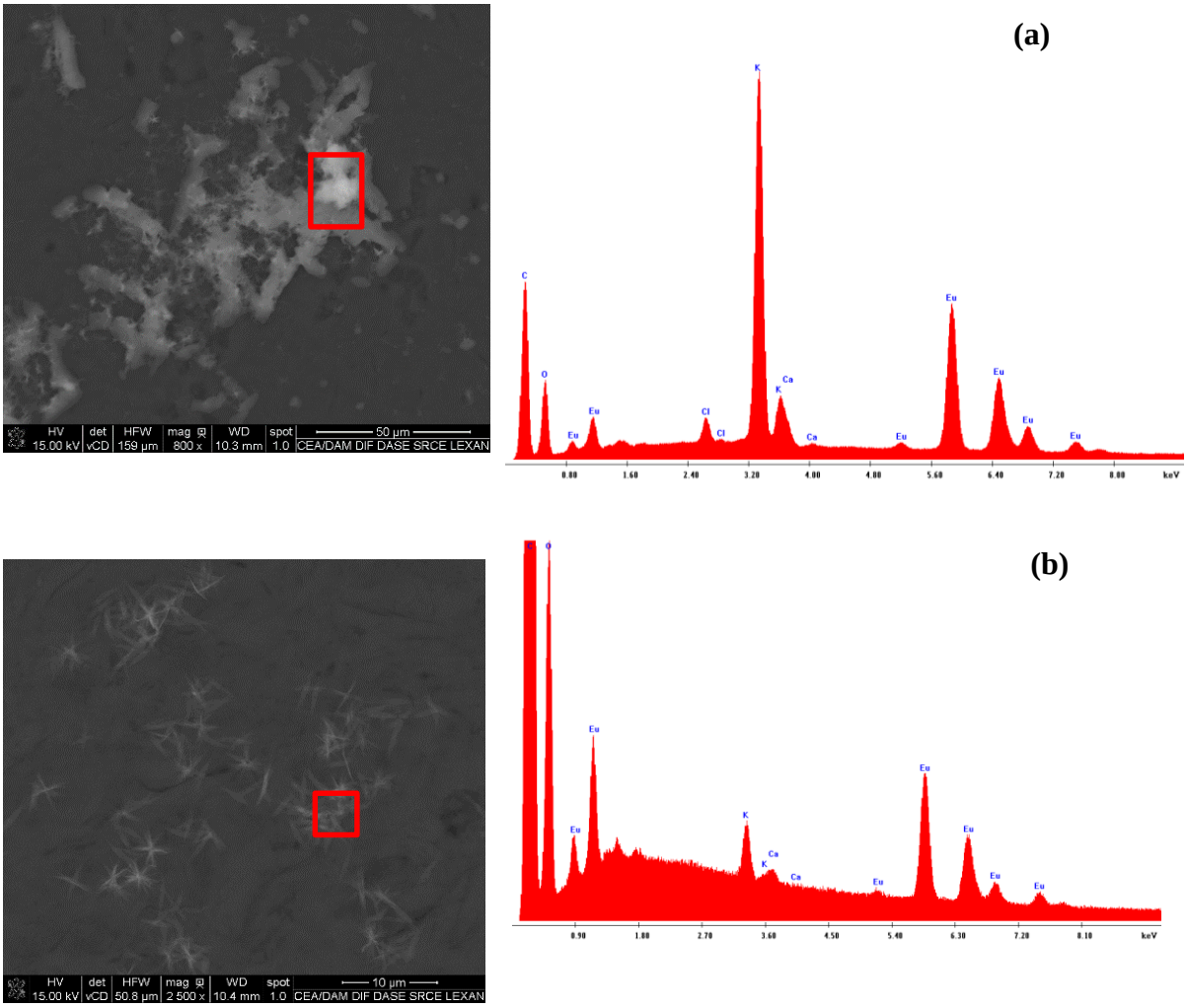


Figure 32 : Analyses MEB/EDX de la solution d'eau milliQ en présence de K^2CO^3 à $2{,}2.10^{-3}$ M dopée en europium à 5.10^{-5} M pH=7,8.

Afin d'estimer l'impact de ces différents ions sur la spéciation de l'europium dans l'eau de mer et d'évaluer la stœchiométrie du complexe précipité, une analyse semi élémentaire a été réalisée sur le précipité par ICP-OES (Optical Emission Spectroscopy). Cette analyse a permis d'obtenir les concentrations relatives en $[Eu^{3+}]$, $[Na^{+}]$, $[Mg^{2+}]$ et $[K^{+}]$. Les résultats obtenus ont mis en évidence la présence négligeable du potassium et du magnésium avec des rapports M/Eu égaux à 0,014 et 0,015 respectivement. Concernant le sodium, sa concentration est significative avec un rapport Na/Eu de 0,87 ± 0,03. Le rapport stœchiométrique entre l'europium et le sodium est très proche de 1. Ceci confirme donc la forte influence du sodium sur le complexe formé par l'europium dans l'eau de mer.

De plus, le précipité obtenu dans l'eau de mer a été comparé par ATR-FTIR (Attenuated Total Reflectance Fourier Transform Infrared) avec le complexe carbonate $Eu_2(CO_3)_3.nH_2O$ [83, 87]

ainsi qu'avec un carbonate d'europium préparé en milieu NaCl aux mêmes concentrations que dans l'eau de mer. Les spectres infrarouges sont comparés sur la Figure 33. Pour tous les spectres, les bandes caractéristiques asymétrique et symétrique des carbonates ν_3 à 1504 et 1370 cm^{-1} sont visibles et confirment la présence d'espèces carbonates [83, 87]. Des études antérieures [88, 89]ont montré que la symétrie des carbonates a une influence sur la valeur de $\Delta\nu_3$. Celle-ci est plus faible dans le cas d'un monodente (80-120 cm^{-1}) comparé à un bidente (100-350 cm^{-1}). De plus, cette valeur semblerait dépendre du cation et de sa charge pour un complexe bidente ([88, 89]). $\Delta\nu_3$ diminue en même temps que le rapport z/r^2, où z représente la charge du cation et r le rayon ionique de ce dernier. Dans le cas de complexes dicarbonatés de lanthanides, $NaLn(CO_3)_2$, la valeur de $\Delta\nu_3$ est de l'ordre de 100-140 cm^{-1}. Dans le cas du précipité obtenu dans l'eau de mer, l'écart d'énergie entre les deux bandes est de 134 cm^{-1}, ce qui est en parfait accord avec ces valeurs.

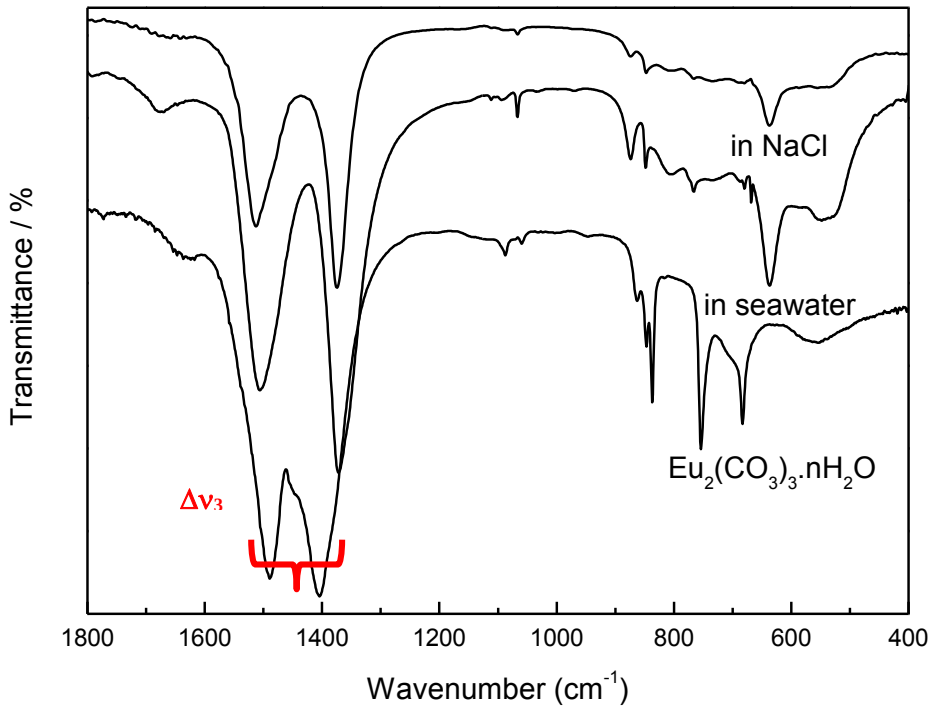


Figure 33 : Spectre infrarouge du précipité obtenu dans l'eau de mer dopée en europium comparé aux spectres de $Eu_2(CO_3)_3.nH_2O$ et du carbonate d'europium en milieu NaCl.

La comparaison entre le modèle carbonate $Eu_2(CO_3)_3.nH_2O$ et le précipité obtenu dans l'eau de mer a mis en évidence une bande intense pour l'eau de mer à 638 cm^{-1}. Seule la précipitation dans NaCl permet d'obtenir cette bande. De plus, la même analyse a été réalisée en milieu KCl

ou $NaNO_3$. Pour chaque milieu étudié (KCl, $NaNO_3$ et NaCl), les carbonates ont été introduits de deux façons : par ajout direct de bicarbonate de sodium ou de potassium ou par ajout de dicarbonate de sodium ou de potassium suivi d'un ajustement du pH. Seule la précipitation dans $NaCl/NaHCO_3$ a conduit à l'obtention de la bande à 638 cm^{-1} (cf. Annexe D). Ce résultat, en plus des compositions élémentaires obtenues par SEM/EDX, montrent donc que le sodium et le chlore font tous les deux partie intégrante du complexe carbonate formé avec l'europium dans l'eau de mer naturelle. La bande caractéristique n'est également visible que lorsque les carbonates sont introduits sous la forme de bicarbonate dans le milieu. Le temps nécessaire pour ajuster le pH pourrait avoir un impact sur la complexation. De plus, concernant les spectres infrarouges obtenus, des variations d'intensité au niveau des bandes caractéristiques des groupements carbonates apparaissent selon l'utilisation d'hydrogénocarbonate ou de dicarbonate. Ces variations restent encore inexpliquées.

2. Cinétique de la précipitation

Dans le but d'estimer la solubilité de l'europium(III) dans l'eau de mer, la précipitation de l'europium dans une solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M a été suivie dans le temps. Pour cela, un volume de la solution a été prélevé à différents temps, allant de 5 à 10 080 min, puis filtré à 0,2 µm afin d'estimer la concentration en europium restant dans la fraction soluble. Chaque fraction a été analysée par ICP-OES. Les résultats obtenus sont représentés sur la Figure 34.

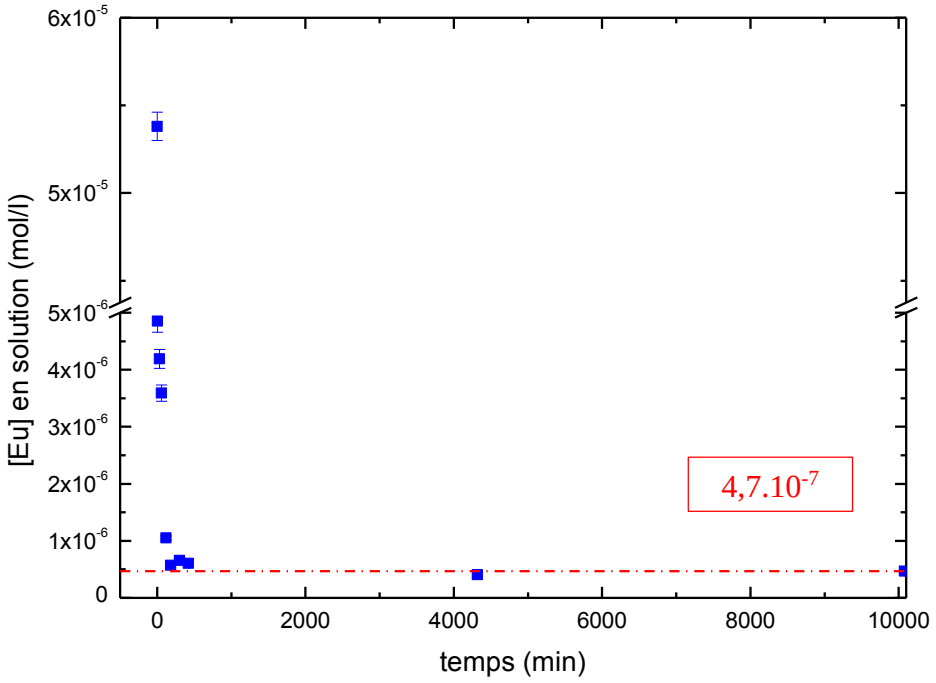


Figure 34 : Concentrations en europium présentes dans la fraction soluble dans la solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M au cours du temps.

Les résultats obtenus par ICP-OES montrent que la majorité de l'europium a précipité dès les premières minutes. En effet, la concentration en europium dans la solution passe de $5,3.10^{-5}$ M à $2,0.10^{-6}$ M en quelques minutes, ce qui correspond à une perte d'environ 96 % en europium dans la solution. Au cours du temps, la concentration en europium dissous continue de diminuer pour atteindre une concentration limite d'environ $4,7.10^{-7}$ M. Ce phénomène signifie que des particules continuent à se former ou qu'initialement certaines particules possèdent une taille inférieure à 200 nm et qu'avec le temps celle-ci continue de s'accroitre jusqu'à atteindre une taille supérieure à 200 nm. Ce résultat signifie que la précipitation du carbonate d'europium possède une cinétique dans un premier temps d'apparence très rapide mais qui continue à évoluer pendant plusieurs jours. Cette étude nous permet d'estimer le produit de solubilité du complexe présent, selon l'Équation 5, dans l'eau de mer à $7,3.10^{-7}$ M, correspondant à un pKs de 16. Ce résultat est en accord avec les valeurs de pKs référencés dans la littérature, par exemple de l'ordre de 17,5 pour le complexe $NaEu(CO_3)_2.5H_2O$.

$$Na^+ + Eu^{3+} + 2CO_3^{2-} \rightarrow NaEu(CO_3)_2(s)$$

Équation 5 : Equation de précipitation de $NaEu(CO_3)_2$

3. Spéciation expérimentale de l'europium dans l'eau de mer par spectroscopie d'absorption X

Une analyse EXAFS a également été réalisée sur une solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M. A cette concentration, la limite de solubilité est dépassée, et un mélange de phases soluble et colloïdale est présent dans la cellule EXAFS. Les spectres EXAFS de l'europium ainsi que la transformée de Fourier correspondant sont représentés sur la Figure 35a et la Figure 35b.

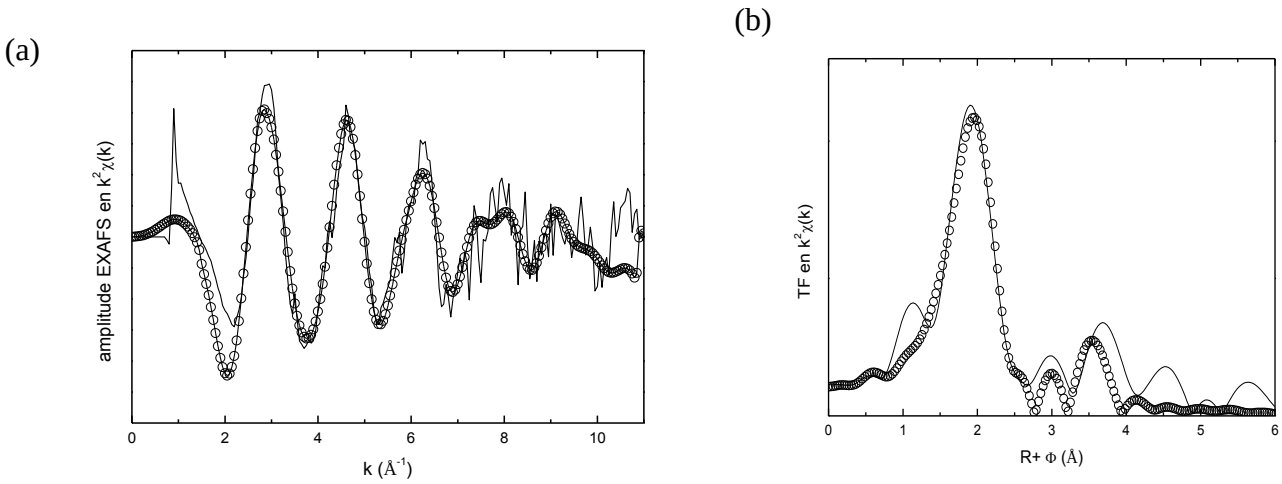


Figure 35 : Spectre EXAFS (a) et transformée de Fourier (b) correspondant au seuil L_{III} de l'europium de la solution d'eau de mer dopée à 5.10^{-5} M. Spectre expérimental en traits pleins et ajustement en pointillés.

Dans le cas de l'europium, deux groupements carbonate bidentes ont été pris en considération afin d'obtenir le meilleur ajustement du spectre. En effet, la solution comprend à la fois la fraction solide et la phase soluble mais la concentration en europium dans la phase soluble est très faible (5.10^{-7} M) et ne représente que 1 % de l'europium total. La, Figure 36 explique les différents chemins de diffusion utilisés lors des ajustements des spectres EXAFS selon la coordination des groupements carbonates (bidente ou monodente). D'après les résultats obtenus par SLRT, l'ajustement du spectre EXAFS a été réalisé en considérant le chemin de diffusion multiple des carbonates bidentes (à gauche sur la Figure 36).

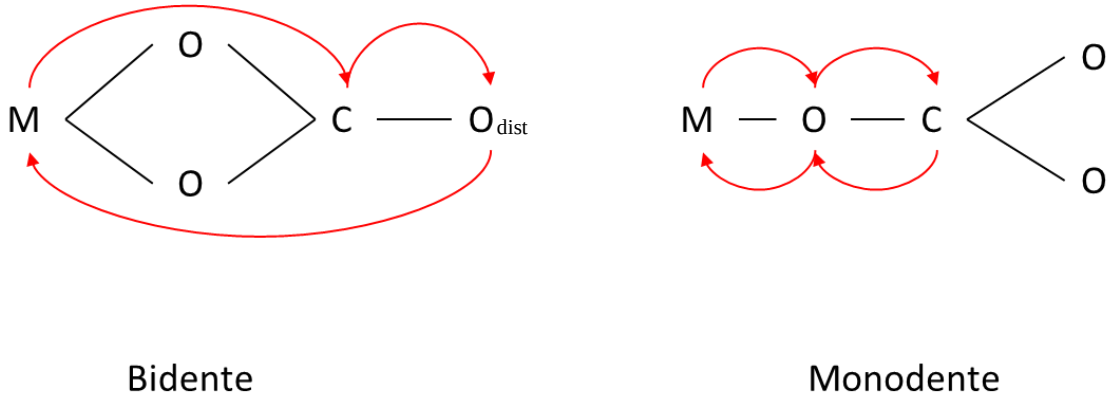


Figure 36 : Chemins de diffusions multiples utilisés lors des ajustements des spectres EXAFS pour les différents groupements carbonate.

L'ajustement du spectre EXAFS sans considérer la présence du sodium a souligné, au niveau de la partie imaginaire de la transformée de Fourier (TF), la présence d'une contribution non négligeable aux alentours de R+Φ = 2,7 et 3,3 Å mal reproduite (Figure 37). Cette région ne peut être reproduite qu'en considérant le chemin Eu…Na. Pour comparaison, la partie imaginaire de la TF avec et sans le sodium est représentée sur la Figure 37.

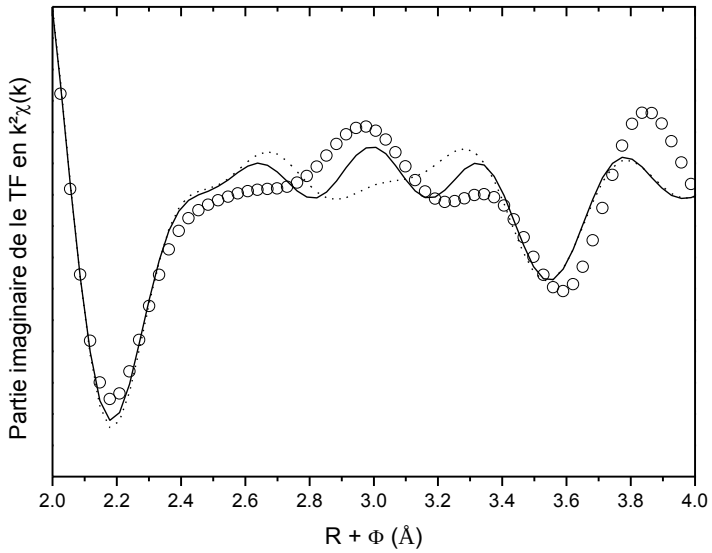


Figure 37 : Partie imaginaire de la transformée de Fourier du spectre EXAFS de la solution d'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M. Spectre expérimental représenté par des cercles, ajustement avec le sodium en trait continu et sans sodium en pointillés.

Les paramètres d'ajustement EXAFS obtenus sont en accord avec les données obtenues par SLRT et ATR-FTIR sur le solide. Bien qu'il ait été montré dans les sections précédentes que

plusieurs espèces sont en équilibre entre la phase soluble et solide, l'EXAFS permet de vérifier que toutes ces espèces correspondent au système ternaire Na-Eu-CO_3. Les meilleurs paramètres obtenus, présentés dans le Tableau 14 (2.45(1) Å pour Eu-O, 3.45(4) pour Eu-Na et 4.15(1) Å pour Eu….O_{dist}), sont en bon accord avec les distances mentionnées dans la littérature pour le carbonate d'europium $NaEu(CO_3)_2.5H_2O$ ainsi que pour $Na_3Eu(CO_3)_3$ (2.46 Å pour Eu-O, Eu-Odist sont à 4.22 Å et 3.61 pour Eu-Na) [87, 90]. Le nombre de coordination obtenu associé à la contribution Eu…O_{dist} correspond bien à la présence de deux groupements carbonates autour de l'europium. De plus, le nombre de coordination trouvé pour Eu...Na est en accord avec l'analyse élémentaire donnant un rapport Na/Eu d'environ 1 : 1. Cependant, une observation plus fine de la transformée de Fourier montre la présence d'une contribution non expliquée aux alentours de R+Φ = 3,7 - 4 Å. Cette observation souligne qu'il reste un élément manquant à la bonne compréhension de la spéciation de l'europium dans l'eau de mer. Les mesures infrarouges ont montré que la présence de chlore avait également un impact sur le complexe formé dans l'eau de mer. La présence de chlore en deuxième sphère de coordination, par des interactions électrostatiques, pourrait expliquer cette contribution.

Tableau 14 : Données EXAFS de la solution d'eau de mer dopée en europium 5.10^{-5} M.

	1ère contribution	2ème contribution	3ème contribution[a]
Solution d'eau de mer dopée, [Eu] = 5 x 10^{-5} M	9 O à 2.46(1) Å σ^2 = 0.0128Å^2	1 Na à 3.45(5) Å σ^2 = 0.0040 Å^2	*2.5(8)* O_{dist} à 4.15(1)Å σ^2 = 0.0063 Å^2
s_o^2 = 1.1, e_o = -1.81 eV, ε = 0.004, r(%) = 3.0			

[a] à partir du chemin triple Eu…C-O_{dist}

4. Conclusion sur la spéciation de l'europium dans l'eau de mer

Pour résumer, dans l'eau de mer, la solubilité de l'europium est relativement faible. La cinétique de précipitation est relativement rapide ; cependant, les particules formées continuent à croître pendant environ 2 jours conduisant à une très forte diminution de la concentration en europium en solution. La concentration en europium à l'équilibre est alors de l'ordre de 5.10^{-7} M, soit 1 % de l'europium total. Nous pouvons faire l'hypothèse que, que ce soit en solution ou en phase solide, le complexe est de même nature. L'europium est alors présent sous la forme d'un

complexe ternaire Na-Eu-CO_3 et plus précisément sous la forme d'un complexe dicarbonate. En solution, les groupements carbonates sont monodentes ou bidentes. La présence de carbonates bidentes signifierait que l'incertitude sur le nombre de molécules d'eau est importante et une telle incertitude ne peut actuellement pas être expliquée. Cependant, la présence de carbonate monodente n'a pas pu être directement observée. Dans le solide, l'utilisation à la fois de l'ATR-FTIR et de l'EXAFS a confirmé que les groupements carbonates sont bidentes. Le comportement de l'europium dans l'eau de mer est plus compliqué qu'attendu et ne peut être précisément expliqué à la suite de cette étude. L'europium est présent dans l'eau de mer sous la forme du complexe $NaEu(CO_3)_2.nH_2O$. Cependant, la présence du chlore dans l'eau de mer semble avoir une influence sur le complexe formé.

C. Spéciation expérimentale de l'américium dans l'eau de mer par spectroscopie d'absorption X

Une mesure EXAFS a été réalisée dans les mêmes conditions que pour l'europium sur la solution d'eau de mer dopée en américium avec [Am]= 5.10^{-5} M.

D'après la spéciation théorique, un comportement similaire est attendu pour l'europium et l'américium. Le même modèle moléculaire que pour l'europium a donc été utilisé afin de réaliser les ajustements des données EXAFS de l'américium. Cependant, avec ce modèle, l'ajustement du spectre n'est pas satisfaisant dans la zone R+Φ = 2,93 Å, en particulier pour la partie imaginaire de la transformée de Fourier (Figure 38).

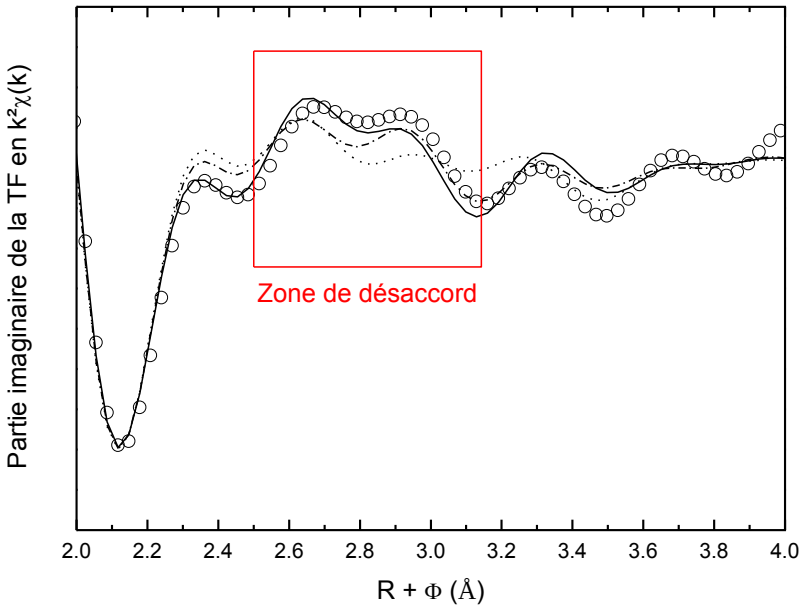
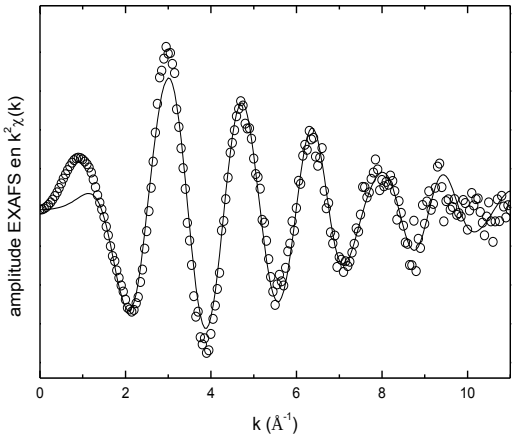


Figure 38 : Partie imaginaire de la transformée de Fourier du spectre EXAFS de la solution d'eau de mer dopée en américium à 5.10^{-5} M. Spectre expérimental représenté par les cercles, ajustement avec un groupement carbonate bidente (...), avec un carbonate monodente (.-.) et ajustement final en trait plein.

Seule l'utilisation du chemin multiple quadruple pour un carbonate monodente (Am-O-C) permet d'obtenir un meilleur ajustement. Les différentes parties imaginaires sont représentées sur la Figure 38. La considération de groupements carbonates bidentes ne permet pas d'ajuster le spectre de façon satisfaisante. Le spectre EXAFS et la transformée de Fourier correspondante sont présentés sur la Figure 39a et la Figure 39b.

(a)



(b)

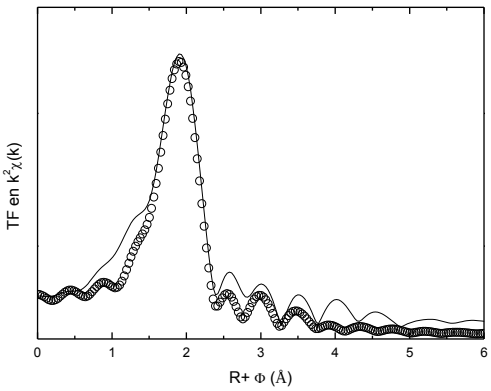


Figure 39 : Spectre EXAFS (a) et transformée de Fourier (b) correspondant au seuil L_{III} de l'américium de la solution d'eau de mer dopée à 5.10^{-5} M. Spectre expérimental en traits pleins et ajustement en pointillés.

Les paramètres d'ajustement obtenus sont listés dans le Tableau 15. Dans le cas de l'américium, ces paramètres ont également été obtenus en considérant la présence du dicarbonate en solution, cependant les groupements carbonates semblent être ici monodentes. Ce résultat pourrait conforter l'hypothèse de la présence de groupements carbonates dans le cas de l'europium en solution. Les distances obtenues sont de 2,48(1) Å pour Am-O, 3,25(5) Å pour Am…Na et 3,73(3) Å pour Am…C.

Tableau 15 : Données EXAFS de la solution d'eau de mer dopée en américium à 5.10^{-5} M.

	1ère contribution	2ème contribution	3ème contribution[a]
Solution d'eau de mer dopée, [Am] = 5 x 10^{-5} M	9 O à 2.48(1)Å σ^2 = 0.0094 Å^2	1 Na à 3.71(9) Å σ^2 =0.0066 Å^2	2 C à 3.73(3) σ^2 = 0.0049 Å^2
s_o^2 = 1.1, e_o = -5.83 eV, ε = 0.009, r(%) = 1.2			

[a] à partir du chemin quadruple Am…O-C-O.

D. Conclusion sur la spéciation de l'américium dans l'eau de mer

Pour conclure, une différence significative a été observée expérimentalement entre la spéciation de l'europium et de l'américium dans l'eau de mer concernant la solubilité : aucun précipité n'a été observé dans le cas de l'américium à 5.10^{-5} M alors qu'il est créé dans le cas de l'europium. Plusieurs études citent la faible solubilité de l'américium(III) en présence de carbonates [83] mais cette solubilité est en général supérieure à celle de l'europium. Par exemple, dans le cas de $M_2(CO_3)_3$, le produit de solubilité (Ks) du complexe de l'europium est plus faible avec log Ks égal à -31.78 contre -29.45 pour l'américium [83]. Cependant, que ce soit pour l'américium ou pour l'europium, le complexe ternaire neutre Na-M-CO_3 avec deux groupements carbonates a été confirmé. En solution, les groupements carbonates seraient monodentes tandis qu'en phase solide les groupements deviennent bidentes. Le complexe formé en solution est alors dans le cas de l'américium et de l'europium $NaAm(CO_3)_2.nH_2O$ et $NaEu(CO_3)_2.nH_2O$ respectivement. Ce résultat diffère légèrement de ce que la spéciation théorique suggérait. Cependant, la présence du monocarbonate est possible mais en plus faible proportion.

II. Accumulation de l'américium et de l'europium dans l'éponge *Aplysina cavernicola*

Les données obtenues lors de l'étude de la spéciation indiquent que l'américium est présent dans l'eau de mer sous la forme du dicarbonate de sodium, $NaAm(CO_3)_2$. Une fois la spéciation connue, la question est de savoir si ce complexe est accumulé par les organismes marins, s'il est biodisponible. Aussi, l'impact de ce complexe sur les organismes marins, dans notre cas sur les éponges marines a été évalué. Pour cela, nous avons fait l'hypothèse ici, que la spéciation est la même à l'état de traces et d'ultra-traces, en s'appuyant sur les calculs de spéciation réalisés à 5.10^{-5} M et à 10^{-17} M (cf. Annexe C).

La courbe d'accumulation de l'éponge *A. cavernicola* exposée au radiotraceur ^{241}Am est représentée sur la Figure 40. La droite rouge représente la quantité d'américium que devrait contenir l'éponge si elle accumulait la totalité de ce qui a été introduit dans l'eau.

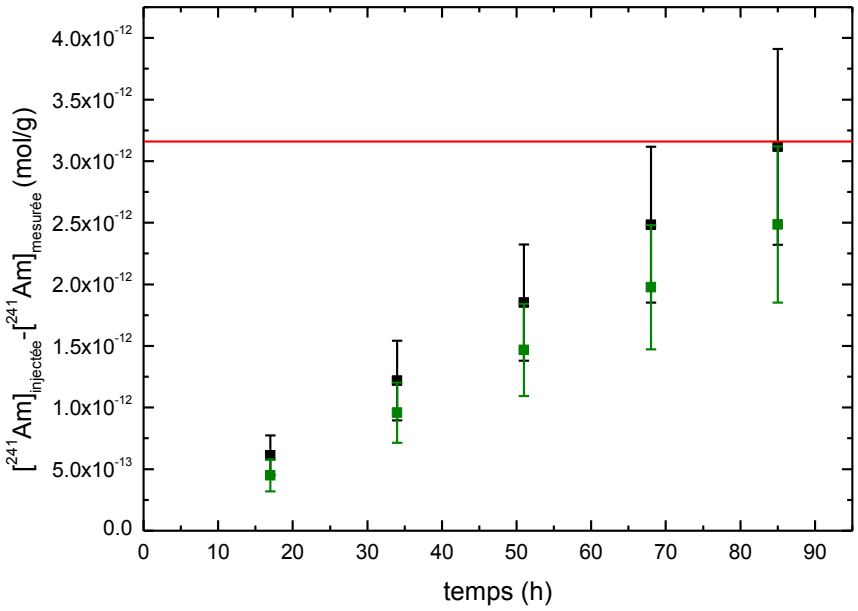


Figure 40 : Courbe d'accumulation ^{241}Am dans l'éponge *A. cavernicola* au cours du temps.

Les éponges ont été exposées à 64,5 Bq ($2{,}1.10^{-12}$ mol de ^{241}Am) tous les jours pendant environ 15 h, ce qui correspond à une concentration en américium de 3.10^{-12} M dans l'eau de mer. Durant l'expérience, 5 spikes ont été réalisés correspondant à une activité totale injectée de 322,5 Bq durant toute l'expérience. (Figure 41).

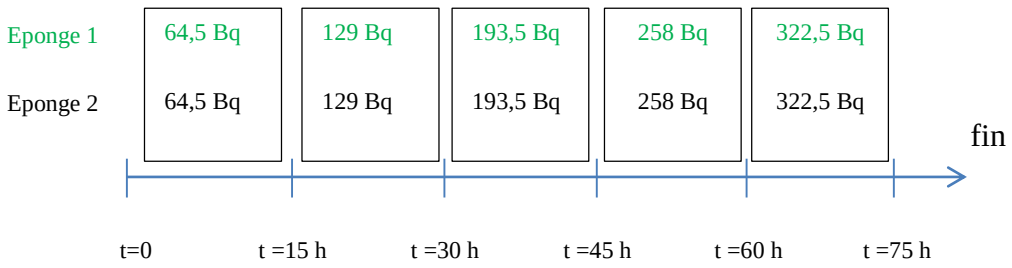


Figure 41: Schéma de l'expérience de contamination en aquarium des 2 éponges en américium avec les quantités cumulées introduites pour les deux éponges.

Pour chaque éponge, la concentration en américium dans l'éponge augmente linéairement sans atteindre un état d'équilibre. Le taux d'accumulation est ici proche de 100 % avec des incertitudes de mesures importantes, de l'ordre de 20 %, dues à des activités en dessous de la limite de détection dans les échantillons d'eau de mer en fin de spike. Cette tendance linéaire signifie que les éponges ne sont pas saturées et pourraient accumuler plus encore. A la fin de l'expérience, d'après le suivi de l'eau, la quantité d'américium dans les deux éponges est de

$2{,}5.10^{-12}$ mol/g et de $3{,}2.10^{-12}$ mol/g. L'accumulation de l'américium a été observée pour différentes espèces d'éponges méditerranéennes telles que *C. reniformis*, *A. oroides*, *I. variabilis*, *A. acuta*, *C. damicornis* and *C. verrucosa [43]*. Dans cette étude, huit radiotraceurs ont été introduits simultanément (^{110m}Ag, ^{241}Am, ^{109}Cd, ^{60}Co, ^{134}Cs, ^{54}Mn, ^{75}Se et ^{65}Zn) avec une concentration en américium de $6{,}5.10^{-12}$ M. Lors de cette expérience, pour une période équivalente d'environ 80 heures, le facteur de concentration (FC) obtenu variait de 100 à 400 selon l'espèce. Dans notre étude, pour l'éponge *A. cavernicola*, les FC obtenus d'après le suivi de concentrations dans l'eau de mer, sont de 830 et 1040 (± 40 %). Même si ces valeurs semblent plus importantes, la complexité de l'expérience sur des organismes vivants ainsi que la prise en compte des différentes incertitudes conduisent à des résultats comparables. De plus, dans notre cas, seul l'américium a été introduit dans l'aquarium éliminant les effets possibles de compétitivité avec d'autres éléments. Le suivi de l'accumulation de l'américium dans l'éponge marine *A. cavernicola* a permis de mettre en évidence que le complexe d'américium est effectivement accumulé. Ceci signifie que le complexe formé dans l'eau de mer, déterminé dans la section précédente, est, soit biodisponible à cette dose soit retenu dans les tissus.

Afin de pouvoir augmenter les quantités de radionucléides et pouvoir ainsi réaliser des analyses de spéciation dans l'éponge et déterminer la localisation de l'élément une fois accumulé, des expériences d'accumulation ont par la suite été réalisées avec l'europium (Eu naturel tracé).

Le traceur utilisé dans ce cas est l'europium 152 avec une activité de 30 Bq ($3{,}1.10^{-14}$ mol ^{152}Eu) par spike. La concentration d'europium naturel (^{151,153}Eu) introduite dans l'aquarium quotidiennement en plus du radiotraceur, par spike, est de 108 µg, soit $7{,}1.10^{-7}$ mol, ce qui représente une concentration de $9{,}7.10^{-7}$ M dans le volume d'eau total. La concentration en europium dans l'eau de mer est supérieure à la limite de solubilité déterminée précédemment ($4{,}7.10^{-7}$ M). Le schéma ci-dessous représente la quantité cumulée d'europium ajoutée dans l'eau.

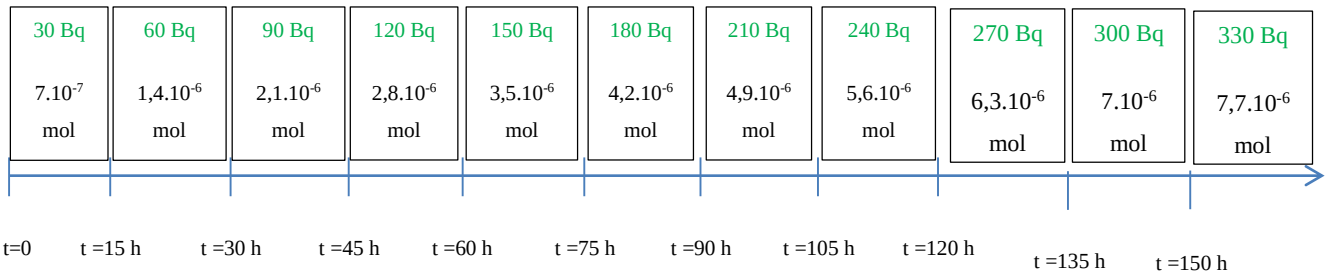


Figure 42: Schéma de l'expérience de contamination en aquarium des 2 éponges en europium avec les quantités cumulées introduites pour les deux éponges. La quantité en verte correspond aux spikes de ^{152}Eu et en noire aux spikes en ^{151,153}Eu.

La courbe d'accumulation obtenue pour l'europium est donnée Figure 43. La droite rouge représente la quantité d'europium que devrait contenir l'éponge si elle accumulait la totalité de ce qui a été introduit dans l'eau. Dans ce cas, le taux d'accumulation est plus faible et s'élève à 30 – 50 %. Ce taux plus faible peut s'expliquer par le fait que seulement 52 % de l'europium introduit reste en solution. Toutefois, les expériences de contamination ont été réalisées avant la détermination de la solubilité de l'europium dans l'eau de mer et, par conséquent, avant la détermination de la limite de solubilité du complexe. Cependant, comme l'américium, la concentration en europium augmente linéairement au cours du temps sans atteindre de plateau. L'éponge pourrait donc accumuler encore plus d'europium. Les FC obtenus d'après le suivi de concentrations pour une durée comparable à l'accumulation de l'américium (85 h) dans l'eau de mer sont de 1410 et 1701 (± 40 %). En prenant en compte les incertitudes, les facteurs de concentrations obtenus dans le cas de l'américium et de l'europium sont du même ordre de grandeur.

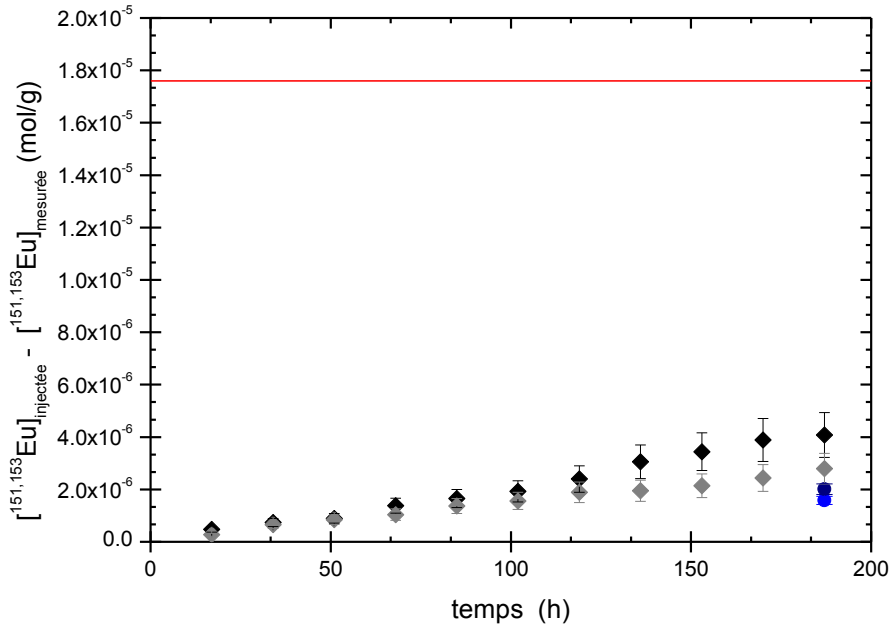


Figure 43 : Courbe d'accumulation de l'europium dans l'éponge A. cavernicola au cours du temps.

Les résultats obtenus dans le cas de l'europium sont difficilement comparables à ceux obtenus pour l'américium car les quantités molaires introduites sont très différentes (cf. chapitre 2 Figure 11).

A la fin de la période de contamination, les éponges ont été comptées par spectrométrie γ pour l'europium. La concentration mesurée est plus faible que celle attendue en utilisant les échantillons d'eau de mer. La différence observée est attribuable à l'eau résiduelle contenue dans l'éponge qui, après rinçage et séchage, n'est plus prise en compte. Les concentrations finales dans les éponges sont de 250 et 300 ppm (± 30 ppm), ce qui représente un taux d'accumulation d'environ 1 ppm/h. Ces accumulations conduisent à des FC de 1630 et 2070 (± 20 %). Il est également possible qu'au cours de l'expérience l'éponge rejette un peu d'europium. En effet, des essais de perte d'europium après accumulation ont été réalisés sur cette éponge à l'AIEA à Monaco. Au bout de 5 jours, dans une eau de mer non contaminée, la quantité d'europium a diminué de 15%. Après cette durée, la perte d'europium a été plus significative, conduisant à une perte totale de 45 % de l'europium contenu dans l'éponge au bout de 9 jours.

III. Localisation et spéciation de l'europium dans l'éponge

A. Localisation de l'europium dans l'éponge

Le paragraphe précédent a permis de montrer que les complexes formés dans l'eau de mer par l'europium et l'américium sont accumulés par l'éponge marine *A. cavernicola*. Afin de comprendre au mieux les mécanismes de transfert, la spéciation et la localisation de l'europium dans l'éponge ont été étudiées. Les mesures ont été réalisées à partir d'une éponge contaminée uniquement avec de l'europium naturel dans les mêmes conditions que précédemment (mode opératoire et quantité introduite identiques). Des découpes d'éponges ont été réalisées à différents endroits de l'organisme comme le montre la Figure 27 (proche de l'oscule (1), à l'intérieur de l'éponge (2) et proche de la paroi externe (3)) et ont été dans un premier temps analysées par STXM (Scanning Transmisison X-ray Microscopy). Ces localisations ont été choisies afin de déterminer si l'europium est réparti de façon homogène dans l'éponge, s'il traverse l'éponge *via* l'oscule ou s'il est uniquement adsorbé sur la surface externe.

Les différents résultats obtenus par STXM à 1128 eV (seuil M_V de l'europium) sont représentés sur la Figure 44, l'europium étant représenté par les points rouges. L'observation des images a permis de montrer que l'europium est essentiellement localisé sur le pourtour de l'éponge bien qu'il soit également retrouvé dans chaque partie étudiée de l'éponge.

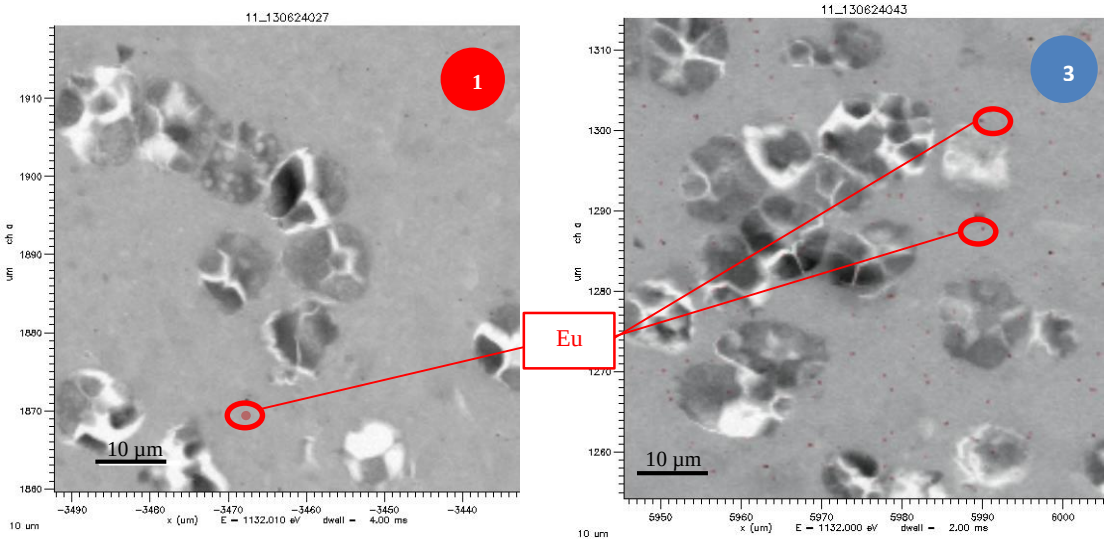


Figure 44 : Images STXM : près de l'oscule (à gauche) et près de la paroi externe (à droite).

Les amas sphériques de l'ordre de 10 µm observés sur les images STXM correspondent aux cellules sphéruleuses de l'éponge. Le rôle de ces cellules n'est pas clairement défini. Cependant, il semblerait qu'elles permettent l'élimination des déchets. Ces derniers seraient transformés puis relargués, lors de la dégénérescence de la cellule, au niveau du squelette [91]. La couleur claire est due à la mauvaise fixation de ces cellules qui ont été déchirées lors de la découpe par microtome. L'utilisation du STXM a permis de montrer que l'europium est localisé en dehors de ces cellules sphéruleuses de l'éponge. Dans ce cas, l'europium se présente sous une forme plutôt amorphe, une particule d'une taille allant de 100 à 200 nm (Figure 45). La présence de ces particules indique que l'europium se trouve sous la forme de précipité. Aucune complexation de l'europium par les métabolites de l'éponge n'est observée.

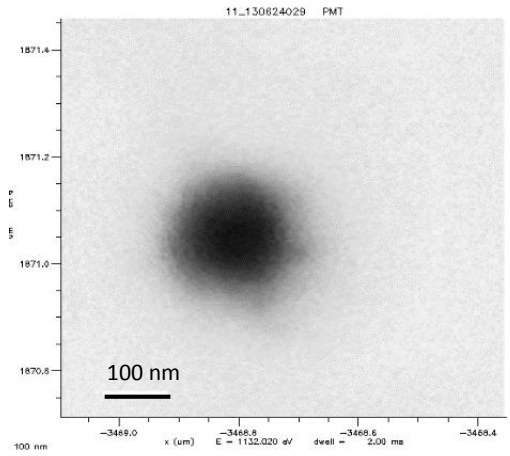


Figure 45 : Particule d'europium dans l'éponge A. cavernicola

L'utilisation du MET a permis de déterminer les autres constituants de l'éponge pouvant interagir avec l'europium. Autour des cellules sphéruleuses de l'éponge se trouvent des bactéries (en vert), d'autres cellules d'éponges comme les archéocytes (en violet) et le squelette de cette dernière (Figure 46a). Dans le cas de l'éponge *A. cavernicola*, le squelette est constitué de fibres de spongines (protéine collagène riche en liaisons disulfures) en réseau. Par ailleurs, l'observation des images obtenues par MET montre que la quantité de bactéries est nettement supérieure sur les parties les plus externes de l'éponge (Figure 46a) par rapport aux parties proches de l'oscule (Figure 46b).

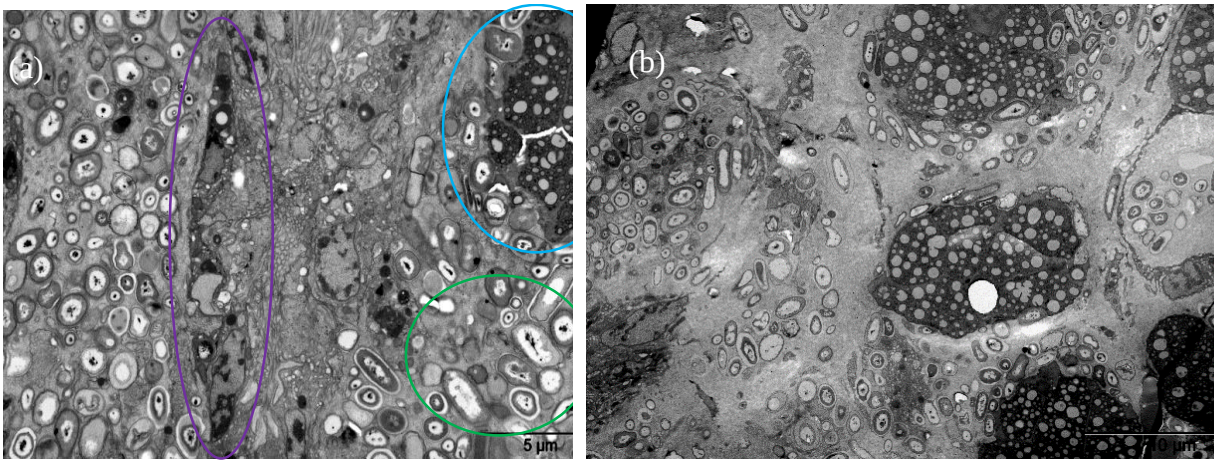


Figure 46 : Images de coupes d'éponge *A. cavernicola* par MET : (a) proche de la surface externe à gauche, (b) proche de l'oscule à droite.

En résumé, ces observations ont montré que la quantité d'europium est plus importante près de la surface externe de l'éponge tout comme la quantité de bactéries, laissant supposer qu'une interaction pourrait avoir lieu entre les deux.

Pour déterminer plus précisément la localisation de l'europium dans l'éponge et visualiser s'il existe réellement une interaction entre les bactéries et l'europium, une séparation des cellules d'éponges a été réalisée par gradient de centrifugation. Cette séparation a permis d'isoler trois fractions composant l'éponge : le squelette, les cellules et les bactéries. Les résultats obtenus ne sont pas quantitatifs car il est difficile d'avoir une homogénéisation complète de l'éponge, de par sa texture, sans significativement détériorer les cellules. Le rendement de la séparation n'est donc pas de 100 %. De plus, au vu des quantités récupérées pour certaines fractions, il a été difficile de réaliser des mesures d'efficacité en spectrométrie γ. Les quantités récupérées sont faibles et non homogènes entre les fractions. Il est donc difficile de récupérer la masse obtenue afin de réaliser une géométrie commune, sans se situer en-dessous des limites de détection. Cependant, la géométrie étant relativement proche entre chaque échantillon, chaque fraction a été mesurée avec les mêmes temps de comptage afin de pouvoir les comparer. La mesure par spectrométrie γ (Tableau 16) de chaque culot recueilli a permis de confirmer que l'europium est en majeure partie localisé dans la première fraction (80 % de l'activité totale mesurée), soit celle contenant le squelette et les cellules sphéruleuses. Le STXM a montré que l'europium n'était pas présent dans les cellules sphéruleuses, cela signifie que ce dernier serait principalement présent au niveau du squelette de l'éponge. Une activité non négligeable a cependant été mesurée dans la fraction 2. Ceci peut avoir deux explications : un rendement de séparation différent de 100 % ou une interaction minoritaire avec les cellules.

Tableau 16 : Indication qualitative de l'activité présente au sein des différentes fractions après séparation par gradient de centrifugation.

Fractions	Intensités relatives à 122 keV
Fraction 1 : cellules sphéruleuses + squelette	81 ± 10 %
Fraction 2 : autres cellules d'éponges	15 ± 2 %
Fraction 3 : bactéries	4 ± 1 %

Par la suite, les particules d'europium ont également été observées par MET (Figure 47) confirmant les résultats obtenus par la séparation cellulaire et le STXM. La taille de ces particules apparait plus petite (80 – 100 nm). L'utilisation du MET permet d'obtenir une meilleure résolution diminuant les effets de diffusion autour de la particule. L'observation de l'image obtenue par MET montre que dans ce cas, l'europium est localisé au niveau du squelette de l'éponge sur les fibres de spongine.

Figure 47 : Particule d'europium observée dans l'éponge par MET

Cependant, l'hypothèse d'une interaction avec les cellules d'éponges est à prendre en considération au vu de certaines images obtenues pas STXM et MET où l'europium semble être intégré dans une forme cellulaire (Figure 48 et Figure 49). En effet, sur l'image STXM, les

particules d'europium, visibles en blanc sur la photo de droite, semblent être contenues dans une structure cellulaire. La mesure de la taille de cet agglomérat (800 nm à 1 µm) permet d'éliminer l'hypothèse des cellules sphéruleuses (≈10 µm) et des bactéries (≈ 200 à 500 nm). Seules des cellules d'éponges peuvent avoir une telle taille.

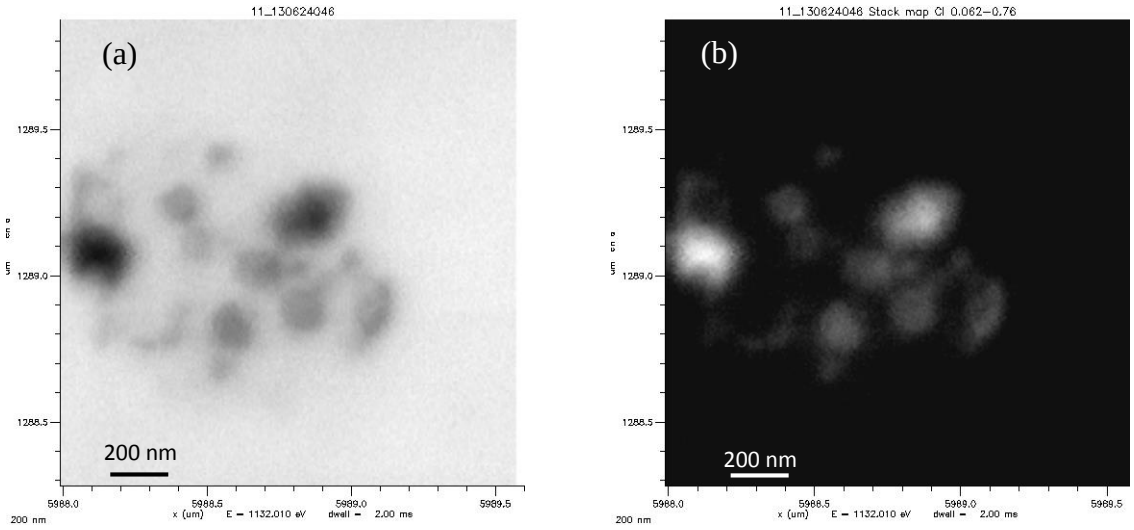


Figure 48 : Images STXM d'une coupe de l'éponge *A. cavernicola* après accumulation d'europium : image standard (a) et image de contraste au niveau du seuil de l'europium (b).

Ces agglomérats de particules d'europium ont également été observés à l'aide du MET (Figure 49). Sur la photo de gauche, les particules d'europium sont incluses dans une vacuole au niveau du squelette. Les tailles de ces vacuoles varient de 300 à 600 nm comme observé sur l'image STXM. Sur la photo de droite, des vacuoles contenant les particules d'europium sont également observées (Figure 49). Cependant, sur cette photo, ces vacuoles sont contenues dans des cellules d'éponges, qui semblent être des archeocytes. Ces cellules d'éponges sont des cellules phagocytaires et ont une activité digestive et excrétrice. Ces considérations doivent tout de même être prises avec précautions. En effet, aucune analyse élémentaire n'a pu être réalisée sur ces particules en MET. Une étude réalisée sur les cellules de l'éponge *A. cavernicola* par J. Vacelet en 1967 a montré que l'utilisation d'osmium comme contrastant pouvait engendrer la formation de grains osmiophiles plus sombres de 40 à 130 nm dans ces cellules. Cependant, les images obtenues pour une éponge ayant été contaminée par de l'uranium n'ont pas montré ce type de particules [91].

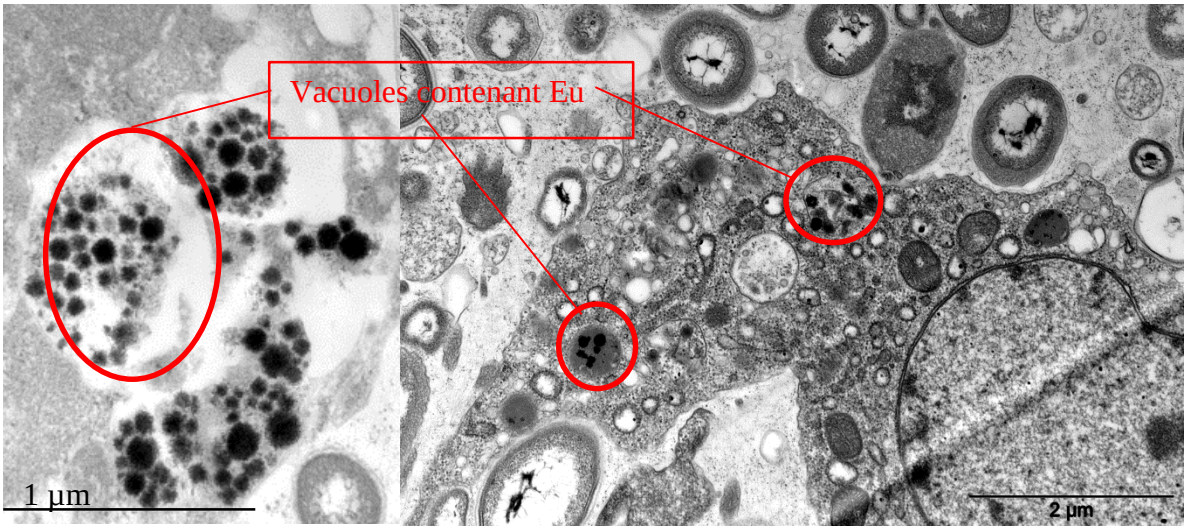


Figure 49 : Particules d'europium localisées dans les cellules d'éponge observées par MET

En conclusion, la combinaison du STXM avec le MET ainsi que la séparation cellulaire ont permis de mettre en évidence la présence d'europium principalement au niveau du squelette de l'éponge. De plus, il apparaît au vu des images STXM que l'europium est présent de façon prépondérante au niveau de la surface externe de l'éponge. Cette observation est cohérente avec le fait que l'europium peut uniquement entrer dans l'éponge via les pores qui se trouvent sur la paroi externe. Cependant, la présence d'europium est également détectée dans toutes les parties de l'éponge ainsi que près de l'oscule qui est la seule voie de sortie. Ceci signifie que l'europium circule à travers l'éponge.

Les mesures STXM réalisées sur l'éponge contaminée en europium ont également mis en évidence la présence de fer dans l'éponge. L'éponge semble contenir plus de fer que d'europium. Le fer est un des nutriments essentiels pour l'éponge. Un comportement différent est observé pour ce dernier. Contrairement à l'europium, le fer est essentiellement localisé dans les cellules sphéruleuses (Figure 50). Du fer a également été observé en dehors de ces cellules mais en moins grande quantité. Dans chaque cas, le fer semble être présent aux endroits où l'europium n'est pas. De plus, le fer n'est pas présent sous la forme de particules. La répartition est plus homogène, ce dernier semblerait donc complexé probablement à des protéines ou des enzymes.

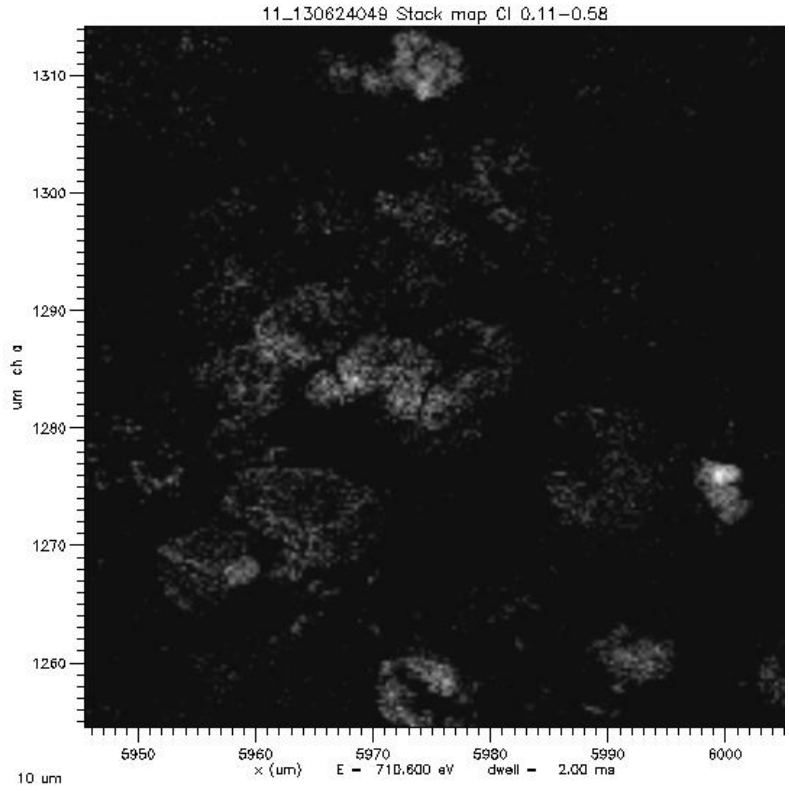


Figure 50: Cartographie de l'éponge réalisée au seuil du fer 710,6 eV.

Après avoir déterminé la localisation de l'europium dans l'éponge, la spéciation de ce dernier a été étudiée afin de mieux comprendre les mécanismes de transfert.

B. Spéciation de l'europium dans l'éponge

Dans un premier temps, comme il est connu que les bactéries, par exemple, peuvent avoir un effet de réduction importante, le degré d'oxydation de l'europium dans l'éponge a été évalué. Dans le cas de l'europium, il est cependant peu probable d'observer une telle réduction à la vue des différents couples redox. Le potentiel redox du couple Eu(III)/Eu(II) s'élève à -0,379 V [92] tandis que, dans les cellules, le potentiel varie entre -0,170 et -0,240 V [93]. Un spectre NEXAFS a été réalisé aux seuils $M_{IV,V}$ de l'europium (à 1159 et 1128 eV) par STXM au niveau des particules d'europium visualisées dans la section précédente (Figure 51). Dans chaque cas, les spectres obtenus sont en accord avec les spectres attendus aux seuils $M_{IV,V}$ pour l'europium [94]. En présence de Eu^{2+}, le spectre NEXAFS aux seuils $M_{IV,V}$ de l'europium présente un épaulement à 1132 eV [95]. Le spectre obtenu au niveau des particules d'europium dans l'éponge ne présente pas cet épaulement. **L'europium est donc présent dans l'éponge sous la forme d'europium trivalent.**

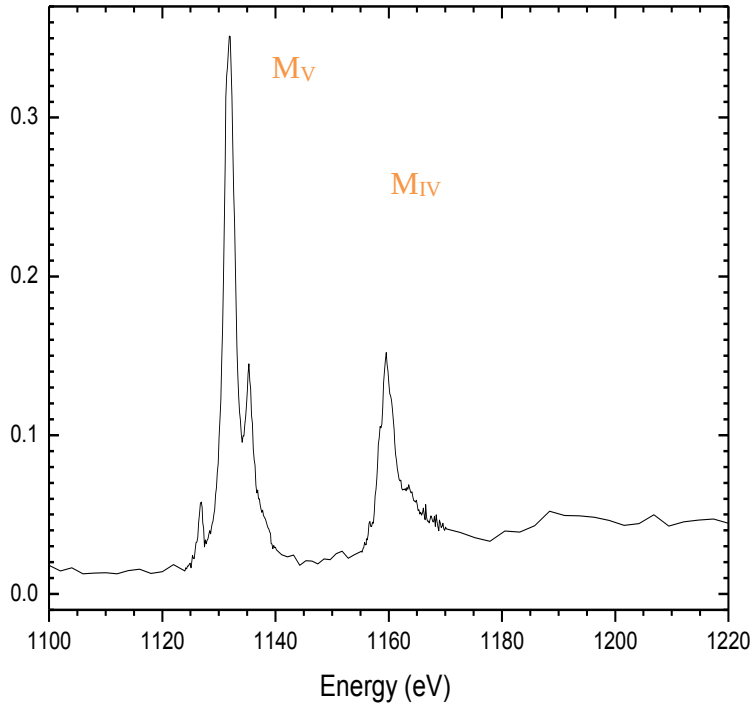


Figure 51 : Seuil $M_{IV,V}$ de l'europium dans l'éponge

Dans un deuxième temps, une mesure SLRT a été réalisée sur de la poudre d'éponge ayant été contaminée uniquement en europium stable, pour laquelle le facteur de concentration obtenu est comparable aux expériences précédentes (910 ± 270) pour les mêmes quantités introduites dans l'eau. Le spectre de fluorescence obtenu, Figure 52, montre un signal large entre 500 et 600 nm. Cette forme à cette longueur d'onde est caractéristique des substances humiques. Or, dans l'éponge, la contribution de la matière organique est très importante. Après déconvolution, les longueurs d'onde de fluorescence ont été déterminées à 591, 617 et 700 nm avec un rapport I_{593} :I_{617} de 1/3, correspondant à la présence du dicarbonate d'europium.

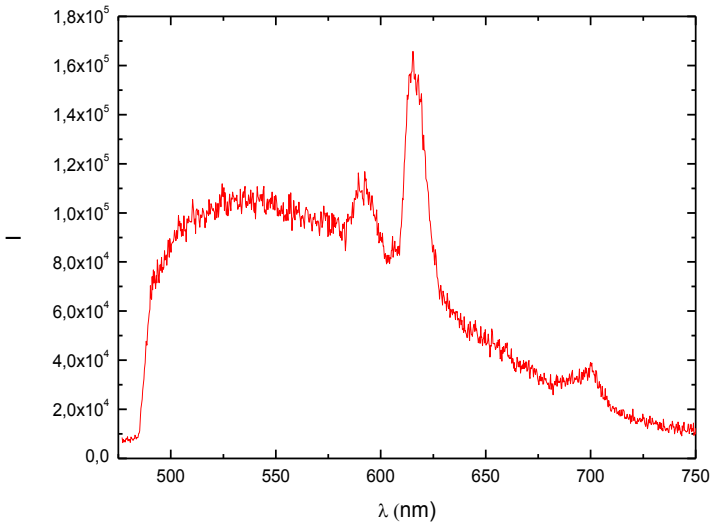


Figure 52 : Spectre de fluorescence de l'éponge *A. cavernicola* contaminée en europium.

Pour confirmer cette hypothèse, la spéciation de l'europium dans l'éponge a également été étudiée par EXAFS sur le même échantillon. Comme mentionné dans la partie précédente, du fer est contenu dans l'éponge, ce qui a empêché de réaliser la mesure EXAFS au seuil L_{III} de l'europium. En effet, le seuil K du fer (7112 eV) est très proche du seuil L_{III} de l'europium (6977 eV). La mesure EXAFS a donc été réalisée, dans un premier temps, au seuil L_{II} (7617 eV) de l'europium. Le rapport signal sur bruit obtenu est très élevé (ε = 0,019). Ceci est dû à la faible teneur en europium contenue dans l'éponge (de l'ordre de 250-300 ppm). De plus, au seuil L_{II} de l'europium (6 458 eV), l'intensité engendrée est plus faible qu'au seuil L_{III}. Le réglage des régions d'intérêt (ROI) est très délicat car la raie d'émission $K\alpha_1$ du fer (6405 eV) apparait à une énergie comparable. Par conséquent, dans un second temps, une mesure EXAFS a donc été réalisée au seuil K de l'europium (48 519 eV). Le rapport signal sur bruit est ainsi moins élevé (ε = 0,0023). En ce qui concerne le seuil K, l'énergie est très importante (48 519 eV) ce qui entraîne des instabilités du faisceau et rend la mesure difficile. Cependant, malgré les temps d'acquisition important (durée d'un scan ≈ 1h30, durée totale ≈12 h), la détermination de la spéciation de l'europium dans l'éponge est très difficile à partir des spectres obtenus.

Le spectre EXAFS et la transformée de Fourier correspondant sont présentés sur la Figure 53a et la Figure 53b.

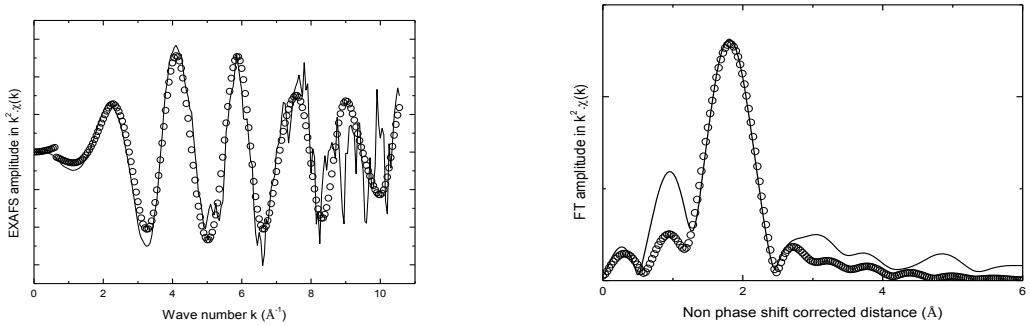


Figure 53 : Transformée de Fourier et spectre EXAFS au seuil K de l'europium dans l'éponge *A. cavernicola*. Spectre expérimental en traits pleins et ajustement en pointillés.

L'ajustement du spectre EXAFS a été effectué en utilisant le même modèle que pour l'europium dans l'eau de mer. Les paramètres d'ajustement sont listés dans le Tableau 17. Le spectre EXAFS obtenu au seuil K ne permet d'ajuster le spectre qu'au niveau de la première contribution. En effet, le spectre obtenu ne permet pas d'aller loin en k (k = 8 $Å^{-1}$). La diminution du domaine en k diminue la quantité de points indépendants sur lequel il est possible de se baser pour l'analyse. Dans ce cas, le nombre de points indépendants est faible (N_{ind} = 10), ne permettant de réaliser l'ajustement qu'au niveau de la première contribution. La distance Eu-O obtenue coïncide avec celle obtenue dans l'eau de mer de 2,46 Å. La mesure EXAFS semble donc confirmer la présence du complexe carbonate dans l'éponge comme la SLRT même si ceci n'est qu'indicatif.

Tableau 17 : Données EXAFS de l'éponge contaminée en europium.

	1ère contribution
Eponge contaminée en europium	9 O at 2.43(2) Å σ^2 = 0.0060$Å^2$
s_o^2 = 1.3, e_o = 1,46 eV (K) et -0,53 eV (L_{II}), r(%) = 5,7	

IV. Conclusion

Dans ce chapitre, la spéciation de l'américium dans l'eau de mer a été étudiée par modélisation, conduisant en majorité à la présence du monocarbonate. L'américium ne pouvant être manipulé

dans le laboratoire de façon pondérable (5.10^{-5} M), l'europium a été utilisé en tant qu'analogue. La combinaison de différentes techniques telles que SLRT, EXAFS, MET et ATR-FTIR a conduit à préciser la spéciation de l'europium dans l'eau de mer. Cette étude nous a ensuite permis de déterminer par analogie la spéciation de l'américium dans l'eau de mer à 5.10^{-5} M. Les résultats obtenus sont résumés schématiquement dans la Figure 54. Dans le cas de l'europium, deux phases sont en équilibre. Dans chacune de ces phases (en solution et dans le précipité), les espèces présentes en équilibre sont des isomères du complexe ternaire Na-Eu-CO_3, le dicarbonate d'europium, $NaEu(CO_3)_2.nH_2O$. En solution (soit 1% de l'europium total introduit), les mesures SLRT suggèrent la présence de carbonates monodentes alors qu'en phase solide, les mesures IR et EXAFS montrent la présence de carbonates bidentes. Tout comme l'europium en solution, **l'américium(III) se présente également sous la forme $NaAm(CO_3)_2.nH_2O$ où les groupements carbonates sont monodentes** (Figure 54).

De plus, dans un deuxième temps, l'étude de l'accumulation de $NaAm(CO_3)_2.nH_2O$ à l'échelle de l'ultra traces ainsi que de $NaEu(CO_3)_2.nH_2O$ à l'état de traces dans l'éponge *A. cavernicola* a mis en évidence que les complexes semblent filtrés mécaniquement par l'éponge puis piégés. La courbe d'accumulation obtenue dans le cas de l'europium montre que les complexes carbonate sont accumulés par l'éponge de façon linéaire. En fin d'expérience, l'éponge n'est pas saturée et pourrait donc accumuler encore plus.

L'étude de la localisation et de la spéciation de l'europium accumulé dans l'éponge a, dans un dernier temps, permis de montrer que **l'europium est principalement retrouvé sur la surface externe**. Il précipite et forme des particules de l'ordre de 100 - 200 nm. L'utilisation de la SLRT ainsi que de l'EXAFS a montré que la spéciation de l'europium dans l'éponge semble très proche de celle dans l'eau de mer. Cependant, aucun élément pour le moment ne permet de mettre en évidence un éventuel rôle du sodium. Plusieurs hypothèses peuvent être formulées. L'europium peut précipiter au contact de l'éponge ou alors être déjà présent sous la forme particulaire et être piégé par cette dernière.

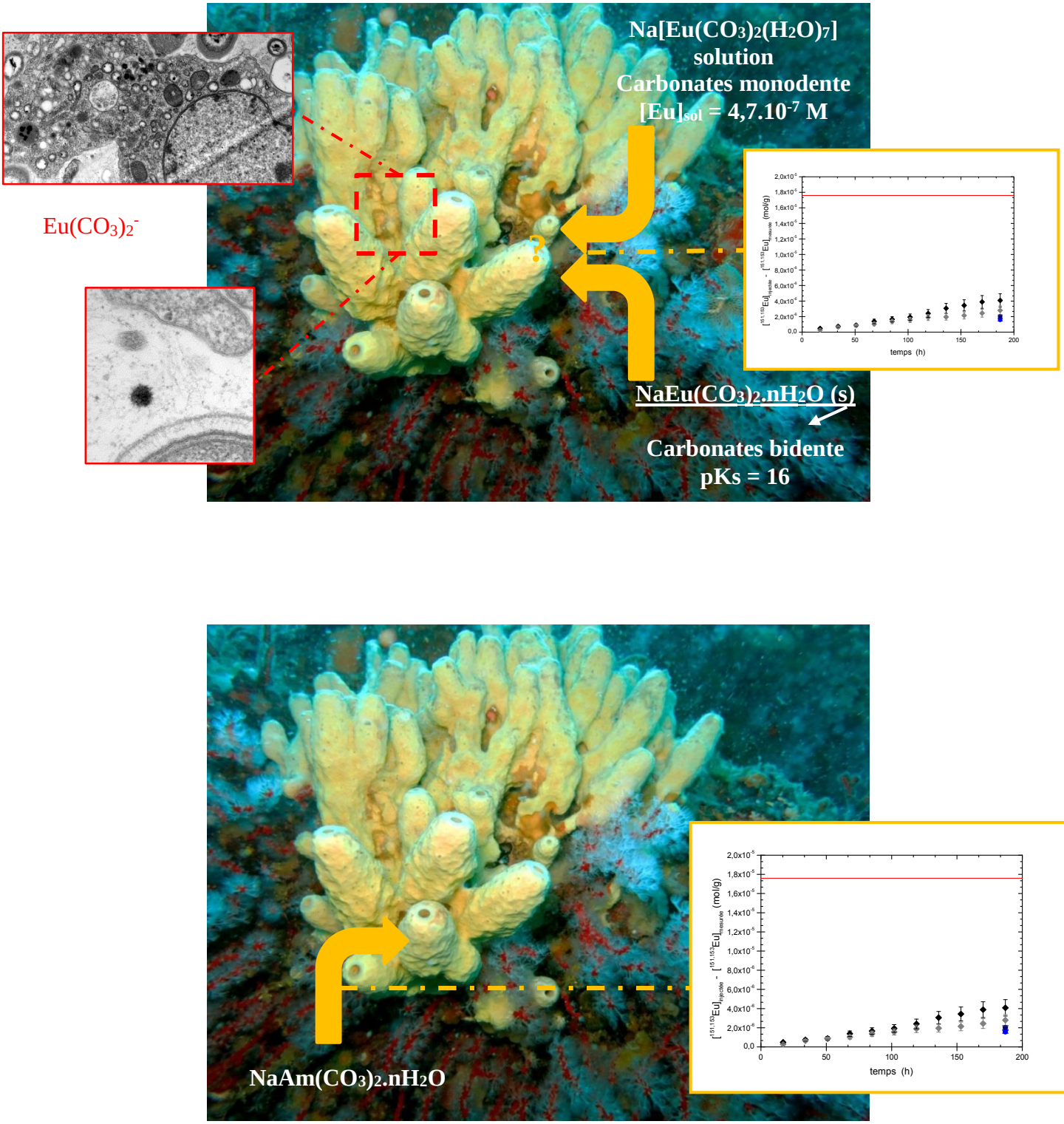


Figure 54 : Schéma bilan de la spéciation de l'américium et de l'europium dans l'eau de mer et accumulation de ces complexes par l'éponge *A. cavernicola*.

Chapitre 4 : Spéciation de l'uranium(VI) et du neptunium(V) dans l'eau de mer

Contrairement à l'américium, l'uranium et le neptunium peuvent présenter différents degrés d'oxydation en solution, de +IV à +VI. En effet, comme précisé dans le second chapitre, il est possible de trouver l'uranium aux degrés d'oxydation +IV, +V et +VI et le neptunium au degré d'oxydation +IV, +V et +VI. Le degré +III nécessite des conditions extrêmement réductrices. Nous avons vu précédemment qu'en solution, dans l'environnement à pH neutre, le neptunium se présente majoritairement sous la forme +V et l'uranium au degré d'oxydation +VI. Ces actinides, à ces degrés d'oxydation, ont la capacité de former des entités oxo-cation qui ont des formes linéaires. Ce sont les ions actinyle, AnO_2^{n+} (n = 1, 2). Tout comme pour l'américium, très peu de données sont disponibles sur la spéciation de l'uranium et du neptunium dans l'eau de mer. Les données actuelles proviennent uniquement de calculs de spéciation. Dans ces études, l'uranium est considéré comme étant sous la forme de l'espèce tricarbonato $UO_2(CO_3)_3^{4-}$ ou $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ [18, 74]. Pour ce qui est du neptunium, il est reporté comme étant sous la forme du monocarbonato $NpO_2CO_3^-$ et sous la forme aquo NpO_2^+ [18, 60, 96, 97]. Cependant, aucune spéciation expérimentale directe n'a encore été réalisée à cause des trop faibles concentrations en milieu naturel. Pour étudier la spéciation de l'uranium et du neptunium dans l'eau de mer, la même méthodologie que celle employée pour l'américium a été utilisée, en dopant la solution à 5.10^{-5} M. Dans un premier temps, des calculs de spéciation ont été réalisés. Ces calculs ont été, dans un deuxième temps confortés à l'expérience à l'aide de la combinaison de la SLRT et de l'EXAFS pour l'uranium et de l'EXAFS et de la spectrophotométrie UV-visible pour le neptunium. Par la suite, comme pour l'europium et l'américium, l'accumulation de l'uranium dans l'éponge marine *Aplysina cavernicola* a été étudiée.

I. Modélisation de la spéciation dans l'eau de mer

Comme dans le cas de l'américium, des calculs de spéciation ont été réalisés en considérant les concentrations en ions, matières organiques et métaux référencés dans le Tableau 3 du deuxième chapitre et le Tableau 10 de l'Annexe C. Les diagrammes obtenus pour l'uranium(VI) et le neptunium(V) à 5.10^{-5} M dans l'eau de mer ont été réalisés à partir de la base de données BASSIST [53] et du logiciel JCHESS [78]. Ces diagrammes sont représentés Figure 55 et Figure 56.

La spéciation de l'uranium(VI) est en adéquation avec les données obtenues dans la littérature utilisant d'autres codes de calcul que JCHESS. Tout comme pour les études antérieures, la

modélisation de la spéciation suggère, au pH de l'eau de mer, la présence majoritaire de tricarbonate d'uranyle [18, 74, 97], $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ à environ 70 % et $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ à 30 %. Notons que les concentrations en cations tels que Mg^{2+}et Sr^{2+} sont significatives dans l'eau de mer (respectivement 58 mM et 0,10 mM) et la formation de complexes tels que $MgUO_2(CO_3)_3^{2-}$ (log β = 26,25 [74]) et $SrUO_2(CO_3)_3^{2-}$ (log β = 26,07 [98]) est également probable [74, 98]. Cependant, au vu des constantes de complexation, la présence de ces complexes dans l'eau de mer serait faible comparée à celle de $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ (logβ = 30.5) [72]. C'est pourquoi, dans ces calculs, les constantes de complexation de ces complexes n'ont pas été prises en compte. Les mêmes calculs de spéciation ont été réalisés à 10^{-5} M ainsi qu'à la concentration de l'uranium dans l'eau de mer, soit 10^{-8} M (cf. Annexe C). La spéciation est identique, aucune différence n'a été observée de 5.10^{-5} M à 10^{-8} M.

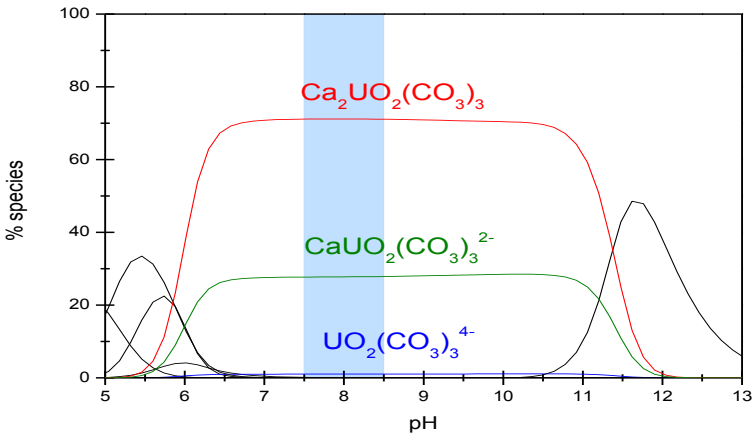


Figure 55 : Diagramme de spéciation théorique (JCHESS®) de l'uranium(VI) dans l'eau de mer à [U] = 5.10^{-5} M

Dans le cas du neptunium(V), le diagramme obtenu est également en accord avec les résultats déjà reportés [60]. Au pH de l'eau de mer, les espèces prédominantes sont le complexe aquo NpO_2^+ ainsi que le complexe carbonate $NpO_2(CO_3)^-$. Des calculs similaires ont été réalisés à 10^{-14} M, soit la concentration naturelle du Np dans l'eau de mer. Le diagramme obtenu ne montre aucune différence significative par rapport à la concentration de 5.10^{-5} M (cf. annexe C).

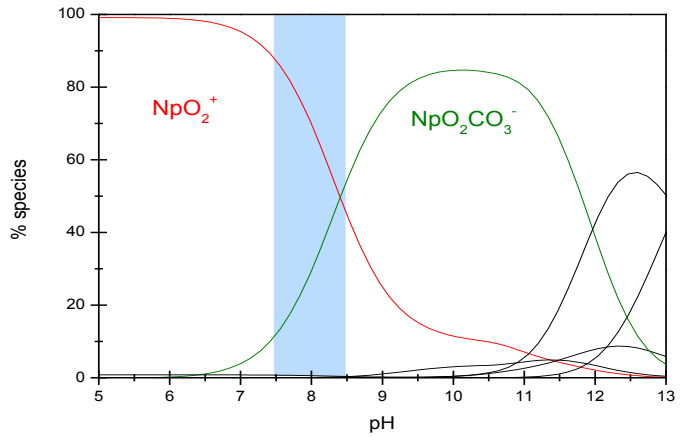


Figure 56 : Diagramme de spéciation théorique (JCHESS®) du neptunium(V) dans l'eau de mer à [Np] = 5.10^{-5} M

Notons que dans, tous ces calculs, le potentiel de l'eau de mer n'a pas été pris en compte, ce qui exclut les processus d'oxydoréduction. Alors que la présence de U(IV) n'est pas envisageable, la présence de Np(IV) est possible comme l'indique le schéma suivant car les deux valeurs sont très proches [62] :

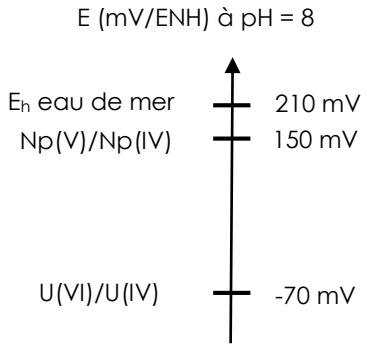


Figure 57 : Potentiel d'oxydo-réduction de l'uranium et du neptunium comparé à l'eau de mer à pH = 8 et I = 0,7 selon [18]

Que ce soit pour l'uranium ou pour le neptunium, aucun des complexes carbonato n'a été jusqu'alors observé expérimentalement dans l'eau de mer.

Le complexe $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ a été identifié pour la première fois pour des eaux infiltrées dans des résidus miniers [68, 72]. Ces résultats ont été obtenus dans un premier temps par SLRT puis confirmés dans un second temps par EXAFS. Plus récemment, ce complexe a été décrit par EXAFS à des concentrations de l'ordre du µM [70]. Ce complexe a également été trouvé dans

des eaux minérales pétillantes française avec des concentrations en uranium entre 60 et 80 µg/l, ainsi que dans des eaux minérales finlandaises où les concentrations en uranium varient entre 6 µg/l et 3,4 mg/l [69]. La concentration en uranium est importante. , Il a cependant été observé que les deux complexes $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ et $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ ne sont pas toxiques car ils ne sont pas biodisponibles [99].

Au niveau de la biosphère marine, la présence de ces complexes, jusqu'à présent non avérée, pourrait expliquer les différents phénomènes tels que la faible intégration de l'uranium dans l'algue verte (*Chlamydomonas reinhardtii* [100]) ou la limitation du processus de réduction microbiologique de l'uranium(VI) par la présence du calcium [101, 102]. Par ailleurs, l'étude de la biosorption de l'uranium(VI) par la bactérie marine *Idiomarina loihiensis* a fait apparaître que des complexes mixtes tels que des phosphocarbonates de calcium pouvaient également apparaître [71].

Dans le cas du neptunium, il n'y a pas eu autant d'investigation que pour l'uranium. Quelques mesures EXAFS et EC-ICP-MS ont été réalisées afin de mieux comprendre la spéciation du neptunium en solution aqueuse, dans des eaux souterraines avec des concentrations de 10^{-2} à 10^{-3} M [64, 103]. Ces études ont essentiellement consisté à étudier la complexation du neptunium avec les carbonates en milieu contrôlé [104] conduisant ainsi à l'élucidation structurale des différents complexes carbonates pouvant être présents en solution : $NpO_2CO_3^-$, $NpO_2(CO_3)_2^{3-}$ et $NpO_2(CO_3)_3^{5-}$.

II. Spéciation expérimentale et impact de l'uranium(VI) dans le milieu marin

Comme nous l'avons déjà mentionné, la spéciation de l'uranium dans l'eau de mer a été étudiée par la combinaison de la SLRT et de l'EXAFS.

A. Détermination de la spéciation de l'uranium(VI) dans l'eau de mer par SLRT

Le spectre de la solution standard d'uranium(VI) en milieu acide (100 $mg.l^{-1}$ dans HNO_3 0,1 M) présente les six bandes caractéristiques d'$\{UO_2^{2+}\}$ qui est l'espèce majoritaire à ce pH. Comme observé dans des études antérieures [105], ces pics sont situés à 470, 488, 509, 533, 559 et 585 nm (Figure 58, pointillés).

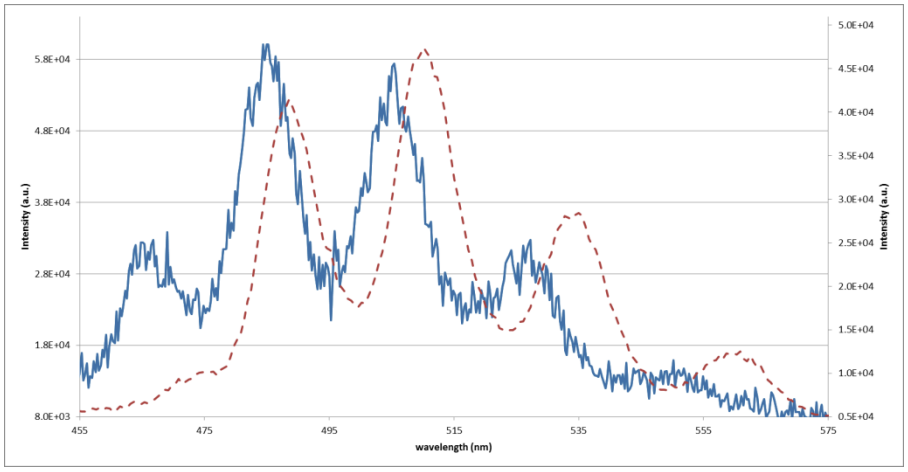


Figure 58 : Spectres SLRT: solution standard d'uranium(VI) en pointillés (pH 1) et solution d'eau de mer dopée en uranium à 5.10^{-5} M (pH 8). Temps après impulsion 5 ns, porte de 1 µs, 500 accumulations.

Ces différentes raies d'émissions proviennent des transitions de l'état excité à 21 270 cm^{-1} vers l'état fondamental (à 470 nm) et principalement de l'état excité à 20 502 cm^{-1} aux états fondamentaux à 0, 855, 1710, 2565 et 3420 cm^{-1} soit à 488, 509, 533, 559 et 585 nm [106]. De nombreuses études ont été réalisées sur les complexes de l'uranium par SLRT permettant de connaître les différentes longueurs d'ondes caractéristiques ainsi que les temps de vie de ces derniers [69, 72, 105]. Par exemple, pour l'espèce aquo, il est estimé entre 1 et 3 µs [107].

Dans les échantillons environnementaux, lorsque le pH augmente (> 7), d'autres espèces fluorescentes peuvent être observées comme les complexes hydroxydes aussi bien que des formes polymériques, en fonction de la concentration en uranium ou en agents complexants organiques. Dans le cas de l'eau de mer, la teneur en chlorure est très importante. Différentes études ont montré qu'en présence de chlorure, la fluorescence est fortement réduite provoquant un phénomène d'inhibition important (constante d'extinction de Stern-Volmer : 10^9) [108]. Néanmoins, dans le cas de la solution d'eau de mer dopée en uranium à 5.10^{-5} M, il a été possible de mesurer directement la fluorescence, en commençant l'acquisition suffisamment tôt après l'impulsion laser (5 ns). Un décalage vers le bleu du spectre est alors observé par rapport à la solution standard (Figure 58). Les bandes caractéristiques sont dans ce cas observées à 465, 485, 505, 526 et 551 nm.

Le Tableau 18 ci-dessous résume les différentes données spectroscopiques (longueurs d'ondes de fluorescence, largeur à mi-hauteur et temps de vie) obtenues dans le cas de la solution d'eau de mer dopée en uranium(VI). Ces valeurs ont été comparées aux valeurs de la littérature concernant des eaux d'infiltration dans les mines, de l'eau de source mais aussi les données des hydroxydes, carbonates et phosphates [69, 72, 98, 105, 109-112]. La comparaison de ces

valeurs avec la littérature montre que seuls les complexes M-UO_2-CO_3 (M = Ca^{2+}, Mg^{2+} et Sr^{2+}) conduisent à un déplacement hypsochromique (un décalage de la bande spectrale vers le bleu). Toutes les autres espèces, comme les hydroxydes, conduisent à un déplacement bathochromique (décalage de la bande spectrale vers le rouge). De plus, le temps de vie de fluorescence augmente avec la complexation. Par exemple, en milieu phosphorique, le temps de vie est de 200 µs, en milieu sulfurique il est de 30 µs alors que l'uranyle libre (en milieu perchlorique) a un temps de vie de 2 µs [113]. Cependant, dans le cas du complexe calcium carbonate $Ca_2UO_2(CO_3)_3$, le temps de vie est drastiquement réduit. Ce phénomène a été également observé dans le cas de la solution d'eau de mer dopée en uranium pour laquelle le temps de vie a été évalué aux alentours de 50 ns. Les temps de vie de $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$, $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ et $MgUO_2(CO_3)_3^{2-}$ sont respectivement répertoriés à 12,7 ± 0,2 ns, 29,2 ± 0,4 ns et 18,2 ± 2,7 ns [98, 109]. Au vu du faible écart entre chacune de ces valeurs, la présence d'une ou de plusieurs espèces ne peut être distinguée. Ajoutons que le temps de vie de fluorescence dépend de la concentration en Ca^{2+}. Un temps de vie court (environ 12,7 ns) avec de faibles concentrations en Ca^{2+} (< 10^{-4} M) est caractéristique d'une présence en plus forte proportion de l'espèce $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ alors qu'un temps de vie plus long (environ 29,2 ns) avec une plus forte concentration en Ca^{2+} (> 5.10^{-2} M) indique que le complexe $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ est l'espèce prédominante [109]. Dans l'eau de mer, la concentration en Ca^{2+} est très importante (environ 10 mM) et le temps de vie mesuré (50 ± 10 ns) est proche de la valeur la plus haute (29,2 ns). Les données spectroscopiques obtenues dans le cas de l'eau de mer sont donc en bonne adéquation avec des études antérieures réalisées sur des eaux naturelles (eaux d'infiltration des mines [68] et eau de source [69]) pour lesquelles l'espèce prédominante est le complexe $Ca_2UO_2(CO_3)_3$. Ainsi, les résultats obtenus par la modélisation de la spéciation et ceux obtenus par SLRT permettent de supposer que l'espèce majoritaire est ce même complexe. De plus, comme expliqué, les ions chlorures sont les éléments les plus atténuateurs de la fluorescence de l'uranium(VI). Dans les études antérieures sur les eaux d'infiltration ou l'eau de source, les concentrations en Cl^- étaient très différentes avec des concentrations plus de 4000 fois inférieures à celle de l'eau de mer (0,121 mM pour les eaux d'infiltration et 523 mM pour l'eau de mer). Pourtant, aucune différence significative n'est observée. Ceci signifie que la fluorescence du complexe Ca-UO_2-CO_3 n'est pas affectée par la concentration en ion chlorure.

Tableau 18 : Données spectroscopiques (longueurs d'onde de fluorescence, largeurs à mi-hauteur, temps de vie) des solutions d'eau de mer dopée en uranium en comparaison avec les données de la littérature.

Species	Fluorescence wavelengths (nm)	FWMH[a] (nm)	Lifetime (µs)	Ref
seawater solution [U] = 5.10^{-5} M	465-485-505-526-551	13	0.050 ± 0.010	This work
seawater solution [U] = 10^{-5} M	465-485-505-525	-	-	This work
$Ca_2UO_2(CO_3)_3$ " "	465-484-504-526-555 465-484-505-526 466-485-505-527-551	13 13 9-11-13-13-14	0.043 0.040 ± 0.003 0.0292 ± 0.0004	29 14 65
$CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$	466-485-505-527-550	9-13-14-16-14	0.0127 ± 0.0002	65
$MgUO_2(CO_3)_3^{2-}$	466-485-505-527-551	-	0.0182 ± 0.0027	65
$SrUO_2(CO_3)_3^{2-}$	467-486-506-526-547	-	0.0182 ± 0.0021	64
UO_2^{2+}	470-488-509-534-559	13	2 ± 0.1	21
UO_2OH^+	480-497-519-544-570	16	80 ± 5	
$UO_2(OH)_2$	488-508-534-558	21	15 ± 5	
$UO_2(OH)_3^-$	482-499-519-543-567	24	0.8 ± 0.1	
Complexing media (phosphate - sulphate)	494-516-540-565 "	13 13	200 (phosphate) 35 (sulphate)	66 67

a) moyenne des largeurs à mi-hauteur

Un spectre similaire a été obtenu pour une solution d'eau de mer dopée en uranium à 10^{-5} M dans les mêmes conditions de mesure que pour celle à 5.10^{-5} M. Le spectre obtenu est représenté sur la Figure 59 ci-dessous. Ce dernier présente un rapport signal sur bruit inférieur et une large contribution apparaît de 400 à 550 nm. Cette contribution est due à la présence de matières organiques marines dissoutes pour lesquelles le maximum d'émission se situe aux alentours de 420 - 450 nm [114]. En diminuant la concentration en uranium, le rapport uranium/matière organique décroit et empêche de distinguer la fluorescence du complexe de l'uranium formé. L'utilisation d'un cryostat à l'hélium liquide lors des mesures SLRT permettrait de déterminer la spéciation de solutions de carbonate d'uranyle pour lesquelles la fluorescence est faible, voire inexistante à température ambiante. Cette température permet d'améliorer la résolution et d'augmenter l'intensité de fluorescence. Cette amélioration de la résolution est due à la réduction des contributions des différents modes de vibration liés aux groupements carbonates, aux molécules d'eaux mais aussi à la suppression de bandes dites chaudes (partant d'un niveau vibrationnel excité) issues de transition à partir d'états thermiquement peuplés [115]. L'augmentation de l'intensité, quant à elle, vient de la diminution des pertes d'énergie et la minimisation de l'inhibition de la fluorescence. Les mesures n'ont pas pu être réalisées à une température aussi basse. Cependant, en réalisant la mesure à 2°C, une meilleure résolution a pu être obtenue à 10^{-5} M (Figure 60) et un spectre à 10^{-6} M a pu être réalisé. La température de 2°C

ne permet cependant pas d'obtenir une aussi grande amélioration qu'à -267 °C mais suffit à amener la limite de détection de 10^{-5} à 10^{-6} M. L'observation des différents spectres obtenus montre que la spéciation de l'uranium(VI) dans l'eau de mer est inchangée de 5.10^{-5} à 10^{-6} M. Malheureusement, la limite de détection de la technique ne permet pas de descendre plus bas en concentration.

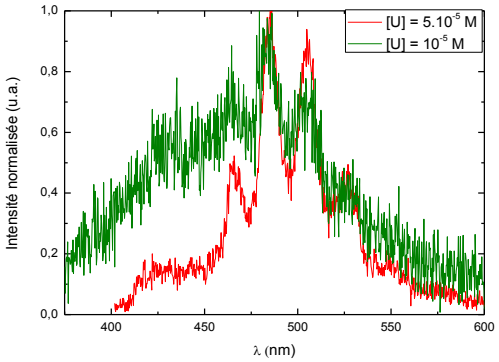


Figure 59 : Spectres SLRT: solutions d'eau de mer dopées en uranium à 10^{-5} M et 10^{-6} M.

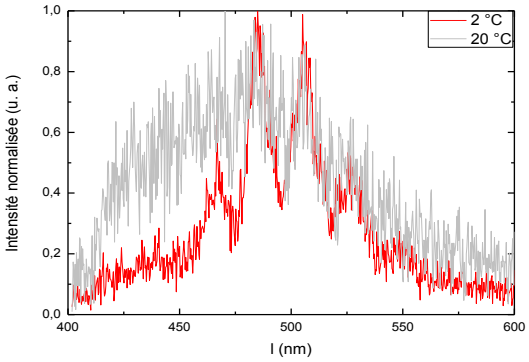


Figure 60 : Spectres SLRT: solution d'eau de mer dopée en uranium à 10^{-5} M à 2 et 20° C.

Depuis longtemps, dans l'environnement et à pH neutre, les espèces carbonates sont considérées comme les espèces majoritaires. Cependant, en présence de substances humiques (SH), des complexes mixtes ont déjà été identifiés [75, 116], modifiant ainsi la spéciation. En effet, l'espèce majoritaire a été répertoriée comme pouvant être $UO_2(OH)_3SH$ lorsque la concentration en SH est supérieure ou égale à 1 mg/l car, à pH faible, la complexation des carbonates n'est plus prédominante. Cependant, la constante de complexation ($\log \beta = 6,7$) est plus faible que celle de $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ ($\log\beta = 30,5$). Ceci souligne le fait que la spéciation peut être drastiquement affectée selon le milieu étudié soit par la présence d'une seule espèce, soit par la présence d'un simple cation (tel que Ca^{2+}) ou de structures plus complexes telles que les substances humiques ([SH] = 0,84 mg/l). Dans cette étude, les conditions d'acquisition (acquisition réalisée à quelques ns de l'impulsion laser, sensibilité du détecteur) ne permettent pas d'observer d'autres espèces telles que $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ ou $MgUO_2(CO_3)_3^{2-}$ ou encore $UO_2(OH)_3SH$ mais ceci ne signifie pas que ces espèces ne sont pas présentes dans le milieu. Elles peuvent être présentes en proportions inférieures à 25 %.

B. Détermination de la spéciation de l'uranium(VI) par EXAFS

Dans le but d'obtenir plus d'informations sur la spéciation de l'uranium(VI) dans l'eau de mer, les solutions précédentes ont été analysées par EXAFS au seuil L_{III} de l'uranium (17 166 eV). L'obtention de données avec un rapport signal sur bruit satisfaisant (ε= 0,003) a été difficile à cause de la présence de brome et surtout de strontium dans l'eau de mer. La raie d'émission Kβ1 du brome ainsi que les raies Kα1 et Kα2 du strontium sont proches de la raie d'émission Lα1 de l'uranium (Tableau 19). Le passage au seuil L_{II} de l'uranium pour utiliser la raie Lβ1 n'a cependant pas permis d'améliorer le contraste entre le nombre de coups avant seuil et après seuil.

Tableau 19 : Raies d'émissions X caractéristiques aux seuils d'absorption étudiés.

Eléments	Raies d'émission	Energie de la raie (eV)	Rendement (%)
Uranium	Lα1	13 614	69
	Lβ1	17 220	76
Brome	Kβ1	13 292	8,7
Strontium	Kα1	14 112	56
	Kα2	14 098	29

Le spectre EXAFS ainsi obtenu et la transformée de Fourier correspondante sont représentés sur la Figure 62 et Figure 63. Les meilleurs paramètres d'ajustement obtenus pour la solution d'eau de mer dopée en uranium à 5.10^{-5} M sont répertoriés dans le Tableau 20. Les valeurs obtenues sont en accord avec la structure cristalline de la Liebigite, $Ca_2[UO_2(CO_3)_3]$, ainsi qu'avec les valeurs correspondant à des complexes carbonate en solution pour lesquels la distance U-O_{ax} est de 1,78 Å et la distance U-$O_{éq}$ varie de 2,39 à 2,45 Å [117, 118] (Figure 61).

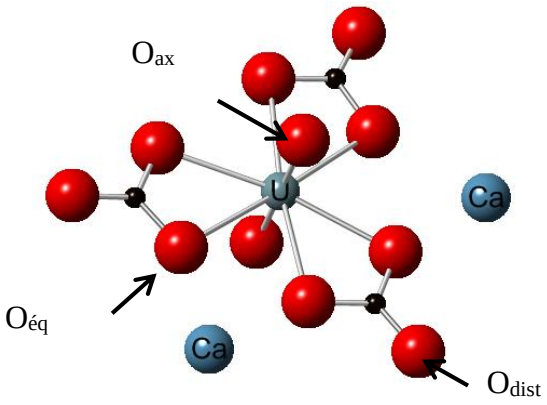


Figure 61 : Schéma de la structure de la Liebigite.

En effet, dans le cas de la solution d'eau de mer de mer dopée en uranium, les meilleurs paramètres obtenus sont de 1,80(1) Å pour U-O_{ax}, 2,43(1) Å pour U-$O_{éq}$ et 4,14(3) Å pour U-O_{dist} (Tableau 20). Le facteur de Debye-Waller obtenu pour la première contribution est faible (0,0013 Å²), ce qui est souvent le cas pour les oxygènes axiaux de l'uranyle. Le nombre de coordination associé aux contributions U- $O_{éq}$ et U-O_{dist} obtenu après ajustement correspond à la présence de trois groupements carbonates autour de l'uranium.

Tableau 20 : Données EXAFS des solutions d'eau de mer dopée en uranium et comparaison avec les données cristallographique provenant de structures à l'état solide. Nombres en italiques ont été fixés. S_0^2 est le facteur d'amplitude global, e_o est l'écart en énergie, ε le bruit moyen et r(%) est le facteur de qualité du fit. Les nombres entre parenthèses sont les incertitudes.

	1ère contribution	2ème contribution	3ème contribution
Solution d'eau de mer dopée [U] = 5 10^{-5} M	*2* O_{ax} à 1.80(1) Å σ^2 = 0.0013 Å²	5.8(5) $O_{éq}$ à 2.43(1) Å σ^2 = 0.0095 Å²	2.9(3) O_{dist} à 4.14(2) Å σ^2 = 0.0023 Å²
	s_o^2 = 1.0, e_o = -1.70 eV, ε = 0.003, r(%) = 1.5		
Liebigite $Ca_2[UO_2(CO_3)_3]$ [117]	2 O_{ax} à 1.78 Å	6 $O_{éq}$ à 2.43 Å	3 O_{dist} à 4.15 Å
Complexe carbonate d'uranium en solution aqueuse [118]	2 O_{ax} à 1.81 Å	6 $O_{éq}$ à 2.44 Å	3 O_{dist} à 4.17 Å

Ces résultats sont en remarquable adéquation avec les résultats obtenus par la spéciation théorique et la SLRT qui ont suggéré la présence du complexe $Ca_2UO_2(CO_3)_3$. Cependant, l'EXAFS ne permet pas d'estimer la présence ou non du cation calcium. En effet, différentes études ont montré que la contribution du calcium intervient au même endroit dans le spectre que l'oxygène le plus éloigné des groupements carbonate (O_{dist}) [70]. Seule une étude a confirmé la présence du complexe Ca-UO_2-CO_3 en solution mais à des concentrations de l'ordre du mM. Pour autant, le chevauchement des contributions de l'oxygène distal et du calcium n'a

pas permis de déterminer de façon précise le nombre de calcium [72]. Nous avons également réalisé une mesure EXAFS sur une solution d'eau de mer dopée à 10^{-5} M (Figure 62). A cette concentration, le signal est plus bruité et ne permet pas de réaliser un ajustement fiable. Cependant, l'observation qualitative du spectre EXAFS montre clairement que les deux spectres à 5.10^{-5} et 10^{-5} M sont très similaires. Tout comme le montrent les mesures SLRT, à cette concentration, aucun changement de spéciation n'est donc observé.

Pour résumer, les résultats obtenus par EXAFS sont en bon accord avec ceux de la SLRT et de la spéciation théorique, confirmant **la présence du tricarbonate d'uranyle en solution, $Ca_2UO_2(CO_3)_3$.**

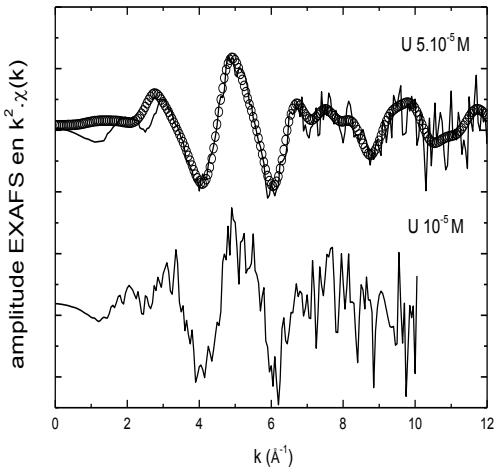


Figure 62 : Spectres EXAFS au seuil L_{III} de l'uranium de la solution d'eau de mer dopée en uranium à 5.10^{-5} M et 10^{-5} M. Spectres expérimentaux en traits pleins et ajustement en pointillés.

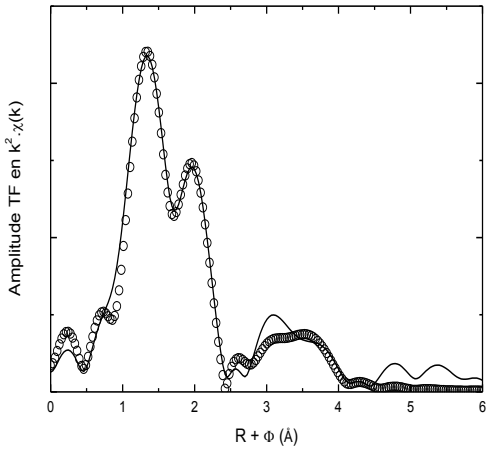


Figure 63 : Transformée de Fourier correspondant au spectre EXAFS de la solution d'eau de mer dopée en uranium à 5.10^{-5} M. Données expérimentales en traits pleins et ajustement en pointillés.

C. Evaluation de l'impact de l'uranium sur *A. cavernicola*

Les données obtenues sur la spéciation indiquent que l'uranium est présent dans l'eau de mer très majoritairement sous la forme de $Ca_2UO_2(CO_3)_3$. Comme signalé précédemment, ce complexe n'est pas toxique car non biodisponible. Par exemple, dans l'algue verte, seule une faible intégration de l'uranium a été observée[100]. Afin d'évaluer cet impact sur une espèce animale, nous avons évalué l'accumulation de ce complexe sur l'éponge marine *A. cavernicola* (cf. Chapitre 2 et 3).

Les éponges ont, dans un premier temps, été exposées à 4,6 Bq ($7{,}7.10^{-7}$ mol d'uranium naturel) tous les jours pendant environ 15 h, ce qui correspond à une concentration totale en uranium(VI) de $1{,}0.10^{-6}$ M dans l'eau de mer. L'expérience réalisée en duplicat a conduit dans chaque cas à la mort de l'éponge avec la formation d'un film bactérien. Notre première hypothèse a été qu'un seuil de toxicité a été dépassé. Par conséquent, l'expérience a été reproduite, dans un second temps, en diminuant la quantité d'uranium par spike. Cette nouvelle expérience a été réalisée en triplicat. Les éponges ont alors été exposées à 2,3 Bq tous les jours ($3{,}8.10^{-7}$ mol d'uranium naturel), soit $5{,}2.10^{-7}$ M/jour dans l'eau de mer. A titre indicatif, à la moitié de l'expérience, pour une des trois éponges, la quantité d'uranium introduite par spike a été de nouveau augmentée à 4,6 Bq (Figure 64). Avant la fin de l'expérience, seule une éponge n'a pas survécu. Cette dernière était une des éponges étant contaminée tous les jours avec 2,3 Bq d'uranium. La mort des éponges, dans la première expérience, devait donc être due à la présence d'une bactérie dans l'eau de mer et non pas à un seuil de toxicité. Au bilan, lors de cette deuxième contamination, 8 spikes ont pu être effectués correspondant à une activité totale de 18,4 ou de 29,9 Bq, selon l'éponge, durant toute l'expérience.

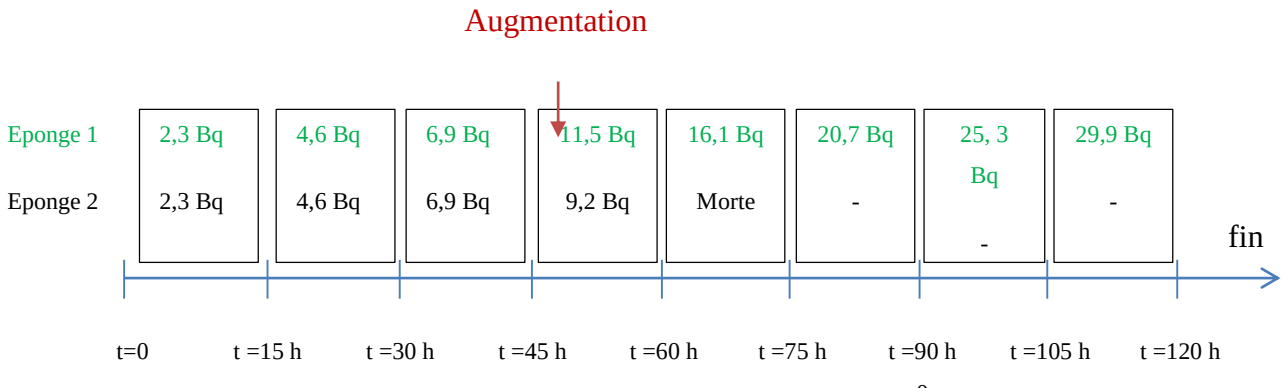


Figure 64 : Schéma de l'expérience de contamination en aquarium des 3 éponges en uranium avec les quantités cumulées introduites pour les trois éponges.

La courbe d'accumulation de l'éponge n° 3 est représentée sur la Figure 65. Seuls cinq points ont été mesurés.

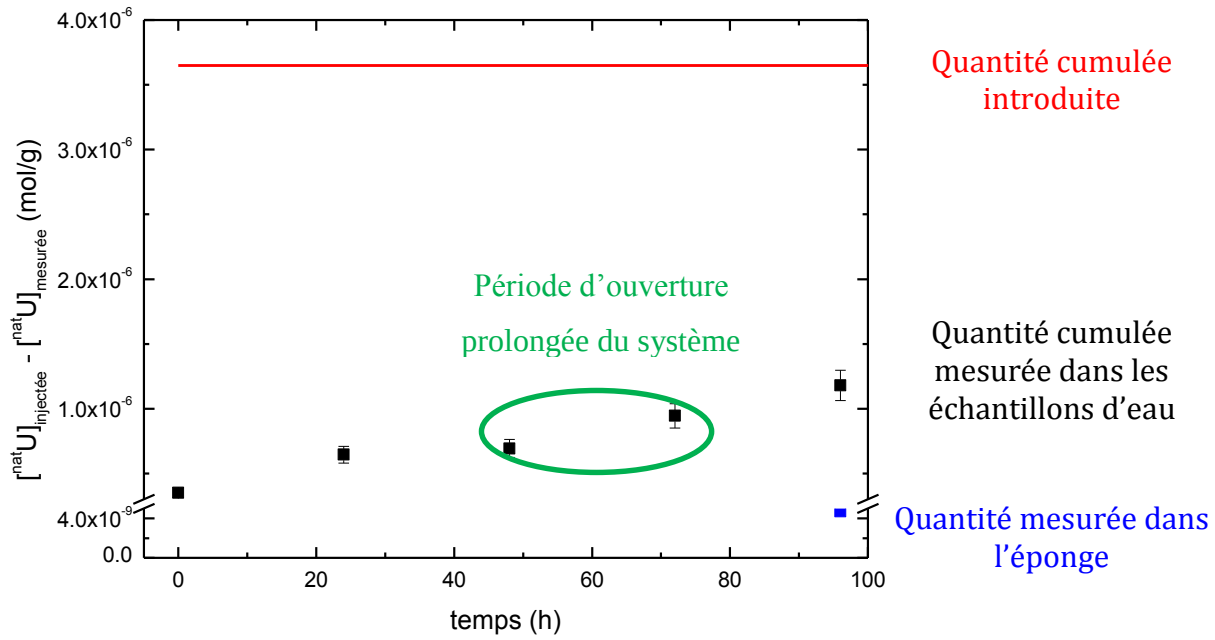


Figure 65: Courbe d'accumulation de l'uranium naturel dans l'éponge A. cavernicola au cours du temps.

Contrairement à l'américium ou à l'europium, le suivi de l'uranium présent dans l'eau a été réalisé par ICP-MS. La concentration en uranium dans l'éponge semble ne pas suivre une tendance linéaire. En effet, les taux d'accumulation oscillent, commençant à 90 % puis passant par 13 % pour ensuite augmenter de nouveau jusqu'à 60 %. Suite à ces 5 spikes, la concentration en uranium dans l'éponge devrait être de $1{,}2.10^{-6}$ mol/g, soit 280 µg/g d'éponge sèche. A la fin de l'expérience, l'éponge a été analysée par spectrométrie α et ICP-MS et des coupes d'éponge ont été observées par STXM. Que ce soit pour le STXM ou pour la spectrométrie α, la quantité d'uranium présente dans l'éponge est inférieure aux limites de détection. La mesure réalisée par ICP-MS a conduit à une concentration en uranium de 1,12 µg/g d'éponge sèche ce qui est très significativement inférieur à la concentration attendue par le suivi de l'eau de mer. Cependant, cette valeur explique le fait que ni la spectrométrie α, ni le STXM n'ont permis de visualiser la présence de l'uranium. L'éponge ne semble donc pas réellement accumuler l'uranium. De plus, entre les spikes 3 et 4, le circuit a été ouvert 3 jours, l'accès à l'aquarium n'étant pas possible durant cette période. L'uranium s'accumulerait dans l'éponge jusqu'à la saturer très rapidement (taux d'accumulation passant de 96 à 13% en trois jours) puis s'éliminer après rinçage. Il est en effet possible que le complexe carbonate soit adsorbé à la surface puis éliminé par rinçage. La géométrie même du complexe carbonate formé par l'uranium est très différente de celle formée par l'américium à cause de la géométrie oxocationique. Le rayon

ionique de l'uranium(VI) pour une coordinance de 8 (86 pm) est légèrement inférieur à celui de l'europium(III) pour une coordinance de 9 (112 pm)[119]. Cependant, l'ion Eu^{3+} est isotrope alors que l'ion uranyle présente une anisotropie axiale. L'ion uranyle est un oxo-cation de forme linéaire comportant deux liaisons courtes U-O de 178 pm, ce qui le rend plus gros que l'ion Eu^{3+} [120].

Ainsi tout comme dans le cas des algues, le complexe $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ ne semble pas s'accumuler dans l'éponge marine *A. cavernicola*. Bien que ces résultats soit à considérer avec prudence étant donnée l'incertitude sur la viabilité des éponges, ceci semble indiquer que le complexe d'uranium n'est pas filtré par l'éponge et n'entre donc pas dans les cavités de cette dernière.

III. Spéciation expérimentale du neptunium(V) dans l'eau de mer

A. Détermination de la spéciation du neptunium(V) par EXAFS

La spéciation théorique a conduit à la présence d'un complexe carbonate comme pour l'uranium. La spéciation du neptunium(V) dans l'eau de mer a été également étudiée par EXAFS. La solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M a été analysée au seuil L_{II} du neptunium (21 600 eV). Tout comme pour l'uranium, la présence du brome et essentiellement du strontium a également rendu la mesure difficile, empêchant l'acquisition des données au seuil L_{III} (17 610 eV) car les raies d'émission du brome et du strontium sont beaucoup trop proches de la raie d'émission $L\alpha 1$ du Np que de celle de l'U (Tableau 21). Le passage au seuil L_{II} a, dans ce cas, amélioré le contraste du nombre de coups avant et après seuil. Cependant, la section efficace d'absorption au seuil L_{II} est plus faible, ce qui a rendu difficile l'obtention des données avec un bon rapport signal sur bruit.

Tableau 21 : Raies d'émissions caractéristiques pouvant interférer avec celle du neptunium

Eléments	Raies d'émission	Energie de la raie (eV)	Rendement (%)
Neptunium	Lα1	13 946	68
	Lβ1	17 751	76
Brome	Kβ1	13 292	8,7
Strontium	Kα1	14 112	56
	Kα2	14 098	29

Le spectre EXAFS obtenu ainsi que la transformée de Fourier correspondante sont représentés sur la Figure 66 et Figure 67.

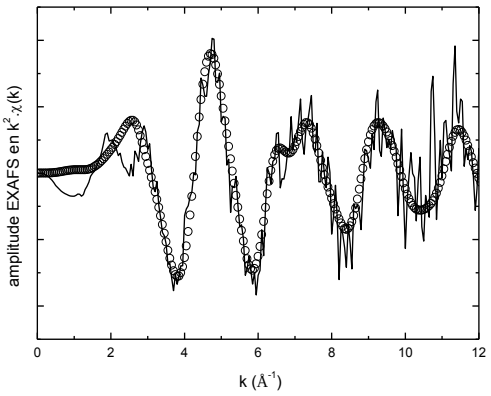


Figure 66 : Spectres EXAFS au seuil L_{II} du neptunium de la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M. Spectres expérimentaux en traits pleins et ajustement en pointillés.

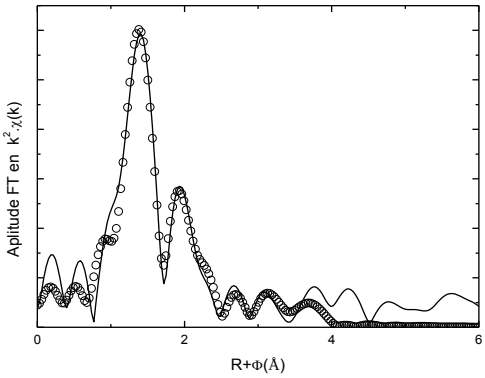


Figure 67 : Transformée de Fourier correspondant au spectre EXAFS de la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M. Données expérimentales en traits pleins et ajustement en pointillées.

Les meilleurs paramètres d'ajustement obtenus pour la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M sont répertoriés dans le Tableau 22. Les résultats obtenus pour la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M confirment la présence d'un complexe carbonate comme pour l'uranium. En effet, les distances interatomiques obtenues dans le cas de la solution d'eau de mer de 1,84(1) Å pour Np-O_{ax}, de 2,54(2) Å pour Np-$O_{éq}$ et de 4,23(2) pour Np-O_{dist}

sont en accord avec les distances connues dans le cas de $(NH_4)[NpO_2(CO_3)]$ [121] et du complexe carbonate en milieu aqueux [122, 123] (1,85 Å pour Np-O_{ax}, 2,52 – 2,55 Å pour Np-$O_{éq}$ et 4,22 Å pour Np-O_{dist}). La comparaison de la distance Np-O_{ax} (2,54 Å) avec celle du tricarbonate d'uranyle (2,53 Å) ainsi que le nombre de voisins obtenus pour les oxygènes O_{dist} (2) appuient l'hypothèse de la présence d'une espèce carbonate dans l'eau de mer. Cependant, l'incertitude concernant la stœchiométrie est très importante (environ 100 %) et ne permet pas de déterminer la spéciation exacte. Dans l'eau de mer, le neptunium pourrait être sous la forme d'un mélange de mono- et dicarbonate, $NpO_2(CO_3)_n^{(1-2n)}$. La présence d'autres espèces telles que l'espèce aquo ne peut être exclue, d'autant plus que la spéciation théorique a suggéré un mélange entre NpO_2^+ et le monocarbonate.

Tableau 22 : Données EXAFS de la solution d'eau de mer dopée en neptunium et comparaison avec les données cristallographique provenant de structures à l'état solide. Les nombres en italiques ont été fixés. S_0^2 est le facteur d'amplitude global, e_o est l'écart en énergie, ε le bruit moyen et r(%) est le facteur de qualité du fit. Les nombres entre parenthèses sont les incertitudes.

	1ère contribution	2ème contribution	3ème contribution
Solution d'eau de mer dopée [Np] = 5 10^{-5} M	*2* O_{ax} à 1,84(1)Å σ^2 = 0,0010 Å^2	6,0(10) $O_{éq}$ à 2,54(2) Å σ^2 =0,0168 Å^2	2,0(20) O_{dist} à 4,23(2)Å σ^2 =0,0120 Å^2
	s_o^2 = 1,0, e_o = -2,15 eV, ε = 0,003, r(%) = 1,2		
$(NH_4)[NpO_2(CO_3)]$ [121]	2 O_{ax} à 1,85(2) Å	6 $O_{éq}$ à 2,55(1) Å	-
Complexe carbonate en milieu aqueux [122]	*2* O_{ax} à 1,85Å	6 $O_{éq}$ à 2,52 Å	3 O_{dist} à 4,22 Å

La mesure du potentiel de l'eau mer (E_h) de la solution d'eau de mer dopée en neptunium a également soulevé une incertitude concernant le degré d'oxydation du neptunium. Pour répondre à cette question, les spectres XANES aux seuils $L_{II,III}$ ont été enregistrés (Figure 69). Il est connu, que dans le cas de la forme oxocationique $\{AnO_2^{+,2+}\}$, le spectre présente autour de 15 eV après le seuil une contribution caractéristique du cation transdioxo [103, 124-126]. Cette dernière est due à la diffusion multiple de l'oxocation caractérisé par une géométrie linéaire et une courte distance An-O (Figure 68).

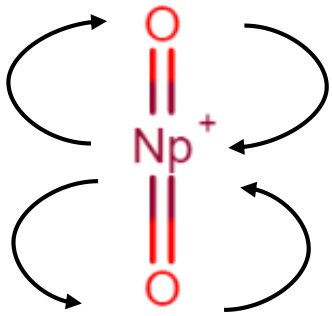


Figure 68 : Chemin de diffusion multiple de l'oxocation.

La position et la largeur de l'épaulement dépendent de la différence entre la longueur de la liaison équatoriale et axiale [127]. Cet épaulement est observable sur les spectres XANES du modèle Np(V)-carbonate et de la solution d'eau de mer dopée à 5.10^{-5} M. A 10^{-5} M, il est difficile de conclure en observant les spectres XANES. Cette contribution est particulièrement visible sur la dérivée du spectre.

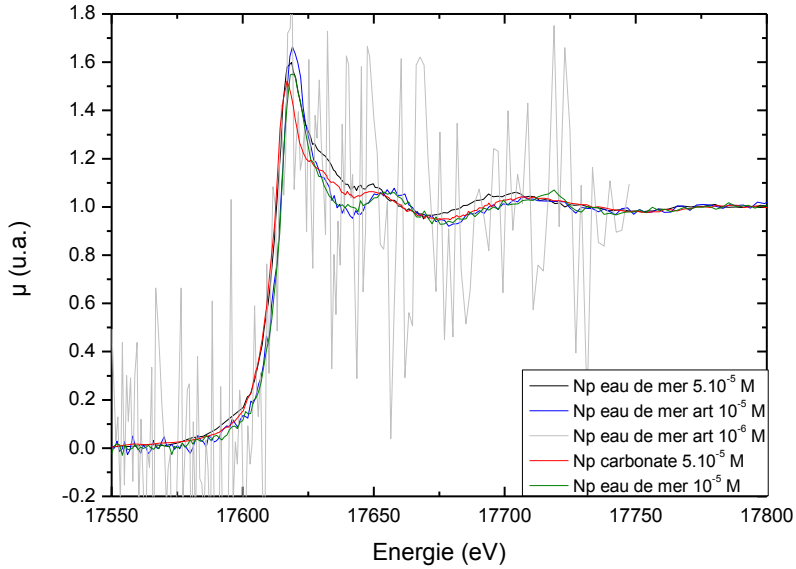


Figure 69 : Spectres XANES normalisés au seuil L_{II} et L_{III} dans l'eau de mer à 5.10^{-5}, 10^{-5} et 10^{-6} M comparés au Np(V) carbonate.

L'observation de la dérivée du spectre de la solution d'eau de mer dopée à 5.10^{-5} M a montré la présence de cette contribution confirmant ainsi la présence de Np(V) (Figure 70). Cependant, la détermination précise du degré d'oxydation du neptunium n'a pas été possible pour la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 10^{-5} M. La contribution à 17 625 eV (flèche) sur la Figure 70 semblerait montrer la présence de Np(IV) en solution. Dans le but d'améliorer la qualité du spectre, la solution d'eau de mer dopée en neptunium a également été réalisée en utilisant une eau de mer artificielle dans laquelle le brome n'a pas été introduit (les salinités et les concentrations des ions majoritaires sont les mêmes dans l'eau de mer naturelle et synthétique [128]). La composition de l'eau de mer artificielle est détaillée en Annexe A. La comparaison des spectres obtenus a 10^{-5} M dans l'eau de mer naturelle et artificielle a permis de vérifier qu'aucune différence significative n'était observable entre les deux matrices. La comparaison du XANES obtenu à 10^{-5} et à 5.10^{-5} M peut nous permettre de penser que le Np est partiellement réduit dans la solution à 10^{-5} M. En effet, l'épaulement caractéristique du Np(V) n'est plus aussi clairement visible que dans le cas de la solution à 5.10^{-5} M.

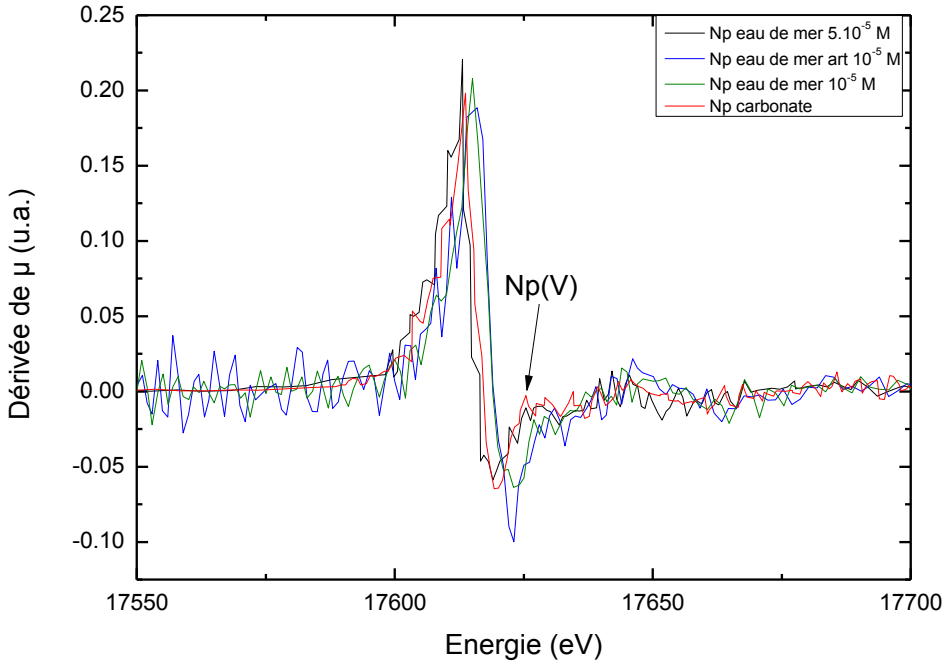


Figure 70 : Dérivées des spectres XANES normalisés dans l'eau de mer naturelle et synthétique à 5.10^{-5} et 10^{-5} M comparées au modèle Np(V) carbonate.

La présence de Np(IV) dans l'eau de mer peut s'expliquer après comparaison des potentiels de l'eau et du neptunium. Cependant, la réduction du Np(V) en Np(IV) pourrait également être due à l'action du faisceau de photons (flux d'environ 1.10^{12} photons/s à 10 keV) sur la ligne MARS.

Pour lever cette ambigüité sur le degré d'oxydation du Np à faible concentration et sur le rôle possible de la radiolyse, des mesures de spectrophotométrie ont été effectuées.

B. Etude de la spéciation du neptunium dans l'eau de mer par spectrophotométrie UV-visible

L'identification du degré d'oxydation est souvent réalisée (si le coefficient d'extinction molaire et la concentration sont suffisamment élevés (εc 10^{-3} M)), par spectrophotométrie d'absorption UV-visible.

De fait, de nombreuses études par spectrophotométrie d'absorption UV-Visible ont été réalisées dans le passé sur le neptunium en milieu acide et carbonate [129-133]. Le Tableau 23 répertorie

les bandes d'absorption les plus caractéristiques du neptunium ainsi que les coefficients d'extinction molaire correspondants.

Tableau 23 : Bandes d'absorptions caractéristiques en UV-visible du neptunium avec les coefficients d'extinction molaire correspondant

Espèces	Bandes d'absorption caractéristiques (nm)	Coefficient d'extinction molaire ($l.mol^{-1}.cm^{-1}$)
$\{Np^{3+}\}$ [133]	786	44
$\{Np^{4+}\}$ [133]	723	127
$\{NpO_2^{+}\}$ [133]	980	395
$\{NpO_2^{2+}\}$ [133]	1223	45
$NpO_2CO_3^-$ [130]	991	300
$NpO_2(CO_3)_2^{3-}$ [130]	998	110
$NpO_2(CO_3)_3^{5-}$ [130]	994	Proche de 0

En général la loi de Beer-Lambert est suivie :

Équation 6 : Loi de Beer-Lambert.

$$A = \varepsilon_\lambda \times l \times c$$

Avec ε_λ le coefficient d'extinction molaire à la longueur d'onde λ (en $l.mol^{-1}.cm^{-1}$),

l le parcours optique en cm

c la concentration de l'espèce en M.

En milieu très acide, le spectre d'absorption du neptunium pentavalent présente une bande caractéristique intense à 980 nm, dont le coefficient d'extinction molaire est proche de 400 $l.mol^{-1}.cm^{-1}$. Il est connu que l'ajout de carbonates dans le milieu provoque des transformations au niveau du spectre. En effet, la complexation avec les carbonates entraîne une diminution de l'intensité de la bande à 980 nm due à la diminution de la concentration en NpO_2^+ et provoque

dans un premier temps l'apparition d'une nouvelle bande à 991 nm. Ce pic correspond à la formation du complexe $NpO_2CO_3^-$. L'augmentation de la concentration en carbonate conduit à la décroissance de l'intensité de ce pic signifiant l'apparition d'autres composés carbonates tels que $NpO_2(CO_3)_2^{3-}$. Dans ce cas la bande est décalée à 998 nm, mais le coefficient d'extinction molaire est beaucoup plus faible (110 $l.mol^{-1}.cm^{-1}$) [130, 133].

Le spectre de la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M à t = 0,3 h (pris comme t_0 de la mesure) présente plusieurs bandes d'absorption à 600 nm, ainsi qu'une bande large avec une faible intensité autour de 700 nm et à 980 nm (

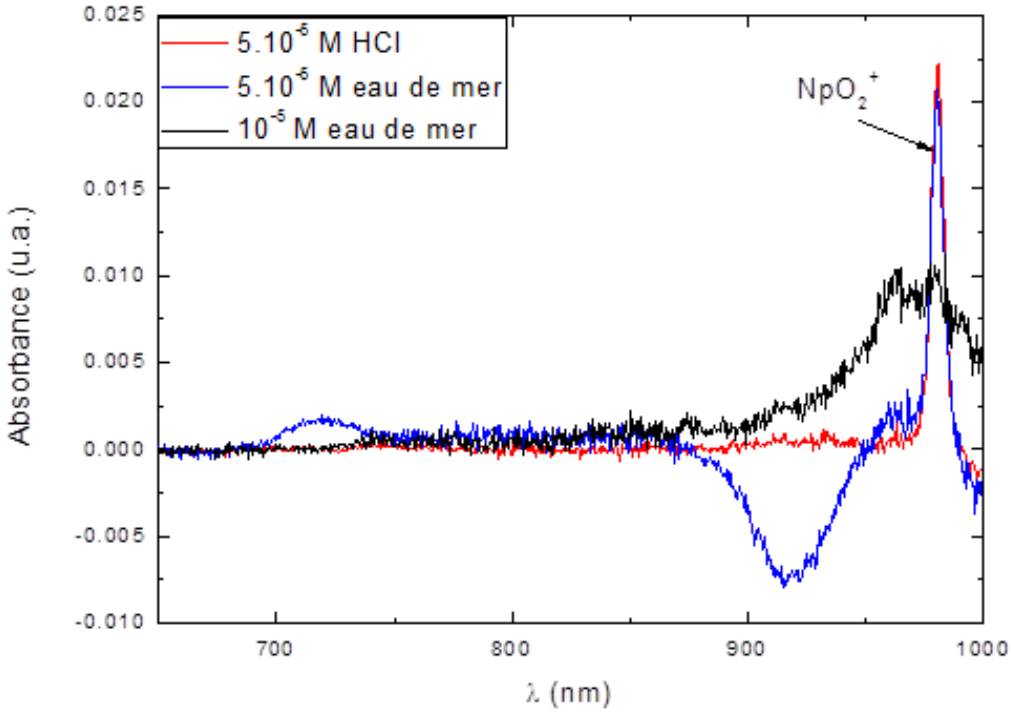


Figure 71). La comparaison avec le spectre de la solution de Np(V) en milieu acide à 5.10^{-5} M confirme la présence de $\{NpO_2^+\}$ aquo (bande à 980 nm et 600 nm). L'absorbance à 980 nm est légèrement plus faible dans le cas de l'eau de mer (0,023 dans HCl et 0,020 dans l'eau de mer). L'utilisation des coefficients d'extinction molaire rapportés dans la littérature (Tableau 23) conduit à une concentration en $\{NpO_2^+\}$ de $5,82.10^{-5}$ M dans HCl et de $5,06.10^{-5}$ M dans l'eau de mer. La quantité de neptunium introduite dans chaque solution étant la même, la concentration en $\{NpO_2^+\}$ dans HCl correspond donc à la concentration totale de neptunium dans l'eau de mer. Ainsi, la concentration en $\{NpO_2^+\}$ dans l'eau de mer représente 87 % de la concentration totale en neptunium à t = 0,3 h. L'incertitude sur la concentration en neptunium

(± 10 %) ne permet pas de dire de façon exacte si, dans l'eau de mer à t = 0,3 h, il y a uniquement présence de NpO_2^+ ou non.

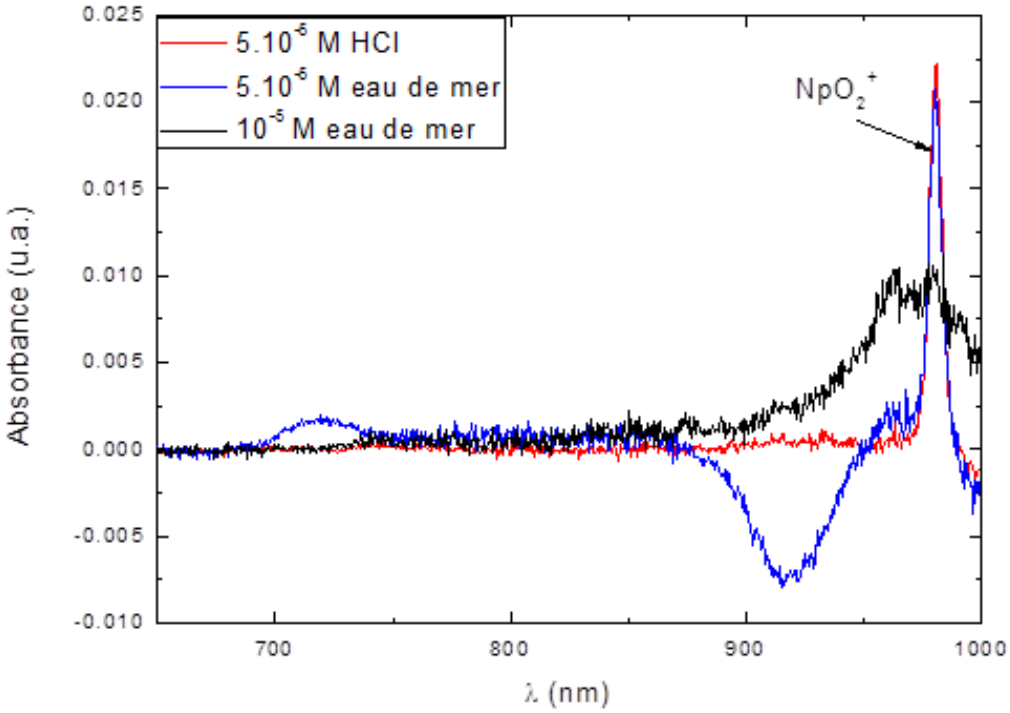


Figure 71 : Spectres UV-Visible des solutions d'eau de mer dopées en neptunium à 5.10^{-5} et 10^{-5} M comparés à celui de l'espèce aqueuse Np(V).

Des mesures réalisées sur la même solution mais à t = 24 h et t = 168 h ont montré que la spéciation change au cours du temps. En effet, après 24h, d'autres bandes d'absorption apparaissent à 960 et 990 nm (Figure 72). De plus, l'absorbance à 980 nm est plus faible (0,007), ce qui correspond à 30 % du neptunium total. La présence de la bande à 990 nm caractéristique du complexe $NpO_2CO_3^-$ (A= 0,007) correspond à une concentration dans l'eau de mer d'environ 2.10^{-5} M ce qui représente 40 % de la concentration totale de neptunium. Même en considérant les incertitudes sur les concentrations en neptunium (± 10 %), ces résultats semblent indiquer qu'à t = 24 h, le neptunium n'est pas uniquement présent sous la forme de $\{NpO_2^+\}$ et $NpO_2CO_3^-$. Plusieurs hypothèses sont alors envisageables. Il est possible que le neptunium restant se présente soit sous la forme $NpO_2(CO_3)_2^{3-}$ soit sous la forme d'un complexe Np(IV). En effet, en considérant qu'au maximum 30 % du neptunium est sous la forme $NpO_2(CO_3)_2^{3-}$, l'absorbance à 998 nm devrait être de 0,002, ce qui ne peut être visible sur le spectre. L'autre possibilité concernant la présence de Np(IV) en solution, une bande est visible à 960 nm, caractéristique du Np^{4+} aquo. Cependant, à cette longueur d'onde, l'eau peut également avoir un impact. Malgré l'utilisation d'un blanc réalisé dans les mêmes conditions que la solution d'eau de mer dopée en neptunium, la correction de l'effet de l'eau reste très difficile surtout à

ces très faibles concentrations. Après 168 h, le spectre de la solution d'eau de mer dopée en neptunium est significativement différent. En effet, la bande à 980 nm est très fortement éteinte, l'absorbance n'est plus que de 0,002 soit une concentration en Np(V) impossible à déterminer. Le spectre obtenu est très proche de la ligne de base. L'absence de bandes caractéristiques indique que les concentrations en $\{NpO_2^+\}$, $NpCO_3^-$ et $Np(CO_3)_2^{3-}$ sont très faibles. Le neptunium serait alors soit sous la forme d'un complexe de Np(IV), soit sous la forme de $NpO_2(CO_3)_3^{5-}$ pour qui le coefficient d'extinction molaire est de l'ordre de quelques unités.

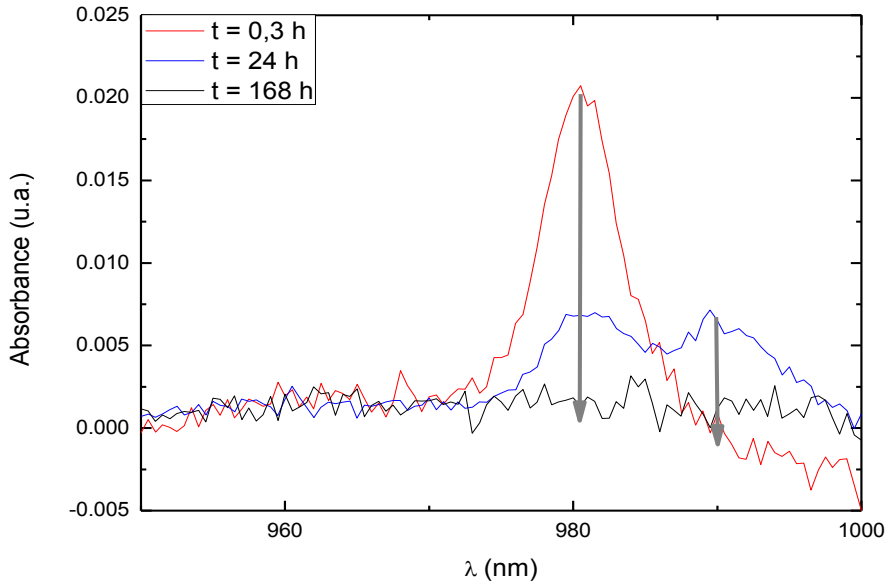


Figure 72 : Spectres UV-visible de la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M au cours du temps.

Pour tenter de lever l'ambigüité sur le degré d'oxydation du neptunium dans l'eau de mer, le pH de la solution a été fortement diminué afin d'éliminer les carbonates et visualiser ainsi les espèces aquo $\{NpO_2^+\}$ ou Np^{4+}. Quelques µl d'acide concentré ont été introduits dans la solution d'eau de mer dopée à 5.10^{-5} M réalisée plusieurs semaines auparavant. La quantité d'acide ajoutée a été choisie de façon à avoir un pH proche de 1 et donc une quantité négligeable de carbonates. Cette étape permet de vérifier le degré d'oxydation du neptunium dans l'eau de mer. L'ajout d'acide a conduit directement à l'apparition de la bande à 980 nm (Figure 73) signifiant la présence de $\{NpO_2^+\}$. Dans le cas de la solution à 5.10^{-5} M, l'absorbance obtenue est de 0,023 ce qui correspond à une concentration de $5{,}8.10^{-5}$ M, soit la concentration initiale en neptunium. Tout le neptunium présent dans la solution d'eau de mer se trouve donc essentiellement sous la forme $\{NpO_2^+\}$ à pH =1. Ceci est une preuve indirecte que dans la

solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M, ce dernier est sous la forme d'un carbonate au degré d'oxydation +V. Ce résultat est en accord avec ce qui avait été observé au niveau du spectre XANES de la solution.

Dans le cas de la solution d'eau de mer à 10^{-5} M, l'observation du spectre révèle la présence de $\{NpO_2^+\}$ (

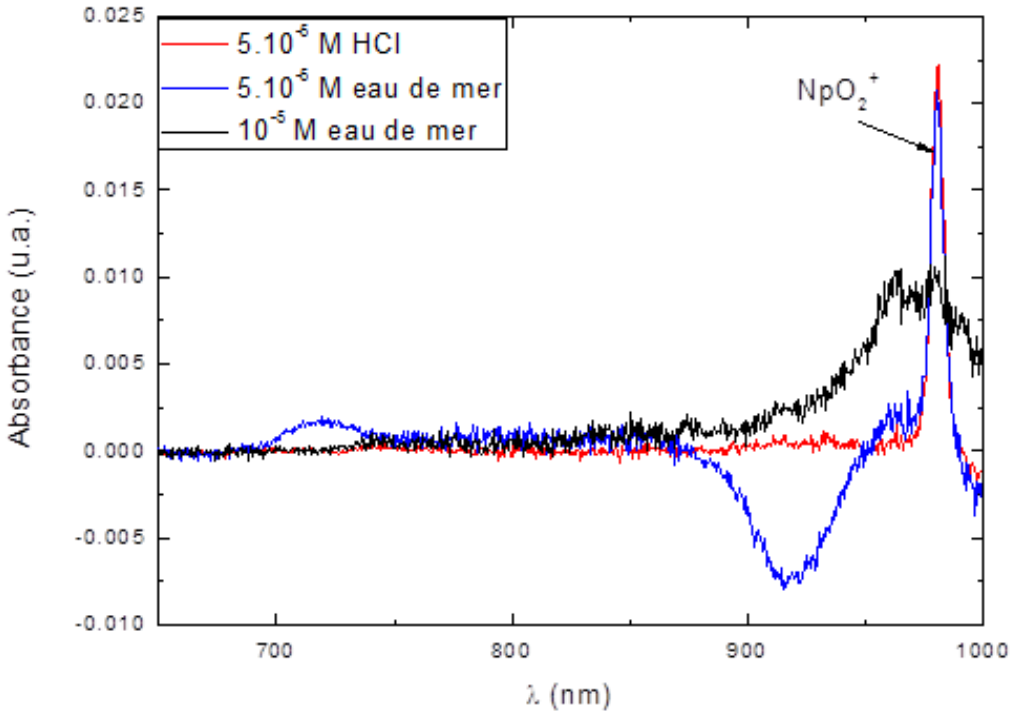


Figure 71). Un épaulement est également visible au niveau des longueurs d'onde correspondant aux complexes carbonates. A 10^{-5} M, la loi de Beer-Lambert semble ne plus être applicable à cause de la non-linéarité du détecteur pour de si faibles absorbances.

La même expérience qu'à 5.10^{-5} M avec l'acide a été réalisée sur la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 10^{-5} M. Le spectre obtenu est présenté sur la Figure 74. A cette concentration les spectres sont très bruyants, la concentration est proche des limites de détection de la technique. L'ajout d'acide conduit à l'apparition de deux bandes légèrement plus intenses à 960 et 980 nm. L'apparition de ces bandes pourrait indiquer la présence concomitante de Np(IV) et de Np(V). Le rapport signal sur bruit étant du même niveau que le bruit de fond il est difficile de conclure sur la présence des deux bandes à 960 et 980 nm.

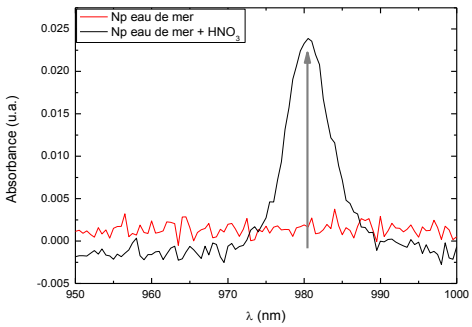


Figure 73 : Spectres UV-visible de la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 5.10^{-5} M avec ajout d'acide concentré.

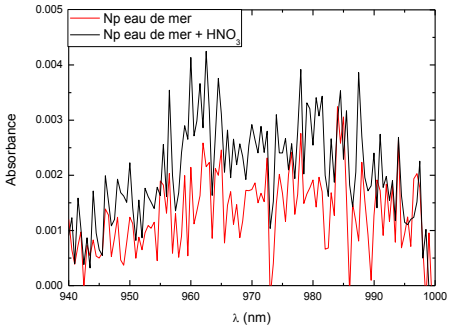


Figure 74 : Spectres UV-visible de la solution d'eau de mer dopée en neptunium à 10^{-5} M avec ajout d'acide concentré.

Une mesure du XANES à basse température, afin d'empêcher la réduction sous faisceau, permettrait d'évaluer le degré d'oxydation du neptunium dans l'eau de mer à 10^{-5} M. Cette mesure n'a pas été effectuée à cause de la difficulté de sa mise en place avec le cryostat sur la ligne MARS.

En résumé, le neptunium est présent initialement dans l'eau de mer sous la forme $\{NpO_2^+\}$ puis $\{NpO_2^+\}$ et $NpO_2CO_3^-$, lorsque ce dernier vient d'être introduit dans l'eau de mer. Au cours du temps, l'apport de carbonates conduit de plus en plus à la formation du biscarbonate puis du tricarbonate. Cependant, les résultats obtenus à 10^{-5} M par spectrophotométrie et XANES ne permettent toujours pas de déterminer si la présence de Np(IV) est entièrement due à la réduction du Np par l'eau de mer ou si elle est accentuée sous faisceau.

IV. Conclusion sur la spéciation de l'uranium et du neptunium dans l'eau de mer

En conclusion, la combinaison de plusieurs techniques spectroscopiques, SLRT puis EXAFS pour l'uranium et EXAFS puis spectrophotométrie UV-visible pour le neptunium, a permis d'étudier la spéciation de l'uranium et du neptunium dans l'eau de mer dopée de façon directe (Figure 75). Pour l'uranium(VI), la comparaison entre la spéciation théorique et les données spectroscopiques a permis **d'identifier le complexe $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ comme l'espèce prédominante dans l'eau de mer** à 5.10^{-5} et à 10^{-6} M. Dans le cas du neptunium(V), les

données EXAFS indiquent la présence d'au moins un groupement carbonate sans exclure la présence d'un mélange. En effet, les calculs de spéciation suggèrent la présence de $\{NpO_2^+\}$ et de $NpO_2CO_3^-$ en proportion quasi identique. Ceci est conforté par les mesures de spectrophotométrie UV-visible qui montrent une évolution de la forme $\{NpO_2^+\}$ aquo vers l'espèce $NpO_2CO_3^-$ au bout de quelques heures. Après plusieurs jours, les complexes dicarbonate et tricarbonate deviennent majoritaires. A l'équilibre, il est difficile d'affirmer que seule une espèce est présente. Il est possible que, dans l'eau de mer, les formes $\{NpO_2^+\}$, $NpO_2CO_3^-$, $NpO_2(CO_3)_2^{3-}$ et $NpO_2(CO_3)_3^{5-}$ coexistent. Cependant, pour les espèces $\{NpO_2^+\}$ et $NpO_2CO_3^-$ (pour lesquelles les coefficients d'extinction molaires sont les plus importants), les concentrations sont très faibles. En effet, la concentration en $\{NpO_2^+\}$ serait de 4.10^{-6} M (soit 9% du neptunium total) et celle en $NpO_2CO_3^-$ est de 6.10^{-6} M (soit 11 %).

Nous pouvons affirmer que **le neptunium ainsi que l'uranium, dans leur forme oxo-cationique $\{AnO_2^{+,2+}\}$, sont tous les deux présents sous la forme de complexe carbonate dans l'eau de mer**. Pour l'uranium, le complexe majoritaire présent dans l'eau de mer, $Ca_2UO_2(CO_3)_3$, a été identifié comme étant non toxique car non biodisponible. L'expérience de contamination des éponges *A. cavernicola* a montré que l'uranium est faiblement accumulé, avec un facteur inférieur à 10. Ce facteur de concentration correspond à ceux rapportés dans la littérature dans le cas des animaux marins (Tableau 5 du chapitre 1). Pour ces animaux, le facteur de concentration pour l'uranium varie entre 1 et 30 et est également de 10 dans le cas des crustacés. Dans notre cas, l'uranium est, soit essentiellement adsorbé à la surface de l'éponge puis éliminé après rinçage, soit rapidement relargué une fois à l'intérieur de l'organisme. Jusqu'à présent, de nombreux facteurs de concentrations sont répertoriés dans la littérature au niveau des différentes espèces marines (cf. chapitre 1).Cependant, aucune explication des mécanismes d'adsorption ou d'accumulation n'a été donnée.

Dans le cas du neptunium, l'impact sur les organismes marins n'a pu être étudié. Cependant, l'accumulation du neptunium dans différents organismes marins (moules, poissons, crevettes, etc.) a déjà été étudiée sans en connaître la spéciation. Ces études ont montré que le neptunium est principalement retrouvé sur les coquilles ou carapaces et qu'il suivait le même comportement que le plutonium [42] (bien que leur propriétés redox soient différentes). Cependant, il a été montré que $\{NpO_2^+\}$ pourrait être moins biodisponible que les autres éléments transuraniques [134]. En effet, une étude de contamination de zooplancton par le traceur ^{235}Np a été réalisée en concentration environnementale. Dans cette étude, le degré d'oxydation du neptunium n'a pas été précisé mais semblerait être du Np(V). Pour 6 jours

d'accumulation, un facteur de concentration de 14 – 20 a été mesuré. Ces valeurs sont plus faibles que celles observées dans le cas du plutonium (≈ 50) et de l'américium (≈ 125) pour ces mêmes zooplanctons. Le neptunium accumulé dans les zooplanctons a été retrouvé essentiellement au niveau de l'exosquelette et est adsorbé sur les parois extérieures. La capacité du neptunium à être assimilé par ingestion a également été étudiée, sur des artémies (petits crustacés) ayant ingéré du phytoplancton marqué, montrant qu'il est faiblement assimilé et très rapidement excrété. Plus de 95 % du neptunium ingéré est excrété après 30 h [24].

Pour conclure, **Np(V) et U(VI) à cette spéciation semblent très peu accumulés par *A. cavernicola*.** De plus, la comparaison de nos résultats sur l'uranium avec les études existantes sur le neptunium semble indiquer un comportement similaire entre les deux actinides : la fixation de chacun sur l'organisme marin est très faible et ils sont rapidement éliminés. L'apparition d'un comportement similaire entre le neptunium et l'uranium pourrait souligner le fait que l'espèce présente majoritairement dans l'eau de mer dans le cas du neptunium est très analogue à $Ca_2UO_2(CO_3)_3$. Ceci appuie la formation des espèces $NpO_2(CO_3)_2^{3-}$ et $NpO_2(CO_3)_3^{5-}$ à l'équilibre dans l'eau de mer et pourrait également suggérer une plausible interaction avec des contre-ions.

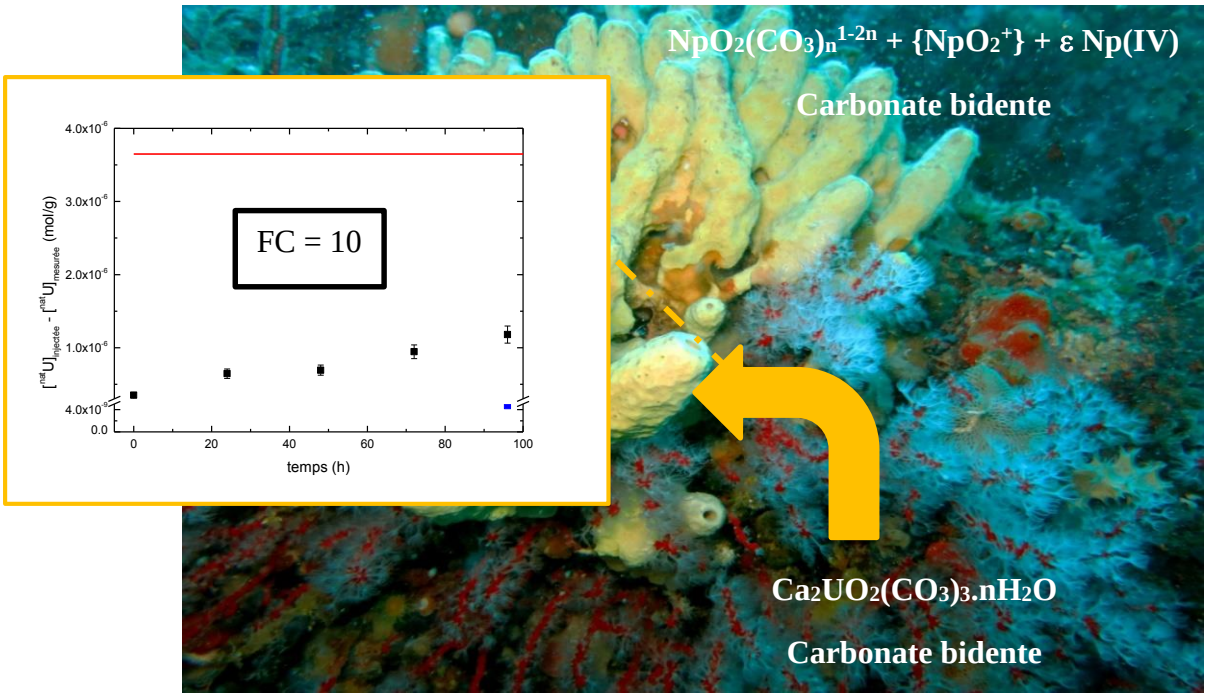


Figure 75 : Schéma bilan de la spéciation de l'uranium et du neptunium dans l'eau de mer et accumulation de ces complexes par l'éponge A. cavernicola.

Conclusion et perspectives

Dans ce travail, nous avons étudié la **spéciation des radionucléides dans l'eau de mer et dans l'éponge marine *Aplysina cavernicola*** afin de mieux comprendre les mécanismes de transfert ayant lieu entre l'hydrosphère et la biosphère mais aussi dans le but de pouvoir évaluer l'impact de leur présence sur l'environnement et *in fine* sur l'Homme. Ce travail s'est focalisé sur trois actinides : **l'uranium(VI), le neptunium(V) et l'américium(III).**

Jusqu'à présent, la spéciation des actinides dans le milieu marin a été peu étudiée de par la complexité de la matrice eau de mer et de la faible concentration des actinides dans cette dernière. Seuls des calculs de spéciation ont été réalisés. La combinaison de différentes techniques spectroscopiques et analytiques a permis pour la première fois de réaliser des mesures de spéciation directe sur des solutions d'eau de mer dopées en actinide à 5.10^{-5} M.

Dans l'eau de mer, l'uranium est majoritairement présent sous la forme du complexe ternaire neutre $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ avec 3 ligands carbonates bidentes. La présence d'un complexe carbonate avec des carbonates bidentes a également été observé dans le cas du neptunium, sans pour autant en connaître la stœchiométrie précise. Un changement de spéciation est observé au cours du temps. Après une semaine, le neptunium est, soit présent sous la forme du complexe biscarbonate ou triscarbonate, ou d'un complexe neutre, d'autant que des complexes ternaires Na-Np-CO_3 ont déjà été observés en solution dans des études précédentes [135]. Même si le neptunium est majoritairement présent sous la forme pentavalente à 5.10^{-5} M, une très faible proportion de Np(IV) dans la solution n'est pas à exclure. Cette réduction semble d'autant plus importante que la concentration est diminuée à 10^{-5} M.

En ce qui concerne l'américium, l'europium a dans un premier temps été utilisé en tant qu'analogue pour obtenir un maximum d'informations. Les expériences ne peuvent en effet être réalisées au sein du laboratoire avec des concentrations pondérables en ^{241}Am.

Dans l'eau de mer dopée en europium à 5.10^{-5} M, deux phases sont observées à l'équilibre, chacune comportant un isomère du complexe ternaire neutre $NaEu(CO_3)_2 .nH_2O$. En solution (soit 1% de l'europium total), les ligands carbonates semblent être monodentes alors que dans le précipité les ligands sont bidentes. Tout comme l'europium, en solution, l'américium se présente sous la forme $NaAm(CO_3)_2.nH_2O$. L'utilisation de deux ligands carbonates monodentes conduit à un meilleur ajustement du spectre EXAFS. **L'étude de la spéciation des radionucléides dans l'eau de mer met en évidence une complexation avec les groupements carbonates pour chaque actinide étudié quel que soit le degré d'oxydation.** Une complexation différente aurait pu être attendue pour l'américium comparé à l'uranium et au

neptunium qui sont sous la forme d'oxocation. **Nous constatons que les actinides semblent former des complexes neutres dans l'eau de mer**.

Ces résultats ont été obtenus pour des concentrations en actinides de 5.10^{-5} M, ce qui est loin des concentrations observées dans l'eau de mer en situation normale. Toutefois, les techniques spectroscopiques actuelles ne permettent pas encore d'atteindre ces concentrations environnementales.

Dans le cadre de ce travail, **les concentrations ont pu être diminuées jusqu'à 10^{-6} M**, mais cette étude est partielle. Une modification de la longueur d'onde d'excitation (266 nm) en SLRT pourrait permettre de diminuer les concentrations en europium et en uranium. En ce qui concerne l'uranium, l'utilisation de cette longueur d'onde augmenterait le signal issu de la matière organique. Dans tous les cas, une mesure à basse température est nécessaire.

Des mesures à 10^{-6} M ont également été réalisées par spectroscopie d'absorption X à la fois pour le neptunium et l'uranium. Les spectres XANES obtenus, présentés en Annexe E, ne sont pas exploitables. Ces spectres ont été obtenus en réalisant un seul scan de 3,6 h. L'accumulation de plusieurs scans pourraient permettre d'améliorer le rapport signal sur bruit, ici très important ($\varepsilon = 1,1$), et ainsi obtenir plus d'informations.

La spéciation dans l'eau de mer d'autres radionucléides reste encore à étudier tels que le plutonium(IV) et le césium(I). Le plutonium est en effet un élément essentiel du cycle nucléaire et le césium a joué un rôle majeur dans les accidents récents (Tchernobyl et Fukushima).

Des mesures EXAFS ont également été réalisées lors de cette thèse avec ^{232}Th(IV) et ^{133}Cs(I). Dans le cas du degré d'oxydation + IV, l'essai n'a pas été concluant. Des espèces colloïdales ont tendance à se former et à se sorber sur les parois des cellules. Ces espèces sont plus difficiles à maitriser et nécessitent de faire l'objet d'une étude à part entière. La préparation de la solution devrait être réalisée dans une verrerie en téflon afin de limiter les pertes de thorium sur les parois. Comme mentionné au chapitre II, des mesures EXAFS ont été réalisées au seuil K du césium. Les spectres obtenus n'ont pas pu être exploités. De nouvelles mesures devraient être réalisées sur la ligne LISA (ESRF) dédiée aux fortes énergies.

La connaissance de la spéciation des radionucléides dans les milieux permet la compréhension des mécanismes de transfert de ces éléments dans l'environnement. Il s'agit d'un point essentiel afin d'évaluer correctement, c'est-à-dire sans trop de conservative, l'impact de ces

radionucléides sur l'Homme via la chaine alimentaire. **Cette connaissance est ainsi primordiale pour les calculs d'impact sanitaire**.

L'impact des installations nucléaires doit être estimé à tous les stades de leur fonctionnement : création, dossiers d'autorisation de rejet en fonctionnement normal, dossiers de sûreté et démantèlement. Le but de ces études est de quantifier la sûreté des installations et de hiérarchiser les risques en situation accidentelle. Les calculs d'impact sur le public sont réalisés à l'aide de codes de calcul, qui fournissent les concentrations des radionucléides dans les différents compartiments de l'environnement et, par la suite, permettent d'évaluer l'impact radioactif, c'est-à-dire les doses à l'Homme. Pour cela, de nombreux paramètres entrent en jeu tels que le rejet, les caractéristiques du milieu récepteur (conditions météorologiques dans le cas de rejets atmosphériques, débit du milieu récepteur pour les rejets en rivière, courantologie en milieu marin …), les voies d'exposition. Il est nécessaire de caractériser les mécanismes de transferts dans l'environnement et la chaîne alimentaire et les habitudes des populations et de connaître les coefficients de dose. Pour réaliser un calcul d'impact réaliste, un point important est donc la connaissance de la forme physico-chimique de l'élément, qui va influencer les transferts dans les milieux de l'environnement, voire les coefficients de dose.

A l'heure actuelle, dans les dossiers, les conséquences des rejets atmosphériques et liquides en rivière sont estimées. Par contre, le cas du milieu marin est plus rarement présenté. En effet, la dispersion est plus complexe, notamment du fait de la prise en compte des courants ou de la marée. De plus, de nombreuses données nécessaires à la modélisation des transferts dans les compartiments environnementaux sont encore manquantes, surtout en situation accidentelle. Seuls des coefficients "à l'équilibre" sont disponibles, pour des éléments, sans information sur la spéciation. Très souvent, l'adsorption sur les sédiments est négligée alors que des études ont montré que les radionucléides contenus dans les sédiments pouvaient être remis en suspension dans l'eau de mer par différentes voies (lixiviation ou par ingestion par les organismes marins). Actuellement, concernant le milieu marin, les développements réalisés permettent essentiellement de modéliser la dispersion des radionucléides. Perianez a modélisé la dispersion de la radioactivité dans différentes mers en prenant en compte les processus de sédimentation et les courants marins du ^{137}Cs et ^{239,240}Pu [136, 137]. Par exemple, les figures ci-dessous illustrent les résultats obtenus pour la mer d'Alboran concernant ^{137}Cs et ^{239,240}Pu dans les sédiments ou dans l'eau (Figure 76). Les interactions des radionucléides avec les sédiments sont décrites mathématiquement à l'aide des coefficients de distribution. Les résultats obtenus sont en général en bonne adéquation avec les concentrations mesurées. On peut constater que

cette thématique se développe suite à l'accident de Fukushima. De plus en plus de publications et de sessions de congrès sont axées sur cette thématique.

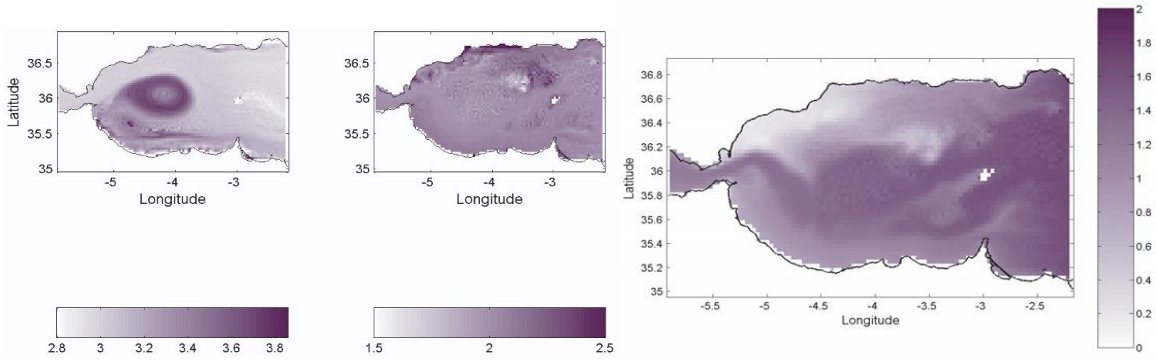


Figure 76 : Distribution du ^{137}Cs dans l'eau non filtrées (en Bq/m^3) (à gauche) et du ^{239,240}Pu dans les sédiments (en Bq/kg) (à droite) dans le cas de la mer d'Alboran d'après [137].

Pour le calcul de transfert au biotope, puis à l'Homme, des facteurs de transfert depuis le milieu vers les organismes sont ensuite appliqués aux concentrations obtenues pour un élément quelle que soit sa forme, même si toutes les formes chimiques ne sont pas assimilables. Ainsi, les résultats sont plus conservatifs que ce qui serait observé naturellement. Par exemple, dans le cas de l'uranium, les concentrations naturelles observées dans l'eau de mer sont sans impact sur l'Homme car le complexe formé n'est pas assimilable par les organismes. Ce phénomène a également été observé dans les eaux finlandaises ; même si la concentration mesurée en uranium est supérieure à la valeur de qualité des eaux redéfinie en 2011 par l'OMS (30 µg/L[138]), aucun impact sur l'Homme n'est observé du fait de la non-biodisponibilité du complexe $Ca_2UO_2(CO_3)_3$ formé dans cet environnement.

Cet exemple indique **qu'il est donc nécessaire d'améliorer la connaissance des formes physicochimiques présentes dans les milieux, notamment le marin afin de ne prendre en compte que les espèces chimiques assimilables par les organismes marins et l'Homme dans les calculs d'impact**.

L'étude de la spéciation des radionucléides, notamment des actinides, dans l'eau de mer, aux concentrations usuellement rencontrées dans ce milieu en situation normale, ne pouvant être réalisée avec les techniques spectroscopiques actuelles, cette étude, réalisée à des concentrations plus élevées, nous permet d'avoir une première estimation de la spéciation dans cet environnement complexe.

Ainsi, la connaissance de la spéciation à 10^{-8} M pour l'uranium et à de plus faibles concentrations pour les autres radionucléides permettrait de mieux évaluer les conséquences des accidents tels que celui de Fukushima.

Cette étude devra être poursuivie pour des isotopes d'intérêt en situation accidentelle sur des réacteurs, comme le césium, le cobalt et le strontium. En effet, les calculs du transfert du césium montrent un impact potentiel relativement élevé en situation accidentelle hypothétique. Vérifier la possibilité de bio-assimilation de cet élément, entre autres, permettrait d'obtenir des impacts moins conservatifs et faciliterait, le cas échéant, la gestion de ces situations accidentelles hypothétiques.

Cette importance de la spéciation sur l'impact est illustrée dans ce travail par l'étude de l'accumulation de l'uranium, de l'américium et de l'europium dans les éponges marines *A. cavernicola*. Cette éponge a été choisie car elle présente les caractéristiques d'un "bon" bioindicateur de par son immobilité, sa manipulation semblant aisée et également de par son fort taux d'accumulation des métaux lourds. Les expériences d'accumulation réalisées en aquarium ont permis de mettre en avant **la faible accumulation de l'uranium (FC=10) et une plus forte accumulation dans le cas de l'europium (FC = 1600 - 2000)**. Pourtant dans chacun des cas, la présence d'un complexe ternaire neutre carbonate est présent dans l'eau de mer. La question peut alors se poser sur la taille de ces différents complexes et si ceci explique les différences d'accumulation observées. Un essai préliminaire d'accumulation du césium dans les éponges a été réalisé à l'ICN. Cet essai n'a pas été concluant à cause de la difficulté à maintenir les éponges en vie. Cependant, les premiers résultats semblent indiquer que le césium n'est pas accumulé par l'éponge. Dans le cas de l'europium, la combinaison du STXM, du MET et de la séparation cellulaire a conduit à mieux décrire la localisation de l'europium dans l'éponge. L'europium a été observé dans les différentes parties de l'éponge analysées. **Dans chacun de ces cas, l'europium est présent sous la forme d'un précipité de biscarbonate d'europium formant des particules de l'ordre de 100 à 200 nm. Ces particules sont localisées au niveau du squelette de l'éponge majoritairement mais également en quantité moindre dans les vacuoles des cellules d'éponges.**

Deux hypothèses peuvent être formulées, soit l'europium précipite au contact de l'éponge, soit l'europium est déjà présent sous la forme d'un précipité et est piégé par l'éponge. Dans chaque cas, le précipité pourrait se trouver initialement dans les vacuoles des cellules d'éponges. Le contenu de ces vacuoles serait ensuite relargué par les cellules conduisant à la présence de

l'europium dans le squelette. Pour vérifier ces hypothèses, des mesures supplémentaires par STXM seraient nécessaires afin de vérifier si, au niveau de ces particules, nous observons la présence de sodium. Cependant, la complexité des éponges mais surtout la difficulté de les maintenir en vie dans l'aquarium complique la possibilité de tirer des conclusions sur les transferts de l'europium dans l'éponge. Les effets de relargage parallèle de l'europium peuvent être expliqués par plusieurs raisons : un phénomène naturel, un début de déclin de l'éponge due à la toxicité de l'europium ou un déclin dû à la présence de bactéries dans l'eau de mer. De nombreux paramètres non contrôlables, dus à la manipulation d'animaux vivants, rendent délicate l'exploitation précise des résultats obtenus.

Jusqu'à présent, nous l'avons dit, les études d'accumulation des radionucléides dans les organismes marins ont essentiellement consisté à déterminer les différents facteurs de concentration sans décrire la spéciation. La spéciation d'un radionucléide a ici pu être déterminée pour la première fois dans un organisme marin telle que l'éponge marine *Aplysina cavernicola*. Pour la poursuite de ce projet, l'utilisation d'un autre organisme marin dont la culture en aquarium est plus maitrisée serait favorable. De plus, l'éponge ne possède que peu de prédateurs, le plus courant étant l'oursin, ce qui limite l'évaluation de l'impact au niveau de la chaine alimentaire. Il conviendrait par la suite d'utiliser la même méthodologie appliquée à d'autres organismes marins tels que les oursins ou les mollusques par exemple, qui montrent de forts taux d'accumulation et qui entrent directement en compte dans la chaine alimentaire. De plus, une étude sur les différences de spéciation selon la composition des organismes permettrait de dégager des généralités sans étudier chacune des espèces marines.

Références

1. Wilkinson, A. and McNaught, A., *IUPAC Compendium of Chemical Terminology, (the" Gold Book")*. **1997**, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
2. ICRP, *Age-dependant doses to the members of the public from intake of radionuclides - Part 5 Compilation of ingestion and inhalation coefficients.* ICRP Publication 72, **1995**. ICRP 26(1).
3. Renaud, P., *Fiche information : Les essais atmosphériques*. **2008**, IRSN.
4. Atwood, D.A., *Radionuclides in the Environment*. **2013**: John Wiley & Sons.
5. Renaud, P., Louvat, D., and Vray, F., *Les retombées en France des essais atmosphériques d'armes nucléaires.* Production, fractionnement, dispersion atmosphérique et dépôt des produits de fission. Rapport IRSN DEI/SESURE, **2003**. 3.
6. UNSCEAR, *Sources and effect of ionizing radiation*, in *Report to the General Assembly*. **2000**.
7. Hu, Q.-H., Weng, J.-Q., and Wang, J.-S., *Sources of anthropogenic radionuclides in the environment: a review.* Journal of Environmental Radioactivity, **2010**. 101(6): p. 426-437.
8. Beaugelin-Seiller, K., Fraysse, B., Roussel-Debet, S., Boust, D., and Germain, P., *Fiche radionucléide : Plutonium et environnement*. **2004**, IRSN.
9. Aarkrog, A., *Input of anthropogenic radionuclides into the World Ocean.* Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, **2003**. 50(17–21): p. 2597-2606.
10. Eyrolle, F., Arnaud, M., Duffa, C., and Renaud, P., *Plutonium fluxes from the Rhône River to the Mediterranean Sea.* Radioprotection-Colloques, **2002**. 37: p. C1.
11. ASN, *Les rejets des installations nucléaires.* Contrôle, **2000**. 137.
12. Radiation, U.N.S.C.o.t.E.o.A., *UNSCEAR 2008 Report to the General Assembly, with scientific annexes. Volume II: Scientific Annexes C, D and E.* **2008**.
13. Oikawa, S., Watabe, T., and Takata, H., *Distributions of Pu isotopes in seawater and bottom sediments in the coast of the Japanese archipelago before and soon after the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Station accident.* Journal of Environmental Radioactivity, **2015**. 142: p. 113-123.
14. Sakaguchi, A., Kadokura, A., Steier, P., Tanaka, K., Takahashi, Y., Chiga, H., Matsushima, A., Nakashima, S., and Onda, Y., *Isotopic determination of U, Pu and Cs in environmental waters following the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant accident.* Geochemical Journal, **2012**. 46: p. 335 - 360.
15. Le Petit, G., Douysset, G., Ducros, G., Gross, P., Achim, P., Monfort, M., Raymond, P., Pontillon, Y., Jutier, C., Blanchard, X., Taffary, T., and Moulin, C., *Analysis of Radionuclide Releases from the Fukushima Dai-Ichi Nuclear Power Plant Accident Part I.* Pure and Applied Geophysics, **2014**. 171(3-5): p. 629-644.
16. Kirishima, A., Hirano, M., Sasaki, T., and Sato, N., *Leaching of actinide elements from simulated fuel debris into seawater.* Journal of Nuclear Science and Technology, **2015**: p. 1-7.
17. Guéguéniat, P. and Métivier, H., *Radionuclides in the Oceans*. **2012**: EDP Sciences.
18. Choppin, G.R., *Soluble rare earth and actinide species in seawater.* Marine Chemistry, **1989**. 28(1-3): p. 19-26.
19. Choppin, G.R. and Stout, B.E., *Actinide behavior in natural waters.* Science of The Total Environment, **1989**. 83(3): p. 203-216.
20. Offenstein, F. and Thuilliez, J. *Culture maritime*. [cited 2015 22/09/2015]; Available from: www.culture-maritime.com.
21. Pates, J.M. and Muir, G.K.P., *U-salinity relationships in the Mediterranean: Implications for 234Th:238 U particle flux studies.* Marine Chemistry, **2007**. 106(3): p. 530-545.
22. Sanchez-Cabeza, J.-A., Merino, J., Masqué, P., Mitchell, P.I., Vintro, L.L., Schell, W.R., Cross, L., and Calbet, A., *Concentrations of plutonium and americium in plankton from the western Mediterranean Sea.* The Science of the Total Environment, **2003**. 311: p. 233-245.
23. Otosaka, S., Nakanishi, T., Suzuki, T., Satoh, Y., and Narita, H., *Vertical and Lateral Transport of Particulate Radiocesium off Fukushima.* Environmental Science & Technology, **2014**. 48(21): p. 12595 - 12602.

24. Fowler, S.W. and Aston, S.R., *Application of ^{235}Np in experimental aquatic radioecology : preliminary observations on neptunium behaviour in sea water, sediments and zooplankton.* Health Physics, **1982**. 42(4): p. 515-520.
25. Sohtome, T., Wada, T., Mizuno, T., Nemoto, Y., Igarashi, S., Nishimune, A., Aono, T., Ito, Y., Kanda, J., and Ishimaru, T., *Radiological impact of TEPCO's Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant accident on invertebrates in the coastal benthic food web.* Journal of Environmental Radioactivity, **2014**. 138C: p. 106-115.
26. Tateda, Y., Tsumune, D., Tsubono, T., Misumi, K., Yamada, M., Kanda, J., and Ishimaru, T., *Status of Cs contamination in marine biota along the Pacific coast of eastern Japan derived from a dynamic biological model two years simulation following the Fukushima accident.* Journal of Environmental Radioactivity, **2015**.
27. Tateda, Y., Tsumune, D., and Tsubono, T., *Simulation of radioactive cesium transfer in the southern Fukushima coastal biota using a dynamic food chain transfer model.* Journal of Environmental Radioactivity, **2013**. 124: p. 1-12.
28. Aly, W., Williams, I.D., and Hudson, M.D., *Metal contamination in water, sediment and biota from a semi-enclosed coastal area.* Environmental Monitoring and Assessment, **2012**. 185(5): p. 3879-3895.
29. Ambe, D., Kaeriyama, H., Shigenobu, Y., Fujimoto, K., Ono, T., Sawada, H., Saito, H., Miki, S., Setou, T., Morita, T., and Watanabe, T., *Five-minute resolved spatial distribution of radiocesium in sea sediment derived from the Fukushima Dai-ichi Nuclear Power Plant.* Journal of Environmental Radioactivity, **2014**. 138: p. 264 - 275.
30. Evrard, O., Pointurier, F., Onda, Y., Chartin, C., Hubert, A., Lepage, H., Pottin, A.C., Lefevre, I., Bonte, P., Laceby, J.P., and Ayrault, S., *Novel insights into Fukushima nuclear accident from isotopic evidence of plutonium spread along coastal rivers.* Environmental Science & Technology, **2014**. 48(16): p. 9334-40.
31. Mellado, J., Llaurado, M., and Rauret, G., *Determination of Pu, Am, U, Th and Sr in marine sediment by extraction chromatography.* Analytica Chimica Acta, **2001**. 443(1): p. 81-90.
32. Metian, M., Warnau, M., Hédouin, L., and Bustamante, P., *Bioaccumulation of essential metals (Co, Mn and Zn) in the king scallop Pecten maximus: seawater, food and sediment exposures.* Marine biology, **2009**. 156(10): p. 2063-2075.
33. Garnier-Laplace, J., Colle, C., Morello, M., Février, L., Simon, O., Boust, D., Pommier, J., Augeray, C., Boulet, B., Cagnat, X., Loyen, J., Picolo, J.L., Vidal, R., and Renaud, P., *Fiche radionucléide : Uranium naturel et environnement*. **2010**, IRSN.
34. (GRNC), G.R.N.C., *Modèles de transfert des radionucléides dans l'environnement.* Rapport final du GT3, **1999**. 3.
35. IAEA, *Sediment Distribution Coefficients and Concentration Factors for Biota in the Marine Environment*. **2004**, International Atomic Energy Agency: Vienna, Austria.
36. (GRNC), G.R.N.C., *Inventaire des rejets radioactifs des installations nucleaires: Historique des rejets*. **1999**, Rapport Finale Detaillé.
37. Garnier-Laplace, J. and Roussel-Debet, S., *Fiche Radionucléides : Américium 241 et environnement*. **2001**, IRSN.
38. Colle, C., Adam, C., Garnier-Laplace, J., Roussel-Debet, S., Beaugelin-Seiller, K., and Germain, P., *Fiche radionucléide : Césium 137 et environnement*, IRSN, Editor. **2005**, IRSN.
39. Guary, J.C., Masson, M., and Fraizier, A., *Etude préliminaire, in situ, de la distribution du plutonium dans différents tissus et organes de Cancer pagurus (Crustacea: Decapoda) et de Pleuronectes platessa (Pisces: Pleuronectidae).* Marine Biology, **1976**. 36(1): p. 13-17.
40. Tocquet, N., *Biokinetics of a transuranic (238 PU) and a rare earth element (152 Eu) in the lobster (Homarus gammarus): transfer mechanisms (accumulation and detoxification) in organs and at the cellular level*. **1995**, CEA Fontenay-aux-Roses, Inst. de Protection et de Surete Nucleaire, Dept. de Protection de l'environnement et des Installations, 92 (France).

41. Bjerregaard, P., topcuoglu, S., Fisher, N., and Fowler, S., *Biokinetics of americium and plutonium in the mussel Mytilus edulis.* Marine ecology. Progress series, **1985**. 21(1-2): p. 99-111.
42. Ryan, T.P., *Transuranic biokinetic parameters for marine invertebrates—a review.* Environmental International, **2002**. 28: p. 83 - 96.
43. Genta-Jouve, G., Cachet, N., Oberhaensli, F., Noyer, C., Teyssié, J.-L., Thomas, O.P., and Lacoue-Labarthe, T., *Comparative bioaccumulation kinetics of trace elements in Mediterranean marine sponges.* Chemosphere, **2012**. 89: p. 340-349.
44. Patel, B., Balani, M., and Patel, S., *Sponge 'sentinel'of heavy metals.* Science of the total environment, **1985**. 41(2): p. 143-152.
45. De Mestre, C., Maher, W., Roberts, D., Broad, A., Krikowa, F., and Davis, A.R., *Sponges as sentinels: patterns of spatial and intra-individual variation in trace metal concentration.* Marine Pollution Bulletin, **2012**. 64(1): p. 80-9.
46. Cebrian, E., Uriz, M.J., and Turon, X., *Sponges as biomonitors of heavy metals in spatial and temporal surveys in northwestern Mediterranean: multispecies comparison.* Environmental Toxicology and Chemistry, **2007**. 26(11): p. 2430-2439.
47. Copin-Montégut, G., *Physico-chimie de l'eau de mer*. **1989**: Institut océanographique.
48. Girardot, J.-P. *Capteurs et instrumentations utilisés en océanographie physique*. **2002** 20/04/2013]; Available from: http://www.univ-brest.fr/lpo/instrumentation/07.htm.
49. Byrne, R.H., *Comparative carbonate and hydroxide complexation of cations in seawater.* Geochimica et Cosmochimica Acta, **2010**. 74(15): p. 4312-4321.
50. Leclercq, A., *Etude du comportement et du transfert de certains actinides et d'un produit de fission dans différents compartiments naturels*, in *UFR Sciences*. **2013**, Université de Nice Sophia Antipolis: Nice. p. 204.
51. Choppin, G. and Wong, P., *The Chemistry of Actinide Behavior in Marine Systems.* Aquatic Geochemistry, **1998**. 4(1): p. 77-101.
52. Bresson, C., Ansoborlo, E., and Vidaud, C., *Radionuclide speciation: A key point in the field of nuclear toxicology studies.* Journal of Analytical Atomic Spectrometry, **2011**. 26(3): p. 593-601.
53. Bion, L., *BASSIST: an applied thermodynamic database for radionuclide chemistry.* Radiochimica Acta, **2003**. 91(11): p. 633-637.
54. (NEA), N.E.A. *Thermochemical Database (TDB) Project*. 06/02/2013]; Available from: https://www.oecd-nea.org/dbtdb/.
55. Grenthe, I., Fuger, J., Konings, R.J.M., Lemire, R.J., Muller, A.B., Nguyen Trung, C., and Wanner, H., *Chemical thermodynamics of uranium*, ed. NEA-OECD. **2004**.
56. Atwood, D.A., *Radionuclides in the Environment*, ed. Wiley. **2010**.
57. NRCP, *Cesium-137 in the environment : Radioecology and approches to assesment and management* **2007**.
58. Lujaniene, G., Silobritiene, B., and Joksas, K. *Caesium sorption-desorption behaviour in bottom sediments*. in *International conference on isotopes in environmental studies - Aquatic Forum 2004*. **2004**.
59. Lujanienė, G., Šilobritienė, B., Jokšas, K., and Morkūnienė, R., *Behaviour of radiocesium in marine environment.* Environmental Research, Engineering and Management, **2004**. 2(28): p. 23-32.
60. Choppin, G.R., *Actinide speciation in aquatic systems.* Marine Chemistry, **2006**. 99(1-4): p. 83-92.
61. Guillaumont, R. and Mompean, F.J., *Update on the chemical thermodynamics of uranium, neptunium, plutonium, americium and technetium.* **2003**.
62. Choppin, G.R., *Actinide speciation in the environment.* Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, **2007**. 273(3): p. 695-703.
63. Kaszuba, J.P. and Runde, W.H., *The aqueous geochemistry of neptunium: Dynamic control of soluble concentrations with applications to nuclear waste disposal.* Environmental Science & Technology, **1999**. 33(24): p. 4427-4433.

64. Clark, D.L., Conradson, S.D., Ekberg, S.A., Hess, N.J., Neu, M.P., Palmer, P.D., Runde, W., and Tait, C.D., *EXAFS studies of pentavalent neptunium carbonato complexes. Structural elucidation of the principal constituents of neptunium in groundwater environments.* Journal of the American Chemical Society, **1996**. 118(8): p. 2089-2090.
65. Keeney-Kennicutt, W.L. and Morse, J.W., *The interaction of Np (V) O 2+ with common mineral surfaces in dilute aqueous solutions and seawater.* Marine Chemistry, **1984**. 15(2): p. 133-150.
66. Choppin, G.R., *Actinide speciation in the environment.* Radiochimica Acta, **2003**. 91(11-2003): p. 645-650.
67. McCubbin, D. and Leonard, K., *Influence of some seawater components on the sorption behaviour of neptunium (V).* Radiochimica Acta, **1995**. 69(2): p. 97-102.
68. Bernhard, G., Geipel, G., Brendler, V., and Nitsche, H., *Speciation of uranium in seepage waters of a mine tailing pile studied by time-resolved laser-induced fluorescence spectroscopy (TRLFS).* Radiochimica Acta, **1996**. 74: p. 87-91.
69. Prat, O., Vercouter, T., Ansoborlo, E., Fichet, P., Perret, P., Kurttio, P., and Salonen, L., *Uranium speciation in drinking water from drilled wells in southern finland and its potential links to health effects.* Environmental Science & Technology, **2009**. 43(10): p. 3941-3946.
70. Kelly, S.D., Kemner, K.M., and Brooks, S.C., *X-ray absorption spectroscopy identifies calcium-uranyl-carbonate complexes at environmental concentrations.* Geochimica et Cosmochimica Acta, **2007**. 71(4): p. 821-834.
71. Morcillo, F., Gonzalez-Munoz, M.T., Reitz, T., Romero-Gonzalez, M.E., Arias, J.M., and Merroun, M.L., *Biosorption and biomineralization of U(VI) by the marine bacterium idiomarina loihiensis MAH1: Effect of background electrolyte and pH.* PLoS ONE, **2014**. 9(3): p. e91305.
72. Bernhard, G., Geipel, G., Reich, T., Brendler, V., Amayri, S., and Nitsche, H., *Uranyl(VI) carbonate complex formation: Validation of the $Ca_2UO_2(CO_3)_3$(aq.) species.* Radiochimica Acta, **2001**. 89(8): p. 511.
73. Kalmykov, S.N., Kriventsov, V.V., Teterin, Y.A., and Novikov, A.P., *Plutonium and neptunium speciation bound to hydrous ferric oxide colloids.* Comptes Rendus Chimie, **2007**. 10(10): p. 1060-1066.
74. Endrizzi, F. and Rao, L., *Chemical Speciation of Uranium(VI) in Marine Environments: Complexation of Calcium and Magnesium Ions with [(UO2)(CO3)3]4− and the Effect on the Extraction of Uranium from Seawater.* Chemistry – A European Journal, **2014**. 20(44): p. 14499-14506.
75. Moulin, V. and Moulin, C., *Fate of actinides in the presence of humic substances under conditions relevant to nuclear waste disposal.* Applied Geochemistry, **1995**. 10(5): p. 573-580.
76. Michalowicz, A., *Méthodes et programmes d'analyse des spectres d'absorption des rayons X(EXAFS). Applications à l'étude de l'ordre local et du désordre cristallin dans les matériaux inorganiques*. **1990**. Thesis.
77. Stern, E.A., *Theory of the extended x-ray-absorption fine structure.* Physical Review B, **1974**. 10(8): p. 3027.
78. Van der Lee, J., *JCHESS version 2.0. École des Mines de Paris, Centre d'information géologique, 2000–2001*. **2010**.
79. Wallmann, J.C., Graf, P., and Goda, L., *The specific activities and half lives of americium-241 and americium-243.* Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry, **1958**. 7: p. 199 - 200.
80. Guillaumont, R., Fanghänel, T., Neck, V., Fuger, J., Palmer, D.A., Grenthe, I., and Rand, M.H., *Update on the chemical thermodynamics of uranium, neptunium, plutonium, americium and technetium*. **2008**.
81. Silva, R. and Nitsche, H., *Actinide environmental chemistry.* Radiochimica Acta, **1995**. 70(71): p. 377-396.
82. Vercouter, T., Vitorge, P., Trigoulet, N., Giffaut, E., and Moulin, C., *Eu(CO3)33- and the limiting carbonate complexes of other M3+ f-elements in aqueous solutions: a solubility and TRLFS study.* New Journal of Chemistry, **2005**. 29(4): p. 544-553.

83. Runde, W., Meinrath, G., and Kim, J.I., *A study of solid-liquid phase equilibria of trivalent lanthanide and actinide ions in carbonate systems.* Radiochimica Acta, **1992**. 58-59(Pt. 1): p. 93-100.
84. Plancque, G., Moulin, V., Toulhoat, P., and Moulin, C., *Europium speciation by time-resolved laser-induced fluorescence.* Analytica Chimica Acta, **2003**. 478(1): p. 11-22.
85. Moulin, C., Wei, J., Iseghem, P.V., Laszak, I., Plancque, G., and Moulin, V.r., *Europium complexes investigations in natural waters by time-resolved laser-induced fluorescence.* Analytica Chimica Acta, **1999**. 396(2-3): p. 253-261.
86. Binnemans, K., *Interpretation of europium(III) spectra.* Coordination Chemistry Reviews, **2015**. 295: p. 1-45.
87. Runde, W., Van Pelt, C., and Allen, P.G., *Spectroscopic characterization of trivalent f-element (Eu-Am) solid carbonates.* Journal of Alloys and Compounds, **2000**. 303-304: p. 182-190.
88. Jolivet, J.P., Thomas, Y., Taravel, B., Lorenzelli, V., and Busca, G., *Infrared spectra of cerium and thorium pentacarbonate complexes.* Journal of Molecular Structure, **1982**. 79(0): p. 403-408.
89. Hiemstra, T., Rahnemaie, R., and van Riemsdijk, W.H., *Surface complexation of carbonate on goethite: IR spectroscopy, structure and charge distribution.* Journal of Colloid and Interface Science, **2004**. 278(2): p. 282-290.
90. Mercier, N., Leblanc, M., Antic-Fidancev, E., and Lemaitre-Blaise, M., *Structural and Optical Investigations of Sodium Europium Carbonate Na3Eu(CO3)3.* Journal of Solid State Chemistry, **1997**. 132(1): p. 33-40.
91. Vacelet, J., *Les cellules a inclusions de l'éponge cornée verongia cavernicola vacelet.* J Microscopie, **1967**. 6: p. 237-240.
92. Biedermann, G. and Silber, H.B., *On the Standard Potential of the Eu^{3+}– Eu^{2+} Couple.* Acta chemica Scandinavica, **1973**. 27: p. 3761-3768.
93. Schafer, F.Q. and Buettner, G.R., *Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple.* Free Radical Biology and Medicine, **2001**. 30(11): p. 1191-1212.
94. Holroyd, J., Idzerda, Y., and Stadler, S., *Properties of thin film europium oxide by x-ray magnetic circular dichroism.* Journal of applied physics, **2004**. 95(11): p. 6571-6573.
95. Ruck, B., Trodahl, H., Richter, J., Cezar, J., Wilhelm, F., Rogalev, A., Antonov, V., Do Le, B., and Meyer, C., *Magnetic state of EuN: X-ray magnetic circular dichroism at the Eu M 4, 5 and L 2, 3 absorption edges.* Physical Review B, **2011**. 83(17): p. 174404.
96. Acharya, C., Chandwadkar, P., Joseph, D., and Apte, S.K., *Uranium (VI) recovery from saline environment by a marine unicellular cyanobacterium, Synechococcus elongatus.* Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, **2013**. 295(2): p. 845-850.
97. Kim, J., Tsouris, C., Mayes, R.T., Oyola, Y., Saito, T., Janke, C.J., Dai, S., Schneider, E., and Sachde, D., *Recovery of uranium from seawater: a review of current status and future research needs.* Separation Science and Technology, **2012**. 48(3): p. 367-387.
98. Geipel, G., Amayri, S., and Bernhard, G., *Mixed complexes of alkaline earth uranyl carbonates: A laser-induced time-resolved fluorescence spectroscopic study.* Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, **2008**. 71(1): p. 53-58.
99. Klinkhammer, G.P. and Palmer, M.R., *Uranium in the oceans: Where it goes and why.* Geochimica et Cosmochimica Acta, **1991**. 55(7): p. 1799-1806.
100. Fortin, C., Denison, F.H., and Garnier-Laplace, J., *Metal-phytoplankton interactions: Modeling the effect of competing ions (H^+, Ca^{2+}, and Mg^{2+}) on uranium uptake.* Environmental Toxicology and Chemistry, **2007**. 26(2): p. 242-248.
101. Liu, C., Jeon, B.-H., Zachara, J.M., and Wang, Z., *Influence of calcium on microbial reduction of solid phase uranium(VI).* Biotechnology and Bioengineering, **2007**. 97(6): p. 1415-1422.
102. Stewart, B.D., Amos, R.T., and Fendorf, S., *Effect of uranium (VI) speciation on simultaneous microbial reduction of uranium (VI) and iron (III).* Journal of environmental quality, **2011**. 40(1): p. 90-97.

103. Ikeda-Ohno, A., Tsushima, S., Takao, K., Rossberg, A., Funke, H., Scheinost, A.C., Bernhard, G., Yaita, T., and Hennig, C., *Neptunium carbonato complexes in aqueous solution: An electrochemical, spectroscopic, and quantum chemical study.* Inorganic Chemistry, **2009**. 48(24): p. 11779–11787.
104. Topin, S., Aupiais, J., and Moisy, P., *Direct determination of plutonium(V) and neptunium(V) complexation by carbonate ligand with CE-ICP-sector field MS.* Electrophoresis, **2009**. 30: p. 1747–1755.
105. Moulin, C., Laszak, I., Moulin, V., and Tondre, C., *Time-Resolved Laser-Induced Fluorescence as a Unique Tool for Low-Level Uranium Speciation.* Appl. Spectrosc., **1998**. 52(4): p. 528-535.
106. Bell, J. and Biggers, R., *Absorption spectrum of the uranyl ion in perchlorate media III. Resolution of the ultraviolet band structure; some conclusions concerning the excited state of* UO_2^{2+}. Journal of Molecular Spectroscopy, **1968**. 25(3): p. 312-329.
107. Moulin, C., Decambox, P., Moulin, V., and Decaillon, J.G., *Uranium speciation in solution by time-resolved laser-induced fluorescence.* Analytical Chemistry, **1995**. 67(2): p. 348-353.
108. Moriyasu, M., Yokoyama, Y., and Ikeda, S., *Quenching mechanisms of uranyl luminescence by metal ions.* Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry, **1977**. 39(12): p. 2205-2209.
109. Lee, J.-Y. and Yun, J.-I., *Formation of ternary* $CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$ *and* $Ca_2UO_2(CO_3)_3(aq)$ *complexes under neutral to weakly alkaline conditions.* Dalton Transactions, **2013**. 42(27): p. 9862-9869.
110. Moulin, C., Beaucaire, C., Decambox, P., and Mauchien, P., *Determination of uranium in solution at the ng* 1^{-1} *level by time-resolved laser-induced spectrofluorimetry: application to geological samples.* Analytica Chimica Acta, **1990**. 238: p. 291-296.
111. Berthoud, T., Decambox, P., Kirsch, B., Mauchien, P., and Moulin, C., *Direct uranium trace analysis in plutonium solutions by time-resolved laser-induced spectrofluorometry.* Analytical Chemistry, **1988**. 60(13): p. 1296-1299.
112. Götz, C., Geipel, G., and Bernhard, G., *The influence of the temperature on the carbonate complexation of uranium(VI) : a spectroscopic study.* Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, **2011**. 287: p. 961 - 969.
113. Moulin, C., Reiller, P., Beaucaire, C., and Lemordant, D., *Time-Resolved Laser-Induced Fluorescence Studies of Uranium/sodium dodecyl sulfate interactions.* Applied spectroscopy, **1993**. 47(12): p. 2172-2174.
114. Clark, C.D., Jimenez-Morais, J., Jones Ii, G., Zanardi-Lamardo, E., Moore, C.A., and Zika, R.G., *A time-resolved fluorescence study of dissolved organic matter in a riverine to marine transition zone.* Marine Chemistry, **2002**. 78(2 à 3): p. 121-135.
115. Wang, Z., Zachara, J.M., Yantasee, W., Gassman, P.L., Liu, C., and Joly, A.G., *Cryogenic Laser Induced Fluorescence Characterization of U(VI) in Hanford Vadose Zone Pore Waters.* Environmental Science & Technology, **2004**. 38(21): p. 5591-5597.
116. Diercks, A., Vancluysen, J., Apers, K., and Maes, A., *Effects of humic substances on the migration of radionuclides: complexation of actinides with humic substances in natural aquifer systems*, in *Effects of Humic Substances on the Migration of Radionuclides: Complexation of Actinides with Humic Substances*. **1993**, Institut für Radiochemie, Technische Univ. München.
117. Amayri, S., Reich, T., Arnold, T., Geipel, G., and Bernhard, G., *Spectroscopic characterization of alkaline earth uranyl carbonates.* Journal of Solid State Chemistry, **2005**. 178(2): p. 567-577.
118. Ikeda, A., Hennig, C., Tsushima, S., Takao, K., Ikeda, Y., Scheinost, A.C., and Bernhard, G., *Comparative Study of Uranyl(VI) and -(V) Carbonato Complexes in an Aqueous Solution.* Inorganic chemistry, **2007**. 46: p. 4212 - 4219.
119. Shannon, R.D., *Revised Effective Ionic Radii and Systematic Studies of Interatomie Distances in Halides and Chaleogenides.* Acta Crystallographica, **1976**. A32: p. 751.
120. Fortier, S. and Hayton, T.W., *Oxo ligand functionalization in the uranyl ion (UO22+).* Coordination Chemistry Reviews, **2010**. 254(3-4): p. 197-214.
121. Grigor'ev, M.S., Budantseva, N.A., and Fedoseev, A.M., *Study of the monocarbonate complex of pentavalent neptunium* $(NH_4)[NpO_2(CO_3)]$. Russian Journal of Coordination Chemistry, **2010**. 36(2): p. 157-160.

122. Ikeda-Ohno, A., Tsushima, S., Takao, K., Rossberg, A., Funke, H., Scheinost, A.C., Bernhard, G., Yaita, T., and Hennig, C., *Neptunium carbonato complexes in aqueous solution: an electrochemical, spectroscopic, and quantum chemical study.* Inorganic chemistry, **2009**. 48(24): p. 11779-87.
123. LLorens, I., Solari, P.L., Sitaud, B., Bes, R., Cammelli, S., Hermange, H., Othmane, G., Safi, S., Moisy, P., Wahu, S., Bresson, C., Schlegel, M.L., Menut, D., Bechade, J.-L., Martin, P., Hazemann, J.-L., Proux, O., and Den Auwer, C., *X-ray absorption spectroscopy investigations on radioactive matter using MARS beamline at SOLEIL synchrotron.* Radiochimica Acta, **2014**.
124. Denecke, M.A., Dardenne, K., and Marquardt, C.M., *Np(IV)/Np(V) valence determinations from Np L3 edge XANES/EXAFS.* Talanta, **2005**. 65(4): p. 1008-14.
125. Di Giandomenico, M.V., Naour, C.L., Simoni, E., Guillaumont, D., Moisy, P., Hennig, C., Conradson, S.D., and Den Auwer, C., *Structure of early actinides(V) in acidic solutions.* Radiochimica Acta, **2009**. 97(7): p. 347 - 353.
126. Den Auwer, C., Guilbaud, P., Guillaumont, D., Moisy, P., Digandomenico, V., Naour, C.L., Trubert, D., Simoni, E., Hennig, C., and Scheinost, A., *Molecular Characterization of Actinide Oxocations from Protactinium to Plutonium.* X-Ray Absorption Fine Structure--XAFS 13, **2007**. 882: p. 184-186.
127. Den Auwer, C., Guillaumont, D., Guilbaud, P., Conradson, S.D., Rehr, J.J., Ankudinov, A., and Simoni, E., *Theoretical chemical contribution to the simulation of the L III X-ray absorption edges of uranyl, neptunyl and osmyl hydrates and hydroxides.* New Journal of Chemistry, **2004**. 28(8): p. 929-939.
128. D-98, A., *Standard Practice for the Preparation of Substitute Ocean Water*. **2008**, ASTM International West Conshohocken, PA.
129. Kitatsuji, Y., Kimura, T., and Kihara, S., *Reduction behavior of neptunium(V) at a gold or platinum electrode during controlled potential electrolysis and procedures for electrochemical preparations of neptunium(IV) and (III).* Journal of Electroanalytical Chemistry, **2010**. 641(1-2): p. 83-89.
130. Riglet, C., *Chimie du neptunium et autres actinides en milieu carbonate*. **1990**, CEA.
131. Varlashkin, P.G., Hobart, D.E., Begun, G.M., and Peterson, J.R., *Electrochemical and spectroscopic studies of neptunium in concentrated aqueous carbonate and carbonate-hydroxide solutions.* Radiochimica Acta, **1984**. 35: p. 91-96.
132. Wester, D.W. and Sullivan, J.C., *Electrochemical and spectroscopic studies of neptunium(vi), -(v) and -(iv) in carbonate-bicarbonate buffers.* journal of Inorganic and Nuclear Chemistry, **1981**. 43(11): p. 2919-2923.
133. Madic, C., *Propriétés thermodynamiques et cinétiques des actinides en solutions*, in *Paris VI - Paris IX - Grenoble 1 - Tours*. **1998**. Thesis. : Institut national des sciences et techniques nucléaires
134. Assinder, D.J., *A review of the occurrence and behaviour of neptunium in the Irish Sea.* Journal of Environmental Radioactivity, **1999**. 44: p. 335 -347.
135. Madic, C., Hobart, D.E., and Begun, G.M., *Raman spectrometric studies of actinide(V) and -(VI) complexes in aqueous sodium carbonate solution and of solid sodium actinide(V) carbonate compounds.* Inorganic Chemistry, **1983**. 22(10): p. 1494-1503.
136. Periáñez, R., Bezhenar, R., Iosjpe, M., Maderich, V., Nies, H., Osvath, I., Outola, I., and de With, G., *A comparison of marine radionuclide dispersion models for the Baltic Sea in the frame of IAEA MODARIA program.* Journal of Environmental Radioactivity, **2015**. 139: p. 66-77.
137. Periáñez, R. and Periáñez, R., *Modelling radioactivity dispersion in the Alborán Sea, western Mediterranean.* Radioprotection, **2009**. 44(05): p. 5-10.
138. OMS, *Guidelines for drinking water quality* **2011**. Fourth Edition.
139. Flowers, A.E., Garson, M.J., Webb, R.I., Dumdei, E.J., and Charan, R.D., *Cellular origin of chlorinated diketopiperazines in the dictyoceratid sponge Dysidea herbacea (Keller).* Cell and Tissue Research, **1998**. 292: p. 597 - 607.

140. Song, Y.-F., Qu, Y., Cao, X.-P., and Zhang, W., *Cellular localization of debromohymenialdisine and hymenialdisine in the marine sponge Axinelle sp. using a newly developed cell purification protocol.* Marine Biotechnology, **2011**.
141. Bewley, C.A., Holland, N.D., and Faulkner, D.J., *Two classes of metabolites from Theonella swinhoei are localized in distinct populations of bacterial symbionts.* Experientia, **1996**. 52: p. 716 -722.
142. Garson, M.J., Flowers, A.E., Webb, R.I., Charan, R.D., and McCaffrey, E.J., *A sponge / dinoflagellate association in the haplosclerid sponge Haliclona sp. : cellular origin of cytotoxic alkaloids by Percoll density gradient fracionation.* Cell and Tissue Research, **1998**. 293: p. 365 - 373.
143. Dong, W. and Brooks, S.C., *Determination of the Formation Constants of Ternary Complexes of Uranyl and Carbonate with Alkaline Earth Metals (Mg2+, Ca2+, Sr2+, and Ba2+) Using Anion Exchange Method.* Environmental Science & Technology, **2006**. 40(15): p. 4689-4695.
144. Bernhard, G., Geipel, G., Reich, T., Brendler, V., Amayri, S., and Nitsche, H., *Uranyl (VI) carbonate complex formation: Validation of the Ca2UO2 (CO3) 3 (aq.) species.* Radiochimica Acta International journal for chemical aspects of nuclear science and technology, **2001**. 89(8/2001): p. 511.
145. Morgenstern, A. and Kim, J., *The phosphate complexation of neptunium (V).* Radiochimca Acta, **1996**. 72(2): p. 73-78.
146. Nolting, R.F. and de Baar, H.J.W., *Behaviour of nickel, copper, zinc and cadmium in the upper 300 m of a transect in the Southern Ocean (57°–62°S, 49°W).* Marine Chemistry, **1994**. 45(3): p. 225-242.
147. Saager, P.M., De Baar, H.J.W., and Howland, R.J., *Cd, Zn, Ni and Cu in the Indian Ocean.* Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers, **1992**. 39(1): p. 9-35.
148. Nolting, R., De Baar, H., Van Bennekom, A., and Masson, A., *Cadmium, copper and iron in the Scotia Sea, Weddell Sea and Weddell/Scotia Confluence (Antarctica).* Marine Chemistry, **1991**. 35(1): p. 219-243.
149. Robertson, D.E., *The distribution of cobalt in Oceanic waters.* Geochimica et Cosmochimica Acta, **1970**. 34(5): p. 553-567.
150. Schaule, B. and Patterson, C., *Perturbations of the Natural Lead Depth Profile in the Sargasso Sea by Industrial Lead*, in *Trace Metals in Sea Water*, C.S. Wong, et al., Editors. **1983**, Springer US. p. 487-503.
151. Quinby-Hunt, M.S. and Turehian, K.K., *Distribution of elements in sea water.* Eos, Transactions American Geophysical Union, **1983**. 64(14): p. 130-130.
152. Measures, C.I., *The distribution of Al in the IOC stations of the eastern Atlantic between 30 ° S and 34 ° N.* Marine Chemistry, **1995**. 49(4): p. 267-281.
153. Wong, G.T.F. and Cheng, X.-H., *Dissolved organic iodine in marine waters: Determination, occurrence and analytical implications.* Marine Chemistry, **1998**. 59(3–4): p. 271-281.
154. Noakes, J.E. and Hood, D.W., *Boron-boric acid complexes in sea-water.* Deep Sea Research (1953), **1961**. 8(2): p. 121-129.

Annexes

Annexe A : Préparation des échantillons

I. Solutions d'eau de mer dopées en radionucléides

A. Solution d'eau de mer dopée en américium

La solution d'eau de mer dopée en américium a été préparée à partir d'une solution purifiée de ^{241}Am (1,85 mM) dans de l'acide nitrique qui, après évaporation à 200°C, a été reprise dans de l'acide chlorhydrique (0,1 M) puis évaporé à nouveau deux fois. Enfin, le solide obtenu a été dissous dans de l'eau de mer de façon à obtenir une concentration de 5.10^{-5} M (600 µl).

B. Solution d'eau de mer dopée en europium

La solution d'eau de mer dopée en europium a été obtenue par dissolution de 12,0 mg de nitrate d'europium $^{151,153}Eu(NO_3)_3.6H_2O$ (Prolabo) dans 500 ml d'eau de mer naturelle.

C. Solution d'eau de mer dopée en uranium

La solution d'eau de mer dopée en uranium a été préparée par dissolution de 50 mg nitrate d'uranyle $^{nat}UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (Prolabo) dans 1,99 l d'eau.

D. Solution d'eau de mer dopée en neptunium

Dans le cas du neptunium, la solution d'eau de mer dopée a été obtenue par dilution d'un faible volume (100 µl) d'une solution stock de nitrate de neptunyle à 5.10^{-3} M en milieu chlorhydrique (0,5 M) dans 10 ml d'eau de mer. Au préalable, un faible volume de soude (85 µl), NaOH 0,5 M, a été ajouté à l'eau de mer afin que la solution soit au pH de l'eau de mer après addition du neptunium.

E. Solution d'eau de mer dopée en thorium

La solution d'eau de mer dopée en thorium a été obtenue par dilution d'une solution stock de nitrate de thorium à $4{,}2.10^{-2}$ M (pH=2) (30 µl) dans de l'eau de mer (126 ml). Le pH été ajusté par ajout de 30 µl de NaOH 10^{-2} M.

F. Solution d'eau de mer dopée en césium

Dans le cas du césium, seule des solutions à 0,1 et 10^{-3} M ont été préparées. Pour cela, 193,8 mg de nitrate de césium, $^{133}CsNO_3$ (Aldrich), ont été dissous dans 10 ml d'eau de mer. Dans le cas de la solution à 10^{-3} M, 100 µl ont été dilué dans 10 ml d'eau de mer.

II. Synthèse du complexe carbonate $Eu_2(CO_3)_3.nH_2O$

Le modèle carbonate a été synthétisé à partir d'une solution de nitrate d'europium à 5.10^{-3} M dans $NaClO_4$ 0,1 M sous une pression partielle en CO_2 de 100 %. La précipitation a eu lieu par ajout de NaOH 0,1 M afin d'obtenir un pH entre 6 et 7. Le pH a été régulé tous les jours jusqu'à stabilisation de ce dernier (16 jours). Le précipité a ensuite été lavé avec une solution de $NaClO_4$ 0,1 M, centrifugé puis séché dans une étuve à 40°C.

III. Préparation des précipités de carbonate d'europium

Tous les carbonates d'europium ont été préparés dans de l'eau ultra-pure (résistivité 18 $M\Omega.cm^{-1}$ à 25°C, système MilliQ). Les différents sels (NaCl, KCl et $NaNO_3$) ont été dissous dans 500 ml d'eau de mer de façon à obtenir une force ionique de 0,7 M. Ensuite les carbonates one été ajoutés soit sous la forme de Na_2CO_3 soit sous la forme de $NaHCO_3$ afin d'obtenir une concentration en carbonate de $2{,}2.10^{-3}$ M. Dans le cas de l'ajout de Na_2CO_3, de l'acide nitrique a été additionné jusqu'à obtenir un pH équivalent à celui de l'eau de mer (autour de 8). Enfin pour obtenir le carbonate d'europium, 12,0 mg de nitrate d'europium, $Eu(NO_3)_3.6H_2O$, ont été dissous dans la solution.

Après 24h, la solution a été centrifugée afin de récupérer le précipité. Ce dernier a été lavé trois fois puis séché.

Les masses de sels et de carbonates utilisées sont répertoriées dans le tableau suivant.

Tableau A 1 : Masses de sels (NaCl, KCl, $NaNO_3$) et de carbonates (Na_2NO_3 ou $NaHCO_3$) utilisées lors de la préparation des carbonates d'europium.

	NaCl/Na_2CO_3	NaCl/$NaHCO_3$	KCl/K_2CO_3	$NaNO_3$/$NaHCO_3$	$NaNO_3$/Na_2CO_3
m_{sels}	20,26 g	20,26 g	25,85 g	29,70 g	29,70 g
$m_{carbonates}$	0,11 g	0,084 g	0,14 g	0,16 g	0,084 g
pH	7,94	7,92	7,53	7,72	7,84

IV. Préparation de l'eau de mer artificielle

L'eau de mer artificielle a été réalisée selon la norme de l'ASTM International D1141-98(2013) [128]. La particularité de cette eau de mer artificielle est de ne comporter aucune matière organique. Une modification a été apportée au mode opératoire afin d'améliorer les mesures EXAFS pour l'uranium et le neptunium. Ainsi, le brome n'a pas été introduit et il a été remplacé par du KCl afin que la force ionique finale ne soit pas modifiée.

Pour 1 l de solution, 24,5g de NaCl et 4,09 g de Na_2SO_4 ont été dissous dans 0,97 l d'eau ultra-pure. Puis 20 ml de la solution stock 1 et 10 ml de la solution stock 2 ont été additionnés. Le pH a ensuite été ajusté par ajout de soude.

La solution stock 1 a été réalisée par dissolution de 55,6 g de $MgCl_2.6H_2O$, de 7,7 g de $CaCl_2.2H_2O$ et de 0,21 g de $SrCl_2$ dans 100 ml d'eau ultra-pure.

La solution stock 2 a été obtenue par dissolution de 6,95 g de KCl, 2,01 g de $NaHCO_3$, 0,27 g de H_3BO_3 et 0,03g de NaF.

Ainsi la composition finale de l'eau de mer artificielle est la suivante :

Tableau A 2 : Composition de l'eau de mer artificielle.

	Eau de mer
	mM
Cl^-	556
SO_4^{2-}	29,5
HCO_3^-	2,4
Br^-	-
F^-	0,069
SiO_2	-
B	0,49
Na^+	482
Mg^{2+}	55
Ca^{2+}	13,9
K^+	9,3
Sr^{2+}	0,16

Annexe B : matériel et méthode

I. Méthodes d'analyse en laboratoire

A. Spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie est souvent utilisée pour mettre en évidence le degré d'oxydation ou la complexation mise en jeu. Dans cette étude, seul le neptunium a été étudié dans le but de lever une incertitude concernant le degré d'oxydation de ce dernier. Le neptunium(V) et le neptunium(IV) présentent un spectre d'absorbance caractéristique de leur degré d'oxydation. La complexation entraîne une modification du spectre d'absorbance. De plus, à condition d'être dans le domaine de la linéarité de la loi de Beer-Lambert, la concentration d'une espèce est proportionnelle à l'absorbance à la longueur d'onde caractéristique selon la relation suivante :

$$A_\lambda = \varepsilon_\lambda . l . c$$

avec ε_λ le coefficient d'extinction molaire de l'espèce à la longueur d'onde λ, et l la longueur du trajet optique.

La solution de neptunium(V) en milieu acide ainsi que les solutions d'eau de mer dopées en neptunium à 5.10^{-5} M et 10^{-5} M ont été étudiées par spectrophotométrie UV-visible. Ces mesures ont permis de déterminer le degré d'oxydation du neptunium dans l'eau de mer.

Les spectres UV-visibles des échantillons de neptunium ont été enregistrés avec un spectrophotomètre UV-visible Cary 60 sur la gamme 400 à 1100 nm dans des cuves en quartz de trajet optique 1 cm.

B. Spectrométrie γ

Les spectres d'émission γ ont été enregistrés avec un spectromètre γ (marque) équipé d'un détecteur au germanium (high purity germanium, HPGe ORTEC) avec une efficacité intrinsèque relative de 125,6 %.

Pour suivre l'accumulation des radionucléides dans l'éponge *A. cavernicola,* 50 ml de chacun des échantillons ont été conditionnés dans des flacons de 250 ml (Nalgene) placés directement en contact avec le détecteur, et à son centre, de façon à conserver la géométrie du système de

mesure quel que soit l'échantillon mesuré. Les échantillons étant dilués, ils ont été mesurés pendant 14 h. Dans le cas des pastilles d'éponges, le temps de comptage a été de 2h.

C. ICP-OES et ICP-MS

Les techniques analytiques à plasma-induit peuvent mesurer de façon quantitative les teneurs en éléments dans une solution aqueuse acide dans une gamme allant du ppm (traces) au ppb (ultra traces).Seuls les halogènes, l'oxygène, le carbone, l'hydrogène et l'azote ne peuvent être mesurés par ces appareils.

Les espèces chimiques à analyser sous l'effet du plasma sont vaporisées et subissent alors une atomisation, une ionisation et une excitation thermique qui peuvent être alors détectées soit par un spectromètre de masse (MS) soit par un spectromètre à émission optique. Dans le cas du spectromètre de masse ce sont des ions qui sont détectés. Les différents ions sont séparés selon leur rapport masse sur charge. Le spectromètre à émission optique, quant à lui, détecte des photons. L'excitation thermique provoque l'émission de lumière à des longueurs d'ondes spécifiques aux éléments.

L'ICP-MS a été utilisé afin de mesurer les concentrations en uranium dans les échantillons d'eau de mer lors de la contamination des éponges mais aussi afin de vérifier les concentrations des radionucléides dans les solutions d'eau de mer dopées analysées. La forte salinité de l'eau de mer nécessite de fortement diluer les solutions avant les mesures pour ne pas endommager l'appareil. Les échantillons doivent au minimum être dilués 50 fois. Ces mesures ont été réalisées au CEA-Marcoule.

L'ICP-OES, quant à lui, a permis d'étudier la spéciation de l'europium dans l'eau de mer et la cinétique de précipitation de l'europium. Pour cela, le précipité d'europium obtenu a été au préalable minéralisé en milieu acide par micro-ondes afin de mesurer par la suite les concentrations en europium, sodium, potassium et magnésium. Les mesures ICP-OES ont été réalisées sur un Perkin-Elmer Optima 2000 DV.

D. SLRT

L'excitation laser a été obtenue à partir d'un laser Nd:YAG (modèle Surelite Quantel) réglé à 355 nm et délivrant un faisceau laser pulsé à 10 Hz, d'énergie 10 mJ avec une durée d'impulsion de 10 ns. Les échantillons analysés par le spectrofluoromètre (F900-Edinburgh) ont été placés dans des cuves en quartz de 4 ml pour les solutions et dans des cuves de 0,35 µl pour les solides.

La détection a été effectuée par une caméra CCD (charge coupled device) (Andor Technology) refroidi par effet Peltier (-5°C) et positionnée à la sortie du polychromateur mais aussi par un photomultiplicateur (PMT) pour mesurer les temps de vie. Les temps d'acquisition après impulsion L'intégration des spectres de fluorescence et les courbes de décroissance de la fluorescence émise ont été réalisées à l'aide du logiciel Origin Pro 8.0.

II. Méthodes d'analyses sur grands instruments

A. Le rayonnement synchrotron

Le rayonnement synchrotron est un rayonnement électromagnétique émis par des électrons soumis à une accélération centripète. Les électrons sont initialement émis par un canon à électrons et accélérés dans un accélérateur linéaire : le linac (Figure A 1). Puis ces électrons sont dirigés vers un accélérateur circulaire, le booster, jusqu'à atteindre l'énergie nominale du synchrotron. Les électrons sont alors injectés dans l'anneau de stockage où ils circulent à une vitesse proche de la vitesse de la lumière. Les différents dispositifs tels que les aimants de courbures ou les onduleurs permettent de dévier la trajectoire des électrons ou de les faire osciller. Les électrons perdent ainsi de l'énergie sous forme de lumière. Ce rayonnement est ensuite dirigé et conditionné par des systèmes optiques vers les stations expérimentales au niveau des lignes de lumière.

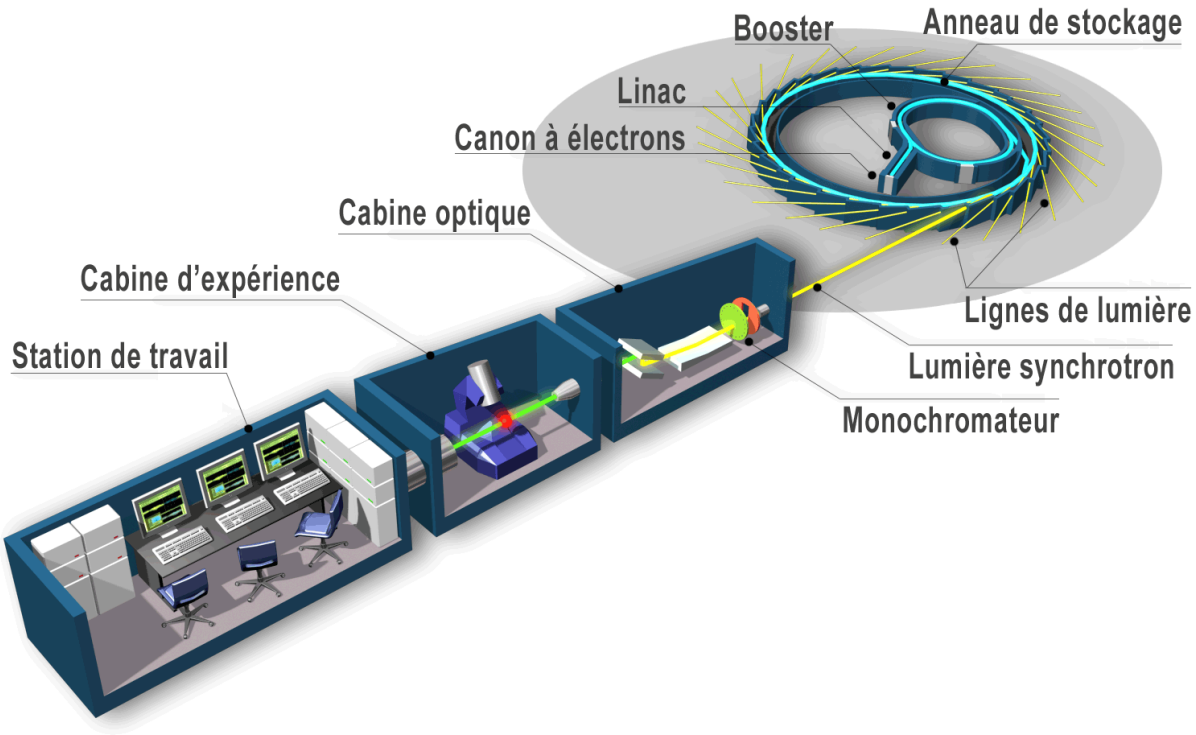


Figure A 1 : Schéma de fonctionnement d'un synchrotron (SOLEIL)

Les mesures synchrotron ont été réalisées au sein de trois synchrotrons : SOLEIL, ESRF et ALS.

Les principales caractéristiques sont répertoriées dans le tableau ci-dessous :

Tableau A 3 : Caractéristiques des synchrotrons SOLEIL, ESRF et ALS.

	SOLEIL	ESRF	ALS
Circonférence	354 m	844 m	196,8 m
Enérgie nominale	2,75 GeV	6 GeV	1,9 GeV
Courant de faisceau	500 mA	200 mA	500 mA

B. Analyse structurale par spectroscopie d'absorption X

1. Conditionnement des échantillons

La majorité des échantillons ont été analysés dans une cellule spécifique aux solutions diluées. Cette cellule a été fabriquée par l'entreprise Canaple (Sassenage). La cellule est constituée de plusieurs éléments. La cellule interne est composée d'une partie centrale en Téflon avec trois alvéoles. Une feuille de Kapton vient fermer les alvéoles. L'ensemble est scellé par deux plaques en polyétheréthercétone (PEEK) à l'aide de vis. L'étanchéité autour des alvéoles est assurée par un joint Viton. La dimension de cette cellule est visible sur la Figure A 2, les dimensions étant exprimées en mm. Cette cellule peut contenir trois échantillons de 500 µl.

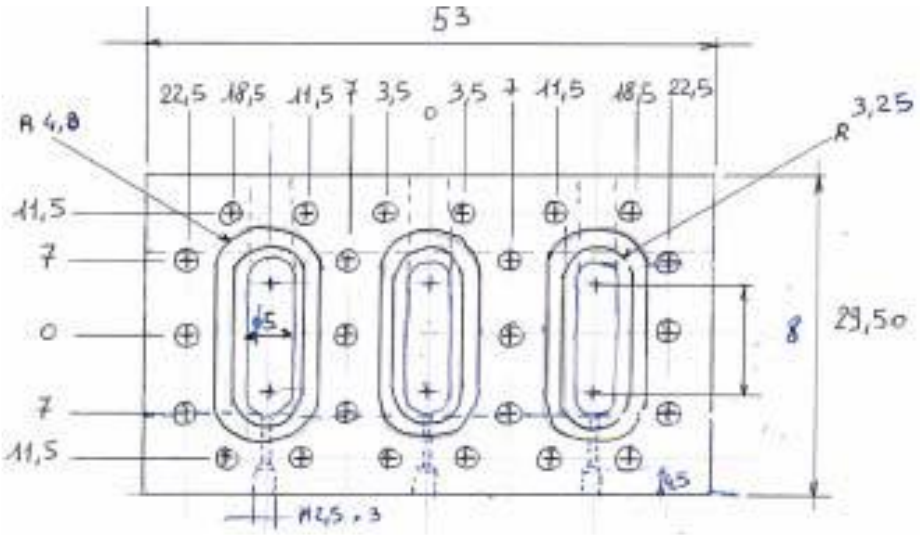


Figure A 2 : Schéma de la partie centrale de la cellule interne. Dimensions en mm

De plus, lors des mesures, un cadre de double confinement a dû être utilisé. Ce dernier permet d'accueillir une cellule interne. Le schéma du cadre est représenté sur la Figure A 3. Sur la tranche, des ouvertures ont été réalisées pour le passage du faisceau X au niveau des alveoles (5 mm de diamètre).

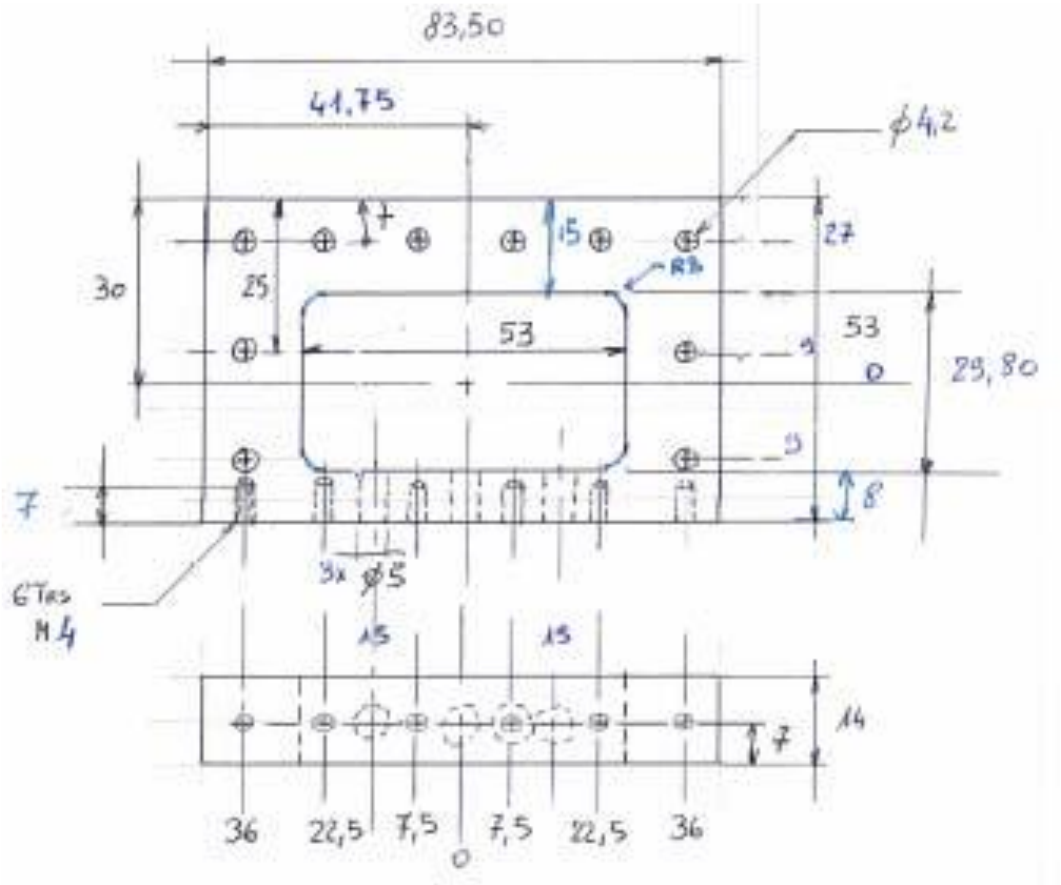


Figure A 3 : Schéma du cadre de double confinement avec sa tranche permettant une entrée latérale du faisceau. Dimensions en mm

2. Acquisition des données

Durant ce travail de thèse, les mesures EXAFS ont été réalisées sur deux lignes de lumières : la ligne MARS au synchrotron SOLEIL et la ligne LISA au synchrotron ERSRF.

Une ligne de lumière s'organise de la manière représentée en Figure A 1:

- une cabane optique : dans laquelle se trouvent le monochromateur et les miroirs,
- une cabane expérimentale : où se trouvent les dispositifs avec l'échantillon, le porte échantillon ainsi que le système de détection,
- une cabane de contrôle : qui permet de piloter les différents moteurs de tous les éléments constitutifs de la ligne et de paramétrer les acquisitions.

La description générale des lignes est résumée dans le Tableau A 4 : Description générale des lignes MARS et LISA.

Tableau A 4 : Description générale des lignes MARS et LISA.

	Ligne MARS	Ligne LISA
Domaine d'énergie	3,5 à 36 keV	4,0 à 90 keV
Résolution en énergie $\Delta E/E$	$< 3.10^{-4}$	$10^{-5} – 10^{-4}$
Optique	2 grands miroirs (Pt ou Si) Monochromateur : Si(111), Si(220)	2 grands miroirs (Pt ou Pd) Monochromateur : Si(111), Si(551)
Taille faisceau	300 x 300 µm² à 5x5 µm²	0,2x0,2 mm² à 2,0x2,0 mm²
Flux sur l'échantillon	10^{12} photons/s à 10 keV	$10^{9} – 10^{11}$ photons/s
Détecteurs	13 éléments germanium (ORTEC)	13 éléments germanium (ORTEC)

C. STXM

1. Acquisition des données

Durant ce travail de thèse, les mesures STXM ont été réalisées sur la ligne de lumière 11.0.2 à l'ALS (Berkely).

La description générale de la ligne est résumée dans le Tableau A 5 : Description générale de la ligne 11.0.2 (ALS).

Tableau A 5 : Description générale de la ligne 11.0.2 (ALS).

	Ligne 11.0.2
Domaine d'énergie	200 – 1900 eV
Résolution en énergie ΔE/E	2500 - 7500
Optique	Monochromateur (PGM)
Taille faisceau	20 x 20 nm
Flux sur l'échantillon	10^{9} photons/s
Détecteurs	Scintillateur avec PMT et APD

2. Préparation des échantillons

Pour pouvoir réaliser les mesures de microscopie STXM sur les éponges, une préparation d'échantillon est nécessaire afin que l'éponge ne se dégrade pas au cours du temps. Une des éponges a donc été rincée à l'eau de mer puis des cubes d'environ 1 mm^3 ont été découpés aux endroits d'intérêt selon le protocole schématisé dans la Figure A 4 ci-dessous. Les cubes obtenus ont été mis dans un fixateur (mélange eau de mer - glutaraldéhyde) puis séchés et inclus dans une résine.

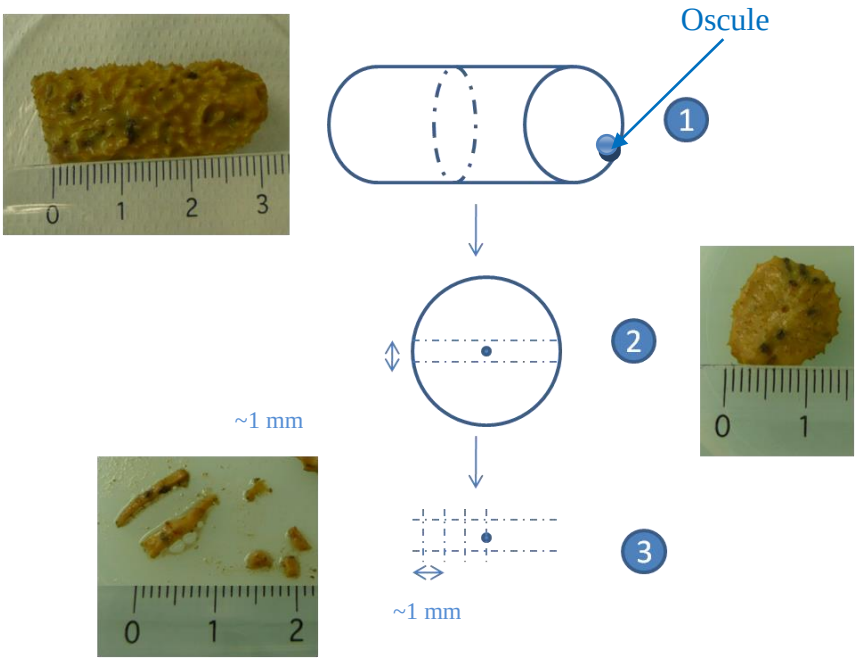


Figure A 4 : Protocole de découpe de l'éponge pour le microtome.

III. Cycle de fonctionnement des aquariums

La méthodologie générale de contamination est représentée sur la Figure A 5. Toutes les expériences de contamination ont été effectuées dans les mêmes conditions. L'eau de mer utilisée a été directement prélevée à 30 m des côtes de Monaco et a été refroidie à 14°C. De plus, l'habitat des éponges *A. cavernicola* étant des caves, l'aquarium a été caché de la lumière pendant toute l'expérience.

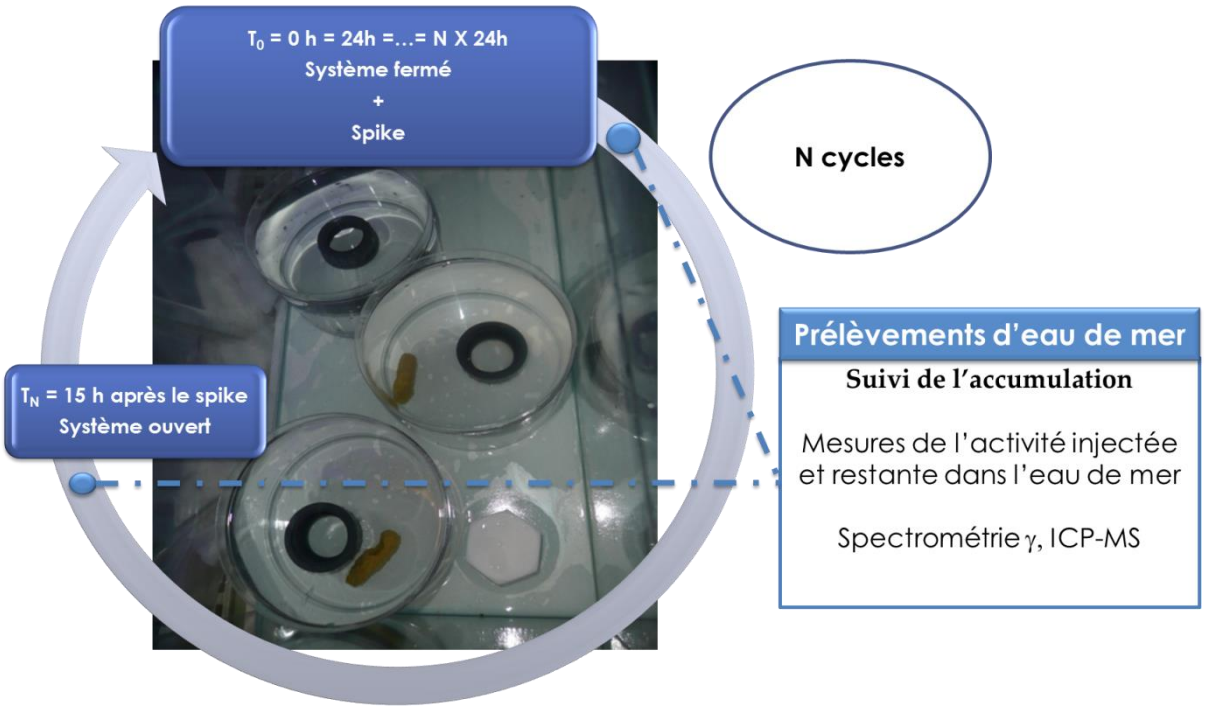


Figure A 5 : Schématisation de l'expérience d'accumulation de l'europium par les éponges.

Le cycle de contamination se déroule de la façon suivante :

1) L'aquarium est vidé ne laissant de l'eau que dans les boîtes en plastiques
2) Ajout du spike
3) Prélèvement de 50 ml d'eau de mer après homogénéisation (après 15 min) dans chaque boîte en plastique
4) Après 15 h : prélèvement de 50 ml d'eau de mer. La différence entre l'activité introduite et l'activité mesurée après 15 h permet de déterminer la potentielle quantité accumulée par l'éponge.
5) Le système d'eau est ouvert en continu pendant 9h pour la survie des éponges.
6) Après ces 9h, le circuit est fermé et l'aquarium est de nouveau vidé.

Ce cycle est alors répété plusieurs fois.

Dans le but d'évaluer la potentielle adsorption de l'europium sur les boîtes, un blanc a été réalisé consistant à réaliser la même expérience sur une boîte vide.

Le contrôle sur le blanc, a révélé que moins de 0,5 Bq étaient adsorbés sur les boîtes en plastique pendant l'expérience. A la fin de la contamination, les éponges ont été rincées à l'eau claire afin d'éliminer l'europium adsorbé et l'eau résiduelle.

IV. Séparation des cellules

Pour obtenir plus d'informations sur la localisation de l'europium dans l'éponge, les éponges contaminées ont été fractionnées par gradient de centrifugation. Cette séparation permet de séparer les cellules des bactéries et du squelette de l'éponge. Pour cela, l'éponge a été coupée en petits morceaux puis mise dans un mélange d'eau de mer artificielle sans calcium ni magnésium avec 3 % de glutaraldéhyde. Après homogénéisation, la solution a été centrifugée à différentes vitesses afin de récupérer les fractions désirées (Figure A 6) [139-142].

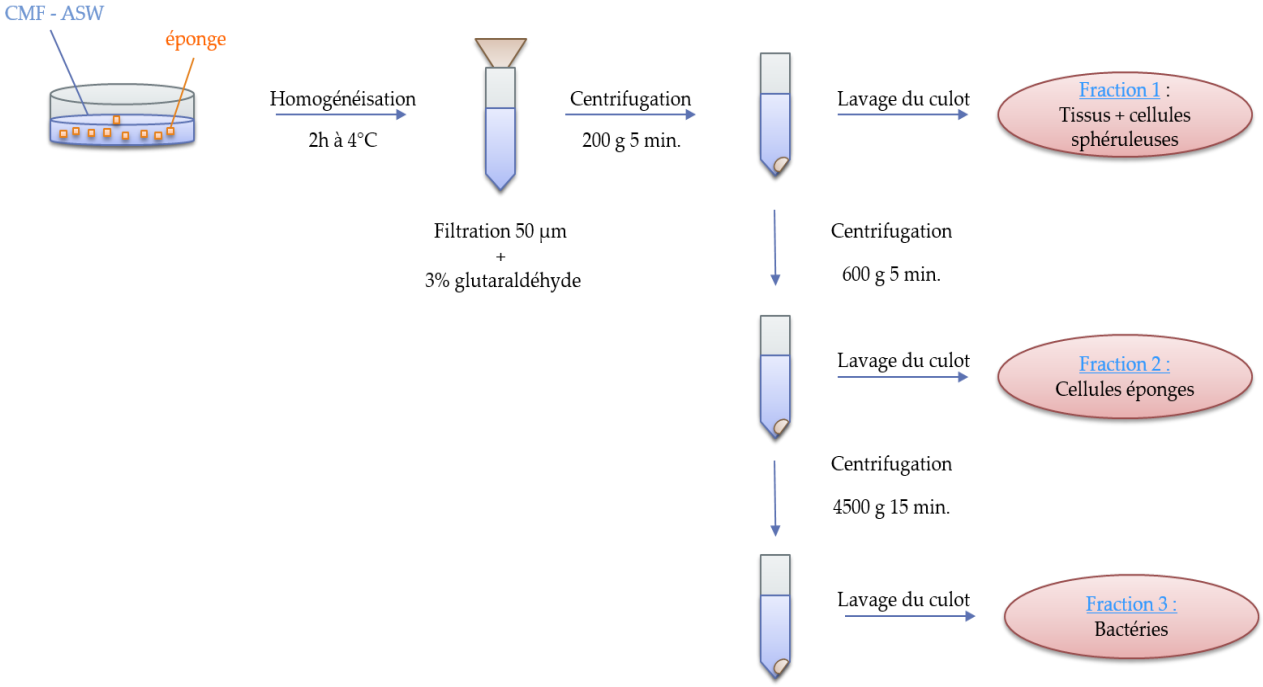


Figure A 6 : Schéma de séparation des cellules.

Les fractions récupérées ont été mesurées par spectrométrie γ dans le but d'évaluer la fraction contenant le plus d'europium.

Annexe C : Modélisation de la spéciation

I. Constantes d'équilibres utilisées lors des calculs de spéciation

Les constantes d'équilibres utilisées lors des différents calculs de spéciation sont répertoriées ci-dessous pour chaque radionucléide étudié. Ces constantes sont données pour une force ionique nulle, à 25° C et sous une pression de 1 bar.

A. Constantes d'équilibres pour Am^{3+}

Equilibres	$Log_{10}K°$	Reference
$Am^{3+} + CO_3^{2-} = AmCO_3^+$	7,80	[61]
$Am^{3+} + 2\ CO_3^{2-} = Am(CO_3)_2^-$	12,3	[61]
$Am^{3+} + 3\ CO_3^{2-} = Am(CO_3)_3^{3-}$	15,2	[61]
$Am^{3+} + H_2O = AmOH^{2+} + H^+$	-6,40	[61]
$Am^{3+} + 2\ H_2O = Am(OH)_2^+ + 2H^+$	-14,1	[61]
$Am^{3+} + 3\ H_2O = Am(OH)_3\ (aq) + 3H^+$	-25,7	[61]
$Am^{3+} + NO_3^- = AmNO_3^{2+}$	1,33	[61]
$Am^{3+} + SO_4^{2-} = AmSO_4^+$	3,85	[61]
$Am^{3+} + 2\ SO_4^{2-} = Am(SO_4)_2^-$	5,40	[61]
$Am^{3+} + Cl^- = AmCl^{2+}$	1,05	[61]
$Am^{3+} + F^- = AmF^{2+}$	3,40	[61]
$Am^{3+} + 2F^- = AmF_2^+$	5,80	[61]

B. Constantes d'équilibres pour Eu^{3+}

Equilibrium	$Log_{10}K°$	Reference
$Eu^{3+} + HCO_3^- = EuCO_3^+ + H^+$	-2,41	[40-41]
$Eu^{3+} + 2\ HCO_3^- = Eu(CO_3)_2^- + 2H^+$	-8,40	[40-41]
$Eu^{3+} + 3\ HCO_3^- = Eu(CO_3)_3^{3-} + 3\ H^+$	-16,8	[40-41]
$Eu^{3+} + H_2O = EuOH^{2+} + H^+$	-7,91	[40-41]
$Eu^{3+} + 2\ H_2O = Eu(OH)_2^+ + 2H^+$	-14,9	[40-41]
$Eu^{3+} + 3\ H_2O = Eu(OH)_3\ (aq) + 3H^+$	-24,1	[40-41]
$Eu^{3+} + NO_3^- = EuNO_3^{2+}$	0,875	[40-41]
$Eu^{3+} + SO_4^{2-} = EuSO_4^+$	3,64	[40-41]
$Eu^{3+} + 2\ SO_4^{2-} = Eu(SO_4)_2^-$	5,47	[40-41]
$Eu^{3+} + Cl^- = EuCl^{2+}$	0,309	[40-41]
$Eu^{3+} + F^- = EuF^{2+}$	4,44	[40-41]
$Eu^{3+} + 2F^- = EuF_2^+$	7,71	[40-41]

C. Constantes d'équilibres pour $\{UO_2^{2+}\}$

Equilibres	$Log_{10}K°$	Reference
$UO_2^{2+} + CO_3^{2-} = UO_2CO_3(aq)$	9,94	[61]
$UO_2^{2+} + 2\ CO_3^{2-} = UO_2(CO_3)_2^{2-}$	16,61	[61]
$UO_2^{2+}+3CO_3^{2-}=UO_2(CO_3)_3^{4-}$	21,84	[61]
$3UO_2^{2+}+6CO_3^{2-}=(UO_2)_3(CO_3)_3^{2-}$	54	[61]
$UO_2^{2+}+3CO_3^{2-}+Ca^{2+}=CaUO_2(CO_3)_3^{2-}$	27,18 25,4 *	[143] [144]
$UO_2^{2+}+3CO_3^{2-}+2Ca^{2+}=Ca_2UO_2(CO_3)_3(aq)$	30,70 30,6*	[143] [61, 72]
$UO_2^{2+}+3CO_3^{2-}+Mg^{2+}=MgUO_2(CO_3)_3^{2-}$	26,11	[143]
$UO_2^{2+}+3CO_3^{2-}+Sr^{2+}=SrUO_2(CO_3)_3^{2-}$	26,86	[143]
$2UO_2^{2+}+CO_3^{2-}+3H_2O=(UO_2)_2(OH)_3CO_3^{-}+3H^{+}$	-0,85	[61]
$3UO_2^{2+}+CO_3^{2-}+3H_2O=(UO_2)_3(OH)_3CO_3^{+}+3H^{+}$	0,65	[61]
$11UO_2^{2+}+6CO_3^{2-}+12H_2O=(UO_2)_{11}(OH)_{12}(CO_3)_6^{2-}+12H^{+}$	36,49	[61]
$2F^{-}+UO_2^{2+}=UO_2F_2(aq)$	8,83	[61]
$3F^{-}+UO_2^{2+}=UO_2F_3^{-}$	10,90	[61]
$4F^{-}+UO_2^{2+}=UO_2F_4^{2-}$	11,84	[61]
$Cl^{-}+UO_2^{2+}=UO_2Cl^{+}$	0,17	[61]
$Br^{-}+UO_2^{2+}=UO_2Br^{+}$	0,22	[61]
$SO_4^{2-}+UO_2^{2+}=UO_2SO_4(aq)$	3,15	[61]
$2SO_4^{2-}+UO_2^{2+}=UO_2(SO_4)_2^{2-}$	4,14	[61]
$NO_3^{-}+UO_2^{2+}=UO_2NO_3^{+}$	0,30	[61]
$PO_4^{3-}+UO_2^{2+}=UO_2PO_4^{-}$	13,23	[61]
$UO_2^{2+} + HPO_4^{2-} = UO_2HPO_4(aq)$	7,24	[61]

*valeurs servant de guide mais non reconnue dans la base de données NEA-TDB

D. Constantes d'équilibres pour {NpO_2^+}

Equilibres	$Log_{10}K°$	Reference
$NpO_2^+ + CO_3^{2-} = NpO_2CO_3^-$	4,962	[61]
$NpO_2^+ + 2\ CO_3^{2-} = NpO_2(CO_3)_2^{3-}$	6,534	[61]
$NpO_2^+ + 3CO_3^{2-} = NpO_2(CO_3)_3^{5-}$	5,500	[61]
$NpO_2^{2+} + 2CO_3^{2-} + H_2O = NpO_2(CO_3)_2OH^{4-} + H^+$	-5,305	[61]
$F^- + NpO_2^+ = NpO_2F(aq)$	1,2	[61]
$SO_4^{2-} + NpO_2^+ = NpO_2SO_4^-$	0,44	[61]
$HPO_4^{2-} + NpO_2^+ = NpO_2PO_4^{2-} + H^+$	-5,38	[145]
$HPO_4^{2-} + NpO_2^+ = NpO_2HPO_4^-$	2,95	[61]

II. Concentrations moyennes pour les métaux et autres espèces présents dans l'eau de mer

Ce tableau répertorie les concentrations des métaux et autres espèces dont les concentrations sont inférieures à celles des ions majoritaires de l'eau de mer. Ces concentrations ont été prises en compte dans les calculs de spéciation.

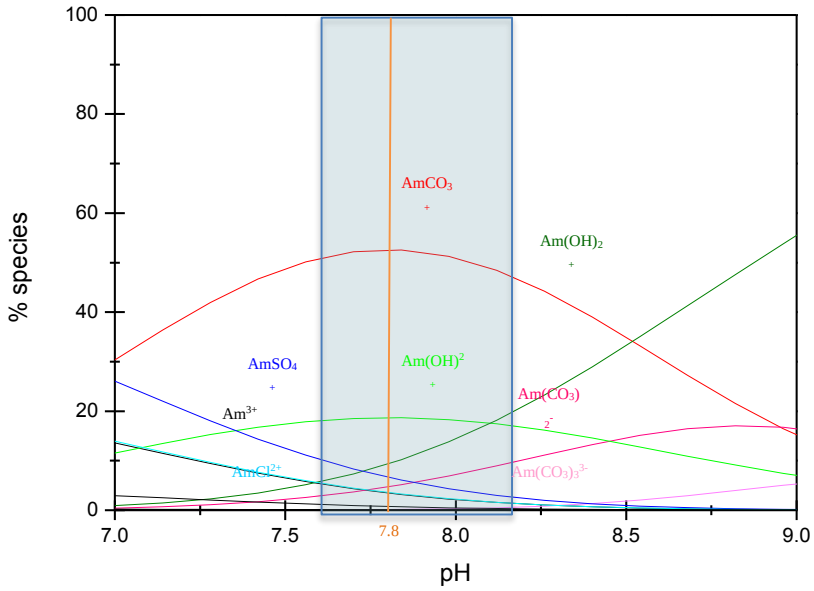
Tableau A 6 : Concentrations moyennes des métaux dans l'eau de mer.

Métaux	Concentrations (nM)	Réferences
Zn	8,1	[146, 147]
Cu	3,3	[146, 148]
Fe	2,7	[148]
Co	0,11	[149]
Pb	0,17	[150]
Cd	1,0	[146, 148, 151]
Ni	11	[146, 148, 151]
Hg	$8,5\ 10^{-3}$	[146, 148, 151]
Al	38	[152]
I	500	[153]
B	0,4 mM	[154]

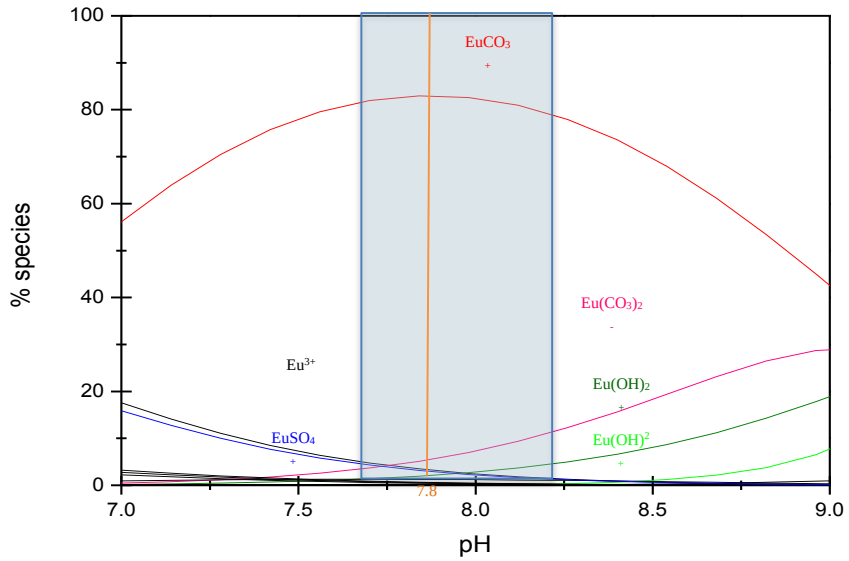
III. Diagrammes de spéciation aux concentrations naturelles

Des calculs de spéciation ont également été réalisés aux concentrations naturelles afin de contrôler que le dopage à 5.10^{-5} M n'impacte pas sur la spéciation. Les diagrammes obtenus à 4.10^{-17} M pour l'américium et l'europium, à 10^{-8} pour l'uranium et à 10^{-14} M pour le neptunium sont représentés ci-dessous.

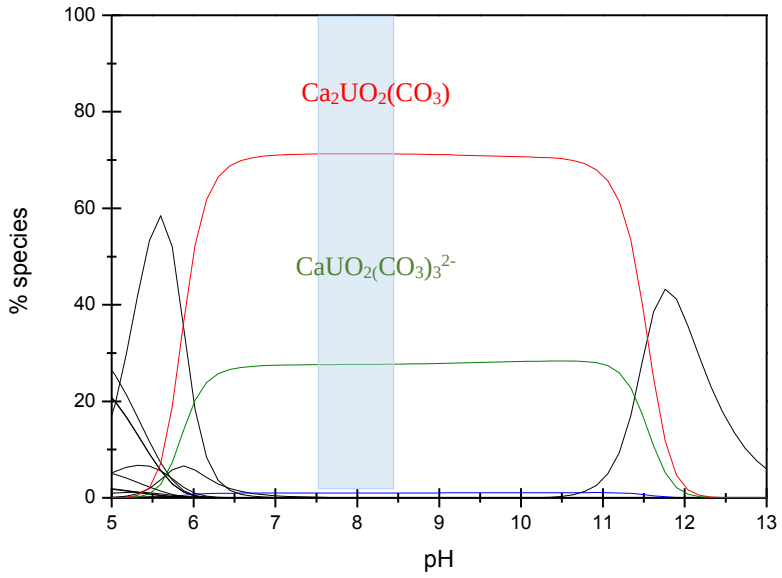
A. Diagramme de spéciation de l'américium à 4.10^{-17} M dans l'eau de mer



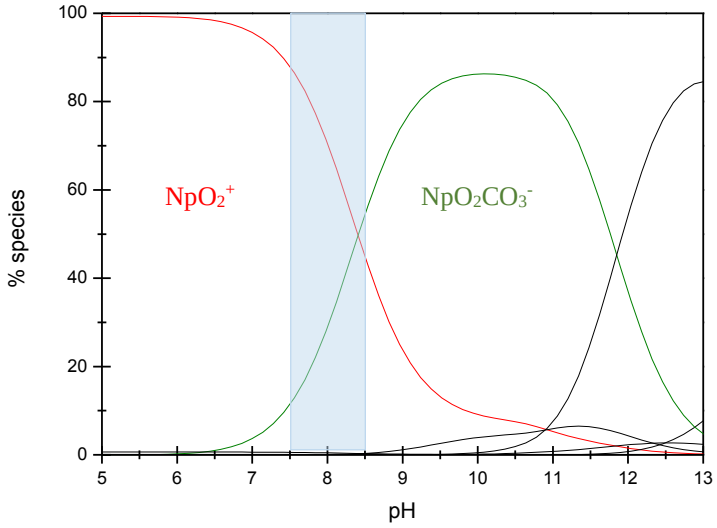
B. Diagramme de spéciation de l'europium à 4.10^{-17} M dans l'eau de mer



C. Diagramme de spéciation de l'uranium à 10^{-8} M dans l'eau de mer



D. Diagramme de spéciation du neptunium à 10^{-14} M dans l'eau de mer



Annexe D : Etude IR des carbonates d'europium

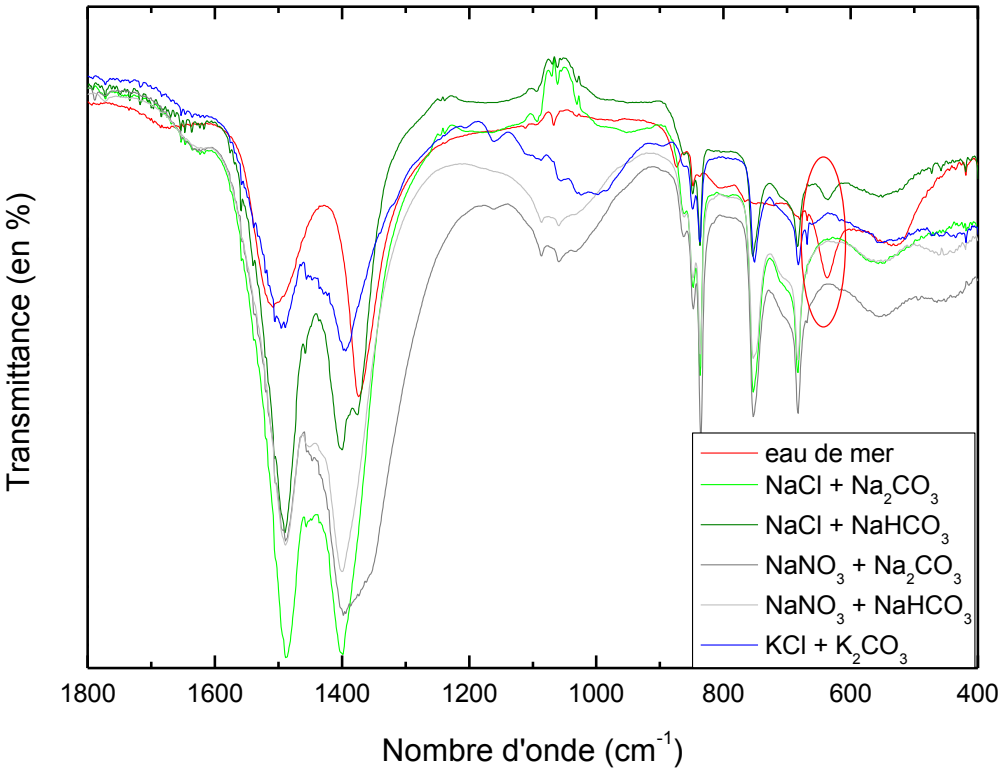


Figure A 7 : Spectres infrarouge des carbonates d'europium en milieu NaCl, KCl et $NaNO_3$ comparés au spectre du précipité obtenu dans l'eau de mer dopée en europium.

Annexe F : spectres XANES à 10^{-6} M de l'uranium et du neptunium

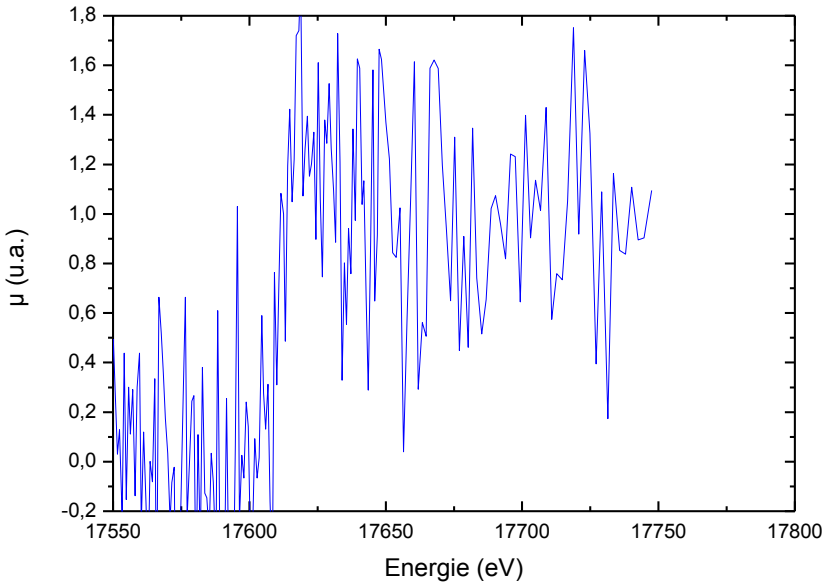


Figure A 8 : Spectre XANES du neptunium au seuil L_{III} à 10^{-6} M pour un temps total d'acquisition de 3,6 h

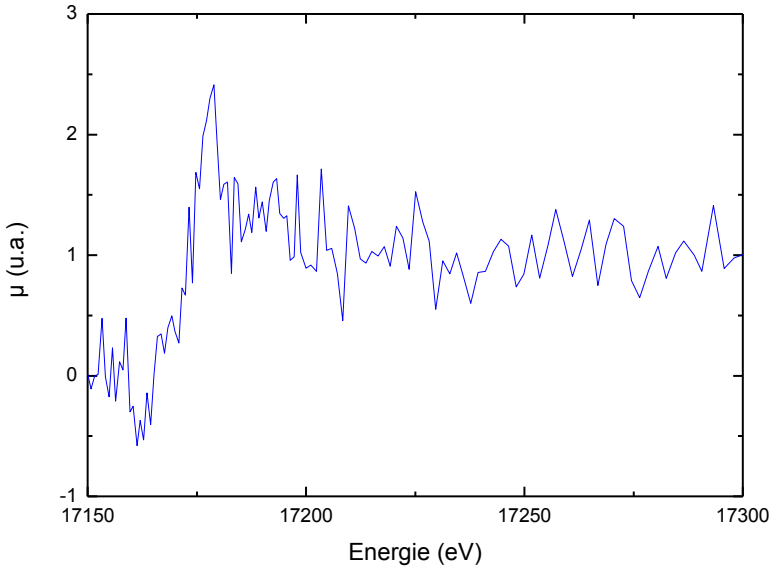


Figure A 9 : Spectre XANES de l'uranium au seuil L_{III} à 10^{-6} M pour un temps total d'acquisition de 12 h