

Analyses pour la santé et l'environnement : enjeux et perspectives

La chimie analytique se confronte à un défi très stimulant, celui de caractériser les espèces présentes dans l'environnement (eaux, sols, air) ou le milieu biologique susceptible de les incorporer. Il s'agit d'un pari ambitieux à plusieurs titres : d'abord en raison du caractère complexe et hétérogène des milieux étudiés mais aussi parce que les éléments chimiques détectés (radioactifs ou non) se présentent souvent à l'état d'ultra-traces (donc difficilement repérables) et sous des formes physico-chimiques extrêmement variées. Les chercheurs doivent ainsi identifier et quantifier les éléments présents, même à de très faibles concentrations, par des techniques d'analyse, de préférence *in situ*, mais également déterminer toutes les formes chimiques au sein desquelles l'élément peut s'engager. Les chimistes nomment «spéciation», les analyses développées pour affiner leurs connaissances sur ces formes qui déterminent la capacité des espèces à migrer dans l'environnement, leur biodisponibilité et donc, au final, leur toxicité. Les enjeux de cette spéciation n'ont pas échappé à l'Union européenne qui a voulu inclure la connaissance de l'ensemble des formes chimiques dans la directive européenne REACH⁽¹⁾ visant à protéger les populations des risques industriels liés à la chimie.

Méthodologie de la spéciation

La spéciation associe différentes techniques d'analyse avec des codes de calcul spécialement conçus pour déterminer la répartition des formes chimiques à partir de la composition du milieu et des équilibres physico-chimiques mis en jeu. La difficulté consiste à préserver l'intégrité structurale des différentes espèces de manière à les identifier sans ambiguïté, les quantifier, voire

(1) Entrée en vigueur le 1^{er} juin 2007, la directive européenne REACH (pour *Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals*) est un système intégré d'enregistrement, d'évaluation, d'autorisation et de restriction des substances chimiques. Elle a pour objectif d'améliorer la protection de la santé humaine et de l'environnement contre les risques que peuvent poser les produits chimiques tout en maintenant la compétitivité et en renforçant l'esprit d'innovation de l'industrie chimique européenne. Les exigences relatives à la directive REACH sont gérées par une Agence européenne des produits chimiques.

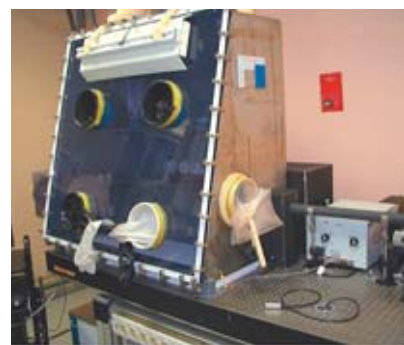
les cartographier. Deux catégories de techniques analytiques complémentaires existent pour y parvenir.

Les techniques analytiques directes

Celles-ci permettent de travailler immédiatement sur un échantillon sans aucune préparation particulière préalable comme avec les techniques spectroscopiques ou la spectrométrie de masse.

- La spectroscopie laser à résolution temporelle (SLRT), appelée aussi fluorescence laser résolue en temps, se présente comme une technique particulièrement appropriée pour sonder l'environnement immédiat de l'ion. Non-intrusif parce qu'il utilise exclusivement des photons, ce procédé exploite les propriétés de fluorescence de certains éléments, notamment les modifications de cette fluorescence liées aux variations de l'environnement chimique de l'élément. La SLRT a démontré son efficacité pour caractériser les espèces et déterminer des constantes de complexation (figure 1 et encadré).

- La résonance magnétique nucléaire (RMN) se trouve plus particulièrement dédiée au recueil d'informations sur la structure et la



Appareil de spectrofluorimétrie laser à résolution temporelle (SLRT), en boîte à gants.

stœchiométrie des complexes ainsi qu'à la détermination des constantes de complexation ; elle reste néanmoins une technique qui pêche par sa sensibilité parfois insuffisante.

- La spectrométrie infrarouge (IR) sert à déterminer, par absorption moléculaire du rayonnement IR, la nature des liaisons chimiques composant une molécule et donc à établir des hypothèses structurales. En raison du caractère parfois très complexe et spécifique d'un spectre IR, celui-ci constitue une véritable carte d'identité moléculaire.

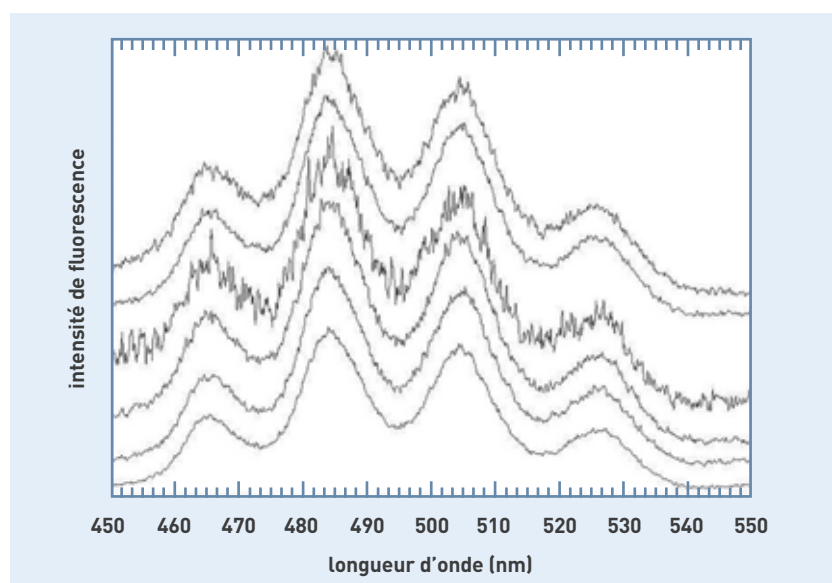
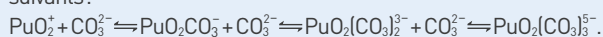


Figure 1. Spectres de fluorescence d'uranium (VI), obtenus par spectrofluorimétrie laser à résolution temporelle (SLRT), dans 6 échantillons d'eaux naturelles de puits prélevés en Finlande où ces eaux étaient naturellement riches en uranium. L'analyse des bandes d'émission à 465, 484, 505 et 526 nm confirme la spéciation, calculée à l'aide de données thermodynamiques, de l'U (VI) majoritairement sous forme de complexes ternaires calcium-uranyle-carbonate.

MÉMO B

La complexation en quelques mots et formules

Un élément chimique métallique en solution dans l'eau et électriquement chargé s'entoure de molécules de charge opposée, qu'on appelle **ligands**, avec une force (affinité) qui dépend de la nature des liaisons chimiques qui seront créées lors de l'interaction entre le **cation** métallique et l'**anion**. Quand l'affinité n'est pas trop forte, il existe une succession d'équilibres chimiques, fonction de la concentration en ligands, qui tend à lier de plus en plus de ligands. Par exemple, le **plutonium pentavalent** (PuO_2^+), en solution **alcaline**, tendra à se lier avec des anions carbonates selon les équilibres suivants :



Par exemple, selon la figure 2, on aura à **pH = 7,5** les quatre espèces chimiques du plutonium pentavalent simultanément présentes en solution, à des concentrations relatives, différentes les unes par rapport aux autres : 5% de PuO_2^+ et $\text{PuO}_2(\text{CO}_3)_3^{5-}$, 20% de $\text{PuO}_2(\text{CO}_3)_2^{3-}$ et 70% de $\text{PuO}_2\text{CO}_3^-$.

- La **spectrométrie de diffusion Raman** va fournir les informations sur la structure chimique et la composition moléculaire d'un échantillon en le soumettant à un rayonnement **laser** puis en analysant la lumière ainsi diffusée. Il s'agit d'une méthode non destructive complémentaire à la **spectroscopie infrarouge**.

- La **spectrométrie d'absorption de rayons ultraviolets et visibles** repose, quant à elle, sur l'absorption des radiations lumineuses par la matière. Elle s'applique pour mesurer des concentrations d'espèces chimiques en solution aqueuse ou autres.

- Les techniques **électrochimiques**, basées sur les phénomènes d'**oxydo-réduction** se produisant aux **électrodes** remplissent deux missions : déterminer la biodisponibilité des éléments puis étudier leurs complexes avec des **ligands** organiques ou inorganiques.

- La **spectrométrie de masse** consiste en un ensemble de techniques d'analyse capables de détecter et d'identifier finement, soit des éléments (spectrométrie de masse inorganique), soit des molécules (spectrométrie

de masse organique ou moléculaire). Dans ce cas, la caractérisation de la structure chimique des molécules s'opère de deux manières : ou par fragmentation, ou en mesurant leur masse moléculaire avec une extrême précision. La spectrométrie de masse organique offre de nombreuses combinaisons entre les différentes sources d'**ionisation** et les différents analyseurs. Grâce à la **source électro-spray** (pour **Electro Spray Ionization/ESI**), la plus fréquemment utilisée, les chercheurs obtiennent, par exemple, des ions multichargés, particulièrement intéressants pour caractériser les **macromolécules**.

Les techniques analytiques indirectes

Elles s'appuient sur le couplage de techniques séparatives (**chromatographique** ou **électrocinetique**) et de détection d'éléments. Ce couplage rend possible la combinaison de l'étape de purification/séparation des espèces avec des techniques de détection extrêmement sensibles.

Aujourd'hui, les chercheurs étudient également la spéciation à partir de microéchantillons, à des niveaux de concentrations extrêmement faibles, dans des milieux complexes, biologiques ou environnementaux. Cette avancée découle à la fois :

- des progrès réalisés dans le domaine de la **nanochromatographie** et de l'**électrophorèse capillaire** ; avec celle-ci, les chercheurs peuvent séparer les espèces chimiques en fonction du rapport charge/taille, par migration différentielle, sous l'action d'un champ électrique ; ils peuvent ainsi séparer les espèces d'un élément donné, selon leur **état d'oxydation** ou leur forme chimique, tout en lui conservant son état chimique initial ;

- du couplage de ces méthodes analytiques avec des techniques de détection d'éléments – par exemple, l'**ICPMS** (pour **Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**), ou de molécules comme l'**ESI-MS** (pour **Electro Spray Ionization Mass Spectrometry**). Grâce à l'ICPMS, méthode d'analyse élémentaire et **isotopique** extrêmement sensible, les chercheurs peuvent désormais déterminer la spéciation avec des concentrations pouvant atteindre $10^{-12} \text{ mol.L}^{-1}$ (figure 2) ; les développements actuels tendent donc au couplage des différentes techniques séparatives avec les spectrométries de masse organique et inorganique seules capables de fournir simultanément les deux types d'information. Il s'agit d'un procédé particulièrement intéressant, notamment pour sonder à la fois le métal (inorganique) et le ligand (organique).

L'intérêt de ces différentes techniques relève de leur complémentarité dans la nature des informations obtenues mais aussi dans la gamme des concentrations accessibles. Ainsi, grâce à un large panel de techniques analytiques, les chercheurs peuvent déterminer, avec précision, la spéciation d'un élément dans les milieux naturels environnementaux ou biologiques. Enfin, les techniques d'imagerie de haute résolution, basées sur l'utilisation de faisceaux d'ions ou du **rayonnement synchrotron**, viennent compléter cette palette de techniques d'analyse physico-chimiques avec pour objectif d'établir la distribution des éléments dans les compartiments biologiques.

Techniques d'analyse in situ

Restait encore à s'affranchir des différentes étapes de prélèvement, de conservation et de traitement des échantillons – étapes longues, complexes et coûteuses, susceptibles d'apporter des biais de mesure. Dans cette optique, le Département de physico-chimie développe de nombreux systèmes innovants dédiés aux analyses *in situ* et en temps réel. Ces systèmes s'appuient sur la spectroscopie et sur l'utilisation de lasers pour concevoir et mettre en œuvre des équipements robustes, facilement transportables, avec des performances proches de celles obtenues en laboratoire. Sur la palette des récents développements en matière de caractérisation des polluants figurent :

- la **CRDS** (pour **Cavity Ring Down Spectroscopy**), procédé utilisé pour déceler les **traces** de gaz par spectroscopie d'absorption laser, utilisant des **diodes lasers**. Grâce à cette technique, illustrée ci-après, compacte et robuste, les chercheurs parviennent à mesurer



Couplage d'un appareil d'électrophorèse capillaire EC (à gauche) avec l'ICPMS (pour **Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry**/à droite).

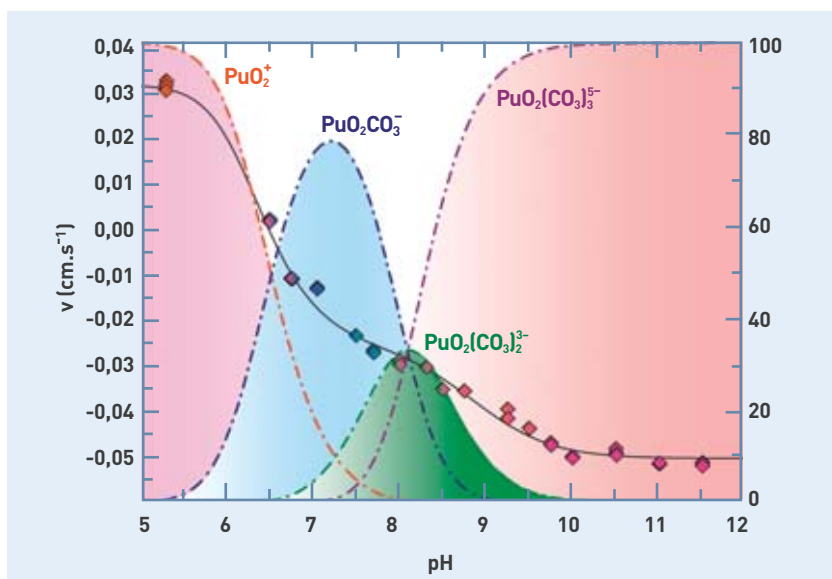


Figure 2. Relation entre la vitesse v (exprimée en centimètre par seconde) de l'ion plutonium (♦) détectée par EC-ICPMS (axe y, à gauche) pour un pH de la solution variant de 5 à 12 (axe x) et la proportion relative des différentes espèces carbonatées (rose vif pour le PuO_2^+ , bleu pour le $\text{PuO}_2\text{CO}_3^-$, vert pour le $\text{PuO}_2(\text{CO}_3)_2^{2-}$ et rose saumon pour le $\text{PuO}_2(\text{CO}_3)_3^{5-}$ du plutonium pentavalent selon le même pH (axe y, à droite). Les espèces carbonatées du plutonium PuO_2^+ sont les espèces les plus probables dans les eaux de surface.

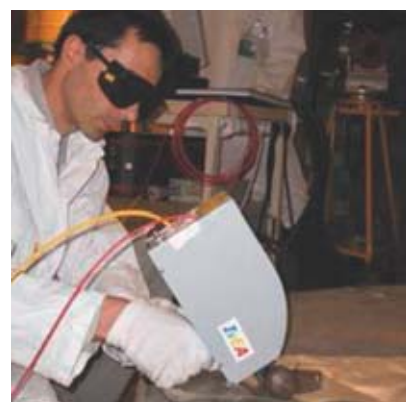
sélectivement, et en temps réel, des traces de petites molécules gazeuses comme le **monoxyde de carbone** (CO), le **sulfure d'hydrogène** (H_2S), le **méthane** (CH_4), l'**ammoniac** (NH_3), l'oxyde d'azote (NO), le **formaldéhyde** (CH_2O) et cela, sur des volumes de l'ordre de 10cm^3 , et avec des limites de détection inférieures à $5.10^{-11}\text{mol.L}^{-1}$. Originellement dédiée aux secteurs du nucléaire et de la protection de l'environnement, cette technique a trouvé des développements inédits, notamment en médecine. En effet, ce type d'analyse, appliqué à l'air expiré par un patient, peut révéler la présence de cellules malignes dans le corps humain et donc contribuer à la détection des cancers.



Appareil embarqué de CRDS (pour *Cavity Ring Down Spectroscopy*), dédié à l'analyse *in situ* de polluants gazeux. Il s'agit d'un système développé par le Département de physico-chimie (DPC) situé sur le centre du CEA de Saclay, en collaboration avec l'université Joseph Fourier de Grenoble.

- La spectroscopie d'émission sur plasma produit par laser (LIBS pour *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*) est un dispositif initialement développé pour effectuer des analyses en milieu hostile – par exemple, l'analyse à distance de matériaux radioactifs. Il consiste à focaliser un faisceau laser sur un matériau pour vaporiser une faible quantité de matière (inférieure au μg) et créer ainsi un microplasma. Ensuite, en se désexcitant, les **atomes** et les ions ainsi éjectés émettent un spectre de **rayons UV et visibles**, constitué de raies dont la longueur d'onde et l'intensité permettent d'identifier et de quantifier les éléments présents dans l'échantillon. Il s'agit d'un moyen particulièrement efficace pour l'analyse multi-élémentaire de tous les types de matériaux et cela jusqu'à des concentrations de l'ordre de la partie par million (ppm ou microgramme par gramme) pour les éléments les plus sensibles.

- Les «laboratoires sur puce», microsystèmes d'analyse de faibles dimensions (seulement quelques cm) d'abord dédiés à la biologie, notamment avec les **biopuces** pour le diagnostic médical, trouvent aujourd'hui de nouveaux développements en matière de protection de l'environnement. Cette avancée vient de leur capacité à intégrer les différentes étapes de préparation (micro-extraction) et de séparation (électrochromatographie ou électrophorèse capillaire) des constituants dans des microcanaux



Système LIBS (pour *Laser Induced Breakdown Spectroscopy*) à fibres optiques pour l'analyse des éléments, commercialisé par la Start-up IVEA du CEA.

de quelques dizaines de micromètres – la détection s'appuyant, quant à elle, sur les techniques spectrométriques (fluorescence, **chimiluminescence**, absorption des rayons UV et visibles...) ou électrochimiques. Ces microsystèmes s'avèrent particulièrement efficaces pour l'analyse des traces métalliques et des polluants organiques. L'explication tient au fait que les capteurs (chimiques, biologiques, optiques...) automatisables permettent des analyses extrêmement rapides en cas de pollution accidentelle. Il s'agit de procédés en plein essor dont les chercheurs attendent un accès direct à l'analyse de traces dans un milieu aussi complexe que celui de l'environnement.

- Les méthodes d'immuno-analyse basées sur l'utilisation d'**anticorps** s'appliquent notamment à la détection et à la quantification de molécules biologiques avec lesquelles elles vont former des complexes spécifiques. Ces exemples non-exhaustifs de développement de techniques analytiques *in situ* représentent vraisemblablement le futur en matière de contrôle et de surveillance de l'environnement. Actuellement, les efforts de R&D se concentrent sur des systèmes autonomes, miniaturisés, plus rapides, sensibles et sélectifs, destinés aux mesures absolues et relatives, capables d'assurer le suivi des variations spatio-temporelles.

> Frédéric Chartier

Département de physico-chimie
Direction de l'énergie nucléaire
CEA Centre de Saclay

> Jean Aupiais

Département analyse, surveillance, environnement
Direction des applications militaires
CEA Centre DAM Ile-de-France