



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

A mon père Marcel
A ma mère Anne Marie
A mes frères Stéphane et Hervé

A ma p'tite femme Céline

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Spectrométrie de Masse et Chimie Laser de l'Université de Metz, dirigé par Monsieur le Professeur J.F. Muller. Je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude pour m'avoir permis de réaliser cette recherche au sein de son laboratoire et pour m'avoir communiqué sa passion pour la Recherche. Le déroulement de ma thèse s'est ainsi effectué dans les meilleures conditions grâce à sa disponibilité, ses critiques constructives, ses encouragements et ses précieux conseils. Je le remercie également de m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Je remercie particulièrement Monsieur A. Hachimi, Docteur de l'Université de Metz, pour m'avoir, de par son esprit d'entreprendre, sa réflexion, ses compétences et son dynamisme, donné le courage et l'assurance de mener à bien cette recherche.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur P. Shirali, Docteur de l'Université de Lille, pour son dévouement sans faille à mon égard, ses explications de grandes valeurs dans le domaine de la biologie et de la toxicologie et son dynamisme. Je tiens à lui affirmer ma gratitude pour son aide précieuse et ses bons conseils.

Je tiens à remercier également Monsieur E. Millon, Professeur à l'Université de Metz, pour son aide précieuse tout au long de ce travail et ses compétences en thermodynamique ainsi que Monsieur J.J. Gaumet, Maître de Conférence à l'Université de Metz, pour ses continuels encouragements.

Je tiens à remercier Madame M. Fléres (formidable secrétaire) et Mademoiselle S. Peter, docteur de l'Université de Metz, pour leur gentillesse et leur bonne humeur qui ont été pour moi un soutien incomparable tout au long de cette recherche.

J'exprime également ma gratitude à Monsieur G. Krier, Ingénieur de Recherche et Monsieur L. Vernex-Loset, Ingénieur d'Etudes qui ont, dans la vie quotidienne du laboratoire, contribué à la réalisation de ce travail par leur

excellente assistance tant au niveau technique qu'au niveau exploitation des résultats et leur dévouement sans limite.

J'adresse mes remerciements les plus respectueux à Messieurs J.P. Morizur, Directeur de Recherche CNRS du Laboratoire de Chimie Organique Structurale à Paris et P. Garrigue, Directeur de Recherche CNRS du Laboratoire de Photophysique et Photochimie Moléculaire de l'Université Bordeaux I, qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir accepter de juger ce travail.

J'exprime toute ma reconnaissance à Messieurs J.M. Haguenöer, Professeur à l'Université de Lille, J.M. Poncin, Docteur Coordonateur de la Politique Santé du Travail du groupe Usinor Sacilor (Rombas) et F. Klein, Directeur adjoint du L.E.C.E.S. (Maizières les Metz), qui m'ont fait l'honneur de faire partie de mon jury de thèse.

J'adresse mes respectueux remerciements à Monsieur F. Jeannot, Ingénieur de Recherche au Laboratoire de Chimie du Solide Minéral (Faculté des Sciences de Nancy I), pour son dévouement spontané à la mise en place du protocole de synthèse des oxydes de fer à base de fer 54, et pour sa patience devant mes questions multiples.

Je souhaite également exprimer mes sincères remerciements à la Communauté Européenne du Charbon et de l'Acier (CECA) et au groupe Usinor Sacilor pour le financement sur trois ans de cette recherche, auxquels j'associe le personnel du LECES pour leur dévouement et leur disponibilité.

Je ne saurais oublier ici toute l'équipe du LSMCL , P.J. Calba, A. Elouachini, N. Chaoui, P. Hollinger, P. Cassat, P. Lafargue, P. Manuelli, C. Masselon, S. Martinovic, F. Aubriet, C. Schmitt, M. Angotti, L. Cossarutto et B. Courrier pour leur aide précieuse à tous les niveaux , (scientifique, moral, matériel), leur esprit d'entraide, leur sympathie et tous les bons moments passés ensembles. Merci les Gens, de tout coeur.

Enfin, je voudrais dire un grand MERCI à ma p'tite femme céline sans laquelle je n'aurais jamais eu la force d'accomplir au mieux ces travaux.

Sommaire

Sommaire

Introduction générale.....1

Chapitre I :4

A. Le fer et ses oxydes :4

I. Propriétés physico-chimiques du fer :5

I.1. Propriétés physiques :6

I.2. Propriétés chimiques :7

I.3. Propriétés physiologiques :8

I.4. Sources d'exposition :9

II. Les oxydes de fer :9

II.1. L'oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ (Wüstite) :9

II.2. L'oxyde de fer Fe_2O_3 (Hématite) :12

II.3. L'oxyde de fer Fe_3O_4 (Magnétite) :13

B. Les méthodes de dosage et de caractérisation des différents degrés d'oxydation
du fer :14

I. Les techniques d'analyses par voie humide :15

I.1. La volumétrie :15

I.2. La colorimétrie :16

I.3. Autres méthodes chimiques :17

I.4. La chimie de luminescence :20

I.5. La chromatographie en phase liquide :21

II. Les techniques d'analyses in situ des particules :23

II.1. La spectrométrie de Fluorescence X (XRF) :23

II.2. La Microscopie Electronique à Balayage (MEB) :25

II.3. La spectrométrie d'absorption atomique :25

II.4. La spectroscopie Raman :27

II.5. La spectroscopie des photoélectrons X :30

II.6. La diffraction des rayons X :33

II.7. Les mesures magnétiques :33

II.8. La spectrométrie Mössbauer :35

II.9. La spectrométrie de masse :40

C. Aspects théoriques sur l'interaction Laser-Matière :44

I. Les lasers :45

II. Interaction laser-matière :	46
II.1. Les différentes géométries d'irradiation :	46
II.2. Interaction laser-métal :	47
III. Description de la création d'un plasma au dessus d'une surface :	54
III.1. Description générale du phénomène :	54
III.2. Bilan énergétique de l'interaction laser-matière :	58
D. Photoionisation résonante :	62
I. Photoionisation des atomes en phase gazeuse avec effet de résonance :	62
I.1. Nomenclature et description des schémas de base :	62
II. Photoionisation des molécules organiques en phase gazeuse avec effet de résonance :	66
II.1. L'ionisation résonante à deux ou trois photons :	67
II.2. L'ionisation multiphotonique :	69
III. Faisabilité de l'ionisation résonante par quelques exemples d'applications :	70
III.1. Discrimination isobarique :	70
III.2. Analyses élémentaires :	71
III.3. Application de l'ionisation résonante aux molécules organiques :	73
Bibliographie :	75

Chapitre II :	81
A. Les méthodes de caractérisation utilisées pour nos études :	81
I. Les microsondes laser couplées à la spectrométrie de masse :	81
I.1. La microsonde laser LAMMA 500 :	82
I.2. La spectrométrie de masse à Transformée de Fourier (FT/ICR/MS) :	97
II. La chromatographie en phase gazeuse :	110
II.1. Description générale de l'appareil :	110
II.2. L'injecteur :	112
II.3. La colonne :	112
II.4. Le détecteur à ionisation de flamme (FID) :	112
II.5. Echantillonnage :	112
III. La diffraction des rayons X :	114

III.1. La méthode :	114
III.2. Dépouillement d'un cliché Debye-Scherrer :	115
III.3. Echantillonnage :	115
IV. L'analyse en Composantes Principales :	116
V. La granulométrie laser :	116
B. Les échantillons :	118
I. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) :	118
II. Les oxydes de fer :	118
II.1. Synthèse des oxydes de fer à base de fer 54 :	119
II.2. Caractérisation des oxydes de fer à base de fer 54 :	126
II.3. Provenance des oxydes de fer à base de fer 56 :	127
Bibliographie :	129

Chapitre III :	132
A. Méthodologie pour la détermination de la valence du fer :	132
I. Caractérisation physique des oxydes de fer purs :	133
II. Répartition granulométrique et surface spécifique :	134
III. Caractérisation des oxydes de fer purs par microsonde laser LAMMA :	137
III.1. Choix de la longueur d'onde :	137
III.2. Comparaison des rapports d'intensité expérimentaux et théoriques des différentes raies du fer :	141
III.3. Méthodologie pour la détermination de la valence du fer :	142
III.4. Etudes sur l'ionisation laser de l'oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$:	148
III.5. Etude de l'effet de l'environnement chimique :	150
III.6. Analyses des oxydes de fer à base de fer 54 :	152
B. Etude des mécanismes de formation des agrégats ionisés du fer :	157
I. Formation de Fe_2O^+ :	157
II. Formation du dimère Fe_2^+ :	165
III. Formation de l'ion FeO^+ :	169
C. Caractérisation de poussières industrielles :	172
I. Méthodologie expérimentale :	172
I.1. Technique de prélèvement des échantillons de poussières :	172

I.2. Analyse ponctuelle simultanée minérale et organique par microsonde laser LAMMA :	174
I.3. Analyse ponctuelle simultanée minérale et organique par microsonde laser FT/ICR/MS :	176
I.4. Analyse globale des phases organiques par chromatographie en phase gazeuse GC/FID :	176
II. Analyse de prélèvements dans l'environnement d'une aciérie :	179
II.1. Identification de la nature minérale du support particulaire :	179
II.2. Caractérisation des HAP adsorbés sur les poussières industrielles :	192
Bibliographie :	206

Chapitre IV :	209
A. Etude bibliographique sur la réactivité chimique et biologique du fer et de ses oxydes $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_3O_4 et Fe_2O_3 :	209
I. Fer et viabilité cellulaire :	209
II. Incorporation cellulaire du fer :	209
III. Fer, stress oxydant et génotoxicité :	211
III.1. Etudes épidémiologiques :	213
III.2. Toxicité du fer :	216
III.3. Toxicité des oxydes de fer seuls ou en association avec des HAP :	218
B. Etude de la transformation des oxydes de fer au niveau cellulaire :	227
I. Le matériel biologique :	227
I.1. Les cellules L 132 :	227
I.2. Les macrophages alvéolaires :	227
I.3. Les cultures cellulaires :	228
I.4. Etude ultrastructurale - Microphotographie cellulaire :	230
II. Etude cinétique de la stabilité des particules d'oxyde de fer dans différents milieux biologiques :	231
III. Analyse par Microscopie Electronique à Transmission (MET) :	233
IV. Analyse des cellules L 132 incubées en présence de particules d'oxyde de fer par microsonde laser LAMMA :	238

V. Analyse des macrophages alvéolaires incubés en présence de particules d'oxyde de fer par microsonde laser LAMMA :	243
VI. Analyse par microsonde laser LAMMA de cellules L 132 incubées avec des particules d'oxydes de fer Fe_3O_4 imprégnées de Benzo[a]pyrène :	248
Bibliographie :	253
<i>Conclusion générale</i> :	258

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

Face au développement permanent des technologies, la multiplicité des nuisances est telle qu'aujourd'hui il est difficile d'appréhender les retombées potentielles d'une pollution donnée. Malgré l'amélioration des procédés employés, l'industrie en général est une source non négligeable de pollution pour l'environnement.

Pour leur part, les complexes sidérurgiques se caractérisent, sur le plan de la pollution atmosphérique, par un nombre conséquent d'émetteurs de polluants dont les plus importants sont constitués par des oxydes de fer ou de sulfures avec ou sans Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).

Les HAP présents dans l'atmosphère se trouvent préférentiellement adsorbés sur la matière particulaire (70 à 90 %), constituant ainsi des aérosols micrométriques susceptibles d'être inhalés et de se retrouver ainsi au niveau des alvéoles pulmonaires.

Dans ce contexte, les spécialistes de la qualité de l'air ambiant se préoccupent depuis une vingtaine d'années de l'incidence de l'émission de ces aérosols sur l'environnement et la santé des personnes travaillant près des sources principales d'émission (hauts fourneaux, halle d'aciérie, agglomération des minerais).

Pour entreprendre tout d'abord l'examen et l'analyse des particules minérales susceptibles d'adsorber des HAP, de nombreuses méthodes analytiques ont été développées (colorimétrie, résines échangeuses d'ions, chimie de luminescence, absorption atomique). Cependant, ces techniques présentent un désavantage majeur venant du fait que la particule étudiée est physiquement altérée (extraction, dissolution, réactions électrochimiques lors des opérations de lixiviation) induisant des changements chimiques conduisant à une information spectroscopique qui ne peut traduire correctement l'état solide initial.

Une étude plus approfondie des propriétés physico-chimiques s'avère ici impérative lorsqu'on aborde le problème des particules minérales (par exemple les oxydes de fer) sur lesquelles des HAP, comme le Benzo[a]pyrène (B[a]P) peuvent être adsorbés.

En effet, les conséquences toxiques ou carcinogènes des poussières inhalées par les travailleurs dépendent fortement des propriétés physiques et chimiques des particules individuelles :

- * influence de la taille et de la morphologie des particules sur leur déposition et leur rétention dans le système respiratoire,

- * rôle du support particulaire minéral dans la toxicité des HAP (Effet de synergie éventuelle entre les oxydes de fer et les HAP),

- * dégradation chimique et photochimique de ces composés lors de leur séjour dans l'atmosphère (interaction avec les polluants atmosphériques).

Les travaux de recherches que nous avons menés au L.S.M.C.L., en étroite collaboration avec le L.E.C.E.S. (Laboratoire d'Etudes et de Contrôles de l'Environnement Sidérurgique), le Laboratoire de Chimie du Solide Minéral (Nancy) et le C.E.R.E.S.T.E. (Centre de Recherche en Santé Travail-Ergonomie, Lille), visaient la caractérisation minérale et organique des empoussiérages complexes issus de différents secteurs sidérurgiques (halle d'aciérie, haut fourneau et agglomération de minerais) dans le contexte d'un contrat sur l'amélioration de la sécurité et l'hygiène du personnel des ateliers sidérurgiques par une étude sur la synergie des oxydes de fer et des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques. Ces travaux ont été financés par la Communauté Européenne du Charbon et de l'Acier et le groupe USINOR-SACILOR .

Ce travail comporte trois étapes :

- 1) la première consiste en la caractérisation des oxydes de fer purs standard ($\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 et Fe_3O_4) par spectrométrie de masse à ionisation laser (microsondes laser LAMMA 500 et FT-ICR/MS) en étudiant

la formation des ions de première génération et les agrégats ionisés oxygénés qui en dérivent. Ceci a permis de rationaliser les empreintes spectrales caractéristiques de chacun de ces trois oxydes.

L'ionisation en mode résonant (RELAI : Resonance Laser Ablation/Ionization) a été testée afin de voir si la différenciation des empreintes spectrales est plus marquée. Pour se faire, nous avons mis à profit les potentialités des microsondes laser LAMMA 500 et FT-ICR/MS. Par la suite, nous avons examiné, selon le même protocole, les caractéristiques physico-chimiques des particules émises dans une aciérie donnée, au niveau de hauts fourneaux et de l'agglomération de minerais.

2) la seconde étape est relative au protocole analytique, mis au point au laboratoire, qui permet d'obtenir conjointement une caractérisation minérale et organique des particules, laquelle peut être mise en relation avec la toxicité des poussières. Ce protocole analytique comporte deux phases distinctes :

- d'une part, la désorption laser à très faible irradiance et à courte longueur d'onde des HAP éventuellement adsorbés sur les particules. L'analyse ne provoque aucune altération des ces dernières,

- d'autre part, l'ionisation à forte irradiance de chaque particule afin de connaître leur composition minérale. Dans ce cadre, le mode résonant RELAI a également été utilisé. Ces études ont été comparées avec les analyses par GC/FID après extraction.

3) enfin, nous avons examiné les éventuelles transformations in vitro des oxydes de fer standard seuls ou en présence de B[a]P, au niveau cellulaire (cellules embryonnaires L 132, macrophages). Dans ce contexte, la synthèse des différents oxydes de fer à partir du fer 54 était indispensable. En effet, la biotransformation des oxydes de fer 54 permettra d'éviter toute erreur de diagnostic avec le fer présent naturellement dans le milieu cellulaire. Bien entendu, la biotransformation des poussières industrielles (prélevées sur un site sidérurgique) par un même type de cellules a également été entrepris.

Chapitre I

A. LE FER ET SES OXYDES

Introduction

Le fer (du latin ferrum) et l'acier ont joué un rôle capital dans l'évolution des civilisations et des techniques. Synonyme de progrès, indissociable des plus grandes réalisations technologiques, le fer ne possède pas de véritables rivaux dans ses propres domaines d'application. Il est à l'origine de toutes les révolutions scientifiques et industrielles, au coeur de toutes les grandes découvertes qui ont marqué l'histoire de l'humanité : de la fabrication d'épées performantes dans l'Antiquité aux ouvrages d'art actuels.

Il est difficile de dater avec précision les premiers pas de l'histoire du fer. Les premiers usages de ce métal remontent aux temps préhistoriques avec des fers météoritiques, contenant il est vrai des quantités de nickel importantes, de l'ordre de 8 %, donc un matériau assez différent du fer au sens où nous l'entendons ici.

Si les premiers fers ont été obtenus en tant que sous produits du bronze, la fabrication volontaire du fer est, de toute façon, très ancienne et connue dès l'origine de toute tradition écrite. Les livres de Moïse précisent déjà que "Tubalcaïn, descendant de Caïn à la sixième génération, était habile à traiter les minerais et toutes sortes de fers". Ces écrits qui datent de la sortie d'Egypte, soit 1600 av. J. C., prouvent que ce pays connaissait le fer depuis plus de 2000 ans avant notre ère. Il est difficile de dire avec certitude qui a décidé de produire du fer de façon volontaire et en quantité. Plusieurs recherches situent cet événement en Anatolie (nom souvent donné à l'Asie Mineure), où l'on a trouvé l'une des plus ancienne épée en acier. Ce sont surtout les Hittites (Asie Mineure) qui l'utilisèrent au dépend des égyptiens.

Il y a 2500 ans, la population riveraine du lac Victoria (Afrique Centrale) commença à réduire le minerai de fer (hématite sous forme d'une terre rougeâtre) dans des bas fourneaux (Van Noten et al., 1988).

Au début de l'époque romaine, la place du fer ne cesse de croître en devenant progressivement le matériau essentiel à la fabrication des armes, des instruments d'agriculture et des outils de toutes sortes. Produit principalement dans les provinces où l'on trouve le minerai en bonne quantité, particulièrement en Espagne, Gaule, Angleterre, Carinthie et sur les bords du

Rhin, le fer génère des emplois qui se développent au rythme de la civilisation et de l'industrie.

En France, la fabrication de la fonte est apparue en Lorraine lors de la période 1300 à 1850. La présence de phosphore abaisse considérablement la température de fusion du métal et cette caractéristique explique sans doute la précocité de la production de la fonte dans cette région où le minerai local, la minette, contient du phosphore en quantité notable.

Au milieu du XVI^e siècle, la fonte coule dans les hauts fourneaux qui travaillent en continu. La production s'accroît de manière considérable, tout comme la productivité. Parallèlement, les coûts de production diminuent. Pendant des siècles, on n'avait employé comme combustible que le charbon de bois, amenant un déboisement progressif et inquiétant car la fabrication du fer en demandait des quantités de plus en plus grandes. Les métallurgistes réussirent au XVIII^e siècle, grâce aux efforts de la famille Darby en Angleterre, à remplacer le charbon de bois par la houille dans les hauts fourneaux. Ce fut un progrès considérable qui ouvrit la voie au développement de la métallurgie du fer telle que nous la connaissons aujourd'hui.

A la fin du XVIII^e siècle, avec les travaux de Lavoisier, Berman, Berthollet et Monge on comprendra le rôle exact du carbone et on établira la théorie de l'alliage fer-carbone.

De là va naître la sidérurgie moderne. Ainsi, on voit successivement l'apparition des fours Bessemer (1856) puis Siemens-Martin (1865) et Thomas (1877). Au début des années 1950, l'air sera remplacé par de l'oxygène pur dans les convertisseurs tels que nous les connaissons aujourd'hui.

Aussi, nous allons dans un premier temps faire un rappel sur les caractéristiques physico-chimiques du fer et ses principaux oxydes.

I. Propriétés physico-chimiques du fer

Le fer est l'un des constituants principaux avec le nickel du noyau central terrestre. Il est présent à raison d'environ 5,6 % en masse dans l'écorce terrestre, soit au 4^e rang derrière l'oxygène, le silicium et l'aluminium. Les

principaux composés inorganiques du fer sont les oxydes de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 , Fe_3O_4 auxquels nous allons nous intéresser par la suite.

Cependant, une proportion notable de fer existe à l'état de sulfures, de carbonates, de sulfates, de silicates et de chlorides.

Le fer joue un rôle biologique et physiologique important notamment comme transporteur d'oxygène et de gaz carbonique au niveau des cellules via l'hémoglobine.

Il n'empêche que l'inhalation continuelle de poussières riches en fer ou en ses dérivés pourrait avoir des effets nocifs notamment au niveau des voies pulmonaires. D'après certains travaux épidémiologiques (Pham, 1992 ; Mur, 1987), il semblerait que le fer, plus particulièrement sous forme d'oxyde, soit un paramètre important dans l'apparition de maladies et notamment de cancers bronchiques. Ceci reste à être confirmé. Dans un premier temps, nous rappellerons les caractéristiques physiques et chimiques du fer et celles de ses oxydes.

I.1. Propriétés physiques

Symbole : Fe

Numéro atomique : 56

Masse atomique : 55,85 g/mole

Valences : 0, II, III, IV, les plus importantes étant les valences II et III

Point de fusion : 1539 °C

Point d'ébullition : 2740 °C

Densité : 7,87

Isotopes naturels : 54 (5,84%), 56 (91,68%), 57 (2,17%), 58 (0,31%)

Isotopes radioactifs : 52, 53, 55, 59, 60, 61, 62.

Le fer est un métal gris argenté. Jusqu'à 910 °C, il est de structure cubique centrée (fer α , $r_a=124$ Å). Il devient cubique à faces centrées (fer γ , $r_a=126$ Å) entre 910 °C et 1390 °C et redevient centré (fer δ) jusqu'à la fusion (1535 °C). Le système cubique à faces centrées est un système compact qui présente 4 directions de plan de densité atomique maximale ; il y a donc quatre directions de plans de glissement ce qui permet d'expliquer la bonne plasticité du fer γ : très ductile et malléable, c'est à chaud que l'on forge le fer.

Le fer α quant à lui est plus dur et donc plus fragile. Le fer est ferromagnétique jusqu'à 770 °C (point de Curie). Au delà, il devient paramagnétique.

I.2. Propriétés chimiques

La réactivité du fer est assez grande , surtout à l'état divisé ; elle est généralement liée à son caractère réducteur. Le fer est cependant moins réducteur que le manganèse, le zinc ou bien encore le phosphore ou le silicium. Il ne réagit pas avec l'hydrogène mais il est réactif vis à vis des halogènes tels que Cl_2 , F_2 et Br_2 .

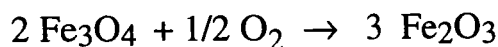
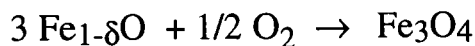
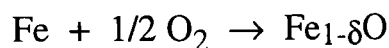
Le fer peut, suivant la température et la pression d'oxygène d'équilibre, dite tension de dissociation (pression en dessous de laquelle il n'y aura pas formation de la phase la plus oxydée dans l'équilibre considéré), donner naissance à trois oxydes :

✓ l'oxyde ferreux ou protoxyde de fer ou encore wüstite $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$. Nous verrons plus loin que cet oxyde n'existe pas, dans les conditions normales, sous forme stoechiométrique et présente même un large écart à la stoechiométrie ($\delta = 0,125$ au maximum). Le fer y est à la valence deux : Fe^{2+} ou Fe II.

✓ Fe_3O_4 : magnétite ou oxyde spinelle ; le fer y est aux valences deux et trois (2Fe^{3+} et 1Fe^{2+}).

✓ Fe_2O_3 : oxyde ferrique ou sesquioxyde de fer ou encore hématite ; le fer y est à la valence trois : Fe^{3+} ou Fe III.

Les réactions mises en jeu sont indiquées ci-après :



Les processus de synthèse des différents oxydes de fer sont importants. Ils feront l'objet par la suite d'une partie dans laquelle nous décrirons un protocole de synthèse pour les produire des oxydes de fer à base de fer 54 ; qui nous seront utiles pour la suite de nos études.

D'autres réactions du fer en présence d'oxygène sont également possibles, mais dans des conditions différentes :

✓ à froid, dans l'oxygène sec, il y a formation très lente d'une couche d'oxydes très peu protectrice, essentiellement d'hématite.

✓ à froid, en présence de vapeur d'eau, il y a formation d'une couche d'hématite hydratée $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (rouille), poreuse venant de la corrosion en profondeur du fer.

I.3. Propriétés physiologiques

Le fer est indispensable à la vie des animaux et des plantes. Il constitue un des éléments de transition les plus importants pour le bon fonctionnement du métabolisme des êtres vivants. Il est impliqué dans de nombreuses réactions réversibles d'oxydation et réduction nécessaires à la viabilité et à la multiplication cellulaire (Ryan, 1992). Il intervient notamment dans les chaînes respiratoires cellulaires (cytochromes), la synthèse de l'ADN et dans différents systèmes de régulations. Il est l'élément fondamental de l'hémoglobine, protéine qui assure le transport de l'oxygène et du dioxyde de carbone au niveau des cellules des différents tissus. Le fer rentre dans de nombreux processus catalytiques par l'intermédiaire de ses propriétés d'oxydoréductions. Ainsi, on attribue au fer, sous forme de FeII ou FeIII, les fonctions de co-catalyseur dans certains processus oxydatifs. Il conduit par la réaction de Fenton à la formation d'espèces radicalaires oxygénées ($\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{OH}^\bullet$) ou par la réaction d'Haber-Weiss, au peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) capable de produire des ions hydroxyles OH^- ou des radicaux hydroxyles $\text{OH}^\bullet$ (De Silva et al., 1996).

1.4. Sources d'exposition

Le fer (essentiellement sous forme d'oxydes) est probablement le métal le plus commun dans les industries. Il se trouve à des concentrations relativement fortes, par exemple lors de l'exploitation minière, la transformation du fer et la production de l'acier (Elinder et al., 1986), sites industriels susceptibles de rejeter des fumées riches en oxydes de fer. Ainsi, les zones les plus exposées à des empoussièrages à base de fer et d'oxydes de fer, outre les mines d'extraction de fer, sont les agglomérations de minerai, les hauts fourneaux, les aciéries de conversion, les aciéries électriques et les laminoirs à chaud. Du fait d'expositions fréquentes à des concentrations non négligeables en fumées et en gaz, un intérêt particulier sur d'éventuels problèmes de santé doit être soulevé en liaison avec la présence de fer dans les poussières ainsi émises.

L'agriculture est également utilisatrice de sulfates ferreux pour empêcher notamment le développement des mousses, de phosphates ferriques comme fertilisant et de sulfates ferriques pour prévenir la chlorose des plantes.

Certaines industries rejettent du fer soluble (fer (II) ou fer (III)) dans l'eau. On citera par exemple l'extraction des minerais et leur transformation, l'industrie chimique, la métallurgie, le textile, les conserveries alimentaires et les tanneries.

II. Les oxydes de fer

II.1. L'oxyde fer $Fe_{1-\delta}O$ (Wüstite)

Dans le cas de composés en phase condensée, notamment les solides, l'expérience montre que leur formule peut comporter, pour un (ou des) constituants, un (ou des) indices non entiers. On parle alors de composés ou solides non-stoechiométriques ou berthollides. La non-stoechiométrie est une nécessité thermodynamique associée étroitement à la notion de défauts cristallins donc à l'agitation thermique créatrice de désordre (augmentation d'entropie).

Un composé non-stoechiométrique entre deux éléments métalliques M et N résulte :

- soit de la substitution de la fraction δ de M par N (δ généralement petit devant l'unité), on a alors $M_{1-\delta}N_{1+\delta}$; c'est le cas d'alliage métallique.

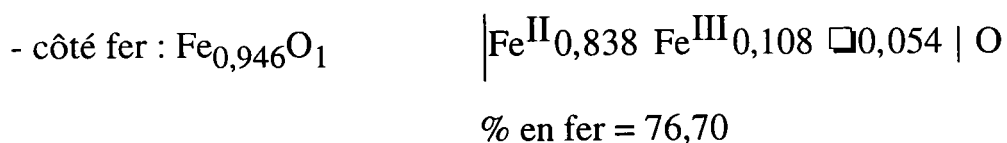
- soit de l'incorporation par insertion d'un excès de l'un des deux constituants, N par exemple, $MN_{1+\delta}$.

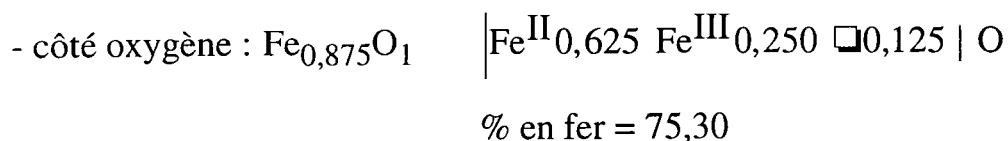
- soit de la soustraction sur des sites normaux de l'un des deux constituants, M par exemple, $M_{1-\delta}N$.

La wüstite, $Fe_{1-\delta}O$ cristallise dans le système cubique à faces centrées type NaCl, dans lequel on a deux réseaux identiques imbriqués. En fait tous les sites des ions fer ne sont pas occupés conformément à la non-stoechiométrie de cet oxyde qui est déficitaire en fer $\left(\frac{Fe}{O} < 1\right)$.

La préparation de cet oxyde de fer par voie solide a été étudiée par Jette et al. (1933) et par Bernard (1949) ; les limites du domaine de l'oxyde ferreux dans le diagramme fer-oxygène sont déterminées par Jette (1933) par études aux rayons X, tandis que Bernard utilise l'analyse chimique des produits obtenus après séparation magnétique de l'excès de fer ou de magnétite en équilibre avec le protoxyde. Les résultats des ces auteurs sont différents : la limite côté fer se situe, d'après Jette, à 76,70 % de fer et d'après Bernard, à l'oxyde ferreux stoechiométrique (77,7 % en fer).

Les études effectuées par Marion (1955) ont montré que le domaine de l'oxyde ferreux, au dessous de son point de fusion (1371 à 1424 °C) est compris, d'après le diagramme fer-oxygène, entre les deux limites :



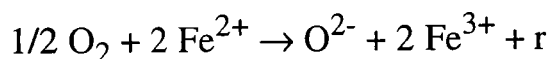


avec $\square$ indiquant les lacunes cationiques.

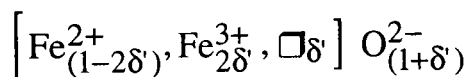
D'après Marion, les corps contenant une quantité de fer supérieure à 76,70 % se sont révélés, après analyse au rayons X, comme des mélanges de $\text{Fe}_{0,946}\text{O}_1$ et de fer métal. Par conséquent, la préparation par voie solide du protoxyde de fer stoechiométrique (77,7 % en fer), selon lui, ne peut être réalisée.

Les limites citées ci-dessus sont encore considérées de nos jours comme étant les valeurs extrêmes en ce qui concerne la stoechiométrie possible pour l'oxyde ferreux (Bernard, 1989).

Le déficit de fer par rapport à l'oxygène, lors de la préparation de l'oxyde, peut se justifier par la difficulté à éviter l'oxydation à la surface du cristal d'une petite quantité des ions Fe^{2+} en ions Fe^{3+} suivant l'équation :



Il est bon de noter la conservation des atomes, mais aussi celle des charges libres. L'apparition d'une lacune cationique notée r est liée à la création à la surface du cristal d'un ion oxyde (qui peut diffuser vers l'intérieur du cristal à l'aide des lacunes du cristal) sans création du cation correspondant. La formule de l'oxyde est donc, d'après les coefficients de l'équation :



Si nous ne tenons pas compte des lacunes ni des charges des ions Fe II et Fe III, on obtient $\text{Fe}_{1-\delta} \text{O}$ avec $\delta = (\delta'/1+\delta')$ (Bernard, 1989).

L'oxyde $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ possède des propriétés magnétiques différentes suivant la température : il est paramagnétique à 298,15 °K et antiferromagnétique à une température de transition (température de Néel) égale à 198,15 °K. L'oxyde $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ n'existe qu'à température supérieure à 570 °C. A température inférieure à 570 °C, il se décompose suivant la réaction : $4\text{Fe}_{1-\delta}\text{O} \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4 + \text{Fe}$.

La réduction de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ en fer est possible de manière réversible par le monoxyde de carbone et l'hydrogène moléculaire. Il est oxydable en oxyde magnétique par le dioxyde de carbone et par l'eau ; ceci également de manière réversible.

II.2. L'oxyde de fer Fe_2O_3 (Hématite)

L'hématite Fe_2O_3 peut exister sous deux formes cristallographiques :

* la forme α de structure rhomboédrique (figure I-1) ; elle est stable. Cet oxyde possède la structure du corindon, c'est à dire une disposition hexagonale compacte des ions O^{2-} avec occupation par Fe^{3+} des deux tiers des sites octaédriques (Ahra, 1993). Les cristaux ont un reflet métallique ; leur dureté varie de 5,5 à 6,5 et leur densité de 5,20 à 5,25. L'hématite contenant 70 % de fer est par la même le plus important minéral de fer. Cet oxyde étant un antiferromagnétique imparfait, c'est à dire qu'il n'y a pas compensation totale des moments magnétiques, présente un ferrimagnétisme faible et son point Curie est voisin de 675 °C. Cet oxyde est utilisé notamment comme pigment et agent de polissage (colcothar ou rouge d'Angleterre).

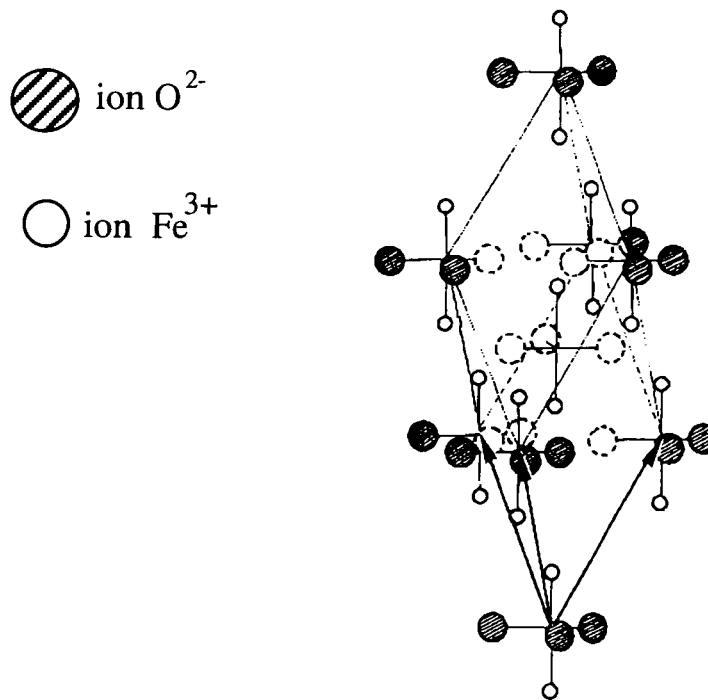


Figure I-1. Structure cristallographique de l'hématite Fe_2O_3 .

* la forme γ de structure cubique ; celle-ci est métastable. On peut toutefois l'obtenir par oxydation du fer à température ordinaire ou par oxydation de la magnétite entre 200 et 400 °C. Dans les couches obtenues par oxydation du fer à haute température, seule la forme α est observée.

II.3. L'oxyde de fer Fe_3O_4 (Magnétite)

La magnétite possède la structure de type spinelle inverse. Dans une telle structure, il y a coexistence de cations, divalents Fe^{2+} et trivalents Fe^{3+} . Les sites tétraédriques sont occupés par les ions métalliques trivalents et les sites octaédriques sont occupés pour moitié par les ions divalents et pour moitié par les ions trivalents. Sa formule développée peut s'écrire de la façon suivante $\text{Fe}^{3+}[\text{Fe}^{3+}, \text{Fe}^{2+}] \text{O}_4^{2-}$. Cet oxyde est opaque, avec un éclat métallique. Il est fortement magnétique. Sa dureté est comprise entre 5,5 et 6,5 sur l'échelle de Mohs, avec une densité variant de 5,17 à 5,19. La magnétite contenant 72,4 % de fer constitue, tout comme l'hématite, un important minéral de fer (Chaudron et al., 1967).

B. LES MÉTHODES DE DOSAGE ET DE CARACTERISATION DES DIFFERENTS DEGRES D'OXYDATION DU FER

La prise de conscience des problèmes suite à l'exposition au fer métallique ou à ses dérivés a suscité le lancement d'une étude sur l'industrie sidérurgique qui est une source non négligeable d'émission de fumées dont certaines peuvent renfermer des éléments de transition en général sous forme d'oxydes présentant parfois un caractère toxique. En ce qui concerne les oxydes de fer, ceux-ci sont susceptibles, notamment en présence de molécules organiques carcinogènes telles que les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), d'accroître le caractère toxique de ces derniers en jouant un rôle de transporteur et de promoteur. De plus, il est intéressant de noter l'importance du rôle des différents degrés d'oxydation du fer dans ces phénomènes de toxicité ou cytotoxicité, d'où l'importance de la mise au point d'une méthodologie de détermination de la valence du fer tout d'abord sur des produits standard connus pour ensuite s'intéresser à des matrices aussi complexes que les poussières polyphasiques rencontrées sur des sites industriels ou au sein de tissus biologiques, particulièrement au niveau cellulaire.

Les méthodes de détermination des différents degrés d'oxydation du fer sont nombreuses et peuvent être classées en deux catégories majeures :

- ✓ les techniques d'analyses chimiques ou spectrophotométriques qui nécessitent une mise en solution préalable de l'échantillon,
- ✓ les techniques de mesures directement sur le solide, ces dernières étant en général des méthodes spectroscopiques.

I. Les techniques d'analyses par voie humide

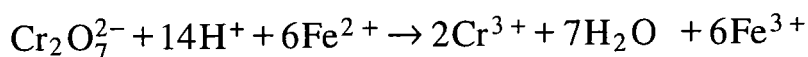
I.1. La volumétrie

I.1.1. Dosage du fer total par oxydation du fer (II)

Le dosage comprend deux opérations :

1°) la solution ferrique est réduite à l'état ferreux par un excès de chlorure stanneux ($\text{SnCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$) et l'excès de ce réducteur est enlevé suite à son oxydation par le chlorure mercurique.

2°) les ions ferreux sont dosés par une solution titrée oxydante de dichromate de potassium $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ selon la réaction :



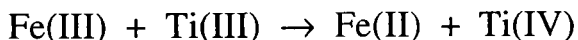
Cette méthode présente plusieurs avantages : la solution titrante se conserve indéfiniment et le virage de l'indicateur est très net (couleur verte de Cr(III) jusqu'à apparition d'une teinte violette). L'ajout d'acide phosphorique à la solution provoque la formation d'un complexe avec Fe(III) formé au cours du titrage ; ceci a un double but : a) faire disparaître la couleur de Fe(III) et ainsi rendre l'observation du virage plus facile ; b) abaisser le potentiel du système redox Fe(III)/Fe(II) et favoriser ainsi l'oxydation. On peut ainsi doser 0,5 mg de fer dans 10 à 50 ml de solution avec 1 à 2 gouttes d'indicateur à 1 % près avec du dichromate de potassium à N/1000.

I.1.2. Dosage du fer total par réduction du fer (III)

Ce dosage comporte deux étapes :

1°) Tout d'abord les ions ferreux Fe(II) sont oxydés en ions ferriques Fe(III). Pour cela, un grand nombre d'oxydants conviennent comme par exemple l'eau oxygénée.

2°) L'analyse s'effectue ensuite en utilisant l'effet réducteur du chlorure titaneux selon la réaction :



Ce dosage se déroule en présence d'ions SCN^- (thiocyanate d'ammonium ou de potassium) qui donnent avec Fe(III) un complexe rouge dont la disparition marque la fin de la réaction. Le virage n'est pas très net mais la méthode est rapide et permet les analyses en série.

Un autre dosage consiste à utiliser la formation de complexe par l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA). En effet, Fe(III) est titré par addition de l'EDTA à un pH convenable (pH 2-3) et conduit à la formation d'un complexe. La fin de la réaction est mise en évidence par l'apparition d'un virage du pourpre au jaunâtre. La méthode a de l'intérêt pour le dosage de petites quantités (1 mg/l), concurremment à la colorimétrie.

I.2. La colorimétrie

I.2.1. Dosage du fer total et du fer (II)

La réduction préalable de Fe(III) en Fe(II) se fait par le chlorhydrate d'hydroxylamine ou l'hydroquinone. Les ions Fe^{2+} donnent avec la 1-10-phénanthroline un ion complexe rouge contenant trois molécules de 1-10-phénanthroline pour un ion Fe^{2+} . La coloration reste stable et est indépendante du pH entre 2 et 9. Il est possible de doser Fe(II) en présence de Fe(III) en supprimant le réducteur par l'utilisation de l'hydroquinone. A 490 nm, le coefficient d'absorption molaire ϵ est égal à 10600 ; à 505 nm, $\epsilon = 11000$. Il est possible également de doser uniquement Fe(II) en présence des ions Fe(III) en supprimant la réduction par l'hydroquinone, donnant ainsi une mesure sur la quantité d'ions ferreux au sein de l'échantillon.

1.2.2. Dosage du fer (III)

La méthode au thiocyanate (thiocyanate de potassium) est simple et permet d'atteindre les traces, mais elle est peu précise si on n'observe pas des précautions particulières. De plus, elle n'est pas spécifique. Les ions Fe^{3+} donnent en milieu acide des complexes thiocyanates rouges. Cette méthode présente cependant des inconvénients : les complexes ferrithiocyanates sont peu stables, la couleur va dépendre des concentrations, de la force ionique de la solution et de la présence de nombreux ions, même peu complexants, comme Cl^- et SO_4^{2-} . Elle dépend aussi du pH et la température a une grande influence. A 480 nm, le coefficient d'absorption molaire ϵ est de 7000 et de 15000 en présence d'acétone (stabilisation du complexe à la lumière). Les résultats ne sont reproductibles qu'en opérant toujours exactement dans les mêmes conditions.

Nous voyons d'ores et déjà que ces méthodes de volumétrie et colorimétrie ont un inconvénient majeur qui consiste à mettre en solution les échantillons qui doivent être, de plus, très homogènes. Cela enlève toutes possibilités de distinguer les différents degrés d'oxydation du fer dans des échantillons polyphasiques tels que des poussières industrielles par exemple. De plus, si l'on souhaite effectuer des mesures précises, il faut tenir compte d'un certain nombre de paramètres qui, tous, apportent des erreurs non négligeables : conditions d'analyses identiques, ordre d'addition des réactifs, temps, température, luminosité, pH, présence d'ions gênants.

1.3. Autres méthodes chimiques

Il existe des méthodes d'analyses permettant non plus le dosage du fer à partir de solutions mais directement sous forme d'échantillons à l'état solides et d'aboutir à la détermination du fer métal Fe^0 .

I.3.1. Méthode au mélange brome-méthanol anhydre (norme ISO/TC 102/SC 2)

Cette méthode permet le dosage du fer sous ses trois états d'oxydation dans les produits sidérurgiques (agglomérés, produits préréduits). Les teneurs dosables s'étendent de 1 % à 90 % du fer sous ses trois états de valence. Le principe consiste tout d'abord en une séparation du fer à l'état de métal par dissolution sélective dans un mélange brome-méthanol anhydre. Le résidu de cette attaque est mis en solution chlorhydrique sous atmosphère neutre. Cette solution servira au dosage du fer Fe^{2+} divalent et du fer total des oxydes $\text{Fe}_{\text{t ox}}$. Le calcul de la teneur en fer trivalent est alors possible selon la relation : $\text{Fe}^{3+} = \text{Fe}_{\text{t ox}} - \text{Fe}^{2+}$. Toutes les mesures sont effectuées par spectrophotométrie à la longueur d'onde du maximum d'absorption des complexes Fe^{2+} , Fe^{3+} et 1-10 phénanthroline, voisin de 510 nm (figure I-2). Cette méthode permet d'atteindre un écart type de mesure de l'ordre de 0,2 % absolu du fer pour des teneurs comprises entre 1 % et 90 %. Le fer métal ainsi dosé comprend également le fer lié dans l'échantillon sous forme de carbure.

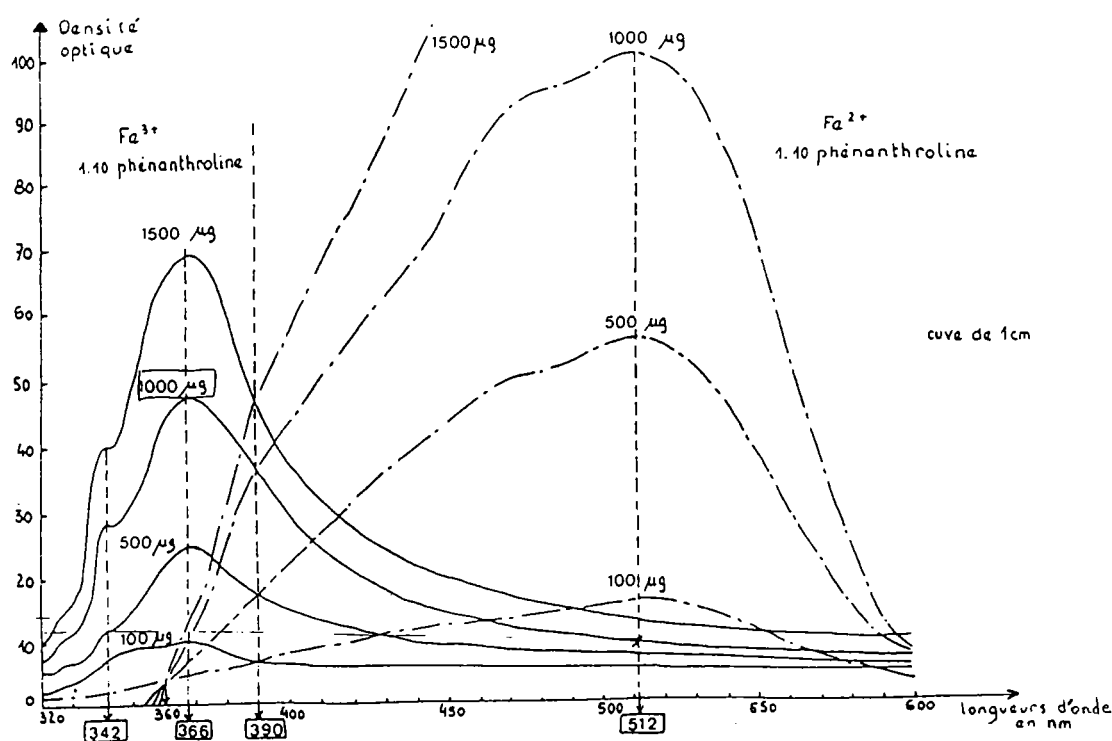


Figure I-2. Spectres d'absorption des complexes Fe^{2+} , Fe^{3+} et 1-10 phénanthroline.

I.3.2. Méthode au chlorure mercurique

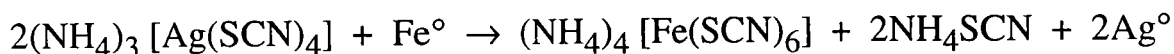
L'échantillon est traité par une solution chaude de HgCl_2 . Le fer métal est dissous suivant les réactions électrochimiques :



L'analyse se limite à la détermination du fer métal, car le mercure et le calomel, résultant des réactions de déplacement (1) et (2), ne peuvent être enlevés sans altération des oxydes de fer. La détermination se fait par dosage volumétrique des ions ferreux, par le dichromate de potassium, passés en solution. Cependant, l'attaque complète des grains de fer est difficile à réaliser par suite de la formation d'une couche protectrice de mercure et de calomel. De plus, la méthode est inapplicable au cas d'échantillons contenant des bases alcalinoterreuses qui réagissent sur les sels ferreux libérés.

I.3.3. Méthode à l'argento-sulfocyanure d'ammonium

La méthode préconisée utilise le déplacement électrochimique du fer métal par une solution de complexe argento-sulfocyanure d'ammonium ($2(\text{NH}_4)_3 [\text{Ag}(\text{SCN})_4]$), préparée en dissolvant du sulfocyanure d'argent dans une solution de sulfocyanure d'ammonium.



L'attaque s'effectue à froid et à $\text{pH} = 4,5$ obtenu par un tampon acide acétique-acétate de soude. Le fer solubilisé en complexe ferro-sulfocyanure d'ammonium forme une solution stable en présence de l'oxygène de l'air grâce à la présence d'argent réduit. La solution d'attaque à $\text{pH} 4-5$ n'a pas d'action dissolvante ou réductrice sur les diverses variétés d'oxydes de fer.

Après séparation par filtration des oxydes et de l'argent réduit, le sel ferreux est déplacé du complexe ferro-sulfocyanure par une solution de nitrate

mercurique : les ions ferreux sont titrés par une solution de sel sérique en employant un indicateur, l'orthophénanthroline ferreuse.

Le résidu d'oxydes de fer, mélangé d'argent, est débarrassé de l'argent à 80°C par une solution de brome, de bromure de potassium et d'acétate de soude. Une attaque chlorhydrique à l'abri de l'air solubilise les oxydes ; un dosage des ions Fe^{3+} et Fe^{2+} ou des ions Fe^{2+} et du fer total permet d'aboutir au rapport $(\text{Fe}^{2+} + \text{Fe}^{3+})/\text{Fe}^{2+}$ ou au rapport O/Fe des oxydes.

Ces différentes méthodes chimiques souffrent du fait qu'il faille solubiliser les échantillons solides et qu'il existe des phénomènes d'interférences (perturbation due à la présence de bases alcalinoterreuses) pouvant conduire à des mesures erronées.

I.4 La chimie de luminescence

Cette méthode analytique est utilisée pour la détermination du fer (III) dans les eaux des océans. La technique mise en oeuvre est basée sur une combinaison d'une d'extraction sélective sur colonne comportant une résine chélatante et un système de détection de chimie luminescence (C.L.).

Le fer (III), après acidification de l'échantillon, est sélectivement concentré sur la résine MAF-8HQ (8-quinolinol immobilisée sur une matrice fluorée contenant du verre d'alkoxyde de métal) et est ensuite éluée par de l'acide hydrochlorique ou chlorhydrique (HCl). L'éluant est ensuite mélangé avec une solution contenant successivement du luminol (Amino-3 phtalylhydrazine), un tampon ammonium (il va masquer les ions Co(II)) et du peroxyde d'hydrogène. Le mélange est ensuite introduit dans une cellule de chimie de luminescence (CL). La limite de détection ainsi obtenue pour le fer (III) est égale à 0,05 nmol/l pour une prise d'échantillon de 18 ml d'eau de mer (Obata et al., 1993).

Cette technique permet également la détection du fer (II) et du fer total dissous dans les eaux de mer. Après concentration du fer présent dans l'échantillon à l'aide d'une colonne échangeuse de cations, la solution obtenue émet une lumière provenant d'une réaction de chimiluminescence due à l'addition des ions Fe(II) à une solution de sulfoflavine alcaline (BSF : sodium 4-amino-N-(p-tolyl)-naphthalimide-3-sulfonate) et de peroxyde

d'hydrogène. L'intensité de la lumière produite est proportionnelle à la concentration de Fe(II). La limite de détection est de 0,45 nmol/l pour une prise d'échantillon de 4,4 ml et ce pour un temps d'analyse de 5 minutes (Elrod et al., 1991). Cependant le pH de la solution est important en ce qui concerne le signal et les éléments Mn(II), Ni(II) et Cr(III) causent de légères dépressions du signal lorsque leur concentration est 10 fois supérieure à celle du fer et une suppression significative lorsque les concentrations sont 100 fois supérieures.

1.5 La chromatographie liquide

Les porphyrines sont des réactifs de haute sensibilité pour la détermination par spectrophotométrie de faibles quantités de métaux tels que le Mn(II), Fe(III), Zn(II), Pd(II) et Cu(II). Xu et al (1991) ont mis au point une méthode permettant la détermination de la quantité de ces métaux en utilisant la meso-tetrakis(3-bromo-4-sulfophényl)porphyrine comme réactif qui va complexer les métaux, ces complexes vont ensuite être séparés par chromatographie liquide à phase inversée suivie d'une détection par spectrophotométrie UV/visible avec une longueur d'onde égale à 420 nm. La quantité de chaque métal est déterminée par la mesure de l'aire des pics. Les limites de détection, pour un volume injecté de 20 µl, est de 160 pg pour le Mn, 79 pg pour le Fe, 70 pg pour le Pd, 36 pg pour le Cu et 31 pg pour le Zn.

La chromatographie liquide haute performance à phase inversée a été utilisée pour déterminer les concentrations en fer (II) dans les loess (limon fin) de Chine, les aérosols, les eaux de pluie et dans les océans (Guoshun Zhuang et al., 1992). Cette méthode, rapide, sensible et reproductible, utilise la propriété du réactif ferrozine (FZ) (3-(2-pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-p,p'- disulfonique acid) qui donne un complexe de la forme $[\text{Fe}(\text{FZ})_3]^{2+}$ avec le fer (II) et ce, pour une gamme de pH de 4-10. La mesure de l'absorbance du complexe par un spectrophotomètre UV/visible à 254 nm permet de déterminer les concentrations en fer (II). L'utilisation de cartouches d'extraction en phase solide à phase inversée C18 permet une préconcentration du complexe $[\text{Fe}(\text{FZ})_3]^{2+}$ et augmente la sensibilité de l'analyse. La limite de détection atteinte par cette méthode est de 0,1 nM pour le dosage du fer (II).

Conclusion

En conclusion de cette revue des différentes techniques dites par voie humide, nous voyons que celles-ci permettent soit la détection, soit le dosage des différents degrés d'oxydation du fer et ce, sur des échantillons divers (solutions, complexes, aérosols, eaux de mer). Cependant, ces techniques présentent le désavantage majeur que les particules étudiées peuvent être physiquement altérées (extraction, dissolution, réactions électrochimiques lors des opérations de lixiviation) induisant des changements chimiques, des effets de matrice et des artefacts de solubilité différentielle (Cox et al., 1985). De plus, si les méthodes chimiques classiques dites par voie humide permettent l'identification et la quantification des divers états d'oxydation du fer lorsqu'ils sont en solution, cela est moins vrai lorsque le composé à doser est dans sa phase solide et qui plus est en présence d'une matrice complexe pouvant modifier ses états d'oxydation lors de la phase de minéralisation.

Afin de parvenir à une identification et une caractérisation de la valence du fer au sein de matrices complexes tout en évitant le passage en solution, il est intéressant de s'appuyer sur des techniques d'analyse in situ. Celles-ci doivent permettre l'étude des éléments directement à l'état solide : se sont les techniques spectroscopiques.

Une technique d'analyse n'est jamais universelle étant donné qu'elle ne peut à elle seule permettre de caractériser et d'identifier avec certitude des éléments présents sur un échantillon solide. Il convient donc d'utiliser, si le temps et l'argent le permettent, une gamme de techniques analytiques physico-chimiques qui puissent d'une part identifier les sources de particules polluantes soit organiques ou inorganiques et d'autre part caractériser la valence du fer dans des matrices complexes. Les techniques les plus utilisées pour les études sur des particules solides sont la Microscopie Electronique à Balayage (MEB), la spectrométrie d'absorption atomique, la spectroscopie Raman, la spectroscopie photoélectronique, la spectrométrie de fluorescence X, la diffraction des rayons X, la spectrométrie Mössbauer, la spectrométrie de masse des ions secondaires et les microsondes laser notamment la microsonde laser LAMMA. Toutes ces techniques physico-chimiques feront l'objet d'un bref rappel bibliographique caractérisant leur champ d'application dans la caractérisation in situ de particules.

II. Les techniques d'analyses in situ des particules

Si l'on souhaite caractériser l'échantillon suivant un point de vue analytique, structural et morphologique, il s'avère intéressant de disposer de techniques qui permettent d'accéder à ce type d'informations.

II.1. Le spectrométrie de Fluorescence X (XRF)

La spectrométrie de fluorescence X est une technique d'analyse élémentaire non destructive basée sur la fluorescence des éléments dans le domaine des rayons X. Cette méthode permet d'obtenir des renseignements qualitatifs et quantitatifs sur la composition d'un échantillon. Le spectre de fluorescence X d'un élément résulte d'un processus en deux étapes :

- une phase d'excitation, dans laquelle les photons X primaires émis par la source provoquent l'éjection d'un électron de coeur des atomes, laissant ainsi une lacune instable.

- une phase de stabilisation de l'atome ionisé dans laquelle les électrons des couches les plus externes comblent les lacunes ainsi créées. L'énergie spécifique de cette transition donne naissance à une raie caractéristique. Suivant que l'ionisation porte sur la couche K, L, M ..., la désexcitation qui suit porte le nom de raie K, raie L ... dans l'ordre des longueurs d'onde croissantes. Il existe une relation pratiquement linéaire entre la racine carrée de la fréquence d'une raie caractéristique et le numéro atomique de l'élément correspondant, soit :

$$\sqrt{\nu} = k \times (Z - \sigma)$$

avec k : constante reliée à la constante de Rydberg et fonction de l'élément considéré ; Z : numéro atomique de l'élément ; σ : constante d'écran ; ν : fréquence du photon X.

(Rq : On peut également retrouver, de manière approchée, la longueur d'onde des raies émises selon $E(\text{Kj/mole}) = \frac{hc}{\lambda} \times N_A$ où N_A : nombre d'Avogadro : $6,023 \cdot 10^{23}$, h constante de Planck : $6,6256 \cdot 10^{-34} \text{ J.s.photon}^{-1}$, c la vitesse de

la lumière : $2,9976.10^8 \text{ m.s}^{-1}$, λ longueur d'onde en mètre. On a donc en prenant pour unités l'électron-volt pour l'énergie et le nanomètre pour la longueur d'onde : $\lambda(\text{nm}) = \frac{1240}{E(\text{eV})}$; où E correspond à l'énergie du photon émis) (tableau I.1).

La fluorescence X est généralement une technique d'analyse globale portant sur une surface de plusieurs cm^2 (Eberhart, 1989). Cette technique permet d'analyser des échantillons massifs, préalablement polis et taillés suivant une face plane. Cependant, le polissage ne doit pas introduire d'éléments étrangers pouvant fausser l'analyse et pour les matériaux polycristallins se pose le problème de l'effet de grain (homogénéité). L'emploi d'un liant (acide borique, amidon, cellulose, graphite, cire) pour l'étude de poudres finement broyées et agglomérées en pastilles est à éviter pour l'analyse d'éléments traces. Le seuil de détection est de l'ordre de 1 à 100 ppm suivant le numéro atomique, l'échantillon et les conditions expérimentales. A l'aide d'un spectromètre focalisant, on détecte une masse de 10^{-8} - 10^{-9} g avec une précision courante de 1%. L'analyse est non destructive et universelle : une grande variété d'échantillon peut être analysée.

Couches électroniques internes	Energie en eV
K	$7112,0 \pm 0,9$
L ₁	$846,1 \pm 0,4$
L ₂	$721,1 \pm 0,9$
L ₃	$708,1 \pm 0,9$
M ₁	$92,9 \pm 0,9$
M _{2;3}	$54,0 \pm 0,9$
M _{4;5}	$3,6 \pm 0,9$

Tableau I.1. Niveaux d'énergie du fer

II.2. La microscopie électronique à balayage (MEB)

La formation d'images par émission d'électrons secondaires est la base de la microscopie à balayage. Les méthodes de visualisation microscopique peuvent être utilisées pour la caractérisation des particules dont la dimension est de l'ordre de quelques micromètres (Eberhart, 1989). L'avantage principal du microscope électronique est de permettre la visualisation de particules d'épaisseur trois à dix fois plus grande que par le microscope classique grâce à une pénétration plus profonde des électrons dans la matrice. La résolution est de l'ordre de 40 Å avec des grossissements pouvant varier de 10 à 100000 au plus. Il permet en outre une bonne analyse morphologique et élémentaire de la particule s'il est couplé à un spectromètre à rayons X par dispersion d'énergie. Les échantillons doivent être superficiellement conducteurs pour éviter la formation de charges électriques qui perturbent l'émission électronique et déforment l'image. Dans le cas d'échantillons isolants, une mince pellicule d'un élément conducteur (Au, Al,...) de l'ordre de 100 Å doit être déposée à la surface.

Le principal handicap de cette technique est la limitation de l'analyse élémentaire particule par particule qui ne peut nous renseigner sur l'état d'oxydation de l'élément présent.

II.3. La spectrométrie d'absorption atomique

La Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA) est un mode d'analyse élémentaire reposant sur une mesure effectuée sur des éléments à l'état d'atomes libres (Schwedt, 1993). Les mesures sont réalisées à des longueurs d'onde fixes, choisies en fonction des éléments recherchés. L'échantillon, qui doit être en solution aqueuse, est nébulisé avant d'être entraîné dans le mélange combustible. Dans ce cas, on met à profit la population d'atomes restés à l'état fondamental, et l'élément est dosé en mesurant son absorption lorsqu'il est éclairé par une source lumineuse de longueur d'onde spécifique (lampe à cathode creuse contenant du fer).

En absorption atomique, on mesure, comme en spectrophotométrie classique, l'absorbance. Cette dernière est en relation directe avec le nombre initial d'atomes de l'élément à doser. On obtient une relation de type BEER-LAMBERT :

$$A = k.l.C$$

(A : absorbance, l : longueur du trajet optique, C : concentration de l'élément et k : facteur d'extinction spécifique).

A partir du rapport des intensités transmises en l'absence, puis en présence de l'échantillon, on accède à l'absorbance globale. On peut remonter ainsi à la concentration de l'élément.

Grâce à cette technique d'analyse, on peut étudier des complexes ferreux ou ferriques après leur destruction par oxydation par l'acide sulfurique concentré et chaud. Suivant différentes flammes, les limites de détection du fer sont plus ou moins importantes : pour une flamme à Oxygène-Acétylène, elle est égale à 1 µg/ml alors qu'avec une flamme d'Oxygène-Acétylène et Azote, la limite de détection est de 0,01 µg/ml (Pinta, 1978).

La détermination des éléments Fe, Cu, Co et Ni dans des verres de borate $x\text{Fe}_2\text{O}_3 - (50-x)\text{CoO} - 50\text{B}_2\text{O}_5$ ($x = 0 ; 5 ; 7,5 ; 10$ et 15 (% mol)) a été effectuée par spectrométrie d'absorption atomique ($\lambda = 248,3$ nm pour le fer). La prise d'échantillon est de 0,02 g de verre de borate. Les résultats ont montré d'importantes interférences entre les éléments recherchés et les verres riches en diborate, métaborate, pyroborate et orthoborate. Ces interférences ont pu être éliminées par l'utilisation de l'alizarine sulphonate qui agirait comme complexant des éléments recherchés et ainsi favoriserait leur détection suite à la dissolution de l'échantillon de verres dans 5 ml d'HCL ou HNO_3 (0,2 M) (El-Defrawy, 1995).

Un des inconvénients majeurs de cette technique est le fait qu'elle ne fournisse des informations que sur le fer atomique et non sur la présence ou non de Fe^{2+} ou Fe^{3+} . De plus des pertes peuvent être provoquées par volatilisation, absorption, adsorption, transformation ou précipitation, suite aux traitements utilisés lors de la préparation et de la mise en solution de l'échantillon. Il peut également y avoir des perturbations chimiques par la formation de composés réfractaires (Al_2O_3) ou stables (Ca en présence de phosphates) réduisant la production d'atomes libres dans la flamme.

L'utilisation de flammes très chaudes peut permettre de contrôler ce genre d'interférence mais peut provoquer en contre partie l'ionisation de

certains éléments parasites, entraînant par conséquent une réduction du signal d'analyse.

Pour finir, des interférences physiques, dues à des effets de matrice, peuvent également survenir. Elles apparaissent lorsque les caractéristiques des échantillons et des standard sont différentes (viscosité, tension superficielle,...).

II.4. La Spectroscopie Raman

L'effet Raman (David et Caplain, 1988) est obtenu lorsqu'un milieu solide est éclairé par une lumière monochromatique, c'est à dire une radiation électromagnétique dont la fréquence est connue avec précision. Cette radiation, appelée radiation excitatrice, provient généralement d'une source laser (He-Ne : 6328 Å, laser à Argon : 4880 Å et 5145 Å, laser à Krypton : 5681 Å et 6471 Å) dont le rayonnement monochromatique est intense et peut être focalisé sur un échantillon. Un cas particulier de l'effet Raman est la diffusion Raman de résonance qui intervient lorsque la longueur d'onde de la radiation excitatrice est voisine de celle d'une transition électronique de la molécule étudiée. Dans ce cas, on observe une exaltation de l'intensité des raies Raman d'un facteur 1000 en moyenne, par rapport au Raman conventionnel, ce qui offre des avantages de sélectivité et de sensibilité précieux pour l'étude de composés (molécules bio-organiques par exemple) en faible concentration (Kahlow et al., 1993).

La majeure partie des photons incidents de fréquence ν_0 constituant cette radiation est réfléchi, absorbée ou transmise alors qu'une faible proportion (environ 0,1 %) est diffusée par les molécules de l'échantillon dans toutes les directions de l'espace (Straughan, 1976). Parmi les photons diffusés, il y en a qui ont la même fréquence que le rayonnement incident (diffusion Rayleigh ou diffusion élastique), mais il existe également des radiations diffusées dont les fréquences ne sont pas identiques (c'est l'effet Raman ou diffusion inélastique). Deux cas peuvent se présenter (figure I-3) :

- la diffusion avec diminution de fréquence des photons :
 $\nu_{RS} = \nu_0 - \nu_1$ correspond à la diffusion Raman Stokes,

- la diffusion avec augmentation de fréquence des photons : $\nu_{\text{RAS}} = \nu_0 + \nu_1$ correspond à la diffusion Raman anti- Stokes.

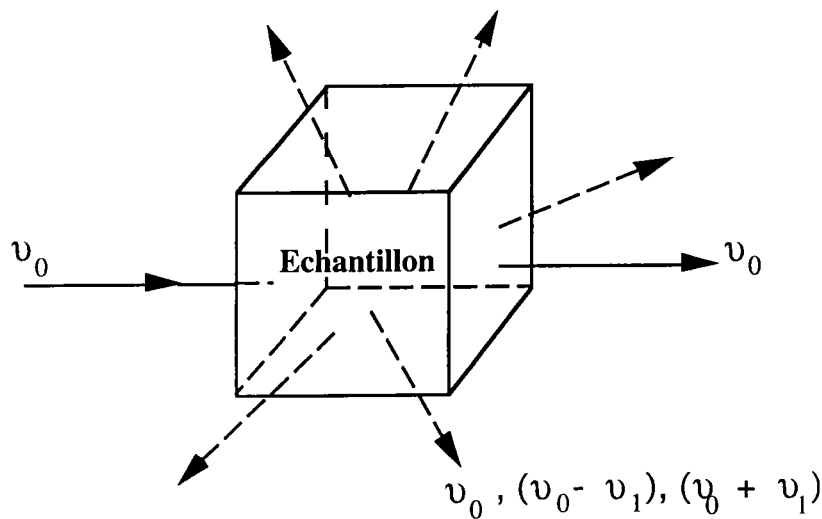


Figure I-3. Principe de la spectroscopie Raman

Dans les deux cas, les écarts de fréquence ν_1 sont égaux aux fréquences de vibration, actives en Raman, de la molécule considérée. Souvent, seul la diffusion Raman Stokes, qui est plus intense, est enregistrée.

Les fréquences de vibration moléculaire étant une fonction des masses des atomes mis en jeu et de la nature de leurs liaisons, un spectre Raman complet représentera donc la signature d'un matériau, sans aucune ambiguïté, c'est à dire qu'il porte la trace tout à la fois de sa composition chimique et de son organisation cristalline ou moléculaire.

Le tracé des spectres Raman des différents oxydes et oxyhydroxydes de fer (élaborés spécialement et donc parfaitement contrôlés) montre que les oxydes Fe_2O_3 et Fe_3O_4 ont des signatures bien déterminées (figure I-4).

Certains composés sont quasiment dépourvus de réponses ; alors que α et γ - FeOOH ont des spectres intenses complètement différents, β et δ - FeOOH ont des spectres plats. Généralement les spinelles ont un pic large et mal résolu entre $650\text{-}700\text{ cm}^{-1}$, ce qui rend d'ailleurs leur identification difficile. Quant à l'oxyde de fer ferreux $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, il possède un petit pic mal défini vers 670 cm^{-1} .

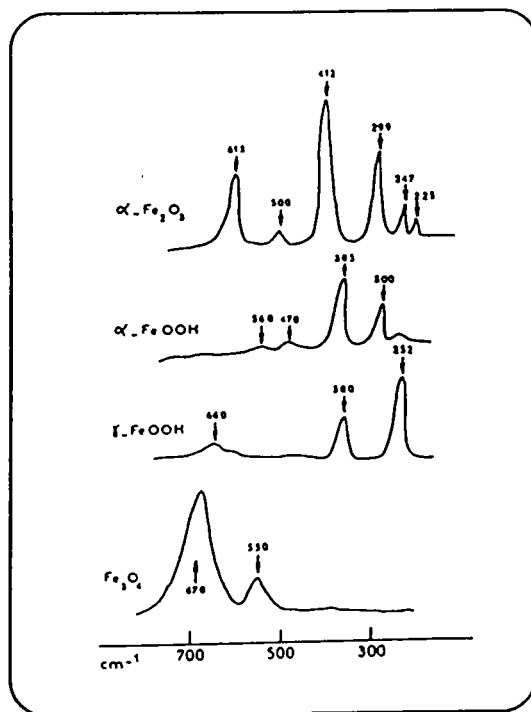


Figure I-4. Tracé des spectres Raman de différents oxydes et oxyhydroxydes de fers (David, 1988).

Le volume minimum d'échantillon pour l'obtention d'un spectre peut être un problème car il dépend de la section efficace de diffusion Raman du matériau, qui varie beaucoup d'un composé à un autre. En outre, l'obtention de résultats sur des films dont l'épaisseur atteint plusieurs dizaines de nanomètres ne pose pas de problèmes contrairement au cas de films dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres. Elle dépend du matériau, de son état de cristallisation (structure et surtout perfection de cette structure) et, dans une certaine mesure, de sa stabilité chimique car la focalisation d'un faisceau laser sur quelques μm^2 n'est pas une opération innocente si on rencontre une phase thermodynamiquement peu stable. La limite de détection de cette technique (exprimée en volume analysé) descend en dessous du μm^3 .

La principale limitation pratique à l'observation des spectres Raman provient de l'émission de spectres de fluorescence soit intrinsèque au composé étudié, soit due à des impuretés, dont l'intensité parfois très élevée dégrade le rapport signal/bruit lors de la détection de faibles signaux Raman (Delhaye, 1992). De plus, une forte absorption des photons par le matériau peut entraîner un échauffement et conduire à une dégradation localisée altérant ainsi l'analyse.

La spectroscopie Raman est non destructive, à condition que la puissance du laser soit contrôlée. Elle s'applique à des configurations très variées d'échantillons. Il est ainsi possible de travailler dans un four ou un cryostat, que se soit sur une surface très rugueuse ou bien même sur un échantillon de forme tourmentée grâce à l'utilisation de fibres optiques.

Ainsi, la spectroscopie Raman peut devenir une bonne technique complémentaire pour la caractérisation des particules de l'environnement notamment par les bandes de vibrations des sels de carbonates et des sulfates mais un des désavantages se manifeste dans le cas où les molécules absorbent beaucoup dans le visible et présentent la propriété de ferromagnétisme (cas des chromates de fer).

II.5. La spectroscopie de photoélectrons X (XPS ou ESCA)

La spectroscopie de photoélectrons X est une méthode d'analyse de surface. Le principe consiste à analyser en énergie cinétique les électrons photoémis par un échantillon sous l'effet de l'irradiation par un faisceau "monoénergétique" $h\nu$ de photons X (en général on utilise la raie $K\alpha$ de l'aluminium ou du magnésium). La photoémission X dans un solide peut être décrite suivant trois étapes :

- une première étape qui consiste en l'excitation d'un électron d'un niveau profond de l'atome vers un niveau non peuplé. Cette étape qui correspond à l'éjection d'un électron est caractérisée par une probabilité de transition (ou section efficace) qui dépend du niveau d'énergie de l'électron considéré.

- en second, nous avons le transport du photoélectron vers la surface. Au cours de cette étape, l'électron peut subir des chocs élastiques ou inélastiques. La profondeur d'échappement des photoélectrons est de l'ordre de la dizaine d'angströms ; l'information analytique ne concerne donc que les premières monocouches atomiques sous-jacentes à la surface des échantillons étudiés. La spectroscopie de photoélectrons X est donc une méthode d'analyse des surfaces, ce qui lui a valu un rapide développement dans ce domaine particulier de la physique et de la chimie du solide.

- et enfin, il y a libération de l'électron dans le vide. Pour être détecté par un analyseur, l'électron doit posséder une énergie cinétique suffisante pour franchir la barrière de potentiel de sortie de l'échantillon. Si E_L est l'énergie de liaison caractérisant un électron d'un niveau électronique donné, cette énergie de liaison est directement accessible par la simple relation de conservation de l'énergie (figure I-5) :

$$E_L = h\nu - E_{\text{cin}} - \Phi_A$$

où $h\nu$ est l'énergie excitatrice fixée, E_{cin} l'énergie cinétique mesurée et Φ_A représente le travail d'extraction de l'analyseur atteint par calibration de l'appareillage.

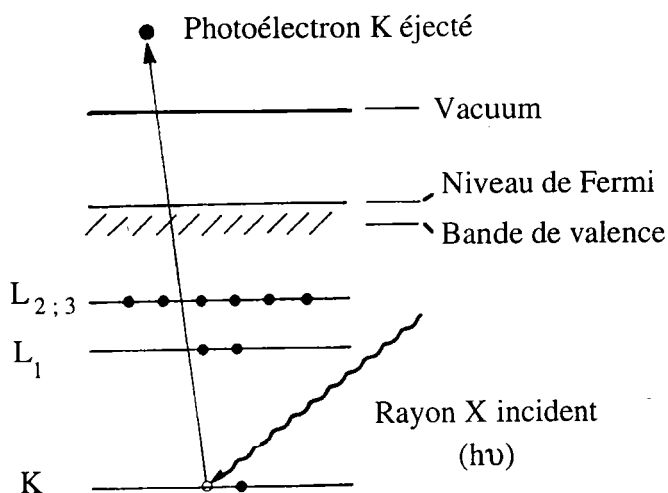


Figure I-5. Schéma de principe de photoémission XPS (Watts, 1994).

Connaissant les niveaux d'énergie caractéristiques de tous les éléments (dans des configurations électroniques données) (Hanboock of X-ray electron spectroscopy, 1978), on peut les identifier par leur spectre de photoélectrons (tableau I.2).

Composés	$\text{Fe}_{2p_{3/2}}$	$\text{Fe}_{2p_{1/2}}$
Fe	706,75 eV	719,95 eV
FeO	709,3 eV	/
Fe_2O_3	710,7 eV	724,3 eV
Fe_3O_4	711,2 eV	/

Tableau I.2. Niveaux énergétiques de $\text{Fe}_{2p_{3/2}}$ et de $\text{Fe}_{2p_{1/2}}$ du fer et de ces oxydes.

En règle générale, on s'intéresse à des photoélectrons ayant une énergie cinétique comprise entre quelques eV et 1400 eV environ. Ainsi, seuls les atomes des premières couches atomiques (30 ou 40 premiers Å) de l'échantillon analysé sont susceptibles d'émettre des photoélectrons qui ont une énergie suffisante pour quitter le solide : c'est une technique d'analyse de surface.

Globalement, la Spectroscopie ESCA permet :

- d'identifier les éléments majoritaires présents en surface (à des teneurs supérieures à quelques dixièmes de pour cent) et de mesurer leurs concentrations sur des aires de l'ordre de quelques microns à quelques millimètres de diamètre (l'aire intégrée sous un pic de photoémission est directement proportionnelle au nombre d'atomes dans le volume détecté, ce qui permet une analyse semi-quantitative).

- d'évaluer l'environnement chimique de l'élément observé selon la variation d'énergie et la mesure du déplacement chimique et ainsi de déterminer son état d'oxydation.

- de déterminer, d'une manière non destructive, la distribution en profondeur des éléments étudiés sur une profondeur de quelques nanomètres en pratiquant l'analyse angulaire (analyse des particules émises suivant leur angle d'éjection).

Cependant, il convient de mentionner la faible résolution spatiale propre à cette technique. La plupart des appareils commercialisés affichent des aires minimales analysées de plusieurs dizaines de microns ; ceci reste parfois encore insuffisant. A l'inverse, l'avantage déterminant de la spectroscopie de photoélectrons X demeure sa faculté de pouvoir déterminer des états de liaison sur de très faibles quantités de produit analysé : une fraction de monocouche. De plus, la technique n'est pas destructive, et s'applique aussi bien aux matrices conductrices qu'isolantes.

II.6. La diffraction des rayons X

Cette technique permet l'analyse cristallographique d'un film constitué de particules de petite taille. Le dispositif de diffractométrie à rayons X en montage classique $\theta/2\theta$ permet une identification des phases et des orientations cristallines. De part son principe, il ne peut donner des informations que sur les plans parallèles à la surface de l'échantillon. Pour cela, il utilise un déplacement synchronisé de l'échantillon et du détecteur (compteur à scintillation). Lorsque le premier se déplace d'un angle θ , le second se déplace de 2θ et détecte tous les plans (parallèles à la surface) se trouvant en position de diffraction, satisfaisant à la relation de Bragg : $2 d_{hkl} \sin \theta = \lambda_{Cu}$ (raie $K\alpha$ du Cuivre : $\lambda = 1,54051 \text{ \AA}$).

La diffraction X est une méthode non destructive permettant la caractérisation cristallographique rapide de la surface des matériaux.

La diffraction X doit être considérée comme un ensemble de techniques. Il n'existe pas de source, de montage ou de détecteur parfait et chaque technique a ses propres limitations. Celles-ci proviennent souvent de conditions géométriques imposées à l'appareillage ou à l'échantillon.

II.7. Les mesures magnétiques

Sous l'effet d'un champ magnétique extérieur H , il se crée dans le matériau un champ d'induction magnétique B dont la valeur est donnée par :

$$B = \mu H$$

où μ est la perméabilité magnétique.

L'aimantation du solide est caractérisée par l'intensité d'aimantation, M , ou moment magnétique par unité de volume (c'est le moment atomique "moyen" multiplié par le nombre d'atomes par unité de volume).

La susceptibilité magnétique χ par unité de volume est définie par :

$$\chi = \frac{M}{H}$$

On définit souvent la susceptibilité magnétique par une unité de masse ou pour une mole de substance ; le moment magnétique par gramme est parfois écrit σ .

Il est possible d'étudier les variations de χ en fonction de la température en présence ou non d'un champ magnétique : $\frac{1}{\chi} = f(T)$.

Sur la base de leur comportement magnétique, on peut classer les matériaux en cinq groupes : diamagnétique, paramagnétique, ferromagnétique, antiferromagnétique et ferrimagnétique.

En ce qui concerne les matériaux *paramagnétiques*, l'élévation de la température a tendance à perturber l'organisation des dipôles et, à quelques exceptions près, (U, Ti), la susceptibilité magnétique diminue avec T selon la loi de Curie :

$$\chi = \frac{C}{T}$$

où C est la constante de Curie.

Pour ce qui est des matériaux *ferromagnétiques*, lorsque $T > \theta$ (température de Curie), les forces de couplage entre dipôles ne sont plus suffisantes vis-à-vis de l'énergie d'agitation thermique pour maintenir les dipôles alignés en domaines magnétiques et le matériau acquiert un comportement paramagnétique. Ce comportement s'exprime par la loi de Curie-Weiss :

$$\chi = \frac{C}{(T - \theta)}$$

A $T = \theta$, χ devient pratiquement infini et le matériau acquiert un comportement ferromagnétique.

Les matériaux *antiferromagnétiques* ne possèdent jamais de moment magnétique permanent et leur susceptibilité, qui est faible, augmente avec T jusqu'à une température critique θ_N (température de Néel). Au dessus de cette température, les domaines sont détruits par agitation thermique et le matériau devient paramagnétique.

Lorsque les moments magnétiques des atomes sont inégaux et forment des domaines où ils sont alignés de manière antiparallèle, on parle de comportement *ferrimagnétique*. Le moment magnétique permanent des matériaux ferrimagnétiques n'est pas nul et leur susceptibilité magnétique reste élevée jusqu'à la température de Néel θ_N , au-dessus de laquelle ces matériaux acquièrent un comportement paramagnétique.

Fer	ferromagnétique $\xrightarrow{T_{\text{Curie}}=1043^\circ\text{K}}$ paramagnétique
$\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$	antiferromagnétique à $\theta_N = 198^\circ\text{K}$ paramagnétique à 298°K susceptibilité magnétique χ (par gramme) : $+ 7200 \cdot 10^{-6}$ en unités cgs
Fe_2O_3	antiferromagnétique "imparfait" (léger ferromagnétisme) $\theta_N = 953^\circ\text{K}$ susceptibilité magnétique χ (par gramme) : $+ 3586 \cdot 10^{-6}$ en unités cgs
Fe_3O_4	ferrimagnétique $\xrightarrow{T_{\text{Curie}}=848^\circ\text{K}}$ paramagnétique.

II.8. La spectrométrie Mössbauer

La spectrométrie Mössbauer utilise le phénomène de résonance gamma nucléaire (Sraughan et Walker, 1976, Atkins, 1978). Les photons gamma sont émis lors de la transition nucléaire d'un noyau émetteur S (ici le Cobalt ^{57}Co) de l'état excité E_e vers l'état fondamental E_f . Le phénomène d'absorption résonante consiste en l'absorption du photon gamma par un noyau identique A (^{57}Fe) dans l'état fondamental ; le noyau absorbant A est alors excité (figure I-6).

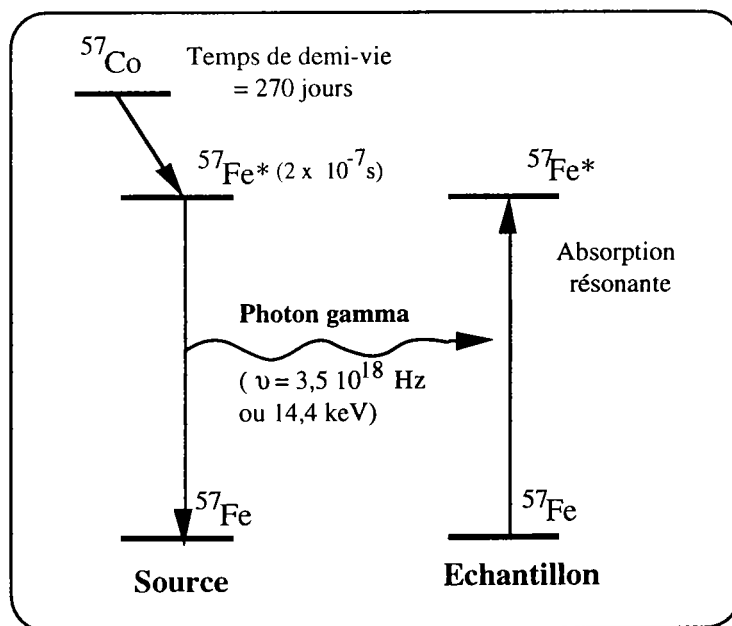


Figure I-6. Principe de la spectrométrie Mössbauer pour le fer ^{57}Fe .

Il existe une cinquantaine d'isotopes utilisables en spectrométrie Mössbauer (tableau I-3). Les isotopes usuels sont ^{57}Fe et ^{119}Sn , mais sont également utilisés Sb , I , Au

Il est ainsi indispensable de posséder les isotopes radioactifs ad hoc ce qui constitue la limitation essentielle de cette technique. De plus, certaines sources non usuelles peuvent être difficiles à fabriquer et de temps de vie très court (quelques heures à quelques jours).

Dans la matière, le noyau est soumis à des champs électrique et magnétique créés par son environnement, qui vont perturber les niveaux d'énergie nucléaire (translation et/ou levée de dégénérescence des niveaux). Ces perturbations, appelées interactions hyperfines, sont de l'ordre de 10^{-7} à 10^{-8} eV et peuvent être résolues par spectrométrie Mössbauer.

L'investigation des niveaux d'énergie du noyau Mössbauer adsorbant nécessite de modifier l'énergie E_γ des photons émis par l'émetteur (source radioactive contenant l'isotope Mössbauer dans un état excité). La variation d'énergie est obtenue en déplaçant la source à une vitesse relative v par rapport à l'absorbant. Par effet Doppler du premier ordre, le changement d'énergie du photon est $\Delta E = (v/c)E_\gamma$ (où c est la vitesse de la lumière). Les

vitesse requises pour les isotopes "Mössbauer" usuels sont de l'ordre du mm.s^{-1} . En spectrométrie Mössbauer, les énergies sont exprimées en unités de vitesse.

Isotopes	Energie des rayons γ (keV)	Abondance naturelle (%)
^{57}Fe	14,41	2,17
^{119}Sn	23,87	8,58
^{121}Sb	37,15	57,25
^{127}I	57,60	100
^{129}Xe	39,58	26,44
^{151}Eu	21,6	47,8
^{169}Tm	8,40	100
^{182}W	100,10	26,4
^{197}Au	77,34	100

Tableau I-3. Paramètres de certaines transitions Mössbauer pouvant être sélectionnées (Straughan et Walker, 1976).

Dans un matériau, la spectrométrie Mössbauer permet de mettre en évidence un élément possédant un isotope "Mössbauer". Elle donne des renseignements locaux sur les noyaux qu'elle affecte, en particulier sur leur état de vibration, la densité électronique locale et le moment magnétique effectif. Ce type de données fournit des renseignements précieux sur l'état de valence des atomes correspondants, les liaisons qu'ils forment avec leur voisins et leur position dans un réseau cristallin.

Pour le fer naturel, la limite pratique de détection est de l'ordre de quelques pour-cent en masse. Pour des composés ne contenant que l'isotope Mössbauer ^{57}Fe , cette limite de détection est divisée par 50. Dans le cas de minerai de fer, l'effet Mössbauer autorise la détection et le dosage des différentes phases de fer et de plus permet de suivre leur évolution au cours des traitements. Les états d'oxydation et la structure électronique peuvent être déterminées à partir des données de déplacements isomériques et de séparation quadripolaire. Il est alors possible par cette technique d'aboutir à la caractérisation des différents oxydes de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_3O_4 et Fe_2O_3 (Masterson et al., 1992) (Figure I-7).

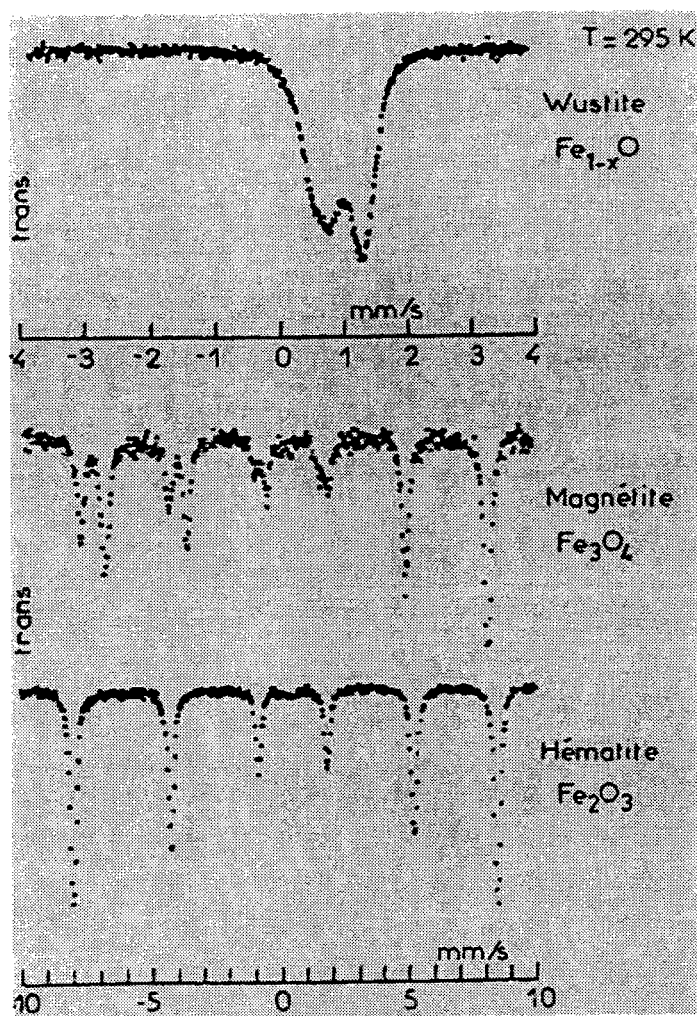


Figure I-7. Spectres Mössbauer des oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_3O_4 , Fe_2O_3 (Millon, 1987).
(échelle des ordonnées "trans" : nombre de photons transmis).

D'un caractère pluridisciplinaire tant du point de vue expérimental que théorique, la technique est non destructive et s'adapte à des analyses in situ à haute ou basse température. Son intérêt principal réside dans son caractère de sonde locale, en volume ou en surface, qui apporte une grande diversité d'informations chimiques ou physiques complémentaires des techniques standard telles que la Diffraction des rayons X pour les études structurales ou l'aimantation pour les études magnétiques.

Conclusion

Ces différentes méthodes spectroscopiques permettent l'étude des éléments directement à l'état solide mais présentent chacune des désavantages au niveau de la détection, de la sensibilité, du type d'échantillons à analyser et de l'interprétation des spectres.

La spectroscopie Raman, la spectrométrie Mössbauer, la spectroscopie de photoélectrons X et la diffraction des rayons X apparaissent comme les techniques de surfaces les plus performantes dans l'étude des états d'oxydation des éléments à l'état solide et notamment des composés du fer.

Cependant, l'obtention de résultats notamment par spectroscopie Raman sur des films dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres est aléatoire. En outre, la faible intensité du signal par cette technique nécessite des temps d'accumulation souvent élevés. Ce signal peut, de plus, être masqué par des phénomènes tels que la fluorescence dans le cas de revêtements avec charges organiques.

La spectrométrie Mössbauer quant à elle souffre du fait que l'analyse à l'état solide est limitée à un certain nombre d'éléments ou plus exactement à certains isotopes de ces éléments. En réalité, dans le cadre de nos travaux, la limitation réside dans la très faible quantité de produits à analyser.

La spectroscopie de photoélectrons X quant à elle concerne les atomes des premières couches atomiques de l'échantillon analysé. De plus, un des handicaps de cette technique est que les déplacements chimiques liés aux états de liaisons des principaux constituants peuvent ne pas être très importants et donc difficiles à résoudre.

La diffraction des rayons X sur poudre donne à la fois des données sur l'état d'oxydation de l'élément et son environnement chimique par l'intermédiaire des diffractogrammes obtenus lors des analyses. Cependant, la complexité de l'interprétation des spectres de diffraction lorsque les échantillons à analyser contiennent plus de trois composés inconnus en fait une méthode difficilement utilisable pour l'obtention rapide de résultats.

Le principal inconvénient de ces deux dernières techniques est leur manque de sensibilité, 0,1 % et 1 % pour la spectroscopie de photoélectrons

X et la diffraction des rayons X respectivement. Ce manque de sensibilité fait en sorte que seuls les composés majoritaires seront détectés dans des matrices complexes telles que des poussières industrielles.

II.9. La spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse s'avère être, aujourd'hui, une technique indispensable pour l'analyse des échantillons de nature organique aussi bien qu'inorganique. Jusqu'à un passé assez récent, le succès d'une analyse par spectrométrie dépendait de deux étapes importantes : la vaporisation de l'échantillon et l'ionisation des molécules à l'état gazeux. Ces exigences ont été la cause d'une évolution plus lente de l'analyse des solides par spectrométrie de masse. Les efforts pour surmonter ces difficultés ont conduit à la construction de plusieurs types d'appareils différant entre eux principalement par le mode de production des ions. Les méthodes utilisées pour passer de l'échantillon solide neutre à l'échantillon ionique en phase gazeuse sont basées sur la source à étincelle, la décharge luminescente, l'émission par effet de champ, l'émission d'ions secondaires, l'impact par faisceau laser. Ces méthodes d'ionisation, associées aux perfectionnements des analyseurs de masse, ont permis de progresser manifestement dans le domaine de la spectrométrie de masse inorganique (Adams et al., 1988).

L'émission d'ions secondaires induits par rayons cathodiques est observée par Thomson dès 1910 mais il faudra attendre 1949 avant que le premier appareil permettant l'étude de ces ions soit construit ; cette technique est rapidement appliquée à l'étude des surfaces : c'est le début de la technique S.I.M.S. (Secondary Ion Mass Spectrometry) (Hoppilliard, 1991).

II.9.1. La spectrométrie de masse d'ions secondaires (SIMS)

L'échantillon solide, placé dans une chambre à vide poussé (ultravide), est bombardé par un faisceau d'ions (Ar^+ ou Cs^+) de quelques keV (10 keV) qui éjecte des particules de la cible. Les vitesses d'érosion sont comprises entre quelques dixièmes de nanomètres par minute et quelques nanomètres par seconde. Les vitesses d'érosion les plus faibles (1 Å par heure) correspondent à un domaine d'application tout à fait particulier de la

spectrométrie de masse d'ions secondaires appelé SIMS statique. Ce mode de fonctionnement non destructif est plutôt réservé à l'analyse d'extrême surface.

En SIMS dynamique, on privilégie l'obtention de profils de composition suivant la profondeur ou bien l'analyse de traces d'impuretés. Pour obtenir des limites de détection très poussées, on utilise des vitesses d'érosion de plusieurs monocouches par seconde (de l'ordre de 1 micron par heure). Le procédé est évidemment destructif dans ces conditions et réservé à l'analyse élémentaire.

Parmi les différentes particules éjectées de l'échantillon pendant le bombardement, seuls les ions seront pris en compte (positifs ou négatifs, mono ou polyatomiques). Bien que ne représentant qu'une faible part de ce qui est émis, le signal qui en résulte est très peu "bruité". De ce fait, cette technique présente une extrême sensibilité à tous les éléments. Ces ions seront ensuite analysés par un spectromètre de masse (type quadripolaire). La détection se fait par un multiplicateur d'électrons suivi d'un amplificateur ou d'une chaîne de comptage.

Tous les éléments, y compris l'hydrogène, peuvent être analysés. En principe, chaque pic correspond à l'isotope d'un élément. Il peut y avoir des interférences avec des isotopes d'autres éléments et avec les ions polyatomiques.

Outre l'analyse élémentaire, le SIMS statique permet d'accéder à la structure chimique des surfaces (nature de la liaison) en exploitant la distribution spectrale des ions polyatomiques.

Cependant, en raison de la complexité de l'émission ionique secondaire, la sensibilité varie beaucoup suivant les éléments et les effets de matrice. Les limites de détection s'échelonnent ainsi de 10^{-2} à 10^3 ppm.

L'analyse d'une surface d'acier laminé à chaud par SIMS, avec Ar^+ comme ions primaires d'énergie égale à 3 keV et une densité du faisceau de 0 à $50 \mu\text{A}.\text{cm}^{-2}$, indique la formation en mode positif d'espèces ioniques telles que Fe^+ , FeO^+ , FeO_2^+ , Fe_2^+ , Fe_2O^+ et Fe_2O_2^+ alors qu'en mode négatif apparaissent des ions polyatomiques tels que Fe^- , FeO^- , FeO_2^- , FeO_3^- , Fe_2O^- et Fe_2O_2^- , Fe_2O_3^- et Fe_2O_4^- (Janssen, 1980).

Cette technique offre d'intéressantes possibilités analytiques notamment grâce à sa haute sensibilité et à sa résolution (Gourgout, 1979). Il est ainsi

possible d'analyser des grains de pyrite (FeS_2) dans une matrice de carbonate de calcium (CaCO_3) et ce pour des tailles de grain de pyrite allant de $5\text{ }\mu\text{m} \times 5\text{ }\mu\text{m}$ à $50\text{ }\mu\text{m} \times 20\text{ }\mu\text{m}$. Il est également concevable d'analyser, en utilisant une détection spécifique de la masse 56 sur des surfaces de $60\text{ }\mu\text{m}$ de diamètre, un échantillon composé de différents minéraux tels que plagioclase ($\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_8\text{Ca}$), pyroxène ($\text{Si}_2\text{O}_6\text{Ca}(\text{Mg}, \text{Fe})$), olivine ($\text{SiO}_4(\text{Mg}, \text{Fe})_2$) et magnétite (Fe_3O_4) et de distinguer la phase minérale contenant du fer ou du calcium.

II.9.2. La spectrométrie de masse couplée à l'ionisation laser

La spectrométrie de masse a connu un ressort considérable avec le développement de l'ionisation laser, venant compléter les méthodes d'ionisation déjà existantes (l'ionisation par impact électronique, par voie chimique, ionisation par décharge, ionisation par champs, thermoionisation).

Les lasers, sources lumineuses très intenses, aisément modulables en énergie et dont on peut ajuster la longueur d'onde émise avec une grande précision sont des sources d'ionisation de choix. La possibilité de focaliser le faisceau laser sur un échantillon ouvre la voie à l'analyse microscopique (Conzenius et al., 1980 ; Glick et al., 1966 ; Hillenkamp et al., 1975). Le faisceau laser peut être focalisé sur une surface minime de quelques micromètres carré, le diamètre minimal de l'impact dépendant des lois de diffraction et par conséquent de sa longueur d'onde. Cette particularité a conduit tout naturellement au développement des microsondes lasers (Eloy, 1971 ; Kaufmann et al., 1978 ; Feisl et al., 1978). En effet, il est possible avec un laser d'évaporer, d'exciter ou d'ioniser un petit volume d'échantillon (quelques μm^3).

Le laser possède la qualité unique de pouvoir porter sélectivement et efficacement, comme nous le verrons plus en avant, les atomes et les molécules dans leurs états excités et ionisés. L'utilisation du laser en analyse présente donc de nombreux avantages mais l'extrême sensibilité atteinte se fait au détriment de l'universalité de la méthode.

Les expériences de désorption par laser ont été réalisées le plus souvent dans des sondes commerciales LAMMA (Laser Microprobe Mass Analyser) conçues pour l'analyse élémentaire. Les analyseurs compatibles avec l'utilisation de lasers pulsés sont soit les I.C.R. (FT/ICR/MS : Fourier

Transform/Ion Cyclotron Resonance/Mass Spectrometer) soit les temps de vol (microsonde laser LAMMA). Une description des microsondes laser LAMMA 500 et FT/ICR/ MS sera faite dans la partie expérimentale de ce mémoire.

Les microsondes laser couplées à la spectrométrie de masse ont été ainsi développées en vue de la localisation et de la détermination des éléments dans des échantillons divers, soit conducteurs ou isolants (Krier et al., 1987). Mais la technique est appréciée surtout pour son pouvoir de caractérisation de la composition moléculaire des substances inorganiques dans des particules. La microsonde laser est devenue un instrument polyvalent permettant de faire abstraction de la séparation traditionnelle entre l'analyse élémentaire et organique. Un tel dispositif permet une analyse ponctuelle rapide de tous les matériaux solides inorganiques ou organiques à condition qu'ils soient sous forme de microparticules ou de lames minces.

L'utilisation d'un laser comme source d'ionisation fait intervenir des processus gouvernant la formation des ions et agrégats ionisés formés. Ces processus donnent une information directe sur la structure et la nature de la particule irradiée. Cependant, ceux mis en jeu lors d'une irradiation laser avec un solide ne sont pas totalement explicités et c'est la raison pour laquelle il nous apparaît important de rappeler dans la prochaine partie les principales caractéristiques de l'interaction laser-matière conduisant à la formation des ions et des agrégats ionisés au sein du plasma.

C. ASPECTS THEORIQUES SUR L'INTERACTION LASER-MATIERE

Aujourd'hui, la recherche s'oriente vers l'analyse de la matière. Cette démarche nécessite dans la plupart des cas une étape préparatoire de fragmentation et atomisation de tout ou d'une partie d'échantillon solide. Le procédé doit conduire à l'évaporation de particules (atomes, molécules) représentatifs de la composition chimique du matériau. Les progrès réalisés sur les sources laser ont conduit au développement de nombreuses techniques mettant à profit les possibilités offertes par ces équipements. Si les premières applications ont consisté essentiellement à utiliser le faisceau laser comme source de chaleur à la surface d'un matériau, de nouvelles applications ont découlé de la constatation que de la matière pouvait être éjectée lorsque le faisceau laser était suffisamment focalisé. Ce phénomène de photoablation dépend des caractéristiques du faisceau laser (fluence, durée d'impulsion, longueur d'onde), des caractéristiques du matériau et de son "état de surface". De plus, ce phénomène s'accompagne le plus souvent de la création d'un "panache plasma" au dessus de la surface, ce qui complique l'interprétation des phénomènes observés qui font intervenir des processus dans le matériau à sa surface et dans le "panache plasma". Or, il existe un manque de connaissances sur l'enchaînement des principaux phénomènes mis en jeu dont la compréhension conditionne l'optimisation, la reproductibilité et le contrôle de ces procédés laser. Le problème nécessite une approche pluridisciplinaire faisant appel à des connaissances dans des domaines très variés, allant de la physico-chimie des surfaces à la physico-chimie des milieux plasma en passant par la mécanique des fluides et l'interaction laser-matière. Dans ce qui suit, nous tenterons d'apporter au lecteur des éléments de réponse à quelques uns des nombreux problèmes rencontrés dans les phénomènes d'interaction laser-matière.

I. Les lasers

Les travaux fondamentaux d'Albert Einstein qui posèrent les bases théoriques pour la réalisation des masers (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) et lasers (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) datent de plus de 50 ans. Les progrès réalisés sur les lasers de puissance et la diversification des longueurs d'onde utilisées ont favorisé l'essor de nombreuses techniques mettant à profit les possibilités nouvelles offertes par ces équipements (Ready, 1978).

Que ce soit dans le domaine de la chimie physique ou médical, les lasers améliorent la sélectivité et la sensibilité des méthodes d'analyses existantes. En effet, l'importance du laser en recherche et dans l'industrie est liée aux propriétés spécifiques de cette lumière particulière :

✓. **Cohérence** : les propriétés de l'émission stimulée et la présence d'une cavité résonante ont pour conséquence l'identité de phase et de longueur d'onde des différents photons émis par un faisceau laser. On parle alors de cohérence spatiale et temporelle.

✓. **Directivité** : une propriété fondamentale du rayonnement laser est sa faible divergence permettant l'utilisation de fibres optiques pour le transport du faisceau. Sa directivité est seulement limitée par la diffraction due à la taille du faisceau. Pour un laser de longueur d'onde $\lambda = 500 \text{ nm}$ et de surface de sortie de l'ordre de 5 mm^2 , la divergence angulaire est fonction du mode et du type de cavité résonante et est de l'ordre de 0,1 milliradian. Cela revient à dire que le diamètre du faisceau à une distance de 1 kilomètre de la source n'est que de 20 centimètres.

✓. **Monochromaticité** : les lasers sont capables de donner des "couleurs" très pures leur conférant une bonne sélectivité.

✓. **Puissance** : deux catégories de lasers peuvent être distinguées : d'une part les lasers fonctionnant en régime continu avec des appareils qui fournissent une puissance de l'ordre du milliwatt (lasers hélium-néon, diodes semi-conductrices) jusqu'à la dizaine du kilowatts dans le cas de lasers industriels à CO_2 , et d'autre part les lasers fonctionnant en régime impulsif dont certains peuvent délivrer des puissances supérieures au GW.

✓. **Accordabilité en longueur d'onde** pour certains types de lasers généralisant la sélectivité.

La constante amélioration des performances des lasers fait qu'ils sont devenus des outils très appréciés pour réaliser des études sur des particules solides ou des films minces. La panoplie des différents lasers disponibles et, par la même, la possibilité d'accéder à des longueurs d'onde diverses sont larges ; nous citerons par exemple le laser CO₂ (10,6 μm), le laser Nd-YAG (1,064 μm, 0,532 μm, 0,226 μm), les lasers excimères (XeCl - 0,308 μm, KrF - 0,248 μm, ArF - 0,193 μm) et pour finir, les lasers à colorants qui permettent à eux seuls de couvrir une large gamme de longueurs d'onde.

II. Interaction laser-matière

Depuis l'apparition dans les années 60 des lasers, de nombreux travaux tant théoriques qu'expérimentaux ont été effectués visant à comprendre les phénomènes d'interaction laser-matière et d'excellents ouvrages de revue ont été publiés sur ce sujet (Ready, 1978, Eloy, 1985, Von Allmen, 1987). Afin de préciser les différents types d'interactions, il importe tout d'abord de définir les phénomènes de base intervenant dans l'interaction laser-matière. Sur ce point, nous allons aborder le problème de l'interaction laser-métal, notion qui se situe parfaitement dans la logique de notre travail étant donné que nous allons par la suite nous intéresser essentiellement à l'analyse de particules solides.

II.1 Les différentes géométries d'irradiation

Deux géométries de base sont utilisées dans les techniques d'irradiation d'un échantillon par un laser incident. Les appareils qui travaillent en transmission (figure I-8) sont performants dans l'étude de coupes minces et de microparticules solides. Les appareils qui travaillent quant à eux en réflexion (figure I-9) sont mieux adaptés pour l'étude de matériaux massifs tels que les métaux, alliages et plaques métalliques (tôles).

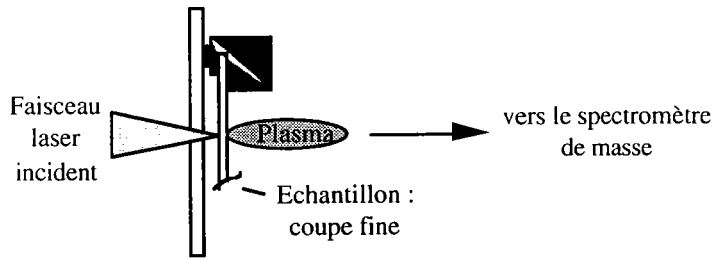


Figure I-8. Mode en transmission

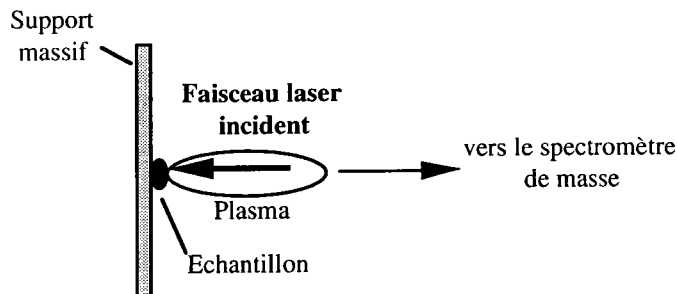


Figure I-9. Mode en réflexion

II.2 Interaction laser -métal

Toute interaction entre un laser et un matériau cible débute par l'absorption de la lumière par le matériau (André et al., 1992). Lors de l'interaction, trois zones sont à considérer schématiquement (figure I-10) :

- * la surface S affectée par l'interaction,
- * le volume V affecté par l'interaction avec la cible.

Au début de l'interaction, le volume V irradié au niveau du matériau est en première approximation défini par :

$$V = \delta \cdot S$$

δ : épaisseur efficace d'absorption

* la région R située au dessus de la surface où apparaît le "panachegazeux" qui peut être, selon l'irradiance, un gaz froid, un gaz chaud ou un plasma..

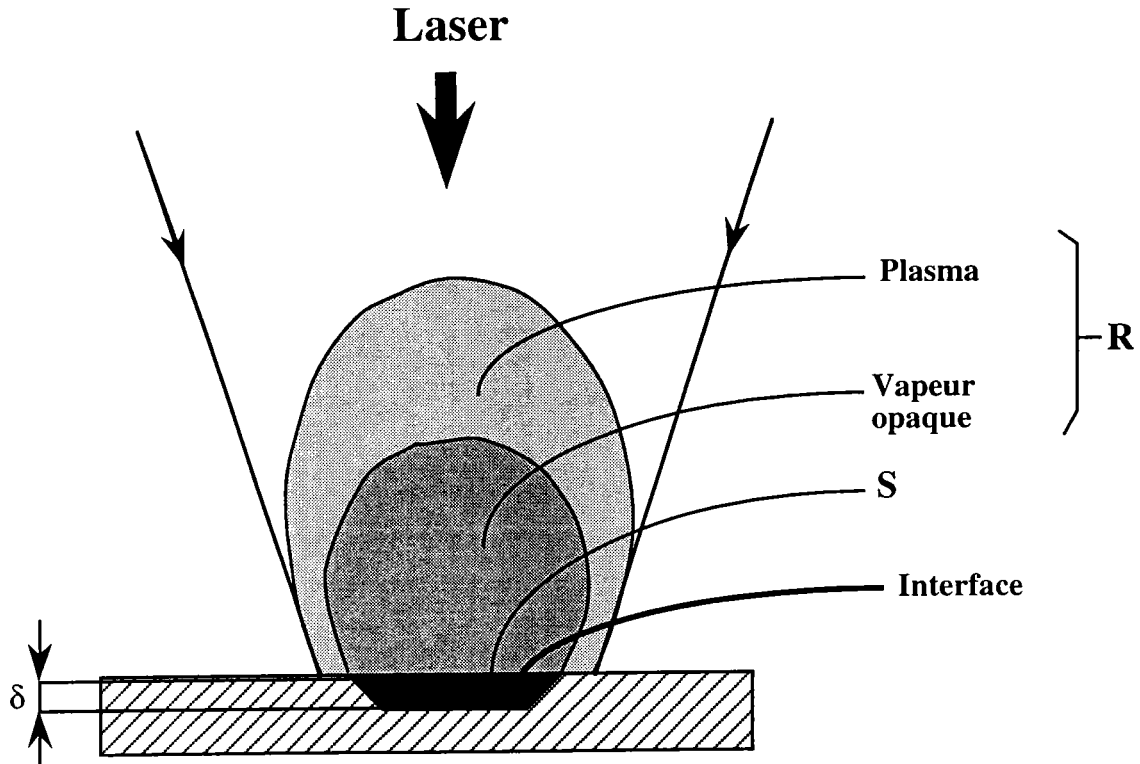


Figure I-10. Schéma de principe de l'interaction laser-matière
(Eloy, 1985 ; André et al., 1992)

Un des problèmes majeurs rencontrés pour comprendre les phénomènes mis en jeu est que les caractéristiques physico-chimiques de ces trois régions contribuent de façon fortement interdépendante et vont généralement évoluer très rapidement pendant et après l'interaction : désorption, éjection de matière sous forme de vapeur et/ou de matériau liquide, changement de phase, propagation de fronts thermiques et d'ondes de chocs. En particulier, la création d'un milieu plasma au-dessus de la surface est susceptible de conduire à des modifications très importantes au niveau même des mécanismes de l'interaction.

Pour préciser les différents processus lors de l'interaction laser-matière, il importe tout d'abord de définir les phénomènes de base et les dimensions caractéristiques du système constitué par le faisceau laser, la surface irradiée et le volume du solide où s'effectue l'essentiel du transfert d'énergie.

Lorsqu'on considère une onde électromagnétique incidente sur la surface d'un métal, une partie de l'onde est réfléchiée et l'autre pénètre à l'intérieur du métal. Le coefficient de réflexion dépend de la fréquence de

l'onde, de la conductivité électrique du métal et de son état de surface. Dans le cas d'ondes de fréquences peu élevées (I.R., visible), et ce, pour des irradiances $I < 10^6 \text{ W/cm}^2$, l'interaction initiale, c'est à dire l'absorption, se fait essentiellement avec les électrons de conduction qui redistribuent ensuite l'énergie acquise au réseau cristallin dans le cas de solides conducteurs. L'absorption du rayonnement, pour une irradiance $I \leq 10^6 \text{ W/cm}^2$, dans le métal peut se déduire classiquement à l'aide de la loi de Beer-Lambert :

$$I(Z) = I_0 \cdot e^{-a(\lambda)Z}$$

avec $I(Z)$: intensité à la profondeur Z pour un rayonnement initial I_0 et un coefficient d'absorption $a(\lambda)$ fonction de la longueur d'onde (λ) du rayonnement laser et de longueur efficace d'absorption δ :

$$a(\lambda) = 1/\delta$$

Au bout d'un temps d'interaction t , on peut, en première approximation, estimer la profondeur Z_e de la zone affectée thermiquement dans le cas d'un métal de diffusivité thermique α ($\alpha = K / \rho C$; K : conductivité thermique, ρ : masse volumique, C : capacité calorifique) par la relation (Dumas, 1970) :

$$Z_e = (4\alpha t)^{1/2}$$

A titre d'exemple, avec une longueur d'onde de $1,06 \mu\text{m}$, un temps d'interaction de 10 ns , Z_e vaut $0,5 \mu\text{m}$ pour le titane et $2 \mu\text{m}$ pour l'aluminium alors que δ ne vaut que quelques dizaines de nanomètres (André, 1992). En ce qui concerne les métaux, cela revient à dire que la profondeur affectée par l'interaction est confondue avec celle affectée thermiquement.

Dans le cas de matériaux diélectriques (polymères ou céramiques), le problème est sensiblement différent. La longueur d'absorption δ est nettement plus élevée que pour les métaux et α beaucoup plus faible ; le front thermique n'aura pratiquement pas le temps de se propager pendant la durée de l'impulsion laser.

Lors de l'interaction photon-matière, une partie de l'énergie déposée se dissipe avec création de phonons (quantum d'oscillation d'une particule dans un réseau cristallin). Un deuxième mécanisme peut donc avoir lieu : l'interaction photon-phonon.

Les caractéristiques de l'ionisation laser ne sont pas les mêmes suivant qu'elle soit conduite en phase gazeuse ou directement sur les solides.

En *phase gazeuse*, les processus d'ionisation sont en général à basse et moyenne intensité. Ils sont bien connus et maîtrisés puisque les principes généraux de la spectroscopie électronique, qu'elle soit atomique ou moléculaire, sont généralement applicables.

Par contre, *l'ionisation directe des solides* par des lasers pulsés (micro, nano ou picoseconde) met en jeu une succession de mécanismes ultra-rapides dont il est très difficile d'évaluer la part exacte et l'influence sur les résultats finaux. Or ceux-ci, dans la plupart des cas, peuvent se résumer comme suit :

✓ à **irradiance** supérieure à 10^{10} W/cm² : le plasma formé a une température très élevée et les ions élémentaires sont majoritaires.

✓ à **irradiance moyenne** comprise entre 10^7 et 10^{9-10} W/cm², l'interaction laser-matière s'accompagne de toute une succession de phénomènes complexes dont il n'est pas aisé de séparer les effets respectifs durant le temps d'impulsion. La théorie de base a été développée par Raiser (1970). En premier lieu, il y a une absorption photonique à la surface du solide, et ce, pendant un intervalle de temps très court (10^{-12} - 10^{-13} s). Durant cette étape, une variation très brutale de la température électronique et de la réflectivité de l'interface a lieu (Gaumet et al., 1996). Les paramètres optiques de la surface solide tels que les coefficients de réflexion et de transmission sont également modifiés. Le changement de la réflectivité provoquera une diminution au niveau de l'absorption de l'énergie laser transmise à la surface de l'échantillon (effet d'écrantage).

Cette première phase de l'interaction aboutit à la création d'un plasmon constitué de paires "électron-trou". Celui-ci peut être soit un plasmon de surface localisé à l'extrême surface ou encore sur une épaisseur de une à deux couches atomiques, soit un plasmon de volume localisé dans des couches plus

profondes de l'échantillon. Cette création de plasmon de volume correspond à une interaction photon-électron et se traduit par le saut d'un électron de la bande de valence à la bande de conduction. On assiste alors à la création de paires "électron-trou" de grande énergie. Suivant les propriétés du matériau utilisé, le type de plasmon généré diffère : pour les isolants, seule l'induction d'un plasmon de surface est à envisager, tandis que pour les échantillons métalliques, les deux types de plasmon doivent être considérés (Eloy, 1985).

Après leur génération, les paires "électron-trou" constituant les différents plasmons échangent de l'énergie avec le réseau en induisant l'émission de particules (solides) et de photons (gaz) par expansion du plasma. A partir de ce moment, plusieurs espèces peuvent être émises par la surface dans l'ordre admis suivant (figure I-11) :

- ❖ *électrons,*
- ❖ *photons U.V. et visibles (en général, les photons sont émis par le plasma si celui-ci est suffisamment chaud),*
- ❖ *atomes neutres, excités ou ionisés,*
- ❖ *agrégats ionisés (ou ions de recombinaison) dont la*

nature dépend de la structure du solide étudié. Cette particularité sera mise à profit pour l'analyse de nos oxydes de fer standards et de poussières polyphasiques industrielles.

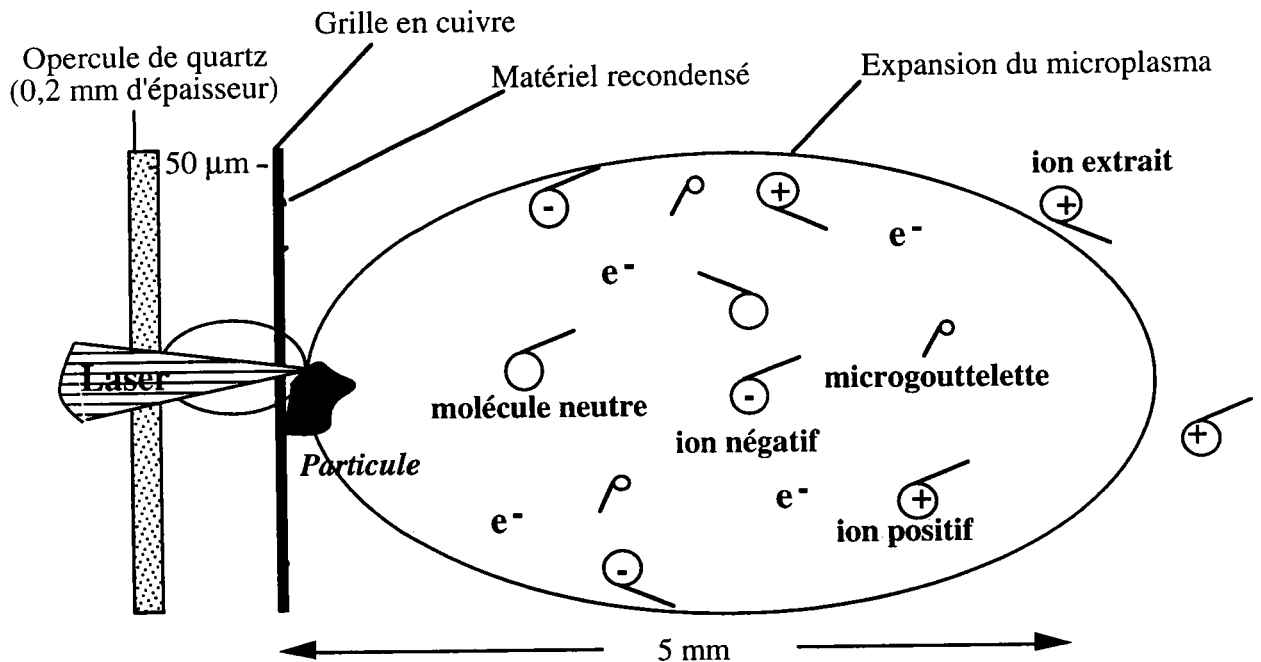


Figure I-11. Schéma de l'expansion du microplasma avec les espèces en présence.

Enfin, pendant et après l'interaction, le milieu est porteur d'un "gaz" constitué "d'excitons" à température élevée et d'un ensemble de phonons de faible énergie. Cet ensemble va diffuser et il se produira une élévation de la température interne du matériau. Cette élévation est due d'une part à la thermalisation des plasmons lors de l'interaction avec les porteurs libres et les phonons (Young et al., 1982) et d'autre part, suite à des recombinaisons interbandes par désexcitation radiative (production de photons) ou par désexcitation Auger (production d'un électron très énergétique) (Eloy, 1985).

Chan et Mazumder (1987) ont élaboré un modèle dans lequel on peut considérer les dégâts formés par deux types d'approches : une approche thermique et une approche mécanique. Au début de l'impulsion laser (lorsque les premiers photons arrivent à la surface du matériau cible), l'énergie absorbée chauffe le substrat qui passe par la température de fusion puis par celle de vaporisation. Selon l'intensité du faisceau laser, la vaporisation peut avoir lieu dans un très petit laps de temps par rapport à la durée de l'impulsion totale. Ainsi, la matière est expulsée à la fois sous forme de liquide et de vapeur ; ce type de dégât est thermique. Ce modèle est intéressant car il fait entrer en ligne de compte les paramètres physiques et les propriétés thermodynamiques de la cible.

Le déroulement des différentes étapes antérieures à l'émission de particules est pratiquement instantané ($< 10^{-9}$ s) tandis que l'émission proprement dite des particules s'échelonne sur un intervalle de temps très variable s'étendant de quelques nanosecondes à plusieurs dizaines de microsecondes selon le laser utilisé (durée de l'impulsion, longueur d'onde) et le type de matériau analysé.

✓ à **faible irradiance** (10^{6-7} W/cm²), les processus dits de "désorption laser" prédominent. Ils permettent en général la caractérisation des *molécules organiques* adsorbées en surface et ce, par détection des pics caractéristiques.

Un des modèles développé récemment est la désorption laser assistée par matrice (Hillenkamp et Karas, 1990 ; Hillenkamp et al., 1993) : la matrice absorbe sélectivement le rayonnement laser (UV ou I.R.) et transfère son énergie à la molécule cible qui est désorbée thermiquement sous la forme de molécules ; il y a formation d'ions quasi-moléculaires détectés sous forme d'ions de protonation $(M+H)^+$, $(M-H)^-$, de cationisation $(M+K)^+$, $(M+Na)^+$ (M est la masse moléculaire de la molécule native). Cette technique permet la désorption/ionisation de molécules "intactes" et de très hautes masses. Cette

technique est très efficace en analyse de biopolymères tels que les protéines, les glycolipides ou les oligo-nucléotides.

En définitive, les processus de la désorption/ionisation laser des matériaux, quelque soit leur type, sont fort complexes et très difficiles à modéliser car, entre le temps où les premiers photons de l'impulsion laser sont absorbés par la surface et le moment où les derniers ions détectables se sont formés, un très grand nombre de phénomènes ultra-rapides se sont succédés :

a) $t < 0,01 \text{ ns}$	Absorption non linéaire des photons	Emission de photoélectrons
b) $t < 0,1 \text{ ns}$	Formation d'excitons Emission thermo-ionique	Apparition de charges en surface
c) $t < 1 \text{ ns}$	Ionisation de la surface	Emission d'ions secondaires
d) $t = 2 \text{ ns}$	Formation du plasma	Emission d'ions, de radicaux, d'atomes et de molécules neutres, émission de photons
e) $t = 5 \text{ ns} > 100 \mu\text{s}$	Expansion du nuage gazeux ou du plasma si l'ignition est atteinte	Réactions ions/molécules

Malgré cette complexité apparente, la plupart des ions positifs ou négatifs donnant le maximum d'informations sur la nature du matériau analysé, sont en général formés dans la phase qui correspond à l'expansion du nuage gazeux dans le vide.

Après avoir traité les différents paramètres qui entrent en jeu lors de l'interaction laser-matière, nous allons nous intéresser dans le paragraphe suivant à la phase initiale d'interaction laser-matière qui conduit à la formation du plasma. Ainsi, nous allons nous procéder à la description des principaux paramètres intervenant dans la création d'un plasma au dessus d'une surface cible en cours de vaporisation et nous conclurons sur le bilan énergétique de l'interaction laser-matière.

III. Description de la création d'un plasma au dessus d'une surface

III.1. Description générale du phénomène

Les caractéristiques physico-chimiques des deux régions correspondant d'une part à l'interaction du faisceau laser avec la surface du matériau et d'autre part, à la région située au dessus de la surface où apparaît le plasma, sont susceptibles d'évoluer très rapidement pendant l'interaction : désorption, éjection de matériau sous forme vapeur et/ou liquide, changement de phase.

En particulier, la présence d'absorbats (molécules organiques) à la surface peut changer radicalement l'interaction et tend généralement à provoquer l'apparition d'un plasma au dessus de la surface. C'est pourquoi, il est important de comprendre les mécanismes d'absorption de rayonnement laser par le matériau en considérant les paramètres suivants :

- * la longueur d'onde du faisceau laser,
- * le temps d'interaction (durée d'impulsion et durée totale d'exposition),
- * la température du plasma,
- * l'énergie photonique (ou irradiance).

III.1.1 La longueur d'onde du faisceau laser

Le rôle de la longueur d'onde du faisceau laser, s'il est prépondérant dans tous les processus de photo-ionisation en phase gazeuse, l'est beaucoup moins en phase solide. En effet, l'absorption multiphotonique par le matériau étant la première étape et l'expansion du plasma la dernière, il est alors parfaitement compréhensible que l'influence de la longueur d'onde (absorption sélective du rayonnement laser) soit très souvent masquée par les caractéristiques du plasma lui-même (Réactions ions-molécules) (Muller, 1987).

Aussi, pourrait-on penser que le type de laser importe peu pour aboutir à l'ionisation des solides. De nombreuses études ont montré l'intérêt d'utiliser une seule source laser bien définie par sa longueur d'onde, tant sur le plan de la spécificité que sur les seuils de détection qui, ainsi, s'en trouvent améliorés (Verdun et al, 1987, Hachimi, 1993). La longueur d'onde joue cependant un rôle important lorsque l'irradiance laser est de l'ordre de 10^6 W/cm^2 . En effet, les mécanismes de l'ionisation laser sont gouvernés par la nature, les niveaux d'énergie et la durée de vie des états électroniques mis en jeu, et donc, par les sections efficaces des transitions d'absorption ou d'émission, ainsi que par celles des autres processus de relaxation.

La longueur d'onde joue un rôle plus secondaire à irradiance très élevée puisque dans ce cas, l'absorption va dépendre essentiellement de la densité électronique du plasma formé et par conséquent, de sa température.

III.1.2 Le temps d'interaction

Il est déterminé essentiellement par la durée de la pulsation laser qui, selon le type, délivre des impulsions allant de la picoseconde à plusieurs centaines de microsecondes (laser Nd-YAG et laser à gaz CO_2 en particulier). Le temps d'interaction dépend par ailleurs de la géométrie du point d'impact (largeur, profondeur) et du temps de transformation qui, pour sa part, est lié aux caractéristiques physiques du matériau analysé : énergie de réseau, conductibilité, coefficient d'absorption molaire ou de la nature des changements de phase durant l'irradiation (importance de paramètres thermodynamiques tels que les chaleurs latentes de fusion ou de vaporisation).

III.1.3 La température du plasma et le degré d'ionisation du plasma

Le temps d'interaction étant inférieur à la microseconde dans la majorité des cas, la situation au point d'impact correspond, dans un plasma chaud, à celle d'un Equilibre Thermodynamique Local (L.T.E. Local Thermodynamic Equilibrium) (Moenke-Blankenburg, 1989). Théoriquement, dans une enceinte en équilibre thermodynamique, il existe une seule température qui fixe toutes les fonctions de distribution (Maxwell, Boltzmann, Planck, Saha). Il y a alors microréversibilité des processus dû aux collisions et en particulier par le rayonnement qui se traduit par la réabsorption immédiate de tous les photons émis. Le rayonnement dans l'enceinte étant un rayonnement de corps noir, le flux d'énergie sortant doit être nul. Toutefois dans les plasmas créés en laboratoire, l'analyse du rayonnement sortant montre que la répartition de l'énergie est discontinue et présente des raies d'absorption ou d'émission. Ce rayonnement sortant ne suit donc pas la loi du corps noir (loi de Planck) et le flux d'énergie sortant n'est pas nul, compte tenu probablement de l'existence de gradient de température dans l'enceinte. La notion d'Equilibre Thermodynamique Local (L.T.E.) a été ainsi introduite afin de permettre une étude plus précise du rayonnement du plasma. Dans un tel système, on définit la situation par une série de sous systèmes ayant chacun des températures différentes (Température d'atomisation, température d'ionisation, etc. ...).

De fortes densités électroniques sont désirables pour la production rapide d'un équilibre thermique. Pour les plasmas produits suite à une irradiation laser, les densités électroniques sont importantes (10^{17} à 10^{22} e⁻/cm⁻³ au niveau du plasma) avec un temps de collision électron-ion pouvant être inférieur à 10^{-9} seconde. Ainsi, par l'utilisation de lasers pulsés en mode "Q-switch", il est possible que le plasma formé soit en équilibre thermodynamique local. Dans le cas d'une température de plasma suffisamment élevée, le degré d'ionisation α_x peut être évalué à l'aide de la relation de SAHA EGGERT :

$$\alpha_x = \frac{n_e \times n_i}{n_o} = \frac{2Z_+}{Z_0} \frac{(2\pi m_e kT)^{3/2}}{h^3} \exp\left(-\frac{I - \Delta I}{kT}\right)$$

avec:

n_e , n_i et n_o : concentration des atomes, des ions, des électrons.

Z_+ et Z_o : fonctions de partition des atomes et des ions.

h et k : constante de Planck et de Boltzmann.

m_e : masse de l'électron.

T : température absolue.

I : énergie d'ionisation.

ΔI : dépression coulombienne (interaction répulsion).

Il est possible d'utiliser une loi simplifiée lorsque le potentiel de dépression coulombienne ΔI qui dépend de la densité électronique n_e est négligée ; cette loi est alors de la forme :

$$a'_x = 2,4.10^{15} \times T^{3/2}.10^{-L} \quad \text{avec } L = 5.10^3 I/T$$

La connaissance du degré d'ionisation a_x permet d'évaluer la température du plasma qui, selon l'irradiance, le type de laser et les caractéristiques physiques du matériau, peut varier entre 6000 et 15000 degrés Kelvins. On note aussi que la montée en température étant tellement rapide, les réactions de décomposition ne sont pas favorisées cinétiquement contrairement à la pyrolyse conventionnelle où l'ionisation thermique se trouve en compétition avec la dégradation thermique du matériau.

III.1.4. L'irradiance du faisceau laser (W/cm²)

L'irradiance est un paramètre fondamental lors de l'interaction entre un faisceau laser et un matériau. Afin de moduler l'irradiance, nous jouons sur la focalisation du faisceau laser en faisant varier la distance lentille de focalisation - cible. Ainsi, seule la surface irradiée évolue. Plus l'énergie est élevée, plus l'irradiance est forte, plus l'impact laser sur l'échantillon est "puissant". L'irradiance est donnée par :

$$Irr = \frac{a.E}{\tau.S} \text{ en W/cm}^2$$

- a : coefficient d'atténuation optique provenant des prismes, lentille et hublot ;
- E : énergie par impulsion du faisceau laser (en Joules) ;
- τ : durée d'impulsion du faisceau laser (en secondes) ;
- S : surface irradiée (en cm^2). Il est capital que, sur cette surface, l'énergie par impulsion soit uniformément répartie.

III.2. Bilan énergétique de l'interaction laser-matière

L'interaction, entre un faisceau laser focalisé et un solide, est un phénomène, comme nous venons de le voir, d'une très grande complexité. Sur le tableau I-4, nous avons indiqué l'ensemble des phénomènes pouvant se produire à un moment ou un autre de l'interaction et l'énergie correspondante mise en jeu.

Il ne faut pas voir dans la succession présentée une chronologie dans le temps mais savoir que certains phénomènes cités peuvent ne pas se produire. Cela dépendra, en fait, de la nature du matériau considéré et des caractéristiques du laser.

Nous admettrons également un principe "d'indiscernabilité des phénomènes" dans la mesure où, s'il est probable qu'une succession logique des phénomènes existe, nous n'avons aucun moyen pour l'établir expérimentalement de façon certaine dans sa totalité.

Cependant, une voie sur l'étude de ces phénomènes est peut être envisageable grâce, notamment, aux lasers dont la durée d'impulsion est de l'ordre de la femtoseconde.

Phénomènes pouvant se produire lors de l'interaction laser sur le matériau	Energie mise en jeu
Dissociation du composé à la température T	Energie de dissociation
Formation éventuelle d'un nouveau composé	Energie de formation
Elévation de température ΔT , du composé, des éléments en phase solide, liquide ou vapeur	Energie de type $\int C_p \cdot dT$
Fusion, Ebullition	Chaleur latente de fusion, d'ébullition
Vaporisation	Chaleur latente de vaporisation
Ionisation : * thermique * par absorption de photons et émission d'électrons	Energie d'ionisation
Excitation des atomes en phase liquide et/ou en phase vapeur	Energie d'excitation
Eventuelle recombinaison en phase vapeur	Energie de formation en phase vapeur
Pertes d'énergie en volume par conduction ou absorption	Pertes d'énergie. L'énergie utile à l'interaction dépendant du coefficient de réflexion et des propriétés du matériau massif
Réflexion d'une partie de l'énergie incidente	

Tableau I-4. Répertoire des différentes énergies pouvant être mises en jeu lors de l'interaction laser-matière

Les mesures du bilan énergétique ont montré qu'en plus des pertes d'énergie liées au rendement du laser, des pertes importantes en énergie à l'intérieur et au dessus de la cible irradiée sont importantes. L'augmentation en valeur absolue des pertes d'énergie dépend de la nature du matériau et des caractéristiques laser (Figure I-12).

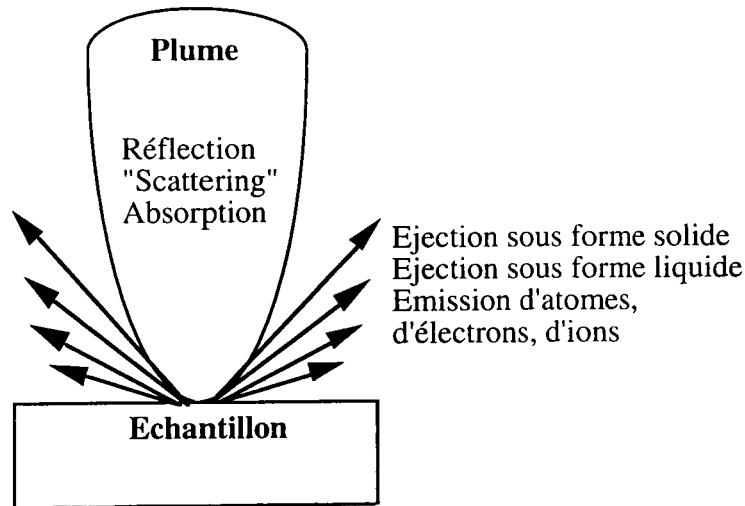


Figure I-12 Phénomènes jouant un rôle dans le bilan énergétique.

Les pertes sont notamment dues au rayonnement de freinage des électrons (effet Bremstrahlung), au rayonnement thermique et à l'expansion du plasma qui est expliqué par la transformation de l'énergie interne de celui-ci en énergie cinétique, ce qui entraîne une diminution de la température.

Outre les pertes énergétiques du plasma, il existe également des gains en énergie. Les gains énergétiques du plasma s'effectuent notamment par effet Joule et par l'effet Bremstrahlung inverse :

✓ L'effet Joule a pour effet d'augmenter le degré d'ionisation du plasma. Les transferts d'énergie onde-électron seront maximum si les fréquences de collision sont égales à la fréquence de l'onde incidente. L'acquisition par les électrons d'énergie due aux chocs se transforme en une énergie désordonnée de mouvement c'est à dire en énergie thermique. En fonction de la densité de particules au sein du plasma, le "chauffage" sera différent :

* Si la densité électronique au sein du plasma est supérieure à $10^{22} \text{ e}^-/\text{cm}^3$, l'onde incidente est réfléchiée, les électrons ne peuvent pas suivre les oscillations du champ lumineux,

* Si la densité électronique est comprise entre 10^{17} et 10^{22} e^-/cm^3 , les électrons peuvent acquérir une énergie égale au potentiel d'ionisation des éléments en un temps inférieur à la nanoseconde,

* Si la densité électronique est inférieure à 10^{17} e^-/cm^3 , les électrons absorbent peu d'énergie et l'onde lumineuse incidente traverse le plasma, celui-ci est dit transparent.

✓ L'effet Bremstrahlung inverse est caractérisé par l'absorption d'un photon quand l'électron libre traverse le champ d'un ion ou d'un atome (Maillet, 1984). Cette énergie est absorbée par l'électron qui en transfère une partie aux particules les plus lourdes par collisions élastiques. Ce processus peut entraîner l'ionisation et permet aussi de créer des niveaux énergétiques élevés qui facilitent les processus d'absorption directe de photons (absorption résonante). Ce mécanisme collisionnel thermalisant l'énergie laser dans la matière est prépondérant pour une énergie photonique élevée, donc aux courtes longueurs d'onde et pour des irradiances laser relativement modérées.

En conclusion, nous constatons que les tentatives de modélisation de l'interaction laser-matière sont nombreuses et mettent en évidence la complexité du phénomène. Aussi, il est clair qu'une meilleure compréhension des mécanismes existants lors d'une irradiation laser avec un matériau massif passe par une approche et une caractérisation approfondie des espèces présentes au sein du plasma.

Après ces rappels sur les processus mis en jeu lors de l'interaction d'un faisceau laser et un solide, nous allons nous intéresser à un type particulier d'ionisation laser : l'ionisation résonante.

D. PHOTOIONISATION RESONANTE

De nombreuses études ont montré l'intérêt d'utiliser une seule source laser bien définie par sa longueur d'onde, tant sur le plan de la spécificité que sur les seuils de détection qui, ainsi, s'en trouvent améliorés (Verdun et al, 1987, Hachimi, 1993). Ainsi, il apparaît avantageux, comme en absorption atomique, d'irradier les gaz contenant un élément donné, avec un laser dont la longueur d'onde est ajustée sur celle d'une raie d'absorption intense propre à cet élément (une seule fréquence pouvant assurer les deux fonctions excitation puis ionisation). On parle alors d'irradiation résonante.

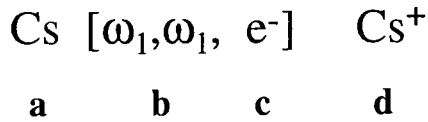
I. Photoionisation des atomes en phase gazeuse avec effet de résonance

L'ionisation résonante (RIMS : Resonant Ionization Mass Spectrometry) a été développée en particulier par Hurst et son équipe (1979). Ils ont proposé cinq schémas de base pour obtenir la photoionisation sélective de tous les atomes du tableau périodique à basse pression ou à pression atmosphérique (sauf F et les gaz rares He, Ne et Ar étant généralement photoionisés à partir d'états excités métastables choisis).

La complexité des schémas dépend d'une part du potentiel d'ionisation de l'atome choisi, de la position relative des différents états excités métastables intermédiaires et d'autre part, du degré de sélectivité recherché qui dans le cas des travaux de Hurst est maximum.

1.1. Nomenclature et description des schémas de base

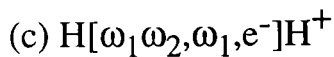
Afin de décrire les différents processus de la photoionisation résonante, une convention d'écriture, suggérée par la physique nucléaire, permet de regrouper tous les schémas en une écriture simplifiée :



avec **a** : symbole chimique de l'élément, **b** : fréquence du ou des photons nécessaires à l'excitation de l'atome, **c** : l'étape de l'ionisation et **d** le symbole de l'ion formé. Les exemples cités ci-dessous donneront plus de clarté aux informations apportées par cette nomenclature. Il est bon de noter que l'écriture $\omega_1\omega_1$ désigne un processus de résonance à deux photons et que la notation $2\omega_1$ est réservée pour un seul photon qui est généré par un doublage de fréquence.

(a) signifie que l'atome Cs peut être excité par un photon de fréquence ω_1 et ensuite être ionisé par l'absorption d'un second photon de même fréquence, produisant l'éjection d'un électron libre et ainsi conduisant à la formation de l'ion Cs^+ .

(b) $\text{Y}[\omega_1, \omega_2, \omega_3, Ee^-]\text{Y}^+$ indique que l'atome Y absorbe des photons en trois étapes, créant un état de Rydberg qui est ionisé par un champ électrique E. Un processus d'excitation à deux photons pour la première étape a été reconnu pour l'ionisation résonante de l'hydrogène H :



(d) un exemple similaire d'une excitation à deux photons est suggéré pour l'atome de Xénon Xe : $\text{Xe}[\omega_1\omega_1, \omega_2e^-]\text{Xe}^+$.

(e) $\text{Cd}[2\omega_1, \omega_2, \omega_2, e^-]\text{Cd}^+$ indique que l'atome (potentiel d'ionisation égal à 9 eV) passe par deux états excités intermédiaires avant d'être ionisé par un photon de fréquence ω_2 . En effet, il y a absorption simultanée de deux photons de 1,9 eV chacun, suivie de l'absorption successive de deux autres photons de 2,8 eV chacun (Figure I-13). Cependant, l'absorption en mode résonant successive de deux photons de 5,1 eV ($\lambda=243,1$ nm) est également suffisante pour ioniser cet atome (Figure I-14). Mais dans ce domaine de longueur d'onde (ultra-violet), un grand nombre

d'atomes possèdent souvent des sections efficaces de transition non négligeables, néfastes à la sélectivité de la technique RIMS.

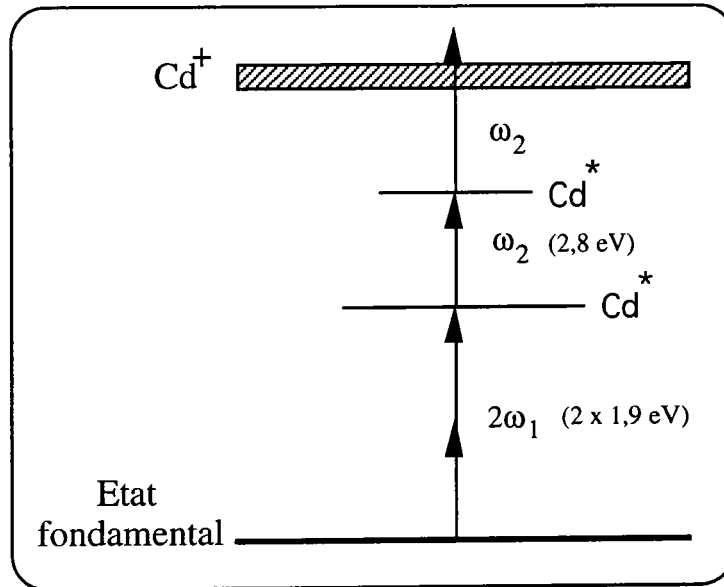


Figure I-13. Processus d'ionisation à trois photons dans le visible pour l'atome de Cadmium.

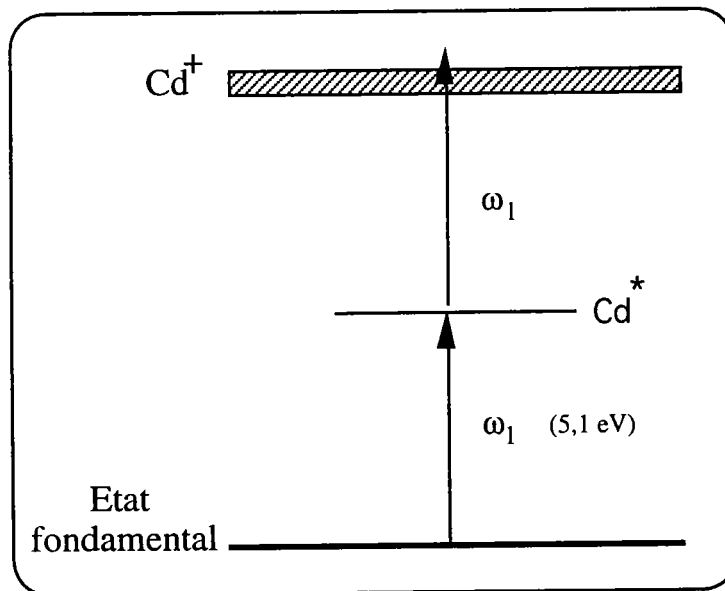


Figure I-14. Processus d'ionisation à deux photons d'énergie équivalente dans l'ultra violet pour l'atome de Cadmium.

Ce formalisme d'écriture peut être également utilisé dans le cas où l'étape de l'ionisation proprement dite n'est pas provoquée par des photons :

* $A[\omega_1, \omega_2, Ee^-]A^+$ indique le cas où un champ électrique E induit l'éjection de l'électron d'un atome A ,

* $A[\omega_1, \omega_2, Ae^-]A^+$ ou $A[\omega_1, \omega_2, Ae^-]A_2^+$ indiquent le cas où l'ionisation s'effectue par self-collision,

* $A[\omega_1, \omega_2, Be^-]A^+$ signifie que l'ionisation est induite par une collision avec un atome B ,

* $A[\omega_1, \omega_2, Me^-]M^+$ indique que l'ionisation est induite par collision avec transfert de charge.

La figure I-15 résume les schémas de base de la photoionisation résonante se rapportant à chaque élément de la table périodique pour lesquels il existe un schéma bien déterminé.

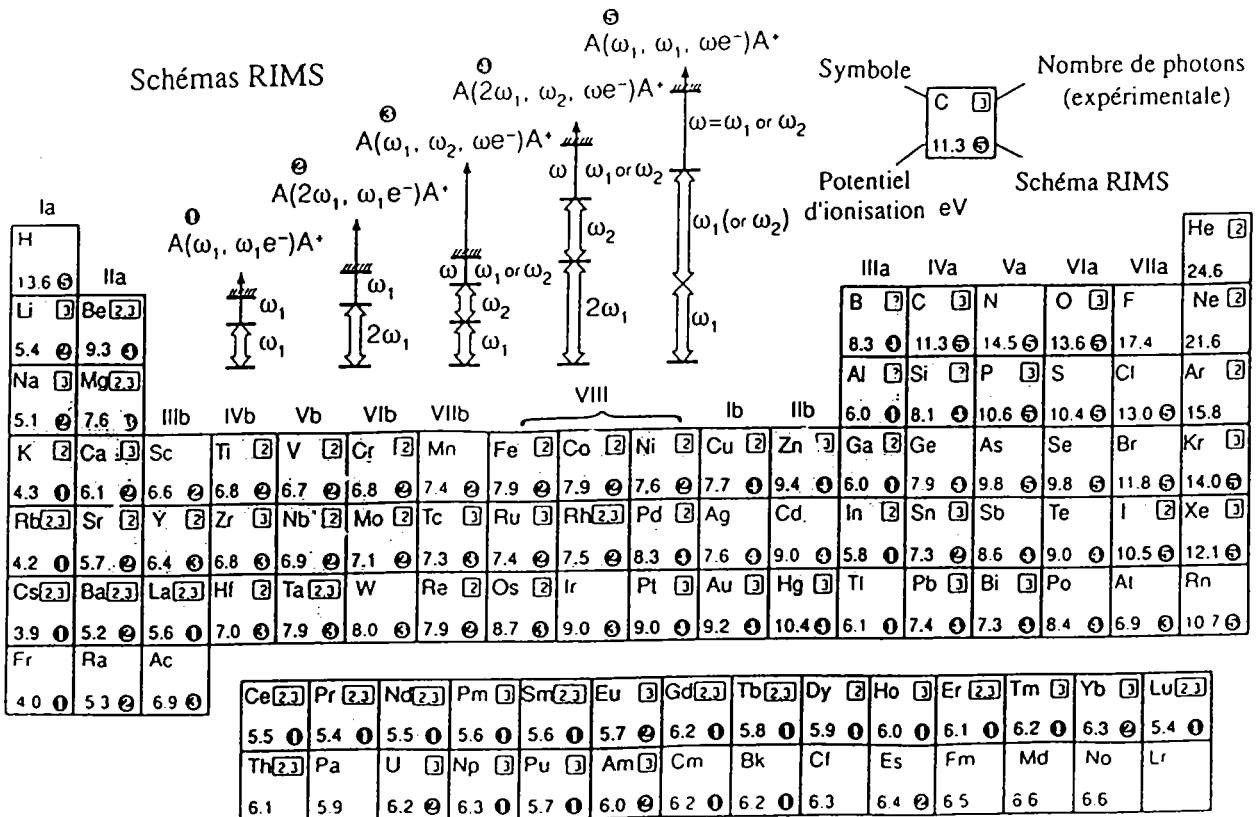


Figure I-15. Schémas de base de photoionisation résonante pour certains éléments.

On s'aperçoit ainsi qu'il est possible d'irradier un échantillon riche en fer, avec un laser de longueur d'onde ajustée sur une raie d'absorption intense propre à cet élément qui nous intéresse particulièrement dans nos recherches. Le choix d'un schéma d'irradiation du fer va être tout d'abord fixé par le potentiel d'ionisation de ce dernier (7,9 eV), les énergies des niveaux intermédiaires, les sections efficaces de transition pouvant également intervenir dans ce choix dans la mesure où ces données sont disponibles.

Après s'être intéressés à la photoionisation des atomes en phase gazeuse avec effet de résonance, nous allons poursuivre en parlant du phénomène de photoionisation résonante appliquée aux molécules organiques.

II. Photoionisation des molécules organiques en phase gazeuse avec effet de résonance (Muller, 1994)

Les processus de l'ionisation laser des molécules en phase gazeuse ont été largement étudiés et ont fait l'objet de nombreux travaux dont l'essentiel est reporté dans la monographie éditée par Letokhov (1986). Afin de mieux apprécier les mécanismes de désorption laser, il convient de rappeler les processus de l'ionisation laser des molécules organiques en phase gazeuse.

Lorsque l'irradiance du laser est inférieure à 10^7 W/cm², l'absorption des photons suit la loi de Beer-Lambert et les mécanismes de l'ionisation laser sont gouvernés par la nature, les niveaux d'énergie et la durée des états électroniques mis en jeu et, par conséquent, par les sections efficaces des transitions d'absorption ou d'émission ainsi que celles des autres processus de relaxation. On comprend aisément que la longueur d'onde du ou des faisceaux laser dans le cadre d'une photoionisation avec effet de résonance soit un paramètre prépondérant.

Si l'irradiance du laser est supérieure à 10^7 W/cm², les premiers photons de l'impulsion sont absorbés par les gaz qui se transforment très rapidement en un plasma plus ou moins dense qui réabsorbe les derniers photons de cette même impulsion laser. Ceci induit en général une fragmentation prononcée des molécules organiques étudiées.

On distingue de ce fait deux principaux types de processus dont les uns peuvent être induits à faible irradiance, alors que les autres demandent une plus forte énergie.

II.1. L'ionisation résonante à deux ou trois photons

Un premier laser de longueur d'onde donnée notée λ_1 (dans l'exemple choisi $h\nu_1 = 4,66$ eV) induit la transition entre l'état fondamental de la molécule étudiée et l'un de ses états excités S_1^* dont la durée de vie est relativement élevée ($t = 10^{-8}$ s). A partir de ce niveau excité, plusieurs processus sont en compétition :

* *la réabsorption* d'un second photon d'énergie $h\nu_2$ de 4,9 eV qui permet l'ionisation de la molécule. Il est nécessaire que la somme des quanta d'énergie des deux lasers soit supérieure au potentiel d'ionisation PI adiabatique de la molécule, en général mesuré par spectroscopie photoélectronique UPS : $h\nu_1 + h\nu_2 > PI$.

* *La fluorescence (fluo)* ($S_1^* \rightarrow S_0$) de la molécule dont le rendement quantique peut être mesuré (études photochimiques),

* *L'interconversion spin-spin (isp)* ($S_1^* \rightarrow T_1^*$) qui conduit à un triplet excité T_1^* plus stable, celui-ci pouvant éventuellement réabsorber un troisième photon dont le quantum d'énergie $h\nu'_2$ doit être plus élevé afin que l'état ionisé de la molécule puisse être atteint : $h\nu_1 + h\nu'_2 > PI$.

La durée de vie de l'état excité S_1^* et, de ce fait, la probabilité de réabsorption d'un second photon dépendent en partie de la valeur des deux constantes de vitesse k_{fluo} et k_{isp} .

Ainsi, il est possible d'obtenir sélectivement le pic moléculaire $M^{\cdot+}$ d'une molécule par un processus à deux photons. Dans les conditions de la figure I-16, l'ionisation ne procure pas d'excès d'énergie par rapport au complexe activé de l'état ionique vers sa dissociation unimoléculaire. De ce fait, les constantes de vitesse unimoléculaire ont des valeurs faibles et par conséquent, le taux de fragmentation est très réduit, voire inexistant. Par contre, si l'excès d'énergie photonique cumulée est trop important, celui-ci se

répartit dans tous les modes de vibration de la molécule induisant alors de multiples fragmentations.

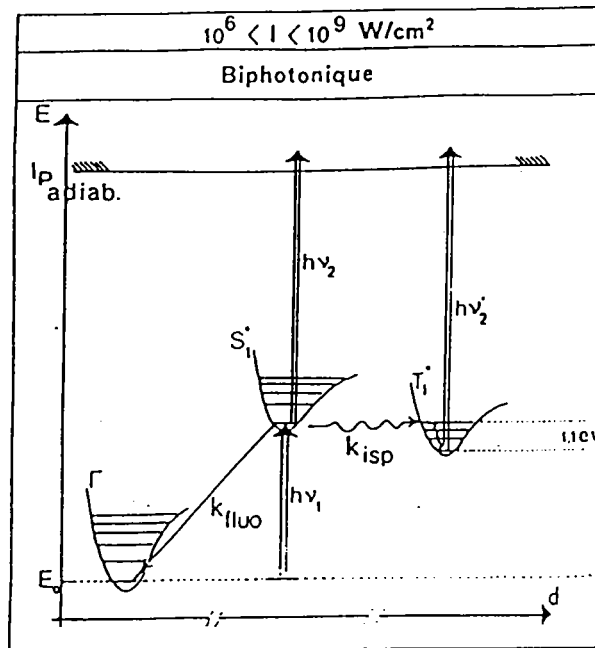


Figure I-16. Schéma d'ionisation d'une molécule M par un processus bi-photonique via un état singulet excité S_1^* ou via un état triplet excité T_1^* .

En général, deux modes d'ionisation photoniques (voire monophotoniques) sont accessibles à l'aide de deux lasers UV dont l'un est accordable en fréquence (laser à colorant accordable dont la fréquence est soit doublée, soit mixée avec l'harmonique du laser Nd-YAG de pompe (Krier et al., 1985) :

- à *basse intensité* : la sélectivité est maximale, mais les rendements d'ionisation sont assez faibles,

- à *plus haute intensité* : le rendement d'ionisation peut être égal à 100 % (haute sensibilité), mais la sélectivité est beaucoup plus faible. Ceci est dû à une trop grande dispersion de l'énergie interne des ions (apparition de fragments).

Cependant, dans de nombreux cas, ce type de mécanisme peut être obtenu avec un seul laser, les deux photons en jeu ayant évidemment le même quantum d'énergie.

II.2. L'ionisation multiphotonique

Dans de tels cas, la longueur d'onde du laser est beaucoup plus élevée ce qui correspond aux lasers Infra Rouge comme le laser Nd-YAG (1064 nm) ou le laser à gaz CO₂ (10,6 μm soit une énergie $h\nu'_1=0,11\text{ eV}$).

Chaque photon de l'impulsion laser promeut la molécule dans une succession d'états excités virtuels de très courte durée de vie. Les sections efficaces des transitions correspondantes sont par conséquent extrêmement faibles ($\sigma = 10^{-34}\text{ cm}^2$). Ceci explique que l'état ionique de la molécule ne pourra être atteint que si l'on dispose d'une très grande densité de photons par unité de surface, c'est à dire une grande intensité laser ou encore appelée irradiance ($I > 10^{10}\text{ W/cm}^2$) (Figure I-17). Si le rendement d'ionisation est dans certains cas très élevé, la sélectivité de l'ionisation sera par contre très nettement plus faible, avec cependant des taux de fragmentation plus élevés : toutes les molécules sont en général ionisées et/ou fragmentées.

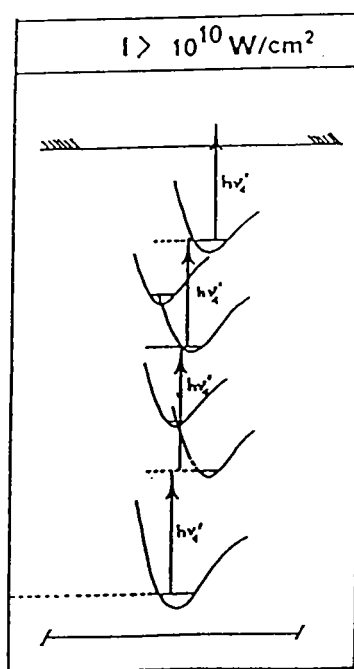


Figure I-17. Schéma d'ionisation d'une molécule M par un processus multiphotonique via des états excités virtuels avec un laser émettant dans l'infra-rouge.

III Faisabilité de l'ionisation résonante par quelques exemples d'applications

III.1. Discrimination isobarique

La technique R.I.S. (Resonance Ionization Spectroscopy) couplée à la spectrométrie de masse est utilisée notamment pour discerner des isobares souvent difficiles à séparer par des méthodes plus classiques telle que la spectrométrie de masse.

Le prométhium (^{147}Pm), faisant parti de la famille des lanthanides, est très étudié afin de connaître ses propriétés nucléaires (demi-vie, section efficace). Ce dernier peut être synthétisé par capture de neutrons en utilisant le Samarium (^{152}Sm) comme précurseur (Shaw et al., 1988). Les échantillons de prométhium ainsi obtenus contiennent ainsi une fine quantité de samarium résiduel.

En outre, tous les isotopes du prométhium sont radioactifs, subissant une désintégration par émission β^- et conduisant à la formation de noyau fils de samarium (^{147}Sm). Ainsi, ces émissions β^- amènent des interférences isobariques au niveau des analyses par spectrométrie de masse des échantillons de prométhium car nous sommes en présence à la fois de noyaux ^{147}Pm et ^{147}Sm .

La capacité de l'ionisation résonante à différencier les atomes de prométhium et de samarium est montrée sur la figure I-18 : en effet, l'ionisation de ^{152}Sm est effective pour des longueurs d'onde allant de 585,5 nm à 588 nm avec deux raies intenses à 587,55 nm ($^7\text{F}_2 \rightarrow ^7\text{F}_3$) et à 587,8 nm ($^7\text{F}_3 \rightarrow ^5\text{G}_4$). En élargissant la gamme de longueur d'onde, les atomes ^{147}Sm et ^{147}Pm sont ionisés pour des longueurs d'onde allant de 583,5 nm à 588 nm, les raies à 584,6 nm et à 585 nm étant spécifiques à ^{147}Pm . Ainsi, il est possible de différencier ces deux ions isobariques.

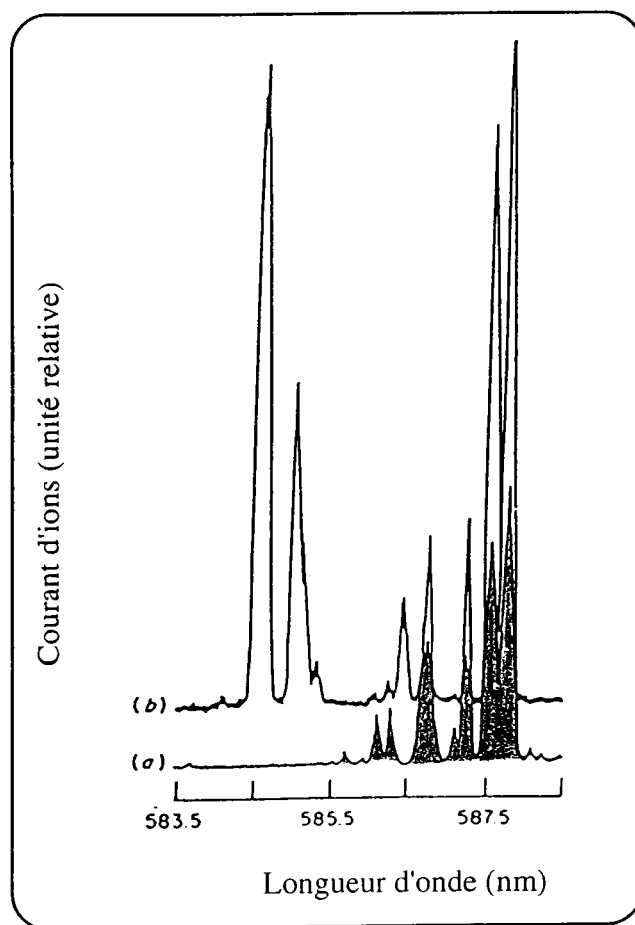


Figure I-18. (a) Spectre du Samarium ^{152}Sm , (b) spectre du mélange Samarium ^{147}Sm avec Prométhium ^{147}Pm obtenu par ionisation résonante (raies caractéristiques du Prométhium ^{147}Pm : 584,6 et 585 nm).

III.2. Analyses élémentaires

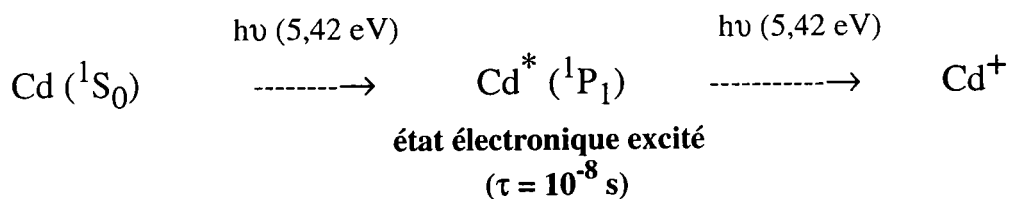
Nogar et al. (1992) ont préconisé un protocole particulier pour obtenir la photoionisation du chrome avec une très grande sélectivité : à l'aide d'un laser eximère, ils ont désorbé les espèces neutres du chrome à partir d'une solution de $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ déposée sur un disque de Polyméthylméthacrylate (PMMA). L'ionisation de ces espèces est effectuée par la suite par un laser de longueur d'onde $\lambda = 542 \text{ nm}$ suivant un mécanisme d'ionisation de type $2 + 1$ (deux photons pour la résonance + un photon pour l'ionisation). Le seuil de détection ainsi atteint était de l'ordre de 10 femtogrammes.

Le couplage de la microsonde laser LAMMA à un laser à colorant accordable en fréquence permet l'étude sélective de certains éléments. Ainsi pour le Cadmium (Muller et al, 1984 ; Verdun et al., 1987), l'ionisation avec un laser de longueur d'onde $\lambda = 228,8$ nm, qui correspond à la transition électronique $^1S_0 \rightarrow ^1P_1$ (raie d'émission intense du cadmium), améliore d'un facteur 50 la sensibilité pour cet élément par rapport à la longueur d'onde fondamentale $\lambda = 266$ nm. Dans cette procédure, une seule impulsion laser de 12 ns joue plusieurs rôles (Muller et al., 1994):

- les premiers photons de l'impulsion laser créent le microplasma ($t < 2$ ns),

- lorsque le plasma redevient suffisamment transparent, certains photons de la même impulsion laser sont absorbés par les atomes de Cadmium présents pour être excités sélectivement (Cd^*),

- enfin, les derniers photons de l'impulsion laser sont absorbés par les atomes de Cadmium sous l'état excité (Cd^*) transférant cet atome au delà du continuum (ions Cd^+).



Le même phénomène a été observé pour le cuivre ($\lambda = 324,75$ nm) et le molybdène ($\lambda = 313,26$ nm).

La valence du plomb dans les poussières émises dans les ateliers de finitions des cristalleries a été déterminée par ablation/ionisation résonante par Chaoui et al. (1996). Ainsi, les études menées avec une longueur d'onde $\lambda = 283,3$ nm ($^3P_0 \rightarrow ^3P_1$) révèlent la présence de l'oxyde de plomb PbO au sein de ces poussières.

Johann et al. (1993) ont mis au point un protocole de détection d'impureté métallique (Fe, Cr, Ti, Cu, Zn) dans des matériaux semi-conducteurs en utilisant la technique SIMS (Spectrométrie de Masse des Ions Secondaires) avec une post-ionisation des espèces éjectées à l'aide d'un laser. Pour cela, les différentes longueurs d'onde permettant d'ioniser ces différents métaux ont été déterminées selon le schéma le plus simple de l'ionisation résonante, à savoir une couleur, une résonance. Ainsi, une étude sur des teneurs en Cr dans des aciers standards permet d'atteindre une limite de détection de 0,2 ppm. Il a été également montré que les résultats étaient indépendants de la matrice, notamment en ce qui concerne les études sur le Chrome et le Fer. Pour ce dernier, il s'avère que la longueur d'onde $\lambda = 293,7$ nm correspondant à une raie intense d'absorption ($^5D_4 \rightarrow ^5F_4$) est propice à la détection du fer à l'état de trace, longueur d'onde que nous utiliserons dans la suite de nos travaux.

III.3. Application de l'ionisation résonante aux molécules organiques

Selon la nature des molécules, leur énergie de réseau et la nature du support sur lequel elles peuvent être adsorbées, l'irradiance optimale pour caractériser par laser les molécules organiques est comprise entre $5 \cdot 10^6$ W/cm² et 10^8 W/cm².

Les molécules dont les ions-radicaux moléculaires sont particulièrement stables (stabilité de l'électron célibataire par résonance), comme les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sur lesquels nous reviendrons par la suite, peuvent être détectées à très faible concentration si l'on utilise de faibles longueurs d'onde ($\lambda = 266$ nm, $\lambda = 248$ nm, $\lambda = 223,2$ nm, $\lambda = 193$ nm). Dans ce cas, lors de l'irradiation à faible irradiance, les photons absorbés par la phase gazeuse sus-jacente, dans laquelle on trouve essentiellement des molécules neutres de HAP, transfèrent celles-ci dans un état excité dont la durée de vie n'excède pas la nanoseconde. Cet état réabsorbe un deuxième photon de la même impulsion laser, ce qui a pour effet d'ioniser sélectivement l'hydrocarbure. Il s'agit d'un mécanisme à deux photons. La longueur d'onde sera choisie en fonction du spectre d'absorption des HAP présents (Muller et al., 1985).

Ainsi, des hydrocarbures aromatiques nitrés ont été caractérisés par désorption laser à 193 nm à la fois directement sur support ou absorbés sur des particules issues de divers émetteurs (véhicules, hall d'industrie lourde) (Delmas et al., 1992).

Après avoir fait ce tour d'horizon d'une part sur les différentes techniques disponibles pour déterminer les différents degrés d'oxydation du fer, soit en milieu aqueux, soit directement sur les particules solides et, d'autre part, sur les caractéristiques des processus mis en jeu lors de l'interaction laser-matière, nous allons développer plus en détail, dans la prochaine partie, les techniques d'ionisation laser couplées à la spectrométrie de masse disponibles dans notre laboratoire, en l'occurrence les microsondes laser LAMMA 500 et FT/ICR/MS.

Bibliographie

Adams F., Gijbels R., Van Grieken R., **1988**. *Inorganic Mass Spectrometry*, Wiley-Interscience, New-York.

Ahra E. H., **1993**. *Thèse*, Université de Metz.

Andre J.C., Vannes A.B., Planche R., Godin P., **1992**. "*Techniques d'utilisation des photons - Principes et applications*", DOPEE 85, Impression MELUN.

Atkins P.W., **1978**. *Physical Chemistry*. , Ed. Oxford University Press, p 630.

Bernard J., **1949**. *Bull. Soc. Chim.*, 16, p D109.

Bernard M., **1989**. Cours de chimie minérale. *Edition Dunod*, p 357.

Braun M. A., Maurette M-T., Oliveros E., **1986**. "*Technologie photochimique*"., Presses Polytechniques romandes, Suisse.

Catherinot A., **1990**. Ablation par laser des céramiques. *Journées Ablation Laser, CESCO technopôle Metz 2000, G.A.M.S. - EST*.

Chan C.L., Mazumder J, **1987**. *J. Appl. Phys.*, 62(11), p 4579.

Chaoui N., Hachimi A., Millon E., Muller J.F., **1996**. *Analisis*, 24 p 146.

Chaudron G., **1967**. Le fer. *Pascal tome XVII*, p 479.

Conzenius R.J., Capellen J.M., **1980**. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, 34, p 197.

Cox X.B., Linton R.W., Butler F.E., **1985**. *Enviro. Sci.Tecnol.*, 19, p 345.

David D., Caplain R., **1988**. *Méthodes usuelles de caractérisation des surfaces.*, Ed. Eyrolles, p 102.

- De silva D, Askwith C.C., Kaplan J., **1996**. *Biological Reviews*, 6(1), p 31.
- Delhaye M., Barbillat J., Da Silva E., **1992**. *Spectra 2000*, 162, p 37.
- Delmas S., Muller J.F., **1992**. *Analisis*, 20, p 165.
- Desserre J., **1974**. *Thèse*, Université de Paris VII.
- Dumas J.L., **1970**. *Revue de physique appliquée*, tome 5, n°6, p 796.
- Eberhart J.P., **1989**. *Analyse structurale et chimique des matériaux*, Ed. Dunod (Paris).
- El-Defrawy M.M, **1995**. *Analisis*, 23, p 107.
- Elinder C.G., **1989**. *Iron. Handbook on the toxicology of metals*. p276.
- Eloy J.F., **1971**. *Int. J. Mass Spectrom.*, , 6, p 201.
- Eloy J.F., **1985**. *Les lasers de puissance - applications*. Ed. Masson Paris
- Elrod A.V., Jonhson S.K., Coale K.H., **1991**. *Anal. Chem.*, 63, p 893.
- Feils P, Schuler B, Hillenkamp H., **1978**. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Physics*, 47, p 15.
- Freas B.R., Campana J.E., **1986**. *J. Am. Chem. Soc.*, 108, p 4659.
- Gaumet J.J., Membrey F, Chambaudet A., **1996**. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, t. 322, Série II b, p 507.
- Glick D., Rosan R.C., **1966**. *Microchem. J.*, 10, p 393.
- Gourgout J.M., **1979**. *SIMS II, Cameca IMS 3f*. Second international conference on secondary ion mass spectrometry.
- Hachimi A., Poitevin E., Krier G., Muller J.F., Pironon J., Klein F., **1993**. *Analisis*, 21, p 77.

Handboock of X ray electron soectroscopy, **1978**. *Perkin Elmer Corporation*, Physical Electronics Division, Eden Prairie, Minnesota, 55344.

Hillenkamp F., Karas M., 1990. *Methods in Enzymology*, Academic Press, 193, p 280.

Hillenkamp F., Karas M., Beavis R.C., Chait B.T., **1993**. *Anal. Chem.*, 63(24), p 1193A.

Hillenkamp F., Unsöld E., Kaufmann R., Nitsche R., **1975**. *Nature*, 256, p 119.

Hoppilliard Y., **1991**. *Spectra 2000 (supplément)*, 159, p 16.

Hurst G.S., Payne M.G. Kramer S.D., Young J.P., **1979**. *Reviews of Modern Physics*, 51(4), p 767.

Jacobson D.B, Freiser B.S., **1986**. *J. Am. Chem. Soc.*, 108, p 27.

Janssen E., **1980**. *Materials Science and Engineering*, 42, p 309.

Jette E.R., Foote R., **1933**. *J. Chem. Phys.*, 1, p 29.

Johann L., Stuck R., Kern P., Siffert P., **1993**. *Analusis*, 21, p 149.

Johann L., Stuck R., Kern P., Sipp B., Siffert P., **1993**. *Applied Surface Science*, 63, p 75.

Kahlow M.A., Loehr T.M., **1993**. *J. Am. Chem. Soc.*, 115, p 5845.

Kaufmann R., Hillenkamp H., Wechsung R., **1978**. *European Spectroscopy News*, 20, p 41.

Krier G., Muller J.F., **1987**. *Mémoires et Etudes scientifiques, Revue de Métallurgie*, p 275.

Krier G., Verdun F., Muller J.F., **1985**. *Frezenius Z Anal. Chem.*, 322, p 379.

Letokhov V.S., **1986**. *"Laser Analytical Spectrochemistry"*, Ed. Adam Hilger, Bristol and Boston.

Maillet H., 1984. Le laser - Principes et techniques d'application. *Tec & Doc, Lavoisier, Paris*.

Marion F., **1955**. *Thèse*, Université de Nancy.

Masterson H.J., Lunney J.G., Coey J.M.D., **1992**. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 115, p 155.

Millon E., **1987**. *Thèse*, Université de Nancy I.

Moenke-Blankenburg L., **1989**. Laser microanalysis. *A Wiley-interscience publication*, chapitre 3, p 21.

Muller J.F., **1987**. *Spectra 2000*, 15(20), p 23.

Muller J.F., **1994**. *Cours de Spectrométrie de Masse*, Centre de Formation du CNRS (Garchy).

Muller J.F., Krier G. Chamel A., **1994**. *J. Trace and Microprobe Techniques*, 12(3), p 145.

Muller J.F., Krier G. Verdun F., Lamboulé M., Muller D., **1985**. *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, 64, p 127.

Muller J.F., Verdun F., Krier G., Lamboulé M., Tourmann J.L., Muller D., Loreck S., **1984**. *C.R. Acad. Sc., Paris* 299(II), 16, p 1113.

Muller J.F., Verdun F.R., Krier G., Lomboulet M., Gondouin G., Tourmann J.L., Muller D., Loreck S., **1984**. *C. R. Acad. Sc. Paris*, tome 299, Série II, n°16, p 1113.

Mur J.M., Meyer-Bisch C., Pham Q.T., Massin N., Moulin J.J., Cavellieri C., Sadoul P. **1987**. *J. Occup. Med.*, 29, p 762.

Nogar N.S., Estler R.C., **1992**. *Anal. Chem.*, 64, p 465.

Obata H, Karatani H, Nakayama E, **1993**. *Anal. Chem.*, 65, p 1524.

Pham Q.T., Teculescu D., Bruant A., Chau N., Viaggi M.N., Rebstock E., **1992**. *Eur. J. Epidemiol.*, 8(4), p 594..

Pinta M., **1978**. *Modern Methods for Trace Element Analysis*, p 36.

Piuzzi F., Botter R., **1989**. *Analisis*, 17(9), p 29.

Raiser Y.P., **1970**. *Soc. Phys., L.G.P.T.* 31, p 1.

Ready J.F., **1978**. *Industrial application of lasers. Academic Press*

Ryan T.P., Aust S.D., **1992**. *Critical Reviews in Toxicology*, 22(1), p 119.

Schwedt G., **1993**. *Atlas de poche des Méthodes d'analyse. Edition Médecine-Sciences chez Flammarion*, 83-93.

Shaw R.W., Young J.P., Smith D.H., **1988**. *Anal. Chem.*, 60(3), p 282.

Straughan B.P., Walker S., **1976**. *Spectroscopy, Vol. 1*, Ed. par Chapman and Hall.

Straughan B.P., Walker S., **1976**. *Spectroscopy, Vol. 2*, Ed. Chapman et Hall, London.

Van Note F., Raymaekers J., **1988**. *Pour la Science*, 130, p 38.

Verdun F.R., Krier G., Muller J.F., **1987**. *Anal. Chem.*, 59, p 1383.

Von Allmen M., Blatter A., **1987**. *Laser - beam interactions with materials. Springer - Verlag Berlin*

Watts J.F., **1994**. *Vacuum*, 45(6,7), p 653.

Xu X.J., Zhang H.S., Zhang C.Y., Cheng J.K., **1991**. *Anal. Chem.*, 63, p 2529.

Yi Z., Zhuang G., Brown P.R., Duce R.A., **1992**. *Anal. Chem.*, 64, p 2826.

Young J.F., Sipe J.E., Preston J.S., Van Driel H.M., **1982**. *Appl. Phys. Lett.*, 41(3), p 261.

Yu W, Freas B.R., **1990**. *J. Am. Chem. Soc.*, 112, p 7126.

Zhuang G., Yi Z., Duce R.A., Brown P.R., **1992**. *Nature*, 355, p 537.

Chapitre II

A. LES METHODES DE CARACTERISATION UTILISEES POUR NOS ETUDES

I. Les microsondes laser couplées à la spectrométrie de masse

La technique laser a été introduite d'abord en spectrométrie de masse élémentaire, dans les années soixante. Dès 1962, Eloy et al. ont commencé, en France, à développer une microsonde laser, à base d'un spectromètre de masse à focalisation simple par secteur magnétique (Eloy, 1971). Avec un convertisseur opto-électrique breveté, remplaçant la plaque photographique, l'enregistrement des spectres à temps de vol est devenu possible (Stefani, 1988). Dès lors, des spectromètres de masse de types différents ont été pourvus d'une source laser. La commercialisation des microsondes laser par Leybold-Heraeus et Kratos (initialement Cambridge Mass spectrometry) a été un coup de maître, accueilli aussi bien par les analystes "élémentaires", au vu des performances pour les échantillons isolants, que par les chimistes organiciens, dont l'intérêt va de la caractérisation des substances incompatibles avec des techniques conventionnelles jusqu'à la détection in situ de molécules spécifiques.

Les couplages microsonde à impact laser et spectrométrie de masse (LMMS) présentent la particularité d'associer le laser comme procédé d'ionisation, pouvant intervenir sur une grande variété de matériaux à analyser. Ces techniques font correspondre à chacune des masses des éléments d'un échantillon (atomes, molécules, radicaux) après ionisation, une indication chiffrée renseignant sur la présence et la quantité relative des éléments constitutifs de cet échantillon. Les mesures sont qualitatives, car le spectre constitue une empreinte plus ou moins caractéristique, selon l'échantillon, de sa structure moléculaire, et semi-quantitative puisque l'amplitude du signal pour un signal quelconque peut être ramenée à une quantité relative de l'élément présent dans l'échantillon.

Nous disposons au laboratoire de deux spectromètres de masse couplés à la désorption/ionisation laser :

- ✓ la microsonde laser LAMMA 500 (LAsEr Microprobe Mass Analyser) qui utilise comme analyseur le temps de vol des ions,
- ✓ la microsonde laser FT/ICR/MS qui utilise comme analyseur la résonance cyclotronique des ions.

1.1 La microsonde laser LAMMA 500 (Kaufmann et al, 1979 ; Vogt et al., 1981 ; Denoyer et al., 1982 ; Adams et al., 1986)

Peu après l'introduction des lasers au début des années soixante, ces derniers ont été exploités dans le domaine de la spectrométrie de masse. Les performances de ces techniques nécessitaient cependant un spectromètre de masse à double focalisation, en raison d'une mauvaise résolution spatiale du faisceau (diamètre de la zone analysée d'environ 150 μm) d'une part et d'autre part de trop longues impulsions occasionnant la production d'ions avec des dispersions d'énergie trop importantes. Par ailleurs, l'émission d'ions de très hautes énergies (1000 eV) laissa planer un doute quant au couplage des microsondes laser à un spectromètre de masse avec une transmission et une résolution suffisantes (Linlor, 1963). La rapidité de l'amélioration des performances des microsondes laser comme le régime pulsé, le mode déclenché, la focalisation du faisceau, le couplage avec un spectromètre de masse à temps de vol avec réflecteur d'ions, conduisit à la conception d'une instrumentation LAMMA qui devint accessible sur le marché en 1978 (LAMMA 500 Leybold-Heraeus Cologne.R.F.A) en tant qu'instrument d'analyse élémentaire (Hillenkamp et al., 1975) et plus particulièrement utilisé dans le domaine biomédical.

Il existe différents appareils de spectrométrie de masse à temps de vol. Au cours de ce travail, la microsonde laser de type LAMMA 500 (figure II-1) dont nous disposons au laboratoire depuis 1980, a été utilisée.

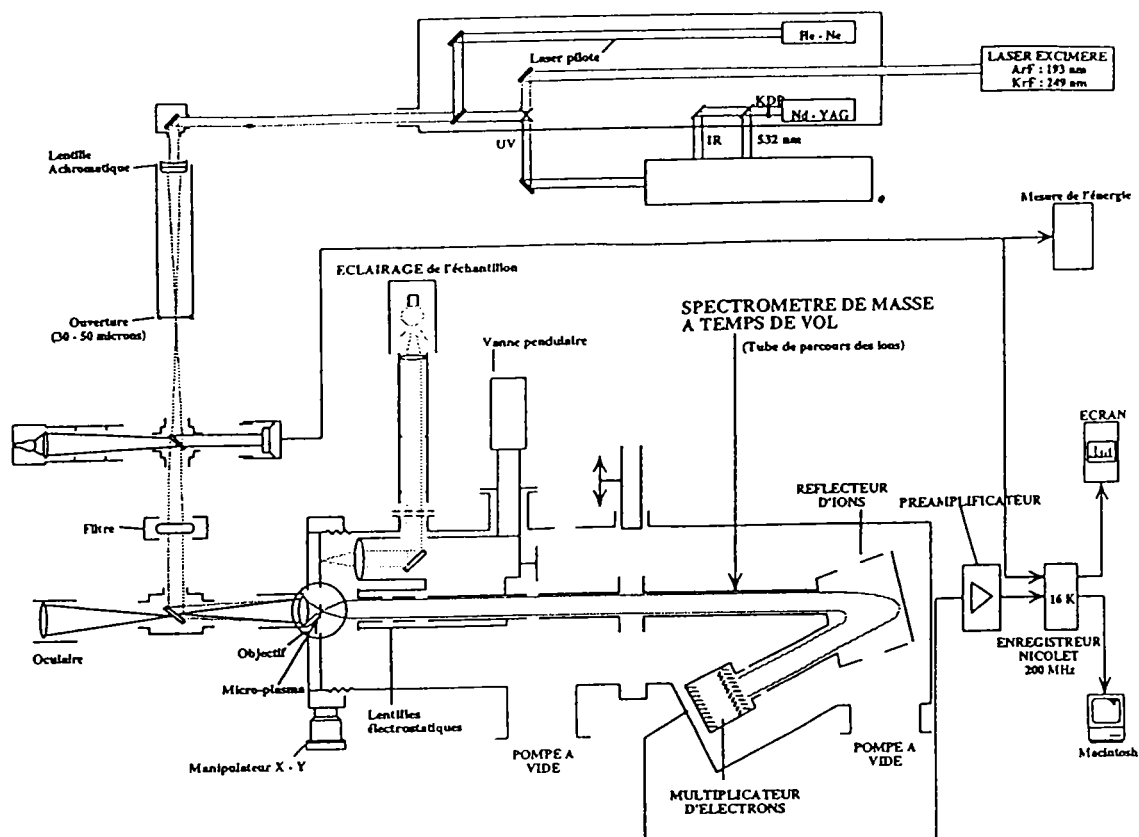


Figure II-1. Schéma de la microsonde laser LAMMA 500.

Le principe d'ionisation de cet appareil repose sur le passage à l'état ionisé-gazeux d'un microvolume ($\sim 1\mu\text{m}^3$) d'échantillon solide à l'aide d'un faisceau laser. Les ions ainsi formés, animés d'une énergie cinétique bien définie, communiquée dans une direction donnée par la différence de potentiel d'accélération, sont collectés et accélérés dans un spectromètre de masse à temps de vol pour l'analyse des particules ionisées obtenues. Ces microsondes permettent l'étude des molécules dans les deux modes d'ionisation positif et négatif, suivant la polarité des potentiels sur les électrodes.

I.1.1 La technique d'ionisation

L'énergie nécessaire pour l'ionisation de l'échantillon provient d'un laser à matériau actif solide, le grenat d'Yttrium et d'Aluminium ($\text{Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$, noté YAG) dopé au Néodyme (Nd^{3+}). Ce type de laser fait partie de la famille des lasers à quatre niveaux dont le processus est indiqué schématiquement sur la figure II-2. C'est par pompage optique à l'aide de

lampes flash linéaires au Xénon que se produit l'inversion de population. Le pompage a lieu à partir du niveau fondamental E_0 dans une bande d'absorption E_3 . La transition non radiative de E_3 dans le niveau métastable supérieur E_2 est très rapide. Le niveau d'arrivée de la transition laser est le niveau E_1 qui se situe en dessus du niveau fondamental E_0 . Ce niveau E_1 est de courte durée de vie et pratiquement inoccupé. Il suffit donc d'un pompage faible pour obtenir une inversion de population. La transition laser correspondante est à 1064 nm.

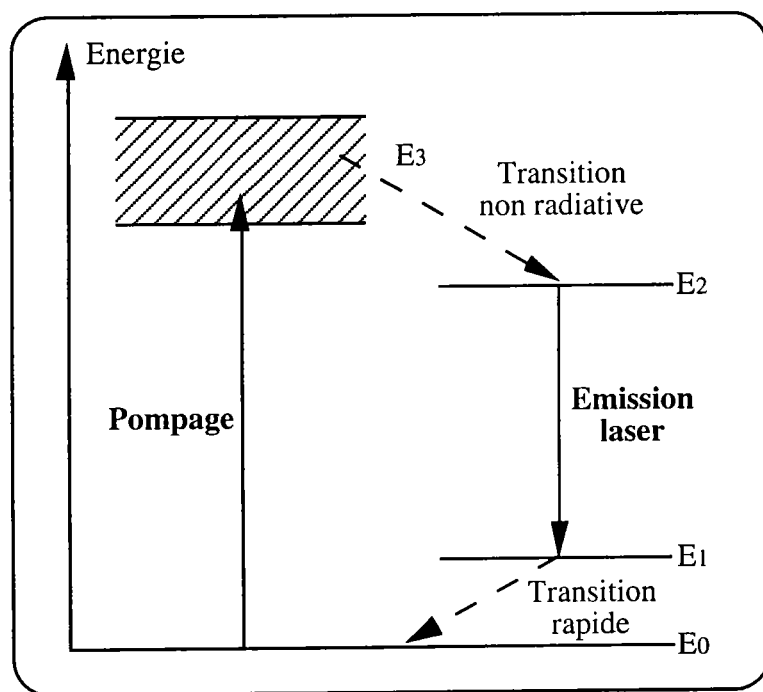


Figure II-2. Schéma de niveaux du laser Nd-YAG.

Un élément amplificateur et l'association de cristaux doubleurs optiques de fréquence permet d'obtenir des impulsions laser sortantes d'énergie allant jusqu'à 2 mJ pour un temps de pulse de 15 ns à la longueur d'onde UV de **266 nm**. La densité de puissance maximale (irradiance) peut être de 10^{11} W/cm² voire plus.

Afin de faciliter la focalisation du laser Nd-YAG sur un endroit précis de l'échantillon à analyser, un laser Hélium-Néon dont le principe est montré sur la figure II-3, est aligné colinéairement à la lumière UV par rapport à l'axe du microscope. La puissance délivrée est toujours modeste, de 1 à 10 mW en

régime continu.

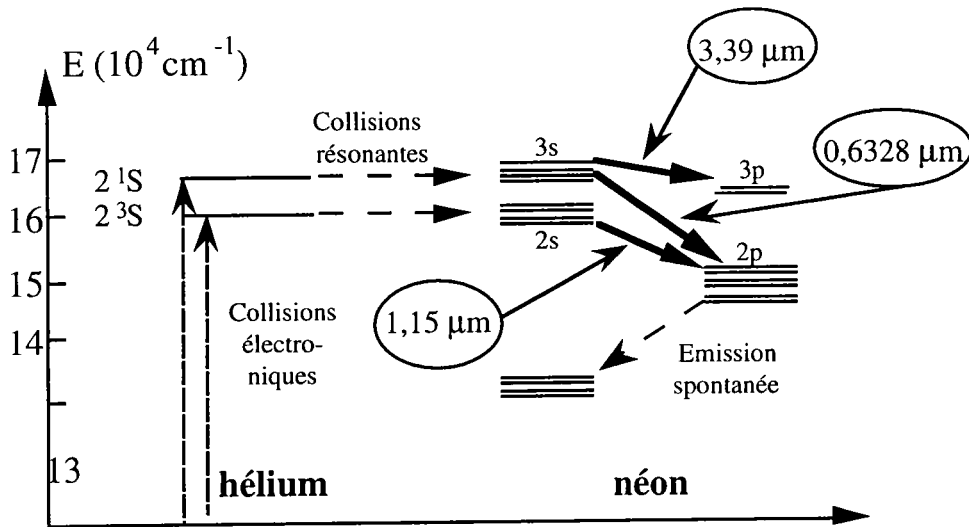


Figure II-3. Schéma de niveaux du laser hélium-néon (d'après Maillet, 1984).

Le transfert s'effectue entre le niveau métastable 2^1S de l'hélium vers les niveaux $2s$ du néon et l'émission se produit à 632,8 nm et 3,39 μm . Le choix de la transition entrant en oscillation se fait par des miroirs diélectriques multicouches qui ont une très haute réflectivité dans un domaine de longueurs d'onde restreint.

Le microscope optique à haut pouvoir de résolution est muni de trois objectifs permettant des grossissements de 100, 320 et 1000 fois. Ce microscope équipé d'un système de lentilles UV est utilisé à la fois pour l'observation et la focalisation du faisceau laser ionisant. A l'aide d'un jeu de plusieurs filtres, l'énergie déposée sur l'échantillon peut varier de moins de 0,01 μJ jusqu'à plusieurs μJ par impulsion.

1.1.2. Insertion de l'échantillon

De par sa conception, la microsonde LAMMA 500 possède une géométrie en transmission en ce qui concerne la production des ions (figure II-4). Ceci signifie que l'expansion du plasma se fait en grande partie à 180° par rapport au faisceau laser incident. Pour l'étude des échantillons sous forme de microparticules, ces dernières sont fixées sur une grille support en cuivre, de 3,5 mm de diamètre, semblable à celles utilisées en microscopie électronique, et pouvant ou non être recouverte d'une fine pellicule de polymère (Formvar :polyvynyl formaldéhyde) pour augmenter le

nombre et la stabilité des microparticules. Dans la plupart des cas, le film de Formvar n'est pas ou très peu ionisé lorsque le faisceau laser est focalisé sur la particule. De ce fait, les interférences sont négligeables. Pour des particules de taille plus conséquentes, celles-ci pourront être insérées dans une "grille sandwich".

L'échantillon est ensuite fixé sur un porte échantillon et couvert d'une mince lamelle de quartz. Cet opercule joue à la fois le rôle d'une fenêtre et celui d'un joint d'étanchéité du vide.

Le porte échantillon est ensuite fixé à la chambre d'échantillonnage. A l'aide du microscope optique, l'échantillon peut alors être observé. Un spot rouge émis par le laser pilote He-Ne indique l'endroit précis où l'on désire faire l'analyse sur l'échantillon, analyse qui se fera suite à l'interaction de la cible avec un laser ionisant de puissance, par exemple, le laser Nd-YAG.

Une platine en x-y permet de déplacer l'échantillon et ainsi de choisir l'emplacement de l'impact laser. Le point d'impact du laser est obtenu lorsque la tache rouge du laser He-Ne de visée est minimale. La résolution latérale est de 0,5 μm .

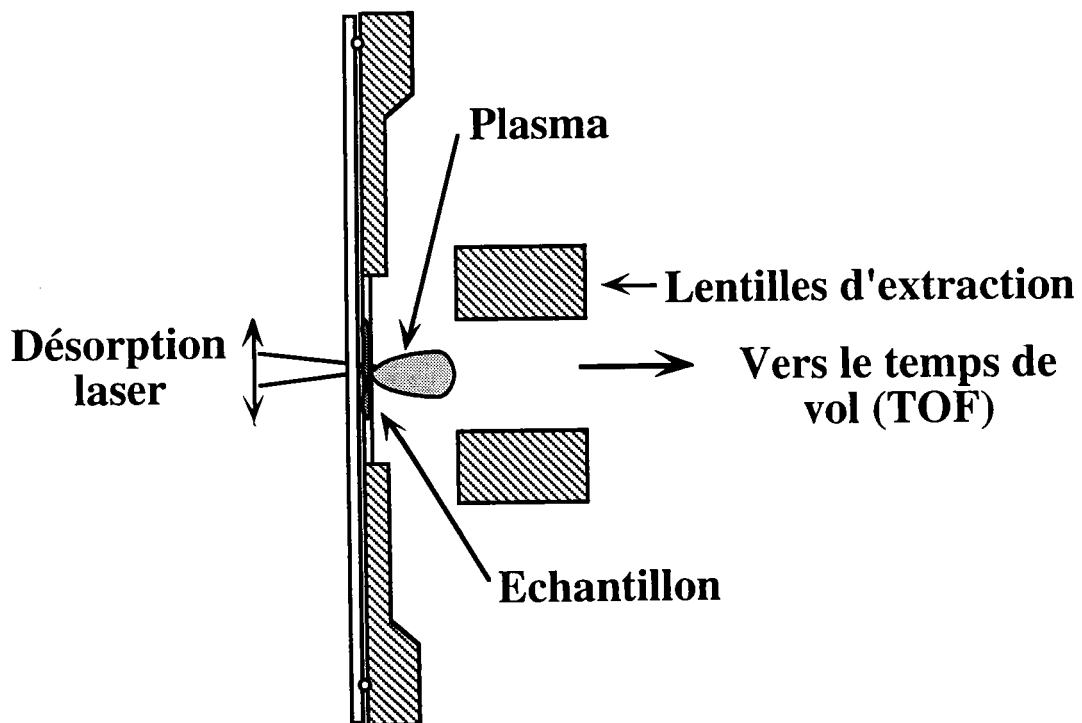


Figure II-4. Géométrie en transmission de la microsonde laser LAMMA 500

Les échantillons transparents (coupes biologiques) sont ionisés en focalisant le laser sur la partie arrière de l'échantillon, c'est à dire sur la surface faisant face au spectromètre de masse. Dans tous les autres cas, l'analyse se fait sous incidence rasante. Le condenseur de lumière transmise placé directement derrière l'échantillon pendant l'observation de ce dernier est alors remplacé par une optique ionique, au moment de l'analyse, au moyen d'un système électropneumatique. Cet échange s'effectue en une fraction de seconde par une opération presse-bouton.

Le changement de l'échantillon se fait en cassant le vide dans l'enceinte, séparée du spectromètre de masse proprement dit par une vanne pendulaire ; la chambre du spectromètre est pompée en continu par une pompe ionique jusqu'à 10^{-4} à 10^{-5} Pa. Après un changement d'échantillon, le vide est rétabli en quelques minutes à l'aide d'une pompe turbomoléculaire.

1.1.3 La spectrométrie de masse à temps de vol (TOF-MS)

Dans un spectromètre de masse à temps de vol, la dispersion des différentes masses résulte du fait que tous les ions ayant la même énergie cinétique ont des vitesses différentes suivant leur masse. Il est par conséquent important que tous les ions partent en même temps, de façon à assurer le minimum de dispersion énergétique et le maximum de résolution. Aussi, la conception de la microsonde laser LAMMA 500 par la réunion de ces conditions jouit d'une bonne résolution (Wechsung et al., 1985). L'impulsion d'un laser en mode déclenché, focalisé à l'aide d'un microscope optique sur un échantillon se traduit par la formation d'ions et d'agrégats ionisés qui sont produits en un temps très court (10 à 20 ns) sous forme de paquets très confinés dans le temps et dans l'espace. Dans ces conditions, le spectromètre de masse à temps de vol de type électrostatique présente deux avantages particuliers sur les autres types d'analyseurs de masse :

- ✓ à partir d'une seule impulsion laser la totalité d'un spectre de masse peut être enregistrée.

- ✓ grâce à ses lentilles d'extraction ionique, le spectromètre de masse à temps de vol possède une transparence ionique élevée qui permet une grande

sensibilité de détection de cet instrument.

1.1.4. Séparation des ions

L'analyseur à temps de vol (Emary et al., 1990), dans lequel règne une pression partielle de 10^{-6} Pa, est constitué d'un tube de longueur L , appelé tube de vol.

Les ions générés au point d'impact sont accélérés par l'application d'une tension d'accélération U_{TOF} . La distance entre l'échantillon et l'objectif de l'optique ionique d'accélération est de 5,7 mm, ce qui crée un champ électrostatique légèrement supérieur à 0,5 V/ μ m. Les ions sont ensuite focalisés sur le détecteur au moyen d'un système de lentilles électrostatiques appelées "lentilles ioniques EINZEL". Ce système sert de collimateur afin d'accroître la transmission du faisceau ionique (jusqu'à 50 % des ions formés dans le microplasma) focalisant ainsi les ions sur le détecteur. Sans ce système, une bonne partie de ces ions seraient perdus après collision avec les parois du tube de vol. A l'intérieur du tube, les ions se déplacent dans l'ordre croissant de masse, cette discrimination et dispersion des masses résultant de l'équation de la conservation de l'énergie.

En première approximation, nous négligerons le temps t_0 nécessaire pour accélérer les ions par application du potentiel d'accélération U_{TOF} , dans l'enceinte où se trouve l'échantillon ainsi que les énergies cinétiques initiales E_{c0} dues au processus d'ionisation par le laser.

Après accélération par action du potentiel U_{TOF} , un ion de charge q qui avait une énergie cinétique initiale $E_{c(0)}$ et une énergie potentielle $E_{p(0)}$ arrive sur le détecteur avec une énergie cinétique et une énergie potentielle ayant respectivement pour valeur $E_{c(t)}$ et $E_{p(t)}$, t étant le temps au bout duquel l'ion arrive sur le détecteur après avoir parcouru la distance d du tube de vol. D'après le principe de conservation de l'énergie, nous pouvons écrire la relation suivante :

$$E_{c(0)} + E_{p(0)} = E_{c(t)} + E_{p(t)}$$

D'après les hypothèses énoncées précédemment, cette relation devient :

$$0 + q \cdot U_{TOF} = 1/2 mv^2 + 0$$

$$\Rightarrow v = \sqrt{\frac{2qU_{TOF}}{m}}$$

v : vitesse de l'ion ($m.s^{-1}$) ; $q = ze$ (z : charge de l'ion, $e = 1,6 \cdot 10^{-19} C$) ; U_{TOF} : potentiel d'accélération (V) ; m : masse de l'ion (kg).

L'ion effectue un mouvement rectiligne et uniforme et ainsi des ions de masses différentes vont acquérir des vitesses différentes. Ayant tous la même distance à parcourir x , leur temps de vol est donné par la relation :

$$t = x \cdot \frac{1}{\sqrt{2U_{TOF}}} \sqrt{\frac{m}{q}}$$

On obtient alors la relation fondamentale suivante :

$$t = k \sqrt{\frac{m}{q}} \quad \text{avec} \quad k = \frac{x}{\sqrt{2U_{TOF}}}$$

Ainsi, le temps de vol de l'ion, mesuré par l'appareil, est directement proportionnel à la racine carrée de sa masse ; les ions les plus légers arrivent les premiers sur le détecteur suivis des ions les plus lourds.

Les appareils à temps de vol permettent d'atteindre des masses très élevées (300 kda). Leur résolution est fonction de la précision dans la mesure des temps très brefs et de la dispersion énergétique des ions de même masse. Le pouvoir de résolution du spectromètre à temps de vol dépend alors de cette aptitude à réduire le temps de propagation causé par l'espace initial et par les distributions de l'énergie cinétique initiale. Pour corriger cette dispersion en énergie cinétique des ions, on utilise un réflecteur électrostatique (figure II-5) : les ions de plus forte énergie pénètrent plus profondément dans le champ électrique et ont par conséquent, un parcours total plus long que les ions de faible énergie.

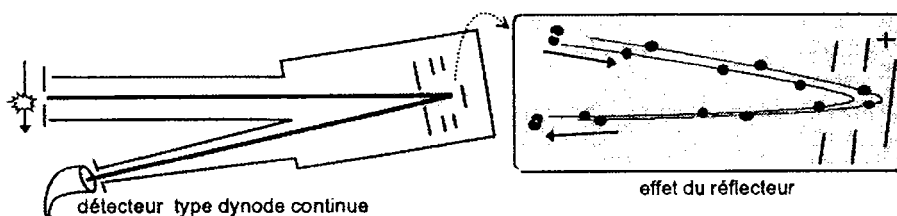


Figure II-5. Principe du réflecteur d'ions

Par réglage du voltage appliqué au réflecteur, on corrige ainsi les temps de vol afin qu'ils se focalisent au niveau du détecteur. Ceci permet d'augmenter grandement la résolution en masse du spectromètre. Ceci est dû non seulement à l'effet de focalisation en énergie et en temps, mais également à la longueur du tube de vol plus grande permettant ainsi une meilleure dispersion des masses. Ainsi, il est possible de distinguer les isotopes naturels de tous les éléments de la classification périodique. Cependant, la résolution diminue lorsque la masse augmente : la résolution spectrale $M/\Delta M$ est de l'ordre de 800.

1.1.5. Détection des ions

Les ions sont détectés par un multiplicateur d'électrons secondaires comportant 17 dynodes en cuivre-beryllium. Les ions en fin de course sont accélérés vers la première dynode (cathode) dont le potentiel U_{cath} peut se régler séparément. Cela permet alors d'assurer l'efficacité de la conversion ion-électron et de réduire la discrimination en masse. Les 17 étapes du multiplicateur assurent une amplification égale ou supérieure à 10^6 pour un potentiel du multiplicateur $U_{\text{mult}} = 3000\text{V}$. Le potentiel U_{cath} est égal à -6000V pour la détection des ions positifs et de $+6000\text{V}$ pour les ions négatifs.

L'ensemble des signaux électriques, préamplifiés puis enregistrés, constitue le spectre de masse. Celui-ci est visualisé sur un oscilloscope, puis enregistré et traité par ordinateur.

Il est important de noter que les divers paramètres cités ont une influence considérable sur la distribution ionique des spectres de masse LAMMA 500. C'est pourquoi, dans notre laboratoire, ces paramètres

instrumentaux du spectromètre ont été optimisés :

- potentiel de la lentille d'extraction : 840 V,
- potentiel du tube à temps de vol : $\mp$ 3000 V,
- potentiel de réflexion : $\mp$ 728 V,
- potentiel de la cathode : $\mp$ 6000 V.

I.1.6. Echantillonnage

Les échantillons (oxydes standards : Fe_{1-8}O , Fe_2O_3 , Fe_3O_4) et les poussières prélevées sur les sites sidérurgiques ont été déposées par simple impaction directement sur les grilles de microscopie électronique afin de s'affranchir des interactions pouvant éventuellement provenir du film Formvar. En ce qui concerne les coupes biologiques, celles-ci ont été directement placées sur les grilles lors de la découpe à l'ultramicrotome. Il est nécessaire de travailler avec rigueur notamment pour la détection de molécules organiques sur des particules industrielles. Il est ainsi indispensable de travailler *en mode désorption* (10^6 W/cm^2) afin d'obtenir des analyses qualitatives et semi-quantitatives. Cette condition doit être respectée afin d'éviter des phénomènes de recombinaison qui peuvent gêner l'interprétation des spectres de masse.

I.1.7. Performances et limites de la microsonde LAMMA 500

A. Performances

✓ le premier avantage de l'analyse par spectrométrie de masse à ionisation laser LAMMA 500 est sa capacité à analyser très rapidement et avec une sensibilité élevée à la fois les espèces minérales et organiques qui sont présentes sur une zone micrométrique,

✓ le temps d'analyse est relativement court ; la préparation de l'échantillon ajoutée à l'installation sur le porte échantillon et l'établissement du vide prend entre 10 et 15 minutes. L'analyse proprement

dite suivie de l'enregistrement du spectre de masse dure quelques minutes. Cependant, dans le cas de particules chimiquement hétérogènes de l'environnement, il convient d'acquérir plusieurs spectres pour chaque série de mesure et ce parfois à différentes irradiances afin de faire des analyses plus détaillées.

✓ en raison de la transparence élevée du spectromètre à temps de vol dans la microsonde LAMMA, entre 1 et 10 % du nombre total des ions formés dans le foyer du laser sont détectés par le multiplicateur à électrons. Ainsi, il est possible de détecter les différents éléments de la classification périodique et leurs isotopes stables avec un seuil de détection qui varie de 0,1 à 200 ppm en fonction du potentiel d'ionisation de l'élément, de sa distribution isotopique, de sa fonction d'extraction (loi de Saha-Eggert) et des effets de matrices (Hillenkamp et al., 1981). Cela permet la recherche avec de bonne sensibilité de contaminants présents éventuellement à l'état de trace dans les particules,

✓ en principe, avec un spectromètre de masse à temps de vol, la plage de masse n'est pas limitée : le tube permet la transmission de tous les ions indépendamment de leurs masses. En pratique la plage de masse est limitée à la fois par la résolution et la sensibilité du détecteur. L'utilisation d'un réflecteur a amélioré les résultats par rapport aux TOF linéaires, mais les ions de masse moléculaires élevée arrivent sur le détecteur avec une faible énergie. Hillenkamp et al (1981) ont pu obtenir les ions monomères, dimères et le trimère de molécules bio-organiques de très hauts poids moléculaires en appliquant au détecteur une tension de 20 kV.

✓ avec une faible énergie laser (0,1 à 1 μJ) et en défocalisant au besoin légèrement le faisceau laser, il est possible de désorber in situ certaines molécules organiques comme par exemple des hydrocarbures aromatiques polycycliques et de les caractériser par leurs pics moléculaires M^+ (Heinen, 1981 ; Constantin et al., 1983, Verdun, 1985).

✓ c'est une technique sensible, puisque les seuils de détection peuvent être abaissés par ionisation résonante ou post-ionisation résonante et sélective puisqu'il est possible de privilégier par résonance la détection d'un élément ou d'une molécule.

✓ La technique LAMMA est semi-quantitative. L'analyse de matériaux inorganiques tels que les oxydes de fer doit être menée avec une irradiance laser suffisante pour atteindre le seuil d'ablation du matériau (approximativement 10^7 W/cm^2).

B. Limitations

✓ l'analyse LAMMA est essentiellement destructive et par conséquent, il est quasiment impossible d'acquérir un spectre en ions positifs et négatifs pour une même particule.

✓ la nécessité de travailler sous un vide poussé (10^{-6} Pa) peut causer des problèmes en ce qui concerne l'analyse de composés volatils.

1.1.8. Couplage d'un laser accordable en fréquence à la microsonde laser LAMMA 500

A. Principe

Avec des lasers de longueurs d'onde présélectionnées il est possible en effet de détecter un atome ou une molécule dans un échantillon macroscopique. Des longueurs d'ondes sont ajustées afin qu'elles engendrent une résonance, c'est à dire qu'elles correspondent aux fréquences de transitions électroniques des atomes ou molécules, d'analyse ou d'éjection des électrons des couches externes (ionisation) ; L'ensemble des longueurs d'onde étant caractéristique de chaque espèce atomique ou moléculaire, les autres constituants de l'échantillon pour lesquels il n'y pas résonance ne sont pas ionisés ; par contre seuls ceux que l'on veut détecter ont une charge électrique qui permet de les isoler.

Afin de pouvoir faire varier régulièrement la longueur d'onde d'un laser, il est nécessaire d'utiliser les propriétés spectrales de molécules particulières (rhodamine, coumarine, LDS 698) qui sont solubilisées dans différents solvants comme le méthanol et qui peuvent être excitées par un

laser de puissance.

Elles émettent ensuite un rayonnement (fluorescence) laser dans une gamme de longueur d'onde relativement large (ceci est en relation avec la dégénérescence de leurs niveaux énergétiques). Dans notre couplage LAMMA-laser à colorant, c'est la seconde harmonique du YAG Quantel 581-10 ($\lambda = 532 \text{ nm}$; énergie : $E = 400 \text{ mJ}$; durée de pulse : 6 ns) qui est utilisée pour le pompage des différents colorants.

Il s'agit d'adapter des colorants appropriés pour générer une plage de longueurs d'onde comprises entre 550 et 1080 nm. Ainsi, dans le cadre de notre étude du fer, nous avons utilisé trois types de colorants : la rhodamine 590, la rhodamine 610 et le colorant LDS 698 de la société Exciton, commercialisés par Optilas. Un calorimètre ASTRAL spécifique au domaine spectral utilisé nous permet de déterminer les courbes d'énergie de ces colorants. Ainsi, les molécules de ces trois colorants excitées à 532 nm émettent un rayonnement laser dans une gamme de longueurs d'onde comprises respectivement entre 550 et 580 nm, 564 et 604 nm et 645 et 745 nm. La longueur d'onde désirée est sélectionnée en ajustant les paramètres de cavité de résonance de l'oscillateur, à l'aide d'une "barre sinus" et d'un réseau holographique. La distance entre la "barre sinus" et le réseau holographique doit être un multiple de la demi longueur d'onde choisie alors que le réseau holographique sépare en angle les différentes longueurs d'onde.

Deux possibilités s'offrent à nous afin d'obtenir, à partir de ces rayonnements, des longueurs d'onde dans le domaine de l'ultraviolet correspondant à des raies d'absorption intenses spécifiques à la fois de l'élément fer et des molécules organiques que sont les HAP :

✓ le passage à travers un cristal doubleur de fréquence KDP (KD_2PO_4) (figure II-6), rend possible d'accéder à une gamme de longueurs d'onde dans l'UV allant de 275-290 nm pour la rhodamine 590, de 282-302 nm pour la rhodamine 610 et de 322,5-372,5 nm pour le LDS 698. La durée des impulsions laser n'est pas perturbée par le couplage LAMMA-laser à colorant, le flash laser durera 12 ns. Pour nos études sur le fer, nous avons sélectionné trois longueurs d'onde à partir de ces deux colorants à savoir $\lambda = 293,7 \text{ nm}$, $\lambda = 278,8 \text{ nm}$, et $\lambda = 344 \text{ nm}$.

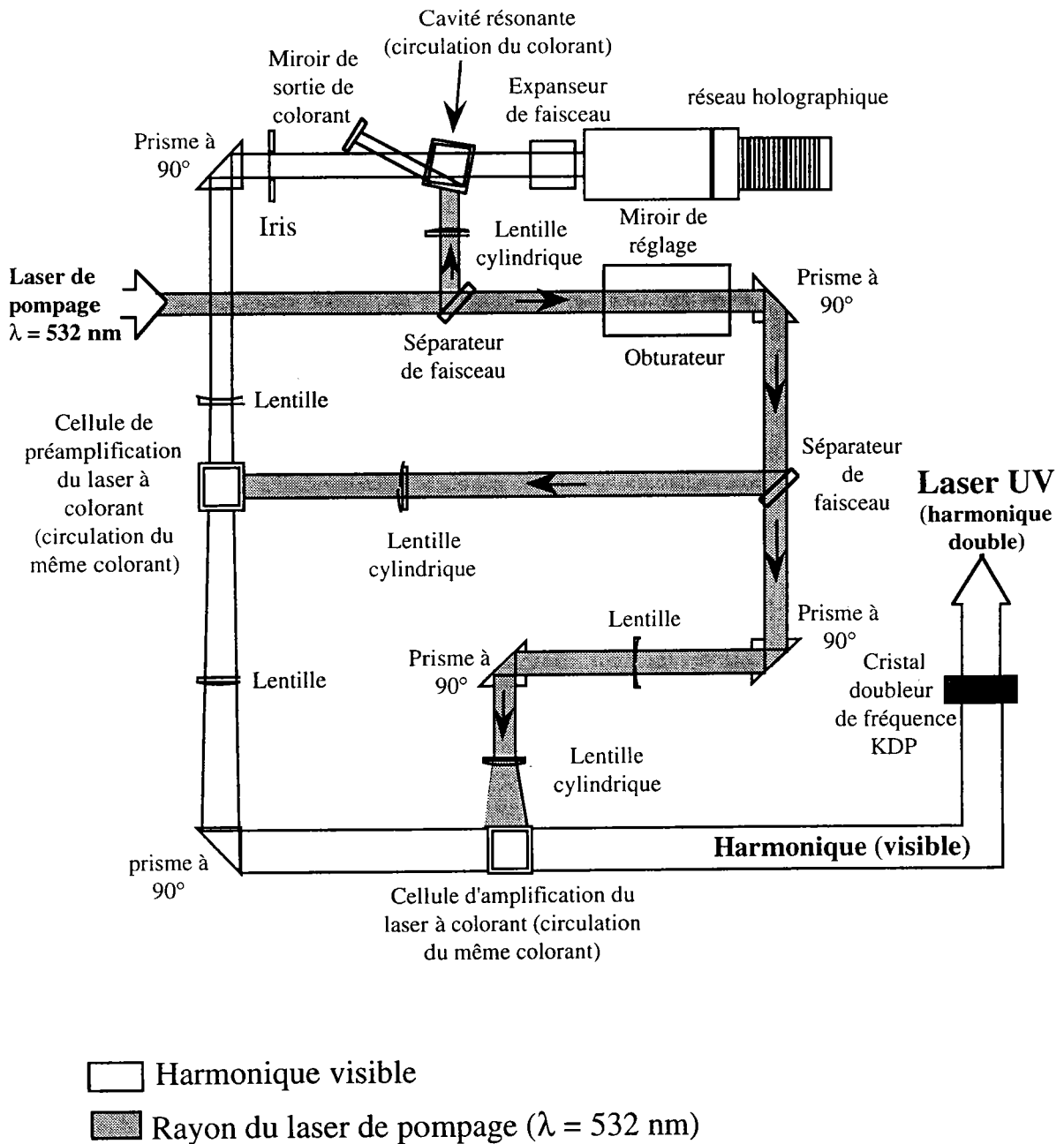


Figure II-6. Schéma simplifié du laser à colorant TDL 50 (Quantel) couplé à notre microsonde laser LAMMA. Cette configuration nous permet de travailler avec un laser UV (harmonique double) délivrée par le cristal doubleur de fréquence KDP.

✓ l'utilisation d'un cristal de mixage de longueurs d'onde nous permet de mélanger la seconde harmonique générée par le laser à colorant (UV accordable) et l'infrarouge (IR) résiduel issu du laser Nd-YAG de pompage (figure II-7). La longueur d'onde issue de cette combinaison est donnée par la

relation suivante :

$$\frac{1}{\lambda_{\text{mixé}}} = \frac{1}{\lambda_{\text{UV}}} + \frac{1}{\lambda_{\text{IR}}} = \frac{1}{\lambda_{\text{UV}}} + \frac{1}{1064}$$

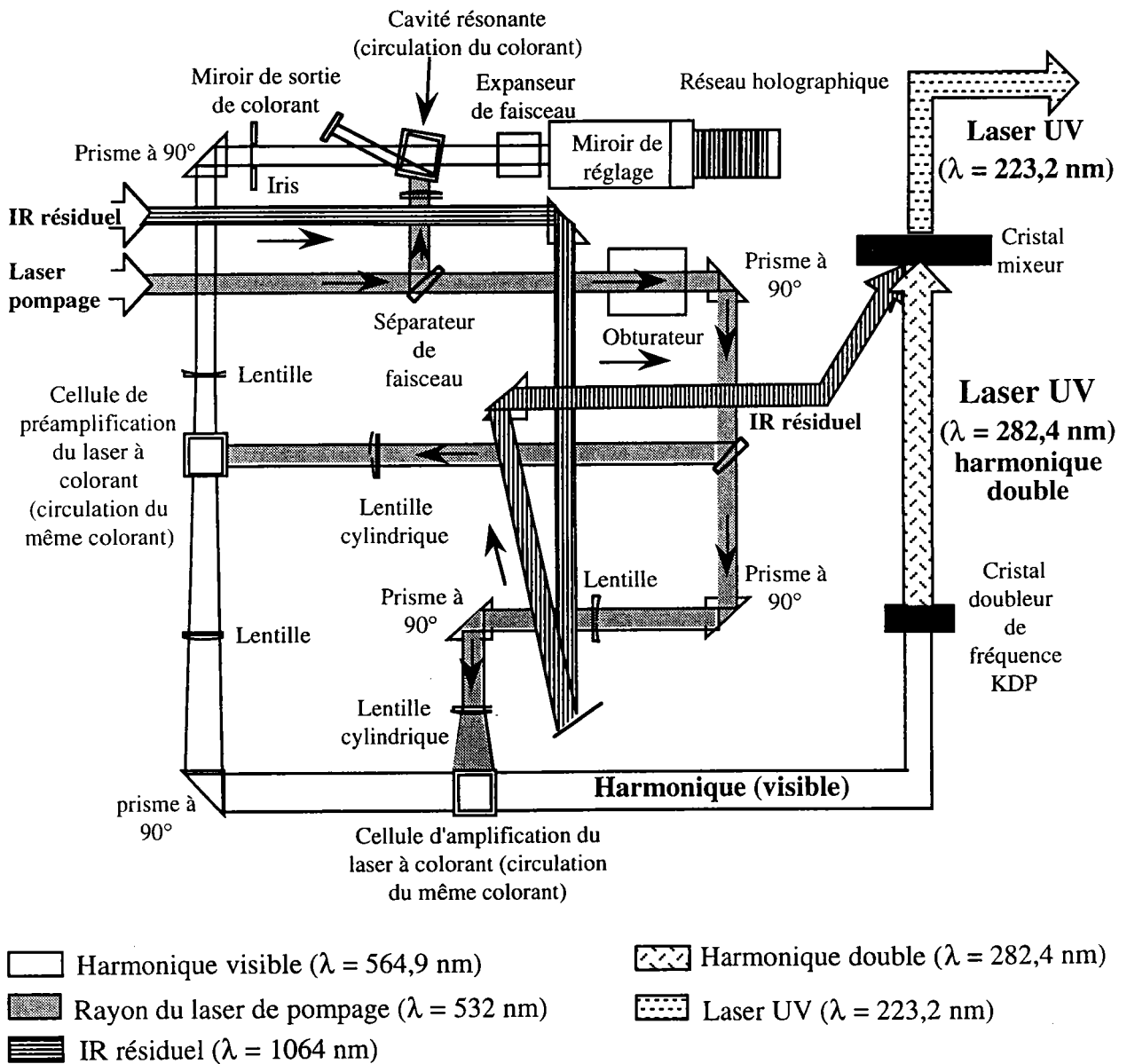


Figure II-7. Schéma simplifié du laser à colorant TDL 50 (Quantel) couplé à notre microsonde laser LAMMA. Cette configuration nous permet de travailler avec un laser UV ($\lambda = 223,2 \text{ nm}$) délivrée par le cristal de mixage.

La longueur d'onde minimum pouvant être atteinte est alors de 220 nm. Le faisceau laser UV ainsi obtenu à la sortie du laser à colorant est ensuite rendu colinéaire au faisceau du laser "pilote" hélium-néon du LAMMA par un jeu de prismes et de miroirs. A la sortie du colorant, le faisceau laser est non pas monomode (TEM00) mais multimode. Le passage du faisceau au travers d'un "pin hole" (point objet du point d'analyse) ne transmet dans le montage optique que la partie homogène du faisceau.

Ainsi, par l'utilisation de la Rhodamine 590, il nous a été possible de travailler avec une longueur d'onde de **223,2 nm**, longueur d'onde qui sera utilisée dans notre étude pour la détection éventuelle de molécules organiques (HAP) sur des poussières industrielles.

La géométrie en mode transmission de la technique LAMMA 500 est une bonne complémentarité au mode réflexion de la microsonde laser FT/ICR/MS. Outre sa résolution beaucoup plus supérieure, la technique FT/ICR/MS permet de lever les interférences spectrales et ainsi de permettre des études beaucoup plus précises.

I.2. La spectrométrie de masse à Transformée de Fourier (FT/ICR/MS)

C'est une technique d'analyse dont le principe repose sur la détermination des masses ioniques par mesure des fréquences cyclotroniques engendrées par un champ magnétique. Ce type de spectromètre a été développé ces dernières années par Marshall et Comisarow (1974). Il n'existe en France qu'une seule microsonde laser FTMS, puisque l'instrument initial, le FTMS 2000 qui permettait de travailler en impact électronique a été modifié en microsonde à impact laser (Muller et al., 1988 ; Hercules, 1988) dont nous allons brièvement exposer les caractéristiques techniques :

I.2.1. Principe (Asamoto, 1988 ; Comisarow, 1978 ; Marschall, 1985 ; Russell, 1986)

Contrairement à la microsonde laser LAMMA 500, la microsonde FT/ICR/MS fonctionne en réflexion. Après irradiation de l'échantillon, les ions éjectés sont piégés dans la cellule d'analyse par application d'un potentiel électrique. Sous l'effet du champ magnétique statique intense, l'ion piégé adopte une trajectoire circulaire perpendiculaire à la direction de ce champ magnétique. La vitesse angulaire (fréquence cyclotronique naturelle) du mouvement circulaire d'un ion est dépendante de la masse de cet ion. Une impulsion de radiofréquence au niveau des plaques excitatrices permet d'augmenter le rayon de giration d'un paquet d'ions de même masse, le rapprochant des plaques de détection. Un courant image est ainsi induit, puis converti en différence de potentiel qui est amplifiée et digitalisée. On obtient alors un interférogramme résultant de la combinaison des sinusoïdes amorties des différents types d'ions présents. Cet interférogramme, traité par transformée de Fourier, conduit à un spectre de fréquence traduit en spectre de masse (figure II-8).

La trajectoire circulaire résulte de l'action d'une force L , dénommée force de Lorentz, due à l'action du champ magnétique sur les ions. Elle agit perpendiculairement à la direction du mouvement de l'ion (direction du vecteur v) et à la direction du champ magnétique B ; cette force de Lorentz a pour expression :

$$L = q. v. B$$

avec : q = charge de l'ion (C), v = vitesse de l'ion (m.s^{-1}), B = force du champ magnétique (T)

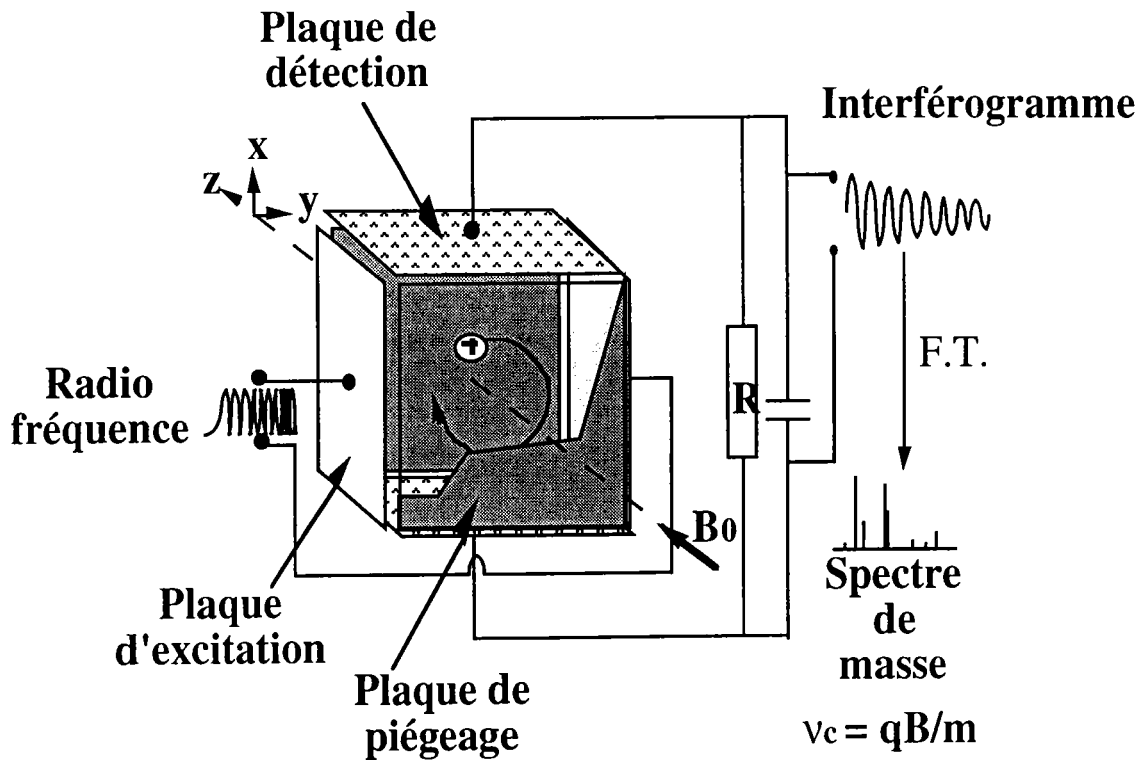


Figure II-8. Mouvement d'un ion soumis à un champ magnétique uniforme.

L'ion formé lors de l'irradiation laser, se trouve à l'intérieur d'une cellule cubique, et sous l'effet du champ magnétique statique intense l'ion piégé adopte une trajectoire circulaire et donc une force centrifuge F qui a pour expression :

$$F = \frac{mv^2}{R}$$

avec : m = masse de l'ion (Kg), R = rayon de la trajectoire circulaire (m)

Le système, formé par l'ion en mouvement circulaire, est en équilibre parce que la force qu'exerce le champ magnétique sur cet ion est compensée par la force centrifuge (Laude et al., 1986). Nous avons donc l'égalité :

$$F = L$$

d'où :

$$q \cdot v \cdot B = \frac{mv^2}{R}$$

ce qui nous donne la vitesse angulaire w_c du mouvement circulaire de l'ion :

$$w_c = \frac{v}{R} = \frac{q \cdot B}{m}$$

La fréquence ν du mouvement de l'ion est appelée *fréquence cyclotronique naturelle*; elle a pour expression :

$$\nu = \frac{\omega_c}{2\pi} \quad \Rightarrow \quad \nu = \frac{1}{2\pi} \times \frac{q \cdot B}{m} \quad (1)$$

L'équation (1) nous montre qu'un ensemble d'ions de masses différentes sera caractérisé par un ensemble de fréquences cyclotroniques dont les mesures s'effectuent en deux étapes :

- excitation du mouvement cyclotronique,
- détection du mouvement cyclotronique excité.

A. Excitation du mouvement cyclotronique

Tous les ions soumis à un champ magnétique uniforme se déplacent selon leurs fréquences cyclotroniques. Ce mouvement d'ensemble est un mouvement désordonné (chaque ion a sa propre trajectoire).

Pour détecter ces ions il faut que leur mouvement orbital devienne cohérent de manière à ce que des ions de même masse aient la même trajectoire : ceci est réalisé en appliquant un balayage en fréquence très

rapide.

Ce balayage en fréquence couvre toutes les fréquences cyclotroniques des ions : il va de quelques KHz à quelques MHz pour un champ de 3 Teslas (correspondant à une gamme de masse allant de 17 à 5000 uma).

Quand la fréquence appliquée est égale à la fréquence cyclotronique d'un ion de masse donnée, l'ion absorbe de l'énergie. Son énergie cinétique E_k augmente par un processus de transfert d'énergie. Elle a pour expression :

$$E_k = \frac{1}{2}mv^2 = m \cdot \omega_c^2 \cdot R^2$$

Cette augmentation d'énergie cinétique se traduit donc par une augmentation du rayon R de la trajectoire de l'ion .

Après un très court temps d'interaction avec la fréquence responsable de ce phénomène, tous les ions d'une même masse sont en phase et ont la même trajectoire : leur mouvement est donc devenu cohérent et un signal peut alors être détecté.

Ce phénomène de transfert d'énergie est appelé Résonance Cyclotronique Ionique (ICR : Ion Cyclotron Resonance). Il peut être utilisé pour accélérer les ions ou n'importe quelle particule chargée .

Quand la résonance cyclotronique a pour but d'accélérer des particules, l'équipement utilisé est un cyclotron. Quand elle a pour but de déterminer la masse des ions, l'équipement utilisé est un spectromètre de masse à résonance ionique cyclotronique (FT/ICR/MS) (Marshall et al., 1991).

B. Détection du mouvement cyclotronique cohérent

Les ions, animés d'un mouvement orbital cohérent, sont confinés entre les deux plaques d'une capacité (Marshall et al., 1990).

Les ions positifs par exemple, approchant une de ces deux plaques, attirent les électrons. Continuant à se déplacer sur leur trajectoire, ils se

rapprochent de la seconde plaque, opposée à la première et attirent également les électrons sur cette surface : il y a alors création d'un courant alternatif (figure II-9).

Dans la pratique, le courant alternatif est converti en tension alternative $V(t)$ selon la relation :

$$V(t) = \frac{N \cdot q \cdot R}{d \cdot C \cdot \cos(\omega_c \cdot t)}$$

N = nombre d'ions de masse m détectés

q = charge des ions (C)

R = rayon de l'orbite circulaire des ions (m)

d = distance séparant les deux plaques de la capacité (m)

C = valeur de la capacité

ω_c = vitesse angulaire des ions (rad.s^{-1})

t = temps de mesure (s)

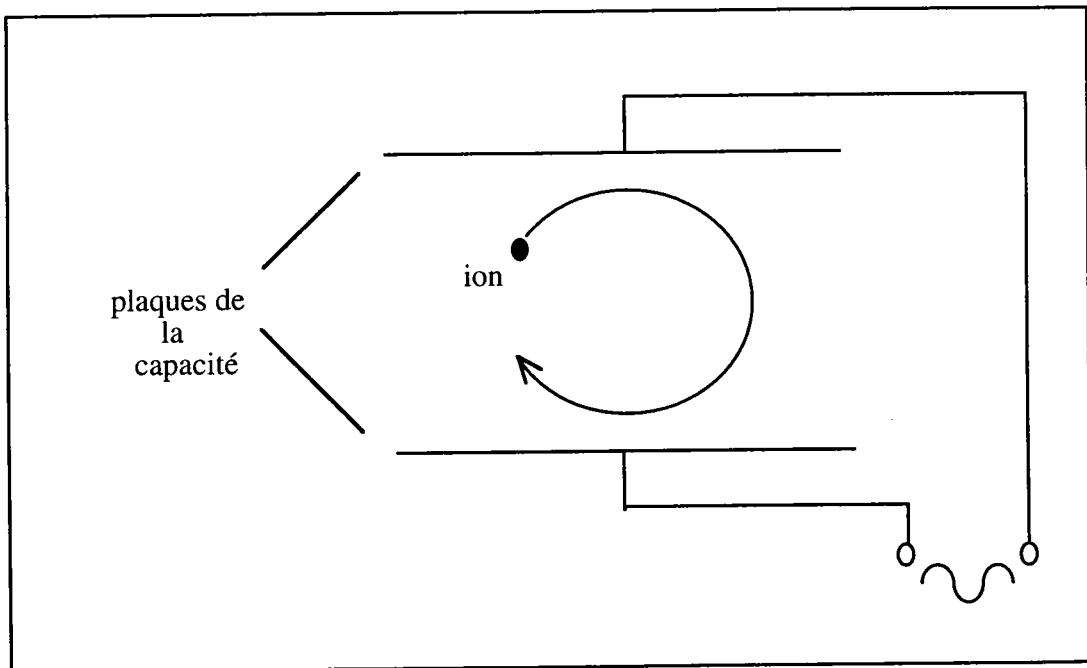


Figure II-9. Principe de détection des ions. Les deux plaques sont connectées à un circuit électrique qui permet la détection d'un courant alternatif sous une forme temporelle.

Tous les ions de masse m donnée induisent une tension alternative $V_m(t)$. Un signal composite est ainsi obtenu, et a pour expression :

$$V(t) = \sum_m V_m \cdot \cos(\omega_c \cdot t)$$

La transformée de Fourier permet de convertir ce signal dépendant du temps en un signal fonction de la fréquence. Chaque fréquence est ensuite associée à une masse par calibration. Le résultat obtenu est un spectre de masse qui porte en ordonnée la tension du signal et en abscisse la masse des ions détectés. Ce type d'analyse est appelé mode direct ou large bande. Il permet une résolution en masse de 100 à 5000 environ. Pour augmenter considérablement cette résolution il faut utiliser le mode hétérodyne : l'analyse s'effectue alors sur une plage réduite de masses. Grâce à l'addition et à la soustraction d'un signal sinusoïdal de référence ayant une fréquence proche de celle de la plage de masse étudiée, et après un filtrage adéquat et une transformée de Fourier, on obtient des résolutions en masse allant de 10 000 à 1 000 000.

1.2.2. Descriptif expérimental

La microsonde laser FTMS dont nous disposons au laboratoire (figure II-10) est un prototype conçu et réalisé à l'Université de Metz en liaison avec la société NICOLET à partir d'un spectromètre FTMS 2000 à double cellule (Muller et al, 1989 ; Pelletier et al., 1988 ; Hercules, 1988). Outre l'aimant cryogénique, l'électronique et l'ordinateur de traitement du signal d'origine, ce prototype comporte les éléments originaux suivants : une nouvelle platine optique, une optique de focalisation et de visualisation, une double cellule modifiée ainsi qu'un micromanipulateur insensible au champ magnétique. Nous allons détailler brièvement ces différents éléments.

A. Le champ magnétique

La double cellule "Source-Analyse", est placée dans une enceinte sous vide ($1,33 \cdot 10^{-6}$ - $1,33 \cdot 10^{-7}$ Pa). Le tout se situe dans le champ magnétique d'un aimant supraconducteur. Le bobinage de l'aimant est

maintenu à 4 Kelvin par trois enceintes cryogéniques contenant la première de l'hélium liquide, les deux dernières de l'azote liquide. Ceci permet d'obtenir un champ magnétique uniforme qui, dans notre cas, est égal à 3,18 teslas.

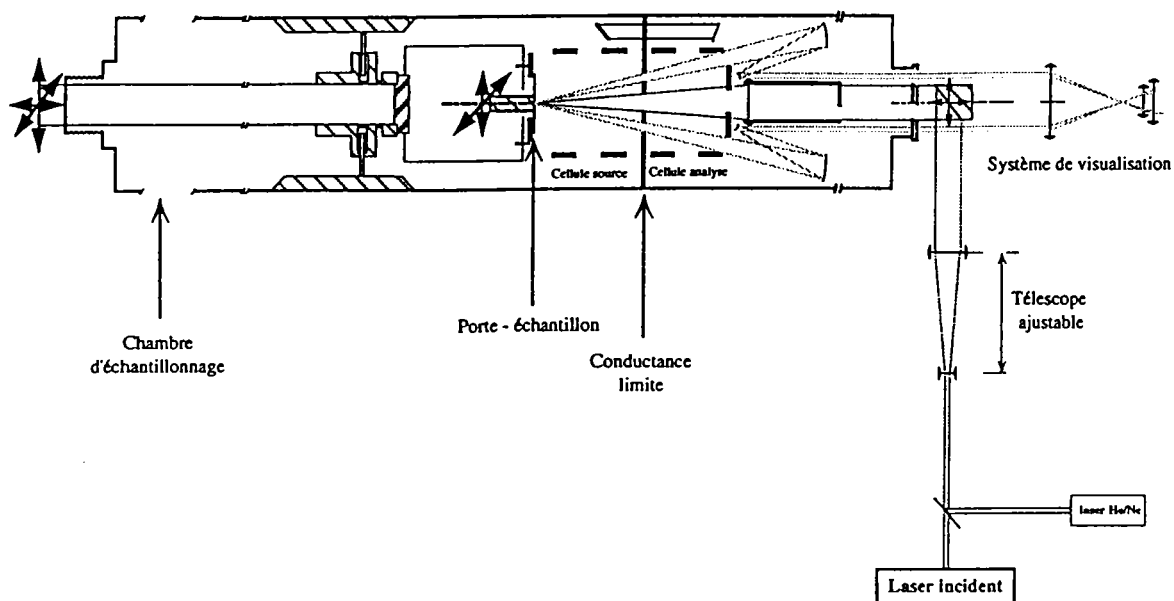


Figure II-10 . Schéma descriptif de la microsonde FTMS 2000 développée au LSMCL

B. La cellule

La cellule est constituée en réalité de deux parties : une cellule source et une cellule analyse (figure II-11). Elles sont séparées par une paroi de séparation appelée "conductance limite", permettant de maintenir un vide différentiel entre celles-ci et le passage des faisceaux optiques (laser et visualisation de l'échantillon). Ces deux régions indépendantes ont chacune leur propre système de pompage. La pression côté source est obligatoirement plus élevée .

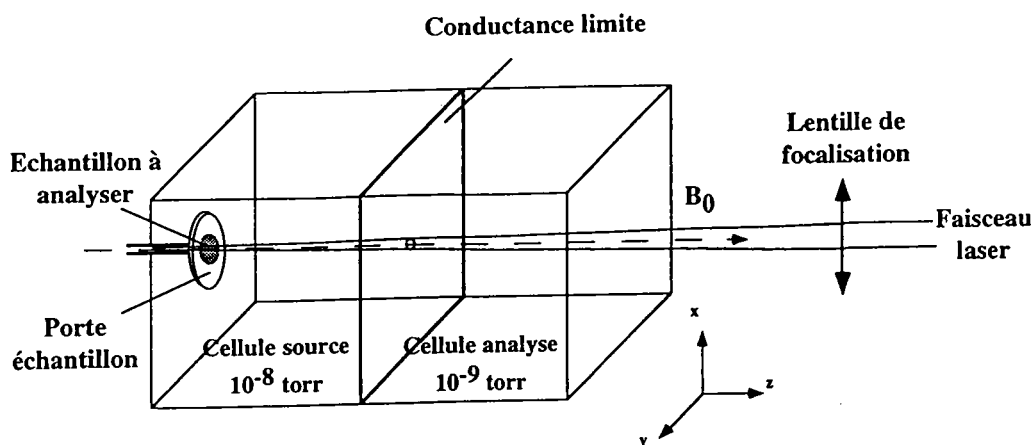


Figure II-11. Schéma de principe de la cellule du FTMS

La cellule est en réalité un parallélépipède rectangle délimité par trois paires de plaques isolées électriquement les unes des autres et montées ensemble. Chaque paire a une fonction particulière :

- piégeage des ions, par application d'un potentiel
- excitation des ions par transmission d'une radiofréquence
- réception des courants images

C. Séquence expérimentale

Les événements suivants surviennent pendant la séquence expérimentale (figure. II-12)

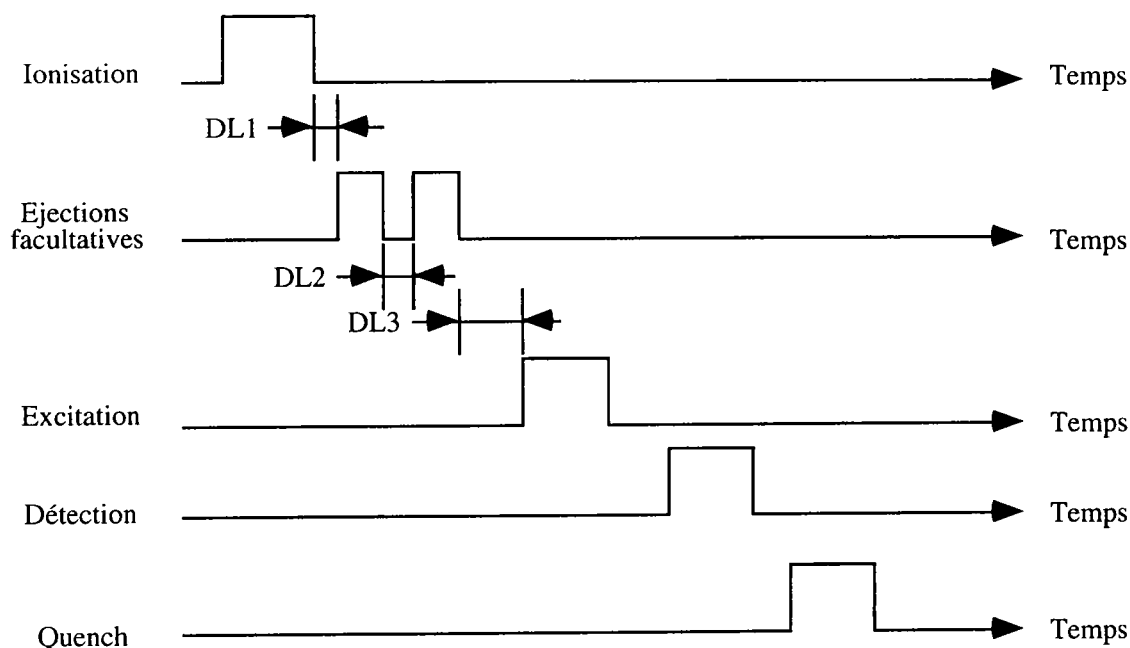


Figure II-12. Séquence d'analyse

Dans un premier temps, la cellule est purgée de tous les ions résiduels qu'elle pourrait contenir en appliquant un potentiel. Ensuite, les ions sont formés par l'irradiation laser de l'échantillon dans la cellule source.

Pendant cet événement, la conductance limite est soit maintenue à la même valeur que le potentiel de piégeage (V_{trap}) afin de confiner les ions du côté source de la cellule, soit au contraire mise à la masse pour obtenir une répartition homogène des ions entre les deux cellules.

Une période d'attente variable (notée DL3) peut être instaurée entre l'ionisation et l'excitation des ions. Elle permet l'obtention de réactions ion-molécules. Parallèlement, des balayages de fréquences appropriés permettent d'éjecter des ions majoritaires gênants afin d'augmenter les signaux d'ions minoritaires (notés EJT 1 et 2).

On peut améliorer la sélectivité des éjections ou des excitations à l'aide de la technique dite "SWIFT" (Stored Waveform Inverse Fourier Transform). La génération d'un signal ICR détectable nécessite que les ions soient excités de façon cohérente jusqu'à un rayon cyclotron suffisamment grand (environ 0,5 cm) dans un temps très court (environ 10-100 ms à 10^{-8} torr) comparé à la fréquence de collision ion/neutres. Initialement, les expériences FT/ICR étaient réalisées avec une impulsion rectangulaire de radiofréquence.

L'excitation par impulsion est non linéaire en amplitude, en particulier pour les hautes fréquences (c.à.d. les basses masses). De plus, la couverture d'une large gamme de masse nécessite une impulsion très courte d'une amplitude très forte, et l'excitation n'est pas sélective. Il peut être utile de changer la forme de la fonction d'excitation, mais la plupart des utilisateurs ont, jusqu'à récemment, préféré l'excitation par balayage de fréquence (Sweep) pour son effet plus uniforme et sélectif à des amplitudes relativement basses.

L'excitation SWIFT permet une excitation optimale uniforme, avec une sélectivité en masse optimale, sur une large gamme de masse dès que la forme d'onde est générée avec une précision de conversion analogique-numérique de 12 bits par mot.

L'excitation SWIFT peut être utilisée pour élargir la gamme dynamique du FTMS par éjection sélective d'ions abondants de m/z différents ou encore par éjection hautement sélective pour la MS-MS. L'amélioration majeure de l'excitation SWIFT est l'utilisation de la modulation de phase quadratique qui permet de réduire l'amplitude rf de la forme d'onde d'excitation temporelle.

Les applications que permet le SWIFT sont :

- * le suivi de multiples ions,
- * les éjections multiples,
- * l'éjection de certains ions et détection simultanée d'autres ions,
- * la meilleure précision des mesures d'abondances relatives,
- * la possibilité d'une analyse MS/MS avec haute résolution sur les deux niveaux.

Les ions (restant) sont excités par un balayage de fréquence (ITX) puis détectés (TRX). Le signal sinusoïdal obtenu est amplifié, digitalisé et enfin, traité par transformée de Fourier pour obtenir le spectre de masse.

D. Le dispositif laser

Trois types de lasers sont couplés (au laboratoire) sur la microsonde FTMS 2000 :

✓ un laser excimère pour ioniser l'échantillon : 193 nm (mélange gazeux : ArF) et 249 nm (mélange gazeux : KrF),

✓ un laser Nd/Yag pour ioniser l'échantillon : 266 nm (Nd/Yag quadruplé) et 355 nm (Nd/Yag triplé),

✓ un laser He-Ne pour piloter les lasers de puissance sur la zone d'échantillon à analyser.

Le laser est focalisé perpendiculairement à la surface de l'échantillon (diamètre minimum au plan focal = 4 μm). Il fonctionne en mode impulsionnel (durée de l'impulsion laser = 25 ns pour le laser excimère et 5 ns pour le laser Nd/Yag). Il est possible de faire varier l'irradiance entre 10^5W/cm^2 et 10^{10}W/cm^2 .

E. Visualisation et déplacement de l'échantillon

La visualisation de l'échantillon est réalisée par une optique Cassegrain inversée, derrière laquelle sont montés un télescope, une caméra CCD et un écran moniteur noir et blanc qui permet d'atteindre un grossissement de 300.

La focalisation du faisceau laser est réalisée par une lentille de focale égale à 120 mm. L'exploration complète de la surface de l'échantillon est assurée par un micromanipulateur à effet Pelletier. Deux lames élaborées dans un alliage à mémoire de forme sont placées en opposition. Elles permettent le déplacement de l'axe du porte-échantillon dans une direction de l'espace. L'une d'entre elle est chauffée, alors que l'autre est refroidie. Lorsque l'on arrête toute sollicitation de ces lames, elles reviennent à leur position initiale.

1.2.3 Performances et limites de la microsonde laser FTMS.

A. Performances

✓ la très haute résolution spectrale en mode hétérodyne $R \sim 200.000$ permet la séparation d'ions isobariques,

✓ l'ionisation chimique en ions négatifs a été utilisée pour différencier les isomères de certains composés organiques (Buchanan, 1987),

✓ la FTMS est une technique parfaitement adaptée pour étudier des réactions ion-molécules (Freiser et al., 1989). L'isolement d'un ion et l'étude des ions fragments produits (fils) par CID (Dissociation Induite par Collision) est utile pour l'étude structurale des molécules (Cody et al., 1982).

B. Limitations

✓ l'analyse FTMS est relativement limitée en masse (dans notre configuration dotée uniquement d'un champ magnétique de 3,18 T). Cet élément peut-être dans l'état actuel un handicap lors de l'analyse de biomolécules qui généralement ont des masses moléculaires très élevées. Néanmoins, avec une source d'ionisation telle que l'électrospray, cet inconvénient disparaît.

✓ l'analyse demande la maîtrise de nombreux paramètres ayant une influence sur la formation et la détection des ions

✓ le maintien à 4 °K de l'aimant supraconducteur nécessite l'utilisation de fluides cryogéniques (hélium et azote liquide) relativement onéreux,

✓ les produits présentant une tension de vapeur trop faible se vaporisent dans l'enceinte du spectromètre.

Conclusion

Les microsondes laser ont été développées depuis une quinzaine d'années, en vue de l'analyse qualitative, semi-quantitative et quantitative d'échantillons très divers, conducteurs et isolants. Leur principal avantage est l'accès à la composition moléculaire des matériaux, aussi bien organiques qu'inorganiques. Ainsi, l'aspect moléculaire de l'information enregistrée

représente un atout majeur pour compléter les données obtenues par d'autres méthodes d'étude. En spectrométrie de masse organique, la microsonde laser permet d'atteindre le stade de l'analyse ponctuelle. Ses mérites se situent essentiellement à deux niveaux. D'abord, grâce aux avantages spécifiques de l'ionisation des solides par un faisceau laser focalisé, la microsonde permet la caractérisation détaillée des molécules organiques inabordables par des méthodes conventionnelles, dont l'ionisation en phase gazeuse exige une volatilisation préalable, pouvant entraîner par la même la décomposition de l'échantillon.

De plus, les quantités d'échantillon nécessaires pour l'analyse, sont microscopiques, ce qui est essentiel pour de nombreuses analyses. Enfin, la microsonde laser se prête à l'analyse de produits organiques dans des matrices, avec une résolution spatiale d'environ 1 μm . La couche analysée doit alors se trouver à la surface de l'échantillon, sachant que l'ablation moyenne par impact laser est comprise entre 0,01 et 0,2 μm selon le matériau et selon la longueur d'onde et l'irradiance du faisceau laser. Les ions détectés par spectrométrie de masse quant à eux proviennent de la phase gazeuse correspondante.

Les tendances actuelles laissent prévoir un développement des méthodes permettant l'analyse intégrée de matériaux organiques et inorganiques. Parmi celles-ci, la microsonde laser figure en bonne place, et les récents développements de l'instrumentation lui assurent un avenir prometteur.

II. La chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique sensible de séparation pour des substances volatiles sur une colonne spéciale. La séparation est basée sur les différences de coefficient de partage des produits à séparer entre un gaz et un liquide d'une part, ou un gaz et un solide d'autre part. Le gaz constitue dans les deux cas la phase mobile.

II.1. Description générale de l'appareil

La conception générale de l'appareil de chromatographie en

phase gazeuse que nous avons utilisé (Chromatographie en phase gazeuse HP 5890 Série II de chez Hewlett-Packard) correspond schématiquement à la réunion de différents modules spécialisés : l'injecteur, la colonne et le détecteur, intégrés dans un même bâti (figure II-13). La phase mobile nécessaire pour entraîner l'échantillon dans la colonne est un gaz (hélium), appelé gaz vecteur. L'analyse commence à l'instant où on introduit un petit volume ($1\ \mu\text{l}$) du mélange homogène à séparer dans l'injecteur (injection splitless), dont la double fonction est de porter l'échantillon à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux, en tête de colonne. La colonne est placée dans une enceinte à température réglable. La phase gazeuse en sortie de colonne traverse un capteur faisant partie d'un détecteur.

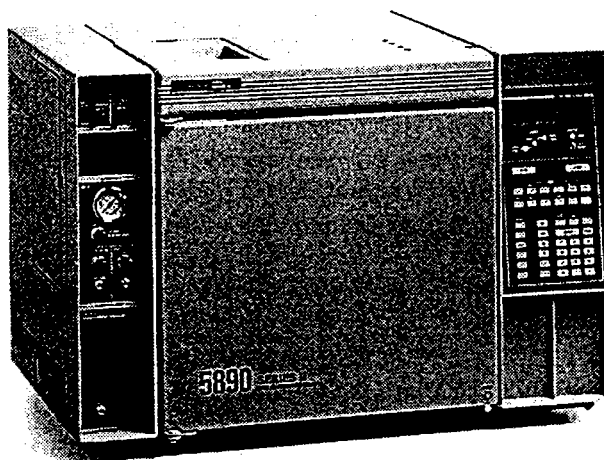
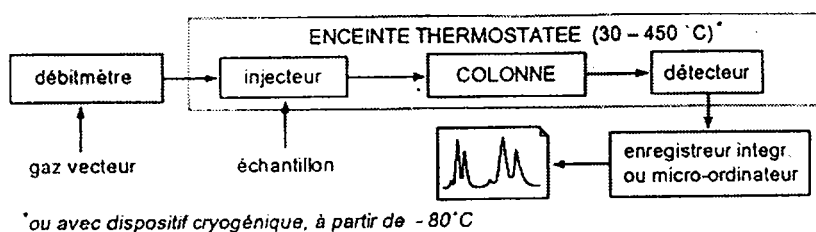


Figure II-13. Une installation de CPG.

II.2. L'injecteur

L'injecteur, dont la température était fixée pour nos études à 250 °C, a pour fonction de vaporiser l'échantillon, s'il est sous forme liquide, et de l'entraîner en tête de colonne, mélangé au gaz vecteur. Cette phase de l'analyse est capitale pour la qualité de la séparation. Nous avons utilisé un type d'injecteur fonctionnant en mode "splitless" performant pour les analyses de traces. Ce mode d'injection permet l'analyse d'échantillons très dilués et de substances de volatilités différentes.

II.3. La colonne

Le type de colonne utilisée est BPX 5, correspondant à une colonne gaz-solide dont le garnissage (phase stationnaire) est constitué par un solide actif (diméthylpolysiloxane) sous forme d'un film de 0,25 µm d'épaisseur. La longueur de la colonne est de 12 mètres et le diamètre interne est de 0,25 millimètres. La séparation repose sur le phénomène d'adsorption à la surface de cette phase stationnaire. La colonne est placée dans une enceinte (four à colonne) à température réglable dont l'atmosphère peut être brassée en permanence à des températures comprises entre 40 et 450 °C. Afin d'éviter l'adsorption irréversible d'impuretés à l'état de trace, ce qui réduirait le temps de rétention des produits à analyser, nous chauffons périodiquement la colonne à haute température pour la réactiver.

II.4. Le détecteur à ionisation de flamme (FID)

Le courant gazeux issu de la colonne arrive dans un petit brûleur dont la flamme est alimentée par un mélange d'hydrogène et d'air. L'extrémité du brûleur, portée à une tension négative, est entourée d'une électrode annulaire jouant le rôle d'anode. La combustion produit des ions, micelles et des particules chargées, responsables du passage d'un courant ionique entre les électrodes. Ce courant est transformé par un électromètre en une tension qui constitue le signal (figure II-14).

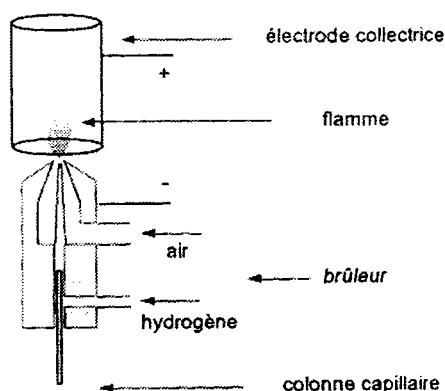


Figure II-14. Principe d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

La réponse est fonction du *débit massique* de carbone, approximativement proportionnel au nombre d'atomes de carbone de cet élément présents dans la molécule brûlée et donc détectée (ainsi une molécule d'hexane donnera un signal environ trois fois plus fort qu'une molécule d'éthane). Jouissant d'une grande sensibilité, ce type de détecteur n'est pas très facile à mettre en oeuvre car il nécessite, en plus du gaz porteur, la manipulation de deux gaz dont l'hydrogène, avec lequel il convient de prendre des précautions. Ils sont de construction robuste et leur utilisation jusqu'à 500 °C ne présente aucune difficulté. Considéré comme pratiquement universel pour les composés organiques, c'est le détecteur par excellence de la CPG actuelle.

II.5. Echantillonnage

Après mise en solution des poussières industrielles, de tranche granulométrique identique, dans un mélange cyclohexane-dichlorométhane (90/10), nous avons pratiqué une extraction des composés organiques susceptibles d'être adsorbés sur ces poussières par passage au bain à ultrasons (2 x 15 min.) suivi d'une séparation de la phase solide et de la phase aqueuse par centrifugation (4500 tr/min. pendant 15 min.).

III. La diffraction des Rayons X

Supposons un faisceau de rayons X tombant sur un cristal. Ce dernier, étant constitué d'un motif périodique, nous allons observer une diffraction du rayonnement comme pour n'importe quel système périodique.

Cette diffraction se traduit par des maxima principaux d'intensité pour des directions privilégiées de l'espace et tels que :

$$2d_{h,k,l} \sin \theta = n\lambda \quad (\text{loi de Bragg})$$

avec θ : angle d'incidence d'une période.

d : distance d'une période.

λ : longueur d'onde du rayonnement.

n : nombre entier.

On montre, en cristallographie, que l'élément périodique intéressant pour la diffraction n'est autre que le plan réticulaire, plan qui contient un certain nombre d'atomes. En effet, les atomes disposés dans un plan, ou dans une famille de plans réticulaires donnés appartiennent à un grand nombre de réseaux cristallins et de motifs élémentaires, mais n'appartiennent qu'à une famille de plans.

III.1. La méthode

La méthode Debye-Scherrer est facile à utiliser puisqu'elle ne nécessite pas de monocristaux bien formés.

III.1.1. Le tube à rayons X

La source de rayons X utilisée est un tube à cathode chaude (tube de Coolidge). Placé dans une enceinte à vide élevé ($1,33 \cdot 10^{-4}$ Pa), il est formé d'une cathode à filament de tungstène et d'une électrode percée d'un trou (Wehnelt : électrode portée à une tension légèrement négative par rapport au filament et qui permet de focaliser les électrons, accélérés par une haute tension (35 KV), sur l'anticathode refroidie par un courant d'eau.

Nous avons utilisé un tube à anticathode de cuivre avec obtention des

rayonnements caractéristiques du cuivre $K_{\alpha} = 1,54051 \text{ \AA}$ et $K_{\beta} = 1,39223 \text{ \AA}$.

Pour avoir un rayonnement monochromatique K_{α} , nous avons placé un filtre de nickel de 0,02 mm d'épaisseur sur le trajet des rayons X avant le collimateur. Ce filtre réduit l'intensité de K_{α} de moitié et celle de K_{β} devient ainsi négligeable.

III.1.2. La chambre photographique de Guimer

La chambre cylindrique utilisée a un rayon de $R = 360/2\pi = 57,29$ millimètres. 1 millimètre sur le film qui tapisse la caméra représente par conséquent un angle de 1 degré.

III.2. Dépouillement d'un cliché Debye-Scherrer

Considérons le film développé suivant un plan. La distance d entre la trace du zéro et une raie quelconque est mesurée en millimètres tel que :

$$L = 4\theta \quad (\text{avec } L \text{ en millimètres et } \theta \text{ en degrés})$$

Connaissant θ , nous calculons $d_{h,k,l}$ à l'aide de la relation de Bragg. Il est donc possible d'indexer chaque arc de cercle sur le film et de pouvoir, par conséquent, calculer le paramètre de la maille cristalline. Les valeurs ainsi obtenues sont comparées aux valeurs fournies par les fiches ASTM (Alphabetical index, 1991). Ces documents donnent toutes les valeurs de $d_{h,k,l}$ et des intensités relatives correspondantes $I_{h,k,l}$ de l'espèce cristalline désirée. Il est ainsi possible de définir la structure cristalline de notre échantillon qui pourra ainsi être identifié.

III.3. Echantillonnage

Un morceau de ruban adhésif est collé sur l'une des faces de la grille sur toute la longueur des quatre fenêtres de la grille. Les différentes poudres (oxydes de fer) sont alors déposées sur le ruban adhésif

côté collant en prenant bien soin de ne mettre qu'un type de poudre par fenêtre, sans en mettre de trop pour éviter le mélange des échantillons. L'opération est délicate et il faut donc travailler avec beaucoup de soin et sans précipitation.

IV. L'analyse en Composantes Principales

L'Analyse en Composantes Principales (A.C.P) est une méthode statistique ancienne dont les premiers travaux ont été publiés en 1933. Ce n'est que depuis les années 1960 et l'avènement des ordinateurs que la théorie a pu être mise en pratique. Depuis 1980, avec l'apparition de la micro-informatique, l'A.C.P est de plus en plus utilisée et ce, dans tous les domaines (chimie, métallurgie, biologie).

L'A.C.P. est une méthode qui vise à mettre en évidence graphiquement l'information essentielle contenue dans un tableau de données.

Les composantes principales sont des combinaisons linéaires des variables réelles de départ. La projection du nuage, formé par les points dans l'espace multidimensionnel des variables (ici les masses détectées) permet d'obtenir la dispersion maximale des observations sur ces nouveaux axes.

Cet outil statistique nous a permis d'essayer de comprendre comment se structurent nos variables (masses), celles qui "vont dans le même sens" et celles qui s'opposent. De plus, ce traitement statistique a permis de savoir s'il y avait ressemblance ou non vis à vis des résultats d'analyse des différents oxydes. Par une définition judicieuse des axes de représentation géographique des différents individus (oxydes), il est possible d'aboutir à une confirmation quant à la différenciation des différents oxydes de fer.

V. La granulométrie laser

L'utilisation d'un granulomètre MALVERN 2200/3300 a permis de déterminer la granulométrie de nos poudres d'oxydes de fer. Le principe est le suivant : un faisceau laser He-Ne éclaire les particules préalablement mises en solution et se trouvant en circulation dans une cellule appropriée. La quantité de lumière déviée et l'importance de l'angle de déviation permettent de

mesurer avec précision la taille des particules. Ainsi, les particules de grosse taille dévient des quantités importantes de lumière sur des angles faibles par rapport à l'axe de propagation et les petites particules au contraire dévient des quantités infimes de lumière mais sur des angles beaucoup plus larges jusqu'à former des "halos" autour d'elles. La gamme des diamètres mesurables s'étend de 0,05 à 900 microns avec une option jusqu'à 3,5 millimètres. Les intensités reçues aux différents angles par des photodiodes en silicium sont numérisées puis analysées par calcul sur des matrices inverses. Le résultat du calcul est représenté sous forme d'histogramme en volume qui peut être directement transformé en un histogramme en masse, si l'on a pris soin de peser préalablement la quantité d'échantillon à diluer dans le litre de solution en circulation dans l'appareil.

Conclusion

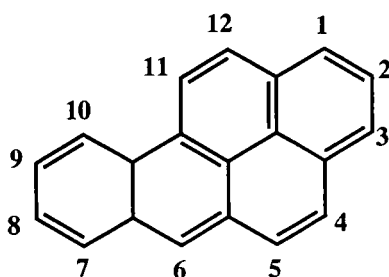
Ce chapitre décrit les principales méthodes d'analyses et paramètres expérimentaux utilisés pour nos études. Il donne au lecteur un aperçu, volontairement schématique quoique suffisamment précis pour la cohérence de ce mémoire. Des mises au point sur des dispositifs expérimentaux et la mise en forme de protocoles de préparation des échantillons ont été mis en oeuvre tout au long de ces travaux. Cependant, certaines analyses relatives à la caractérisation des particules d'oxydes de fer ont demandé l'utilisation de techniques qui ne sont pas maîtrisées par l'auteur (microscopie à balayage, granulométrie laser)

B. LES ÉCHANTILLONS

I. Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP)

Le Benzo[a]pyrène B[a]P est un cancérogène connu de formule brute $C_{20}H_{12}$, de poids moléculaire 252,32 et de densité égale à 1,351.

Sa formule développée est :



Cet HAP ainsi que tous les autres utilisés lors de ces recherches proviennent de la Société Aldrich Chemie, Steinheim, Allemagne.

II. Les oxydes de fer

L'ionisation résonante couplée à la spectrométrie de masse offre des possibilités de sensibilité et de sélectivité en ce qui concerne la détection des atomes ou des molécules en phase gazeuse. Dans ce travail, L'Ablation/Ionisation LAser Résonante (RELAI) nous a permis d'étudier en détail la formation des agrégats oxygénés Fe_2^+ , Fe_2O^+ qui sont directement impliqués dans la caractérisation et la différenciation des oxydes de fer en accord avec leur degré d'oxydation respectif.

Afin de mener à bien notre étude, il a été nécessaire de procéder à la synthèse d'oxyde de fer à base de fer 54, ce qui a demandé une mise au point d'un protocole judicieux compte tenu du prix très élevé du produit de base, le fer métal 54. La synthèse des oxydes a été faite en collaboration avec le Laboratoire de Chimie du Solide Minéral, Faculté des sciences de Nancy, 54500 Vandoeuvre, France.

II.1. Synthèse des oxydes de fer à base de fer 54

La synthèse des oxydes de fer $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ est importante pour les travaux qui vont concerner d'une part la compréhension et la mise en évidence des mécanismes de formation de certains agrégats ionisés du fer ayant un rôle majeur dans la différenciation des états d'oxydation du fer et d'autre part le suivi de la biotransformation des oxydes de fer en milieu cellulaire.

Afin de connaître les conditions de formation des oxydes de fer, il est nécessaire de considérer l'influence de deux paramètres : d'une part celle de l'activité de l'espèce oxydante, donc de la pression d'oxygène $P(\text{O}_2)$ et, d'autre part, celle de la température T . Il est d'usage pour décrire les conditions d'équilibre entre le métal et les oxydes correspondants, d'utiliser la variation d'enthalpie libre de formation ΔG_f .

L'application de la thermodynamique à l'équilibre de formation d'un oxyde : $\frac{2x}{y}\text{M} + \text{O}_2 \rightarrow \frac{2}{y}\text{M}_x\text{O}_y$ (oxyde) en considérant une mole d'oxygène, permet d'écrire :

$$\frac{[\text{oxyde}]}{[\text{M}] \times P(\text{O}_2)} = K_p(T)$$

Il s'agit de la loi d'action des masses dans laquelle, à l'état standard, les activités de l'oxyde et du métal sont égales à l'unité (en négligeant les solubilités mutuelles) :

$$\text{donc } K(T) = \frac{1}{P(\text{O}_2)} \quad \text{avec } P(\text{O}_2) \text{ exprimée en atmosphère}$$

Or $\Delta G_f = \Delta G_f^0 + RT \ln K$ et à l'équilibre $\Delta G_f = 0$.

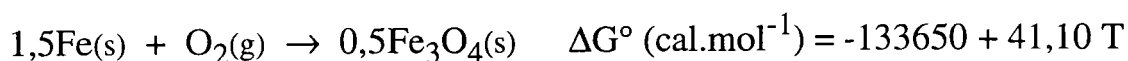
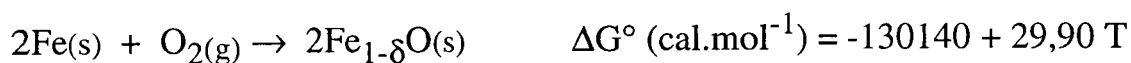
$$\text{D'où : } \Delta G_f^0 = -RT \ln K = + RT \ln P(\text{O}_2)$$

Cette approche thermodynamique permet, à une température donnée, de connaître ainsi pour chaque réaction la pression d'oxygène d'équilibre en dessous de laquelle il n'y aura pas formation de la phase la plus oxydée dans

l'équilibre considéré. On peut donc prévoir les conditions d'oxydation d'un métal donné (le fer) à une température T donnée en termes de pression d'oxygène. La nature de la phase ou des phases formées peut être connue par l'intermédiaire du diagramme d'Ellingham qui représente graphiquement l'évolution de ΔG_f^0 en fonction de T ($\Delta G_f^0 = \Delta H_f^0 - T \Delta S_f^0$) comparativement à $RT \ln P(O_2)$.

II.1.1. Synthèse de l'oxyde de fer $^{54}Fe_2O_3$

Les différentes réactions d'oxydation susceptibles d'exister à partir du fer métal ^{54}Fe lors de la synthèse de cet oxyde sont les suivantes (Handbook, 1992) :



Conformément au diagramme d'Ellingham, on se réfère à une mole de O_2 . Par rapport à ce diagramme, les conditions expérimentales pour la synthèse ont été prises de telle sorte que la température du four soit inférieure à 1500°C sous la pression atmosphérique ($P(\text{air}) = 1 \text{ atm.}$). En effet, pour une température $T < 1500^\circ\text{C}$ à pression atmosphérique, nous sommes dans le domaine de stabilité de la forme la plus oxydée Fe_2O_3 . A l'inverse, lorsque $T > 1500^\circ\text{C}$, c'est l'oxyde Fe_3O_4 qui est stable (figure II-15).

Une quantité de fer métal ^{54}Fe est placée dans un creuset en alumine rond à fond plat et ensuite enfournée dans un four vertical à 800°C sous pression atmosphérique (air).

Le matériau de départ se présentant sous forme de copeaux très durs, il a été impossible de procéder au broyage des particules sans courir le risque d'en perdre. Suite à l'oxydation, le produit obtenu était en partie magnétique.

Aussi, nous en avons conclu qu'il y avait présence de magnétite au sein de nos particules et peut être y avait-il également eu la formation de couches correspondant aux autres oxydes et ce autour d'un noyau de fer métal.

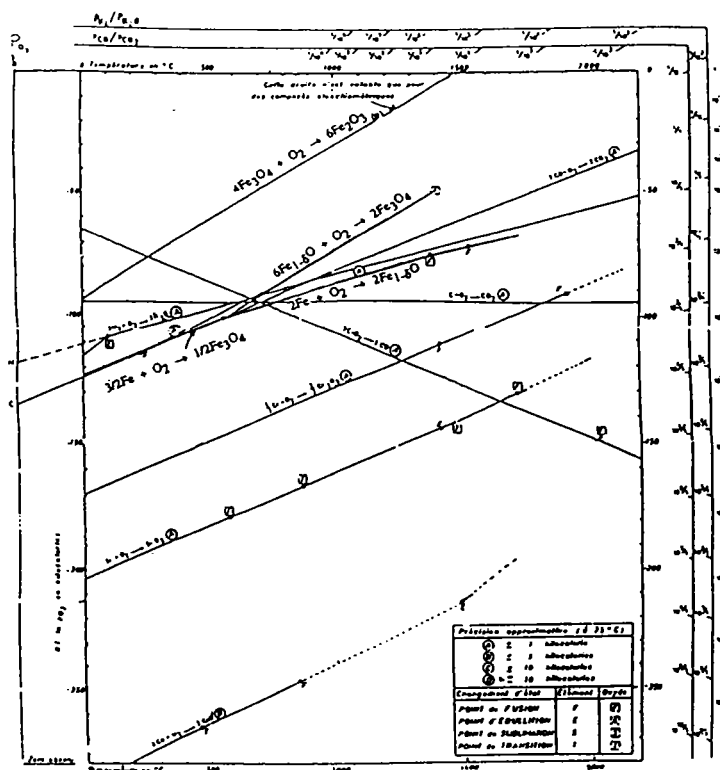


Figure II-15. Diagramme d'Ellingham simplifié.

Il nous fallait donc trouver un moyen d'attaquer les particules en leur centre et éliminer la formation des oxydes différents de Fe_2O_3 . Pour ce faire, nous avons procédé à une réduction de la température du four afin de stabiliser la formation de l'oxyde Fe_2O_3 (figure II-15). Cela a permis d'obtenir des particules moins compactes entre elles et, du fait de la diffusion de l'oxygène lors de la réduction à travers les différentes couches d'oxyde, ces particules sont devenues plus spongieuses et donc plus friables.

Enfin, en prenant soin de ne pas perdre une partie de l'échantillon, il a été procédé au broyage des particules permettant ainsi une attaque plus approfondie et plus homogène de celles-ci. Nous avons effectué une nouvelle oxydation à 900°C permettant d'obtenir une masse finale d'oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ égale à 53 mg.

II.1.2. Synthèse de l'oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_{1.8}\text{O}$

Il est possible de préparer des couches compactes ou des poudres de protoxyde de fer $\text{Fe}_{1.8}\text{O}$, de composition uniforme, par oxydation du fer 54 dans un mélange d'hydrogène et de vapeur d'eau ; on obtient ainsi

une phase unique. Trois conditions paraissent essentielles pour réaliser cette préparation :

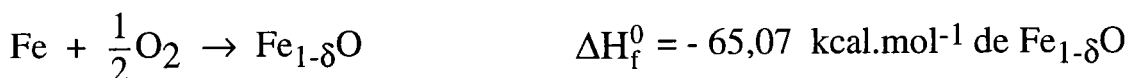
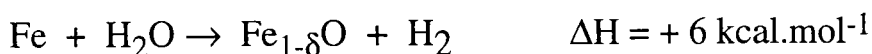
- il est nécessaire d'avoir une très haute pureté du métal de base (Fer 54 : 99,93% en pureté),

- une préparation d'un mélange d'hydrogène et de vapeur d'eau, en équilibre avec le protoxyde de fer, doit être effectuée ; ce mélange imposant la P_{O_2} d'équilibre.

- il est important de pouvoir accéder à une grande vitesse de refroidissement, pour éviter la décomposition du protoxyde de fer, suivant la réaction étudiée par G. Chaudron :



Les différentes réactions susceptibles d'être rencontrées lors de la synthèse sont :



Pour aboutir à $Fe_{1-\delta}O$ à partir de fer métal 54, nous avons utilisé un montage appelé "saturateur" et décrit sur la figure II-16.

La position **2** du four correspond à la trempe du matériau alors que la position **1** concerne l'enfournement et la chauffe. La synthèse s'est effectuée à une température égale à 800°C, avec un mélange gazeux H_2/N_2 (2,5% en H_2). La pression partielle de vapeur d'eau au niveau du saturateur à température ambiante du laboratoire (15°C) est égale à 12,788 mm de Hg.

De plus, le système de four coulissant permet une vitesse de refroidissement relativement importante afin d'éviter la décomposition du protoxyde de fer en magnétite Fe_3O_4 . Ainsi, les conditions pour une préparation de protoxyde de fer $Fe_{1-\delta}O$ sont elles réunies.

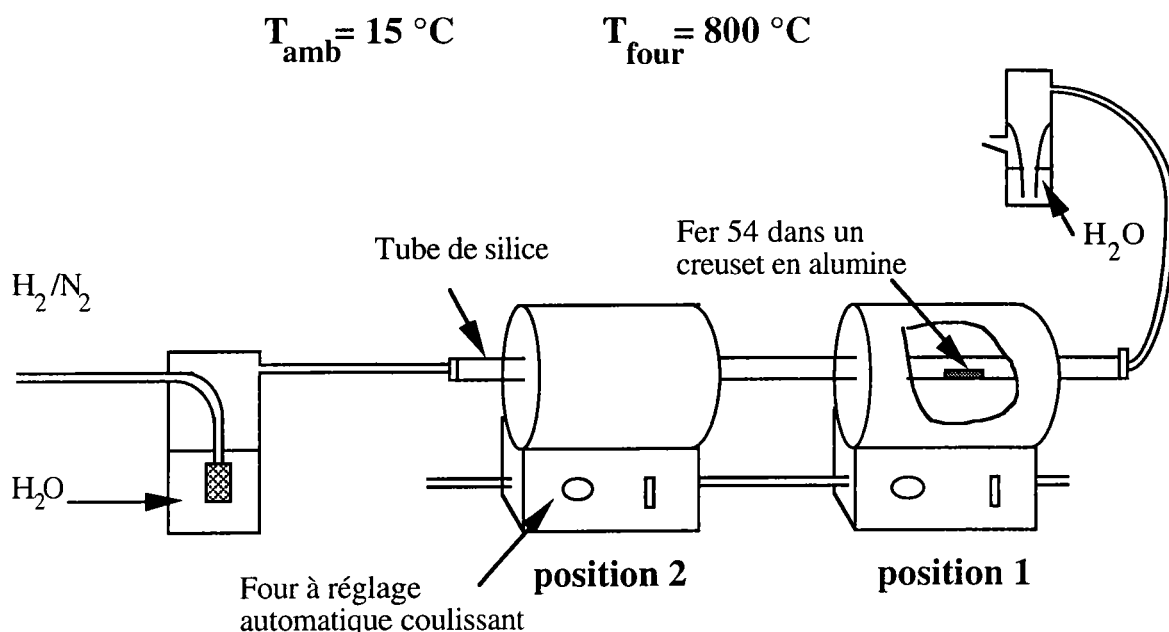


Figure II-16. Principe du saturateur pour la synthèse de $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$.

Pour mener à bien la synthèse, il fallait nous placer dans le domaine de stabilité de l'oxyde $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et ce en fonction du rapport $P_{\text{H}_2}/P_{\text{H}_2\text{O}}$ pour une température donnée. Ainsi, pour un rapport $P_{\text{H}_2}/P_{\text{H}_2\text{O}}$ égal à 1,43, nous pouvons constater sur le diagramme d'Ellingham (figure II-17) que nous sommes dans le domaine de formation de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ pour une température de $800\text{ }^{\circ}\text{C}$. Aussi, les conditions opératoires étaient les suivantes : le montage étant à pression atmosphérique, la somme des pression partielles des gaz est égale à la pression atmosphérique soit :

$$P_{\text{atm}} = P_{\text{H}_2} + P_{\text{N}_2} + P_{\text{H}_2\text{O}} + P_{\text{O}_2}$$

P_{O_2} peut être négligée dans cette égalité. Avec une pression atmosphérique $P_{\text{atm}}(15^{\circ}\text{C}) = 747\text{ mm Hg}$, nous avons :

$$747 = P_{\text{H}_2} + P_{\text{N}_2} + P_{\text{H}_2\text{O}}$$

$$747 - 12,788 = P_{\text{H}_2} + P_{\text{N}_2}$$

$$734,21 = P_{\text{H}_2} + P_{\text{N}_2}$$

De plus, la teneur en H_2 dans le mélange gazeux est égale à 2,5 %, nous avons la relation selon laquelle 2,5 % de 734,21 correspond à 18,35 et ainsi :

$$\% H_2 = (P_{H_2} / (P_{H_2} + P_{H_2O})) \times 100$$

$$\% H_2 = (18,35 / (18,35 + 12,788)) \times 100$$

$$\% H_2 = 58,93 \% \quad (\text{par rapport au mélange } H_2/H_2O)$$

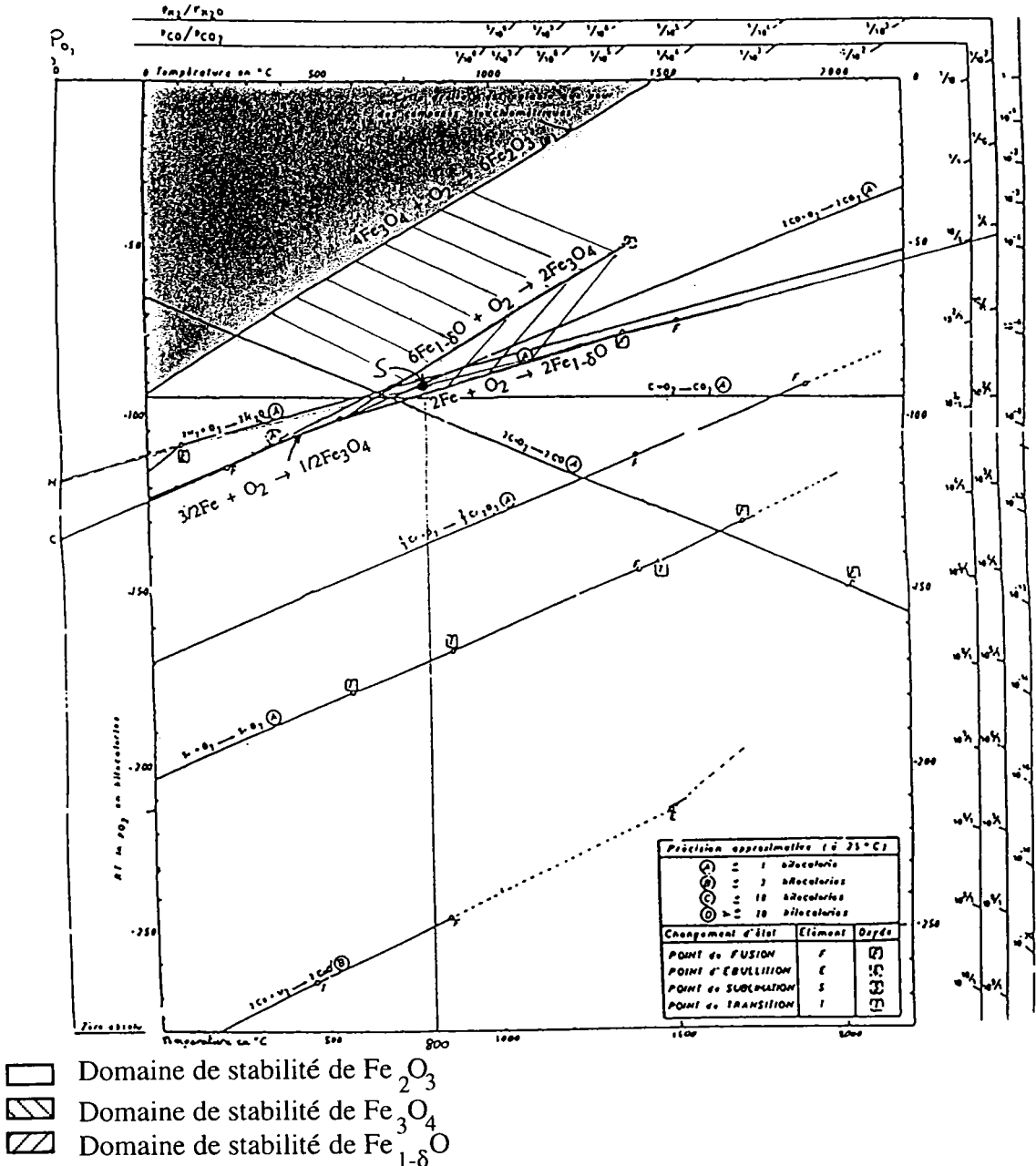


Figure II-17. Variation de l'enthalpie libre de formation de certains oxydes en fonction de la température (diagramme d'Ellingham). Le point S se situant au dessus de la droite concernant la réaction $2Fe + O_2 \rightarrow 2FeO$, nous sommes dans le domaine de stabilité de l'oxyde $Fe_{1-\delta}O$.

Afin de savoir si nous étions bien dans le domaine de stabilité de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, nous avons eu recours au diagramme de formation des oxydes de fer en fonction de la température et du pourcentage d'hydrogène ($\%\text{H}_2$) (Figure II-18) Nous savons ainsi dans quel domaine se situer et donc quelle espèce est favorisée pour la synthèse selon nos conditions. Dans le cas présent avec $\%\text{H}_2 = 58,93$ et une température de $800\text{ }^\circ\text{C}$, nous favorisons bien la formation du protoxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$.

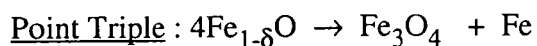
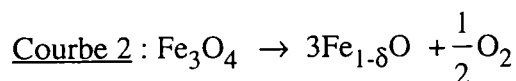
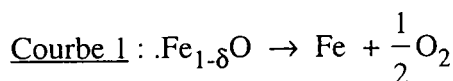
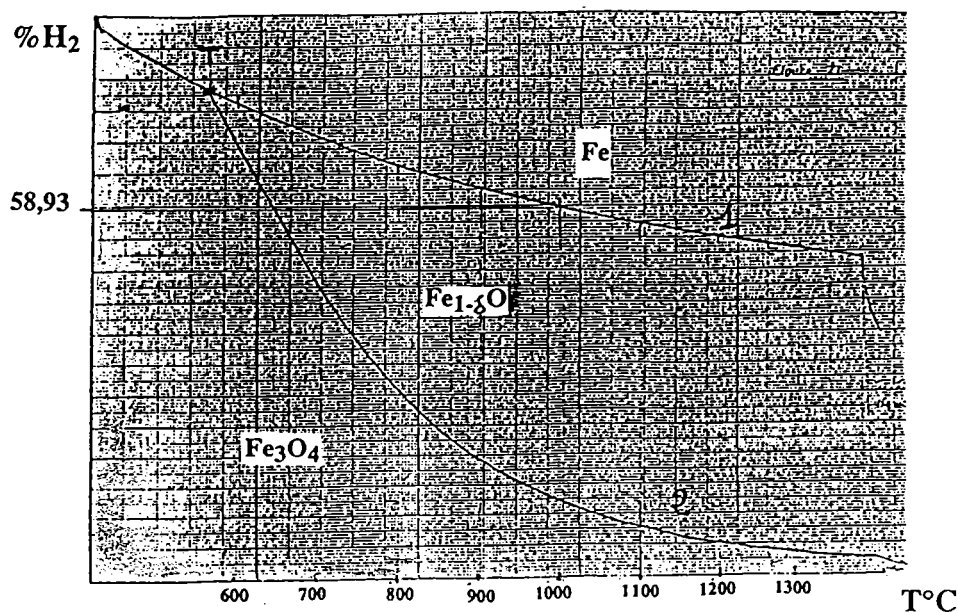


Figure II-18. Diagramme de formation des oxydes de fer en fonction de la température et du pourcentage en hydrogène

Ainsi, après une durée d'enfournement d'une semaine, nous avons obtenu 52,6 mg de $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$.

II.1.3. Synthèse de la magnétite $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$

A l'inverse, tout en gardant le même mélange gazeux utilisé lors de la synthèse de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ (H_2/N_2 à 2,5 %), la synthèse de la magnétite s'est faite à une température de 500°C avec une durée d'enfournement de trois jours. Ainsi, nous avons formé 12,15 mg de magnétite $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$.

II .2. Caractérisation des oxydes de fer à base de fer 54

Les oxydes de fer une fois synthétisés ont été analysés par diffraction X afin de connaître leur degré de cristallinité et ainsi pouvoir être certain de leur pureté (phase en présence), critère essentiel pour les études futures sur la compréhension des mécanismes de formation des agrégats ionisés du fer et de celles qui seront menées en milieu biologique. Ainsi, pour chacun des oxydes de fer, nous avons calculé le paramètre $d(hkl)$ que nous comparons à ceux édités dans la littérature et ainsi nous pouvons définir si oui ou non nous sommes en présence d'oxyde de fer sans impuretés majeures.

II.2.2. Diffraction X sur $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$

θ (degrés)	$d(h,k,l)$ calculés expérimentalement	$d(h,k,l)$ ASTM	Intensité
18	2,452	2,486	intense
21	2,149	2,153	très intense
30,5	1,517	1,523	intense

II.2.3. Diffraction X sur $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$

θ (degrés)	$d(h,k,l)$ calculés expérimentalement	$d(h,k,l)$ ASTM	Intensité
15	2,976	2,967	faible
17,75	2,5265	2,532	très intense
21,625	2,09	2,089	faible
28,625	1,609	1,616	faible
31,375	1,479	1,485	faible

II.2.1. Diffraction X sur $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$

θ (degrés)	d(h,k,l) calculés expérimentalement	d(h,k,l) ASTM	Intensité
14,15	3,661	3,66	faible
19,42	2,692	2,69	très intense
20,9	2,509	2,51	intense
24	2,2	2,2	faible
25,55	2,075	2,07	très faible
29,15	1,837	1,838	faible
32	1,689	1,69	intense
34	1,6	1,596	faible
37	1,487	1,484	faible
38	1,453	1,452	faible
41,5	1,35	1,349	très faible
43	1,312	1,31	faible
45,2	1,261	1,258	très faible
48,7	1,191	1,189	très faible
50,2	1,165	1,162	faible
51,5	1,143	1,141	faible

Ainsi, le contrôle de nos trois oxydes à base de fer 54 par diffraction X nous renseigne sur la structure et la pureté (à 2% près) de ces derniers et nous permet de pouvoir continuer les recherches dans de bonnes conditions. En effet, ces oxydes seront utilisés dans le but de mieux comprendre les mécanismes de formation des agrégats ionisés du fer et dans les études de leur métabolisation cellulaire.

II.3. Provenance des oxydes de fer à base de fer 56

Pour nos études, nous avons utilisé trois oxydes de fer dont les noms et les provenances sont indiqués dans le tableau II-1.

Produits	Formule	Poids Moléculaire (P.M.)	Pureté	Provenances
Wüstite	$\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ (Fe II) Oxyde ferreux noir, cubique ($a = 4,307 \text{ \AA}$)	72	98 %	Laboratoire de Chimie du Solide Minérale de Nancy I
Hématite	Fe_2O_3 (Fe III) Oxyde brun rouge de structure hexagonale de type "Corindon".	159,69	99 %	Société MERCK Réf. : 25,572-6 Nogent-sur-Marne
Magnétite	Fe_3O_4 (Fe II et Fe III) oxyde noir ($a = 8,394 \text{ \AA}$)	231,54	98 %	Société MERCK Réf. : 31,006-9 Nogent-sur-Marne

Tableau II-1. Caractéristiques (nature, poids moléculaire, pureté, provenance) des trois oxydes de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 et Fe_3O_4 .

Bibliographie

Adams F., Mauney T., **1986**. *Advances in Mass Spectrometry*, Ed., J.F. Todd, J. Wiley & Son Ltd, p 507.

Alphabetical index, inorganic phases, **1991**. compiled by the JCPDS-International Center for Diffraction Data ; in cooperation with the American ceramic Society - Swarthmore, Pa : International Center for Diffraction Data. Search manual, Hanawalt method inorganic, **1991**. compiled by the JCPDS-International Center for Diffraction Data ; in cooperation with the American ceramic Society - Swarthmore, Pa : International Center for Diffraction Data.

Asamoto S, **1988**. *Spectroscopy*, 3 , p 38.

Buchanan M.V, **1987**. *ACS. Symposium Serie.American Chemical Society*, Washington, D.C.

Cody R.B, Freiser Ben. S, **1982**. *Int. J. of Mass. Spectrometry and Ion Physics*, 41, p 199.

Comisarow M.B, **1978**. *J. Chem Phys*, 69, p 4097.

Comisarow M.B, Marshall A.G, **1974**. *Chem. Phys. Lett*, 25, p 282.

Constantin E., Muller J.F., **1983**. *Intern. J. Mass Spectrom. and Ion Physics*, 48, p 51.

Denoyer E., Van Grieken R., Adams F., Natusch D.F.S., **1982**. *Anal. Chem.*, 54(1), p 26.

Emary W.B, Lys I, Cotter R.J, Simpson R, Hoffman A, **1990**. *Anal chem*, 62, p 1319.

Eloy J.F., **1971**. *Int. J. Mass Spectrom.*, 6, p 101.

Freiser Ben S, **1989**. *Chemtracts-Analytical and Physical Chemistry*, 1, p 65.

- Hanbook of Chemistry and Physics, **1992**. *CRC Press*, p 5-18.
- Heinen H.J., **1981**. *Intern. J. Mass Spectrom. and Ion Phisics*, 38, p 309.
- Hercules D.M, **1988**. *J. Microchemical*, 38, p 3.
- Hillenkamp F. Insold E., Kaufmann R., **1975**. *Appl. Phys.*, 8, p 341.
- Hillenkamp F., Kaufmann R., **1981**. *Fresenius Z. Anal.chem.*, 308(3), p 193.
- Karas M., Hillenkamp F., **1989**. *Microbeam Analysis*, ED. P. Russel, San Franscisco Press.
- Kaufmann R., Hillenkamp F., Wechsung R., Heinen H.J., Schurmann M., **1979**. *Scanning Electron Microscopy*, p 279.
- Laude D.A, Brown R.S, Johlman C.L, Weil D.A, Wilkins. C.L, **1986**. *Org Mass Spectrometry*, 5, p 107.
- Linlor W.I., **1963**. *Appl. Phys. Lett.*, vol. 3.
- Marshall A.G, **1985**. *Accounts of chemical Research*, 18, p 316.
- Marshall A.G, Grosshans B.P, **1991**. *Anal. Chem.*, 63(4), p 215A.
- Marshall A.G, Verdun F, **1990**. *Fourier Transform Spectroscopy in NMR, Optical and Mass spectrometry* , Elsevier Science publisher. B.V., Amsterdam.
- Muller J.F, Tolitte F, Krier G, Pelletier M, **1989**. *Brevet Francais n°8809438*.
- Pelletier M, Krier G, Muller J.F, Weil D, Johnston M, **1988**. *Rapid. Comm. Mass Spectrom.*, 2, p 146.
- Russell D, **1986**. *Mass Spectrometry Reviews*, 5, p 167.
- Stefani R., **1988**. *Analysis*, 16, p 147.

Verdun F., **1985**. *Thèse*, Université de Metz.

Vogt H., Heinen H.J., Meier S., Wechsung R., **1981**. *Fresenius Z. Anal.chem.*, 308, p 195.

Wechsung R., Heinen H.J., Hillenkamp F., Kaufmann R., **1985**. *Spectra 2000*, n° 101, p 13.

Chapitre III

A. METHODOLOGIE POUR LA DETERMINATION DE LA VALENCE DU FER

Introduction

La détermination de la valence du fer dans les composés oxygénés par spectrométrie de masse nécessite une compréhension de la formation des différents agrégats ionisés pouvant être formés après irradiation laser sur la cible.

Une étude systématique de la distribution des agrégats ionisés formés et de leur abondance relative paraît alors nécessaire afin de convenir si les spectres de masse peuvent être utilisés comme "empreinte" spectrale spécifique au composé analysé ou non.

Dans un premier temps, nous allons présenter les caractéristiques générales (morphologie, granulométrie, surface spécifique) des produits purs standards (oxydes de fer) avec lesquels nous allons effectués les études. Puis dans un second temps, nous étudierons par spectrométrie de masse (LAMMA 500) ces mêmes produits afin d'essayer de trouver une corrélation entre la distribution des intensités relatives du spectre de masse et la valence du fer présent dans l'échantillon. Ces études seront menées à différentes longueurs d'onde selon différents processus dont l'ionisation résonante (RELA : **RE**sonant **L**aser **A**blation **I**onisation) en mode d'ionisation positif. En effet, des tentatives préliminaires avaient montré que les spectres d'ions négatifs des produits purs standard étaient très riches en signaux mais dont la plupart étaient non spécifiques aux différentes phases minérales. Nous avons donc accepté de perdre les informations analytiques relatives aux éléments identifiables sur les spectres d'ions négatifs (S, P, Cl, F).

Par la suite, nous nous appliquerons à essayer de comprendre et de montrer le mécanisme de formation des ions et des agrégats ionisés spécifiques qui ont une importance dans la discrimination de la valence du fer par microsonde laser LAMMA 500. Pour nous aider dans cette tâche, il nous a été nécessaire d'effectuer la synthèse d'oxydes de fer à base de fer 54 caractérisés par diffraction X (Cf. chapitre II, partie 2, page 126) et LAMMA 500.

I. Caractérisation physique des oxydes de fer purs

Les études effectuées par microscopie électronique à balayage sur les particules de fer, $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 et Fe_3O_4 révèlent des structures morphologiques différentes :

✓ les particules de fer ^{56}Fe se présentent sous formes de fuseau, longilignes, ovoïdes, avec la présence entre les grains soudés entre eux, de nombreux interstices (Figure III-1),

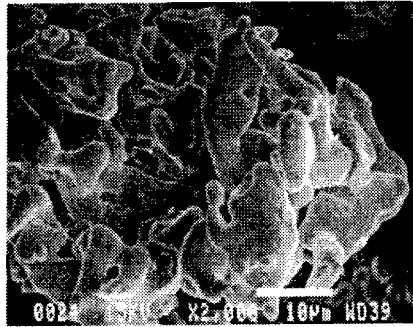


Figure III-1. Micrographie électronique à balayage de ^{56}Fe

✓ l'oxyde de fer $^{56}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ (synthétisé) est constitué de grains plus arrondis avec toujours de nombreuses excavations entre les différents grains (figure III-2),

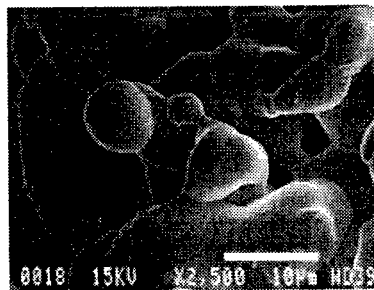


Figure III-2. Micrographie électronique à balayage de $^{56}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$

✓ en ce qui concerne l'oxyde de fer $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$ (commercialisé), les particules sont de forme sphérique, d'aspect "cotonneux" de taille plus importante (figure III-3),

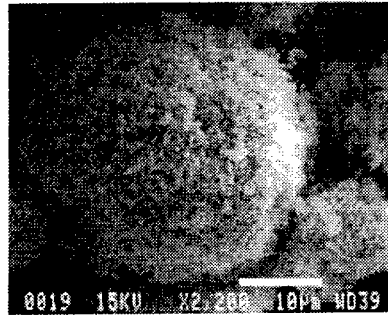


Figure III-3. Micrographie électronique à balayage de $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$

✓ enfin l'oxyde de fer $^{56}\text{Fe}_3\text{O}_4$ (commercialisé) est constitué d'un grand nombre de grains de petites taille ($< 1\ \mu\text{m}$) qui, soudés entre eux, forment des agrégats de forme aléatoire (figure III-4).

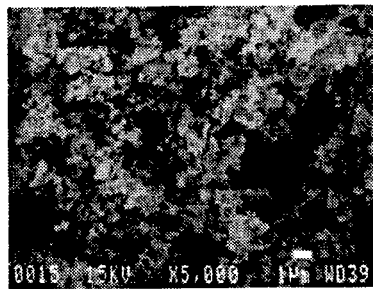


Figure III-4. Micrographie électronique à balayage de $^{56}\text{Fe}_3\text{O}_4$

II. Répartition granulométrique et surface spécifique

En ce qui concerne la répartition granulométrique, les résultats sont donnés sous forme d'histogrammes sur lesquels on trouve les différentes tranches granulométriques (en μm) en abscisse et la répartition cumulée (% en volume) en ordonnée (figures III-5 a, b et c) :

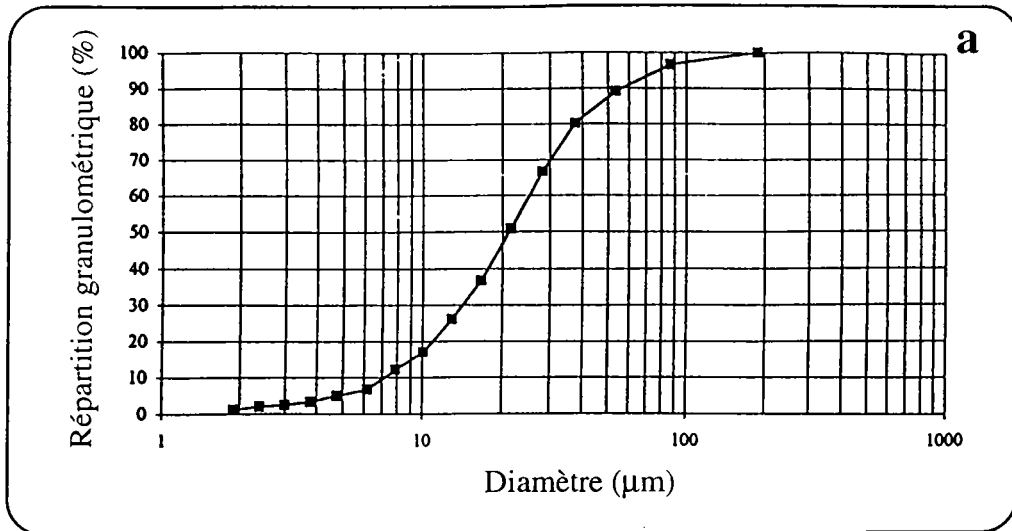


Figure III-5 a. Répartition cumulée granulométrique de l'oxyde de fer $\text{Fe}_{1.8}\text{O}$

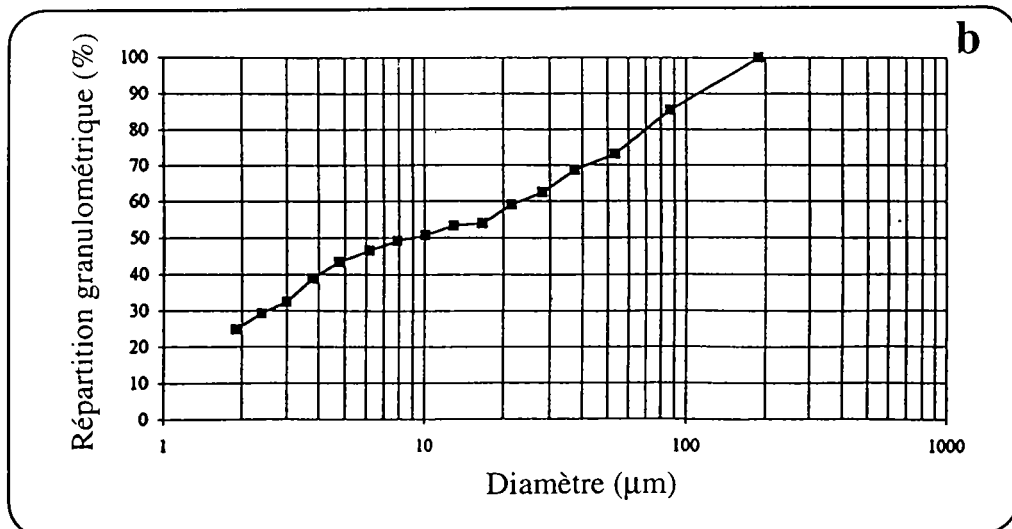


Figure III-5 b. Répartition cumulée granulométrique de l'oxyde de fer Fe_2O_3

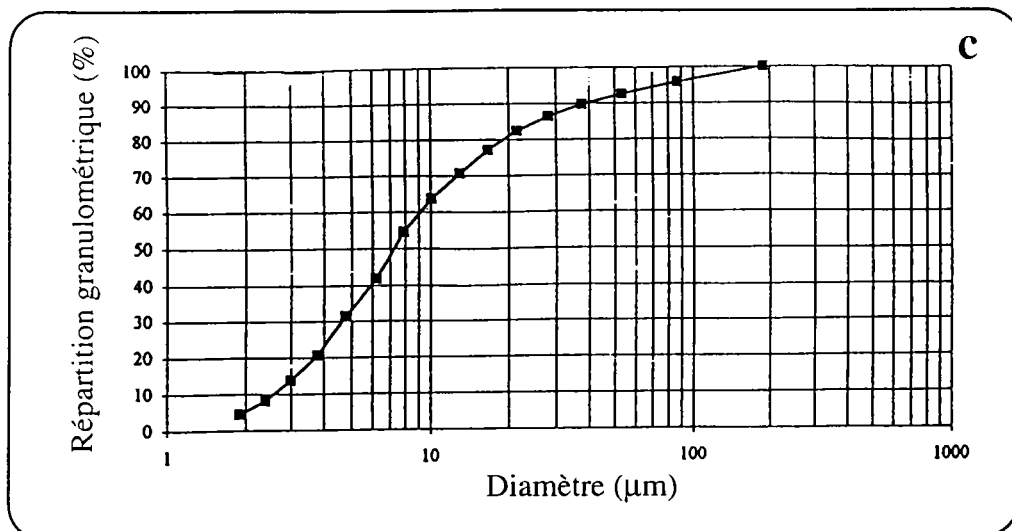


Figure III-5 c. Répartition cumulée granulométrique de l'oxyde de fer Fe_3O_4

Pour nos études, nous nous intéresserons uniquement aux tranches granulométriques comprises entre 0 et 10 μm , ce qui correspond à des tailles de particules susceptibles de rentrer dans les voies respiratoires (nez, trachée, bronches, alvéoles pulmonaires) après inhalation. Ces mesures ainsi que celles de la surface spécifique de chacun des oxydes ont été effectuées par le Laboratoire des Matériaux Minéraux à Villeurbanne.

Afin d'exploiter plus aisément les résultats, nous avons reporté les principales données dans le tableau récapitulatif suivant (tableau III-1) :

Tranches granulométriques (μm)	$\text{Fe}_{1.8}\text{O}$ (%)	Fe_2O_3 (%)	Fe_3O_4 (%)
1,9 - 2,4	0,8	4,4	3,6
2,4 - 3,0	0,4	3,2	5,7
3,0 - 3,8	0,9	6,8	6,8
3,8 - 4,8	1,6	4,6	10,6
4,8 - 6,2	1,8	3,2	10,6
6,2 - 7,9	5,5	2,7	12,6
7,9 - 10,1	4,8	1,5	9,2
Surface spécifique (m^2/g)	0,3	9,0	6,9

Tableau III-1. Données sur la granulométrie et la surface spécifique des oxydes de fer utilisés dans nos recherches.

III. Caractérisation des oxydes de fer purs par microsonde laser LAMMA

Il est d'un grand intérêt d'étudier les réactions en phase gazeuse impliquant les métaux de transition (Pan et al., 1992 ; Operti et al., 1992 ; Parent et al., 1989) tel que le fer afin de comprendre les éventuels effets toxiques et carcinogènes de ces composés (Rossman et al., 1984). Les analyses des solides inorganiques par spectrométrie de masse à temps de vol montrent la formation d'agrégats ionisés au niveau des spectres de masse qui peuvent être utilisés pour l'identification de ces particules inorganiques (Musselman et al., 1988 ; Mele et al., 1990 ; Hachimi et al., 1993). Une étude systématique de ces types d'agrégats ionisés formés et de leur abondance relative respective, est ainsi intéressante pour arriver à utiliser les spectres de masse comme "empreinte" caractéristique des produits analysés (Michiels et al., 1984 ; Hachimi et al., 1993).

Dans ces études, nous avons appliqué l'ionisation résonante (RELA : **RE**sonant **L**aser **A**blation **I**onisation) du fer afin d'étudier les différents oxydes de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 et Fe_3O_4 en mode d'ionisation positif par microsonde laser LAMMA 500. Les spectres de masse en ions positifs sont caractérisés par des différences tant sur le plan des agrégats détectés que sur leur intensité relative. Les paramètres critiques de ce type d'ionisation sont le choix de la longueur d'onde du laser ionisant, l'énergie apportée sur l'échantillon.

III.1. Choix de la longueur d'onde

Le colorant Rhodamine 610 Exciton fut utilisé dans cette étude pour sa capacité à générer une gamme de longueur d'onde comprise entre 564 et 604 nm lorsqu'il est pompé par la seconde harmonique d'un laser Nd-YAG. Ainsi, une panoplie de longueurs d'onde comprises entre 282 et 302 nm peut être obtenue dans laquelle nous avons choisi une longueur d'onde spécifique pour l'ionisation préférentielle des atomes de fer. Notre choix s'est arrêté sur la longueur d'onde égale à 293,7 nm qui correspond à une raie intense de transition du fer ($5D^4 (0,0 \text{ cm}^{-1}) \rightarrow 5F^4 (34040 \text{ cm}^{-1})$) et conduit à un processus de photoionisation du fer à deux photons ($A[\omega_1, \omega_1 e^-]A^+$). Deux photons d'un même pulse laser sont successivement

absorbés par les atomes dans la plume gazeuse afin d'acheminer ces derniers au continuum (figure III-6)(Gobert et al., 1991 ; Johann et al., 1993).

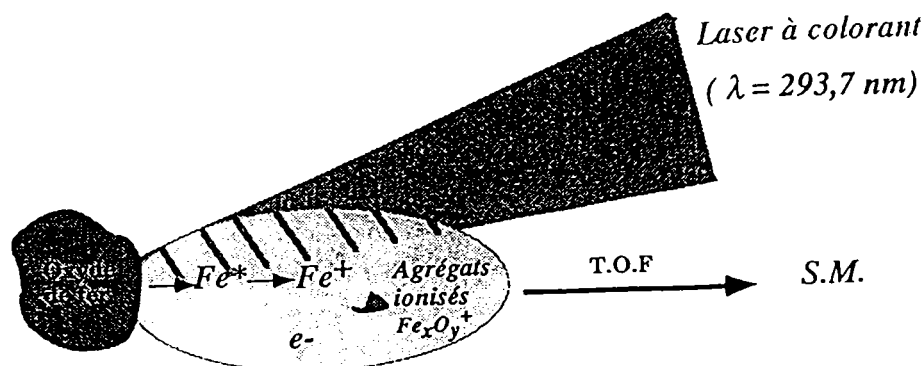


Figure III-6. Principe de l'ablation/ionisation laser en mode résonant (RELAI).

Avant toute mesure, nous avons jugé utile de vérifier et de calibrer notre laser afin de s'assurer que celui-ci était bien positionné sur la raie d'absorption intense choisie du fer ($293,7 \text{ nm}$). L'utilisation d'un monochromateur HR 320 moyenne résolution préalablement calibré avec un laser He-Ne ($\lambda = 632,8 \text{ nm}$) (Instruments SA, division, Jobin-Yvon) et équipé d'un réseau plan interchangeable avec un détecteur à photoconduction en silicium permet un balayage dans l'ultraviolet, le visible et l'infrarouge. Ainsi, nous pouvons déterminer la longueur d'onde du laser, à savoir que celle-ci est bien fixée sur la raie $\lambda = 293,7 \text{ nm}$ (figure III-7).

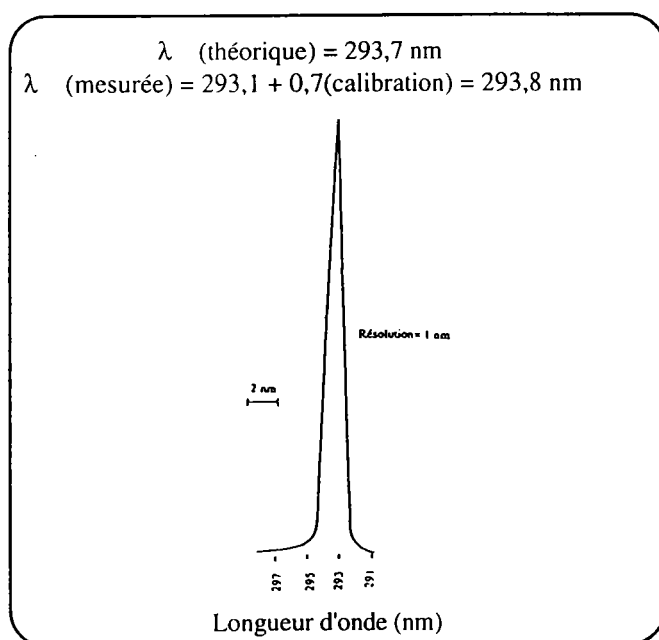


Figure III-7. Calibration du laser sur la raie intense du fer ($\lambda = 293,7 \text{ nm}$).

Pour confirmer la validité de cette expérience, nous avons analysé à diverses longueurs d'onde un échantillon homogène de résine époxy (spurr) dopée en acétate de fer (1000 ppm) (figure III-8). A chaque longueur d'onde, l'énergie laser a été ajustée de façon à garder un diamètre d'impact laser quasi-constant ($0,1 < E < 0,2 \mu\text{J}$).

Le travail "en résonance" se traduit par une exaltation notable du signal de l'ion $^{54}\text{Fe}^+$, avec par voie de conséquence une diminution non négligeable du seuil de détection de ce métal. Le choix de s'intéresser préférentiellement au variation de l'intensité de l'ion $^{54}\text{Fe}^+$ et non pas à celle de l'ion $^{56}\text{Fe}^+$ a été décidé pour ne pas avoir d'artefacts dans les mesures compte tenu de la saturation possible des signaux relatifs à $^{56}\text{Fe}^+$. De plus, la résine "spurr" ne semble pas inhibée de façon importante l'effet d'exaltation attendu lors de la résonance. De ce fait, ce polymère s'avère tout à fait indiqué lors de la recherche de fer à l'état de trace dans des échantillons biologiques.

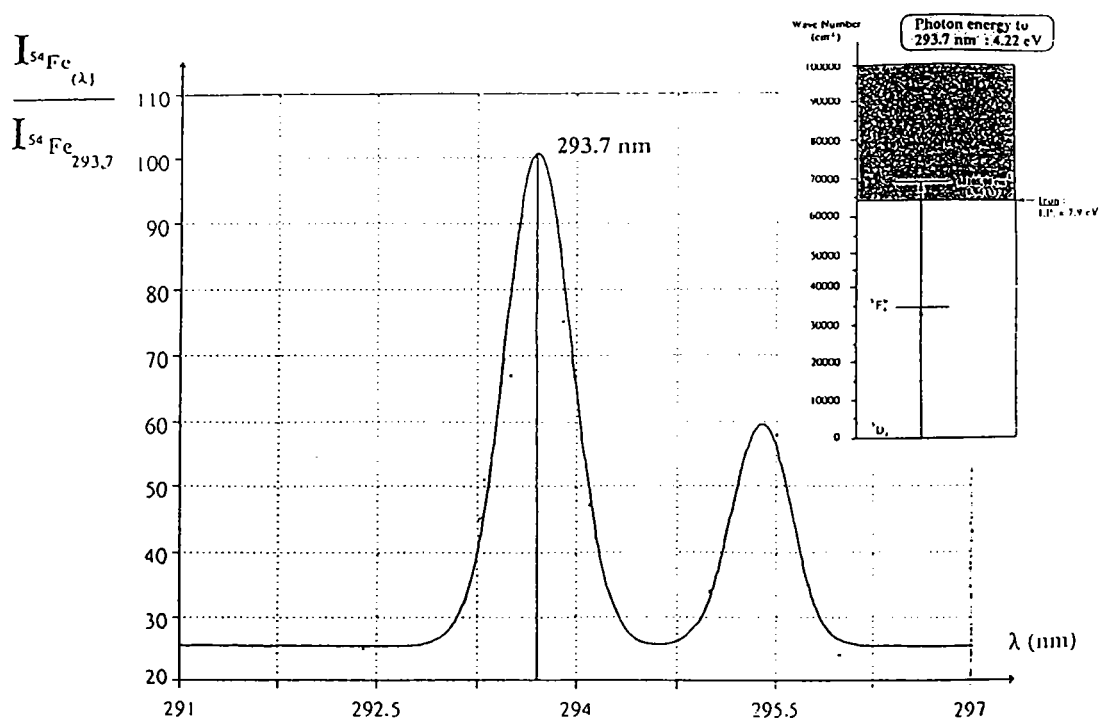


Figure III-8. Evolution de l'intensité I du signal $^{54}\text{Fe}^+$ en fonction de la longueur d'onde.

Afin de conforter l'hypothèse selon laquelle l'ionisation résonante conduit à une diminution du seuil de détection de l'élément recherché, en l'occurrence le fer, nous avons étudié un échantillon homogène d'albumine dopé en sel de Mohr $((\text{NH}_4)_2 \text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O})$ à faible concentration

(1 ppm) (figure III-9 a et b) Ainsi, nous voyons, par rapport à une ionisation hors résonance ($\lambda = 266$ nm), la possibilité donnée par l'ionisation résonante ($\lambda = 293,7$ nm) de distinguer très nettement le fer ^{56}Fe et de ses isotopes ^{54}Fe et ^{57}Fe avec un rapport isotopique mesuré $^{54}\text{Fe}/^{56}\text{Fe}$ égal à 0,060 au lieu de 0,063 (rapport isotopique théorique).

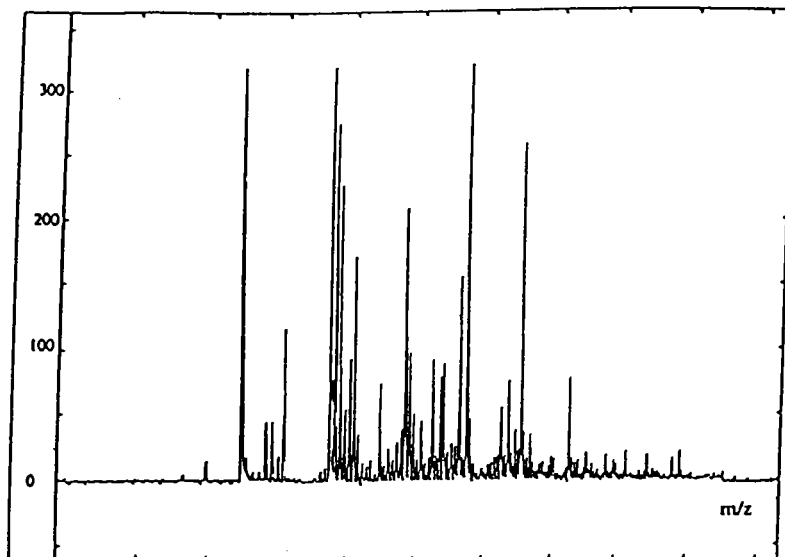


Figure III-9 a. Analyse LAMMA hors résonance d'un échantillon d'albumine dopé en sel de Mohr ($\lambda = 266$ nm).

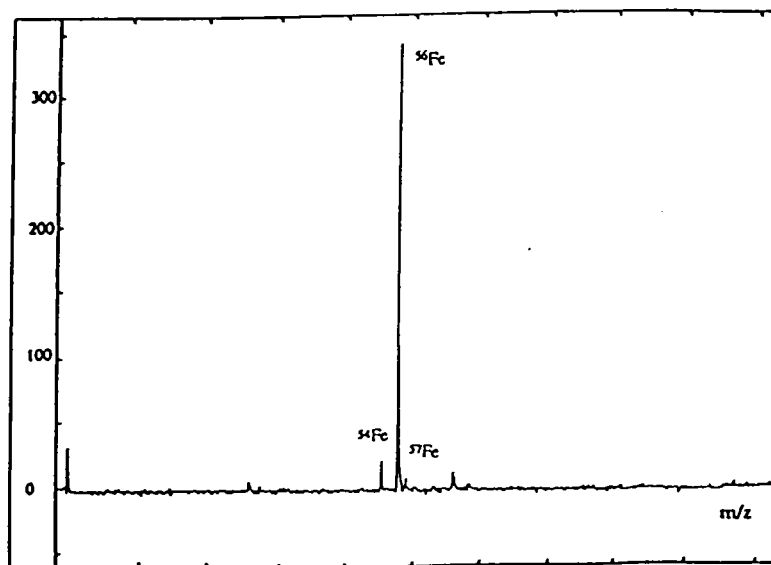


Figure III-9 b. Analyse LAMMA en résonance d'un échantillon d'albumine dopé en sel de Mohr ($\lambda = 293,7$ nm).

III.2. Comparaison des rapports d'intensité expérimentaux et théoriques des différents raies du fer

Dans les conditions de l'analyse concernant la résine de spurr dopée en acétate de fer, le rapport d'intensité des raies du fer doit pouvoir être évalué et comparé avec les calculs théoriques (Cf. figure III-8).

Lorsqu'un atome est irradié à une longueur d'onde pouvant induire un changement de configuration électronique, il s'établit un régime quasi-stationnaire tout au long de l'irradiation. Ainsi, la vitesse d'exaltation est égale à la vitesse de désexcitation par émission spontanée et stimulée. Les intensités des raies d'émission (ou d'absorption) sont proportionnelles à la différence $E_j - E_i$, à la population du niveau de départ n_i et au coefficient A (probabilité d'émission spontanée). Nous avons :

$$I = (E_j - E_i) n_i A$$

avec $n_i = (N/Z) g_i \exp(-E_i/kT)$, g_i : poids statistique du niveau i , k : constante de Boltzmann, T : température en Kelvins, Z : numéro atomique, N : nombre total d'espèces présentes.

Pour un même élément, photoionisé dans les mêmes conditions, il est possible d'obtenir le rapport des intensités des raies d'émission (ou d'absorption) grâce à la simplification de certains paramètres. Ainsi, le rapport d'intensité entre deux raies voisines peut être obtenu par la relation suivante :

$$\frac{I_1}{I_2} = \frac{g_1 A_1}{\lambda_1} \times \frac{\lambda_2}{g_2 A_2}$$

Dans le cas du fer, les paramètres g et A sont les suivants (CRC Handbook, 1985) :

$$g_{293,7} = 9 \qquad A_{293,7} = 0,14 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$$

$$g_{295,37} = 5 \qquad A_{295,37} = 0,12 \cdot 10^8 \text{ s}^{-1}$$

De ce fait, nous avons :

$$\frac{I_{293,7}}{I_{295,37}} = \frac{9 \times (0,14) \times (295,37)}{5 \times (0,12) \times (293,7)} = 2,16$$

Cette valeur est en accord avec celle obtenue lors de notre expérimentation (figure III-8) puisque nous trouvons :

$$\frac{I_{293,7}}{I_{295,47}} = 2,22$$

III.3. Méthodologie pour la détermination de la valence du fer

L'analyse de l'hématite (Fe_2O_3) par microsonde laser LAMMA (figure III-10), en mode d'ionisation non résonant ($\lambda = 266 \text{ nm}$) à haute irradiance, laisse apparaître des ions de première génération (Fe^+ et FeO^+) et , en première analyse, deux séries d'agrégation avec FeO comme molécule neutre :

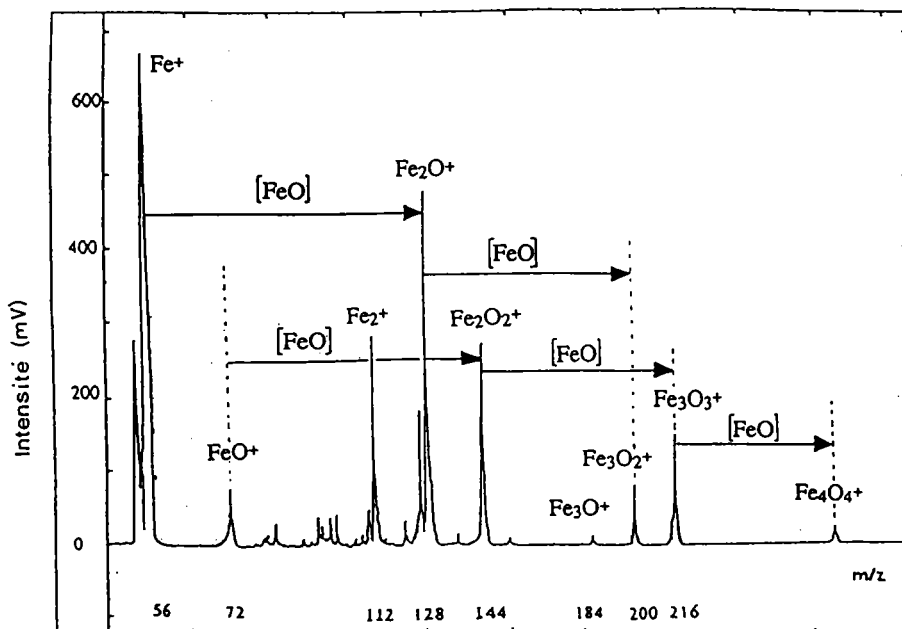
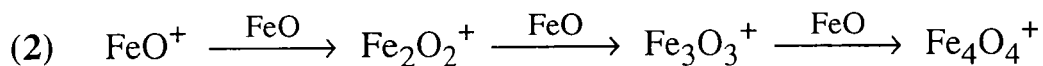
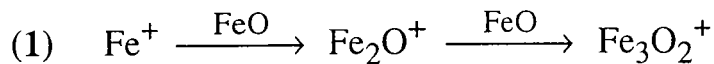


Figure III-10. Spectre LAMMA de l'hématite ($\lambda = 266 \text{ nm}$, $I = 10^8 \text{ W/cm}^2$).

Les résultats, suite aux analyses en ionisation résonante ($\lambda = 293,7$ nm) ou non résonante ($\lambda = 266$ nm) effectuées sur les oxydes de fer $^{56}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ (figure III-11a), $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$ (figure III-11b), conduisent à trois types d'ions en mode positif : les ions atomiques Fe^+ , les agrégats ionisés déficients en oxygène de type $[\text{Fe}(\text{FeO})_x]^+$, les agrégats ionisés avec un nombre équivalent d'atome de fer et d'oxygène $[\text{FeO}]_x^+$ et en plus faible proportion, des agrégats ionisés déficients en fer $[(\text{FeO})_x\text{O}]^+$.

Des observations similaires furent indiquées par Jacobson et al. (1986) en ce qui concerne des études sur les ions et agrégats ionisés formés en phase gazeuse en présence de complexes d'hexacarbonyle de fer $\text{Fe}(\text{CO})_5$.

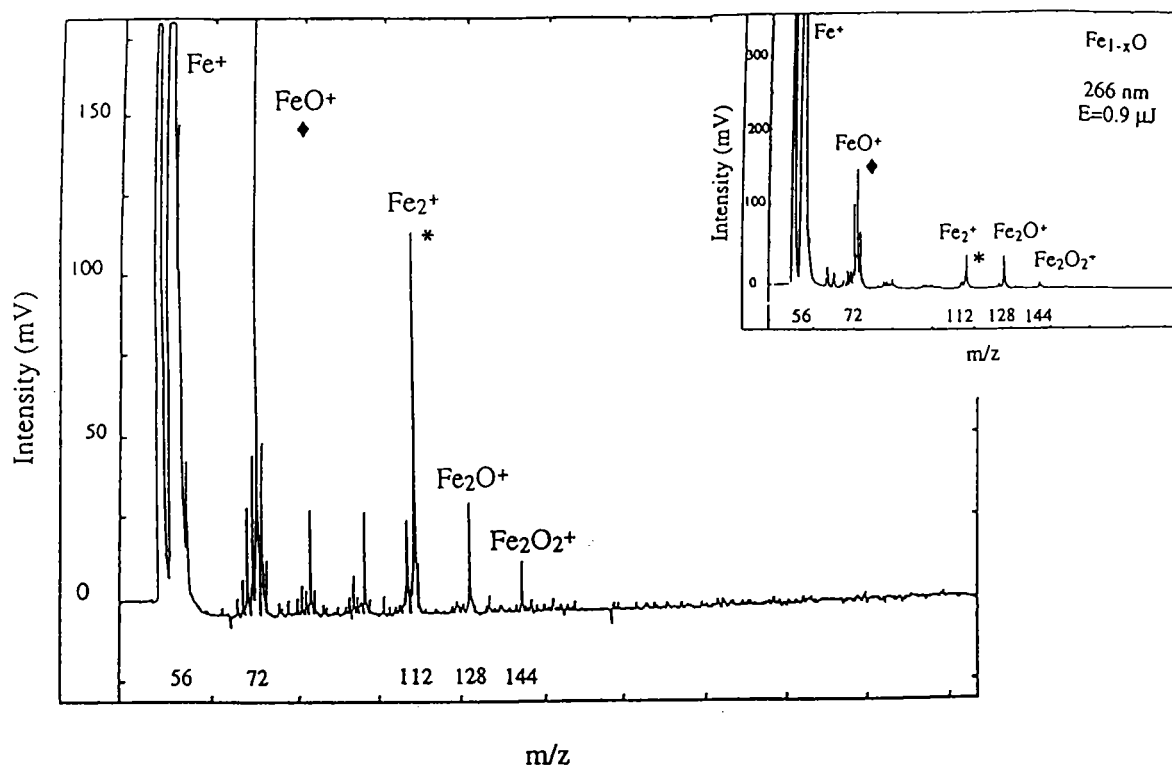


Figure III-11 a. Comparaison entre les spectres de masse de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ obtenus avec un processus d'ionisation non résonante à 266 nm (en médaillon) et avec un processus d'ionisation résonante à 293,7 nm, le tout avec la même énergie (0,9 μJ). Nous pouvons constater une forte exaltation du signal du dimère Fe_2^+ (*) et de FeO^+ (♦) lorsque l'ionisation résonante est utilisée.

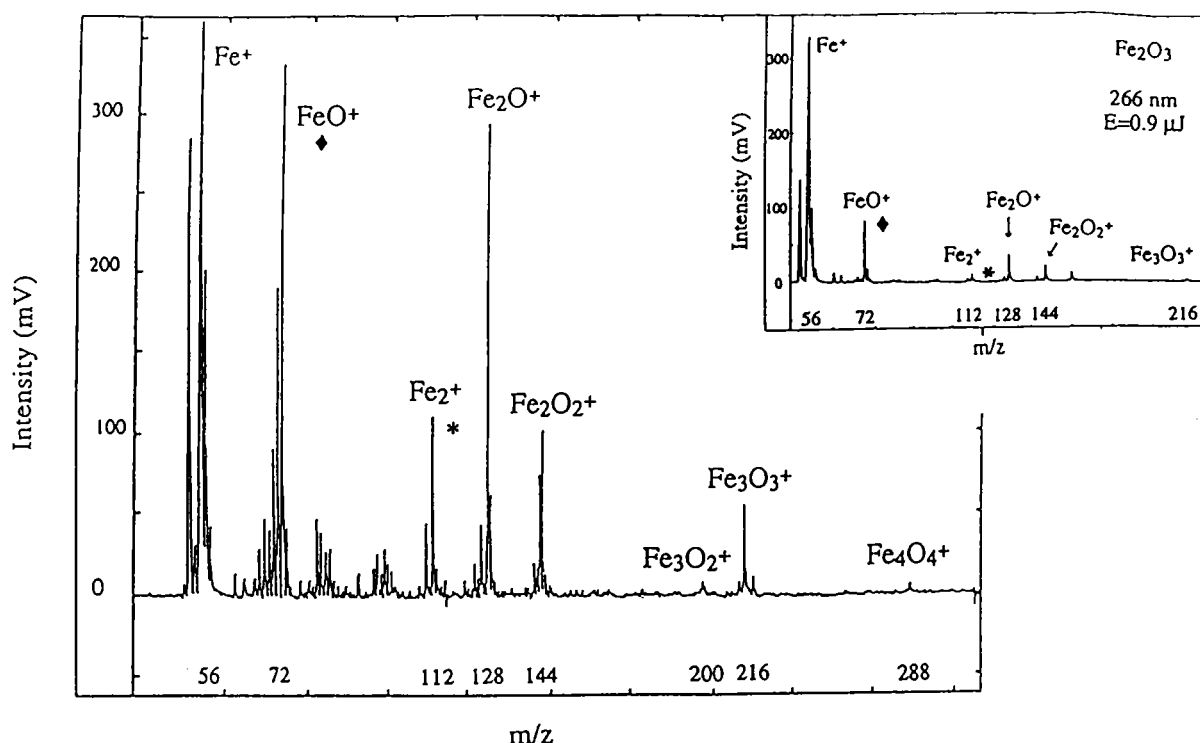


Figure III-11 b. Comparaison entre les spectres de masse de Fe_2O_3 obtenus avec un processus d'ionisation non résonante à 266 nm (en médaillon) et avec un processus d'ionisation résonante à 293,7 nm, le tout avec la même énergie (0,9 μJ). Nous pouvons constater une forte exaltation du signal des agrégats ionisés Fe_3O_2^+ , Fe_3O_3^+ et Fe_4O_4^+ lorsque l'ionisation résonante est utilisée.

Ainsi, le spectre de masse relatif à Fe_2O_3 fait apparaître les pics de masse Fe^+ ($m/z = 56$), Fe_2^+ ($m/z = 112$) et Fe_xO_y^+ (avec $1 \leq x \leq 4$ et $1 \leq y \leq 4$). Cependant les agrégats oxygénés Fe_3O^+ , Fe_3O_2^+ , Fe_3O_3^+ et Fe_4O_4^+ n'apparaissent seulement que pour les analyses des oxydes de fer Fe_3O_4 et Fe_2O_3 . Lorsque l'on compare les empreintes spectrales des oxydes de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et Fe_2O_3 , on s'aperçoit que le profil des intensités des ions Fe_2^+ , Fe_2O^+ et Fe_2O_2^+ est un premier critère important de sélection quant à la différenciation des oxydes étudiés. En effet, pour l'oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, la distribution de ces ions est telle que l'intensité du pic Fe_2^+ ($m/z = 112$) est plus intense que celle des pics Fe_2O^+ ($m/z = 128$) et Fe_2O_2^+ ($m/z = 144$) donnant une allure générale du spectre en "pente descendante". Au contraire, dans le

cas de Fe_2O_3 , c'est l'intensité du pic Fe_2O^+ qui est plus élevée par rapport à celle des pics Fe_2^+ et Fe_2O_2^+ faisant apparaître une distribution en forme de "parapluie".

Ainsi, en choisissant judicieusement des pics de masse communs aux trois oxydes, il est possible de déterminer un critère supplémentaire pour la caractérisation et la distinction de ces derniers. En effet, la variation de l'intensité relative des pics de masse correspondant aux ions Fe_2^+ et Fe_2O^+ obtenus à partir des multiples analyses sur les oxydes de fer, nous permet de déterminer l'état d'oxydation du fer dans chacun d'eux. L'utilisation de l'ablation/ionisation laser résonante RELAI ($\lambda = 293,7 \text{ nm}$), avec une énergie très faible ($0,9 \mu\text{J}$), permet d'améliorer cette variation d'intensité entre les pics de masse concernés et conduit ainsi à une différenciation plus précise et plus aisée grâce à l'exaltation de l'intensité des pics de masse spécifiques Fe_2^+ dans le cas de l'oxyde $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et du pic Fe_2O^+ dans le cas de Fe_2O_3 (figure III-10 a et b). Cela vient probablement du rendement élevé d'ionisation de l'ion précurseur Fe^+ dû à l'application de l'ionisation en mode résonant (Fredeen et al., 1985).

Le fait de pouvoir travailler en résonance nous donne la possibilité de "déposer" sur l'échantillon une plus faible énergie ($0,4 < E < 1 \mu\text{J}$) et de faire abstraction des effets de matrice, permettant ainsi d'accéder à des spectres de masse plus clairs et d'en faciliter ainsi le dépouillement. Aussi, les effets des paramètres expérimentaux (longueur d'onde du laser ionisant et énergie déposée sur l'échantillon) sur l'aspect des spectres de masse relatifs à chacun de nos trois oxydes ont été étudiés, notamment en ce qui concerne le rapport $\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+$ pour lequel la valeur est spécifique à chacun des trois oxydes $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 ou Fe_3O_4 . La figure III-12 montre la variation du rapport $\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+$ en fonction du mode d'ionisation (non-résonant ou résonant) avec dans chacun des cas des énergies différentes.

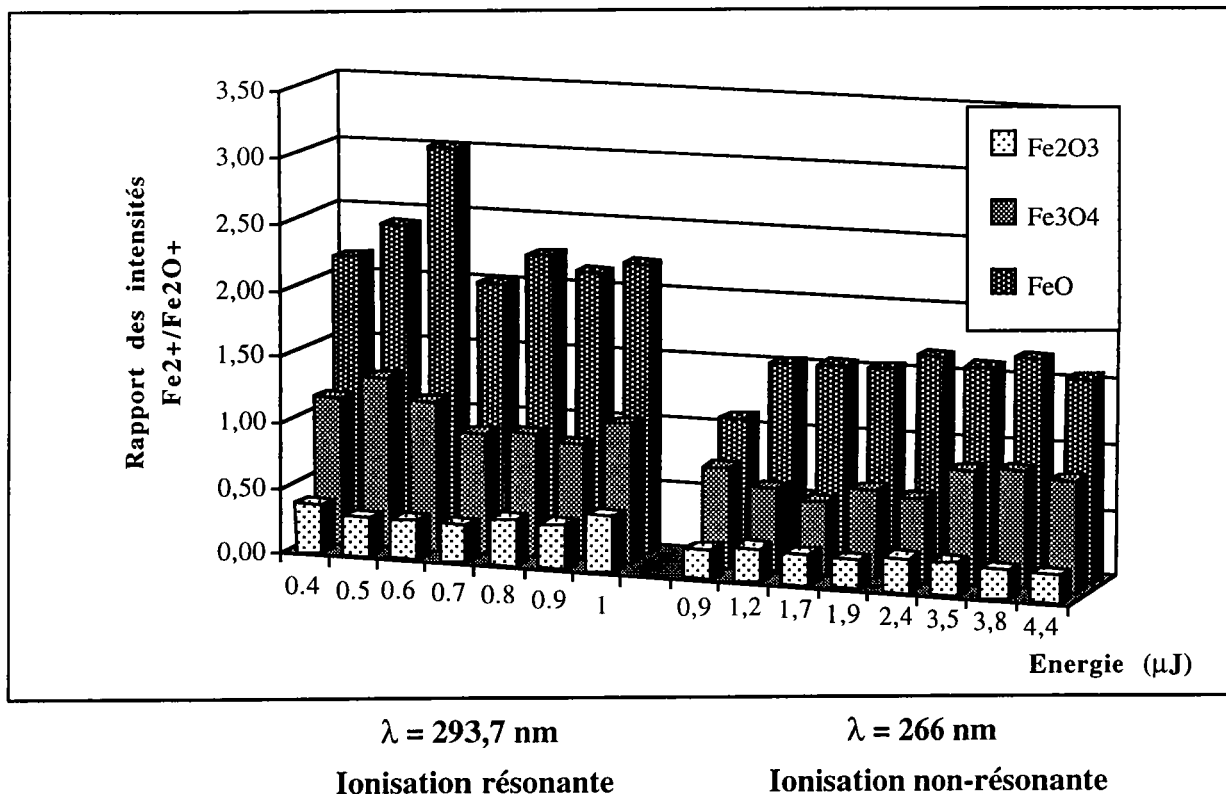


Figure III-12. Etude comparative en mode d'ionisation résonante ($\lambda = 293,7$ nm) et non résonante ($\lambda = 266$ nm) à différentes énergies sur les oxydes de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 et Fe_3O_4 .

Ainsi, nous voyons que le rapport entre l'intensité de ces deux types d'agrégats ionisés est indépendant de l'énergie utilisée, quelque soit le mode d'ionisation utilisé. Cependant, lorsque l'ionisation résonante ($\lambda = 293,7$ nm) est appliquée, nous voyons une différence plus prononcée quant aux intensités relatives à chacun des deux agrégats Fe_2^+ et Fe_2O^+ , contrairement à ce qui se passe lorsque nous travaillons en mode d'ionisation non-résonante ($\lambda = 266$ nm). Cela est confirmé lorsque l'on compare les résultats selon ces deux modes d'ionisation à une même énergie égale à $0,9 \mu\text{J}$.

Conclusion

L'étude systématique par LAMMA des composés de référence du fer caractérisée par l'analyse combinée de l'empreinte spectrale et des intensités relatives des agrégats ionisés du fer, a permis de définir une méthodologie pour la détermination des états d'oxydation du fer. Le rapport oxygène/fer au sein de l'échantillon est un paramètre déterminant dans la distribution des agrégats ionisés observés sur les spectres.

Les intensités relatives du dimère Fe_2^+ et de l'agrégat Fe_2O^+ sont très importantes pour l'identification et la caractérisation des oxydes de fer. En effet, suivant leur importance l'un par rapport à l'autre, nous avons des empreintes différentes caractéristiques :

- ✓ une empreinte spectrale en forme de "pente descendante" sera caractéristique de la présence de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ (Fe II) dans l'échantillon analysé,
- ✓ une empreinte spectrale dont l'allure générale sera en forme de "parapluie" indiquera la présence de l'oxyde de fer Fe_2O_3 (FeIII) ou de Fe_3O_4 (Fe II, Fe III) avec toutefois, pour ce dernier, une légère exaltation de l'intensité du pic Fe_2^+ ,
- ✓ le rapport des intensités des agrégats $\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+$, en mode d'ionisation résonante $\lambda = 293,7 \text{ nm}$, nous fournit un moyen supplémentaire pour la détermination des états d'oxydation du fer (figure III-13),

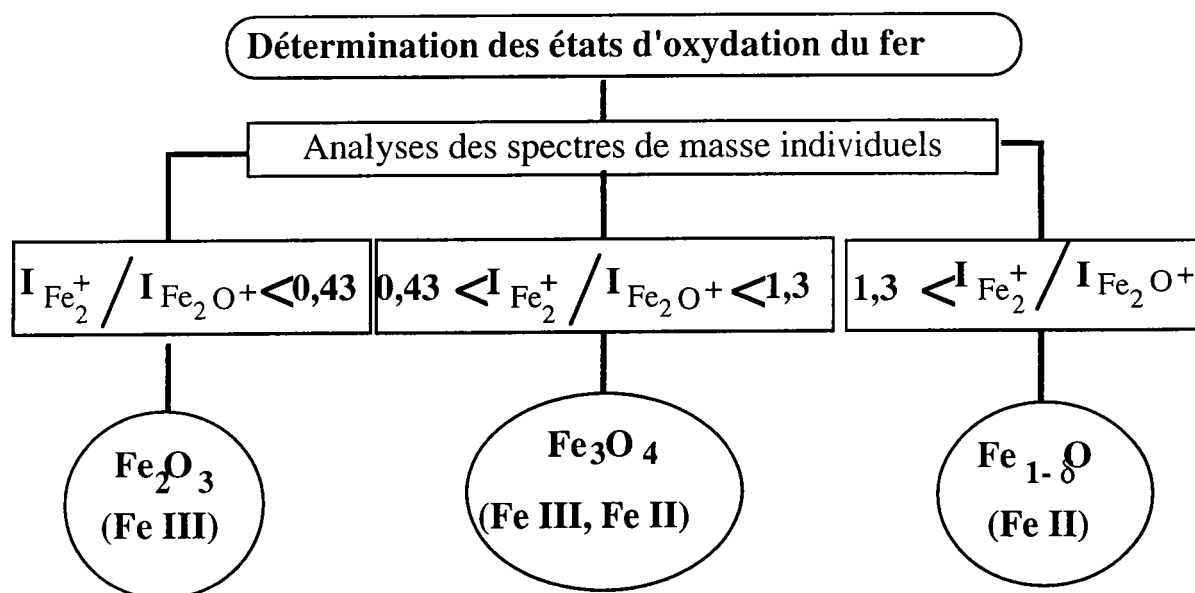


Figure III-13. Organigramme pour la détermination du degré d'oxydation du fer à $\lambda = 293,7 \text{ nm}$

III.4. Etudes sur l'ionisation laser de l'oxyde de fer $Fe_{1-\delta}O$

Nous avons continué nos études sur l'ionisation de $Fe_{1-\delta}O$ en utilisant des énergies photoniques différentes afin d'étudier les effets de celles-ci sur l'énergie de dissociation de la liaison Fe --- O (4,23 eV) et savoir ainsi si la longueur d'onde du laser ionisant est un paramètre important sur la formation de l'allure spectrale obtenue.

Les figures III-14 a, b et c montrent les spectres de masse correspondant à l'ionisation de $Fe_{1-\delta}O$ à différente longueur d'onde, et ce, avec une même énergie égale à 0,9 eV. L'étude sur $Fe_{1-\delta}O$ s'est faite dans un premier temps en utilisant l'ionisation multiphotonique dans le visible (MPI) ($\lambda = 586,2 \text{ nm}$), puis par l'emploi du mode d'ionisation non résonante dans l'ultraviolet ($\lambda = 266 \text{ nm}$) et enfin par l'application de l'ionisation en mode résonant ($\lambda = 293,7 \text{ nm}$). A toutes ces longueurs d'onde correspondent des énergies photoniques respectivement égales à 2,11 ; 4,66 et 4,22 eV.

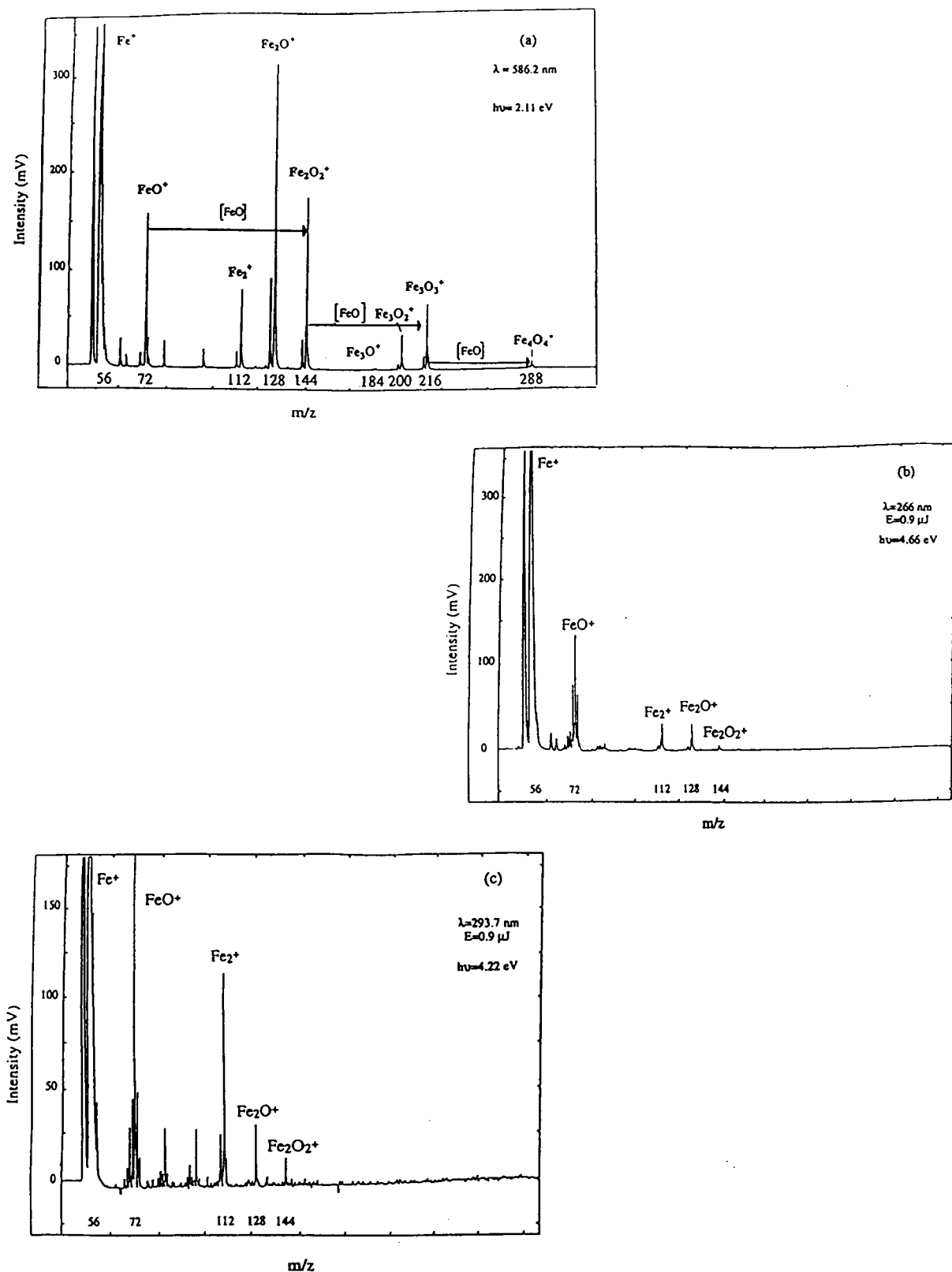


figure III-14. Spectres de masse de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$: (a) ionisation multiphotonique (MPI ; $\lambda = 586,2 \text{ nm}$), (b) mode d'ionisation non-résonant ($\lambda = 266 \text{ nm}$), (c) mode d'ionisation résonant ($\lambda = 293,7 \text{ nm}$). Ces spectres de masse ont été obtenus avec la même énergie ($0,9 \mu\text{J}$).

Les agrégats ionisés du type Fe_2O_x^+ avec $x = 0$ et $x = 2$ sont observés dans chacun des trois spectres contrairement aux agrégats de type Fe_3O_x^+ avec $x = 1, 2$ ou 3 qui ne sont visibles uniquement qu'à 586,2 nm. Les intensités des pics de masse sont de plus fortement dépendantes de la longueur d'onde utilisée.

L'allure spectrale obtenue avec $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, en utilisant l'ionisation multiphotonique ($\lambda = 586,2$ nm), est similaire à l'empreinte spectrale obtenue pour Fe_2O_3 ; il y a donc eu une modification en ce qui concerne l'empreinte spectrale de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$. Aussi, les différences observées sur les figures III -14 a, b et c suggèrent que le mécanisme de formation des agrégats ionisés de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ par ionisation laser est directement dépendant de la longueur utilisée.

En effet, l'apparition d'agrégats de haute masse à 586,2 nm pourrait être expliquée par l'absorption successive de photons par le composé. Lorsque l'énergie photonique du laser ($h\nu = 2,11$ eV) est inférieure au seuil de dissociation de $\text{Fe} \cdots \text{O}$ (4,23 eV), la vaporisation de l'échantillon ($\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$) conduit à la formation de peu de fragments mais des espèces neutres FeO sont générées en plus grandes quantités. Ces entités peuvent réagir avec les ions précurseurs Fe^+ selon de nombreuses réactions ion/molécule pour conduire à la formation d'agrégats de haute masse (Fe_3O^+ , Fe_3O_2^+ , Fe_3O_3^+ et Fe_4O_4^+).

A l'inverse, si le seuil de dissociation est légèrement dépassé ($\lambda = 266$ nm), on assiste à la rupture de $\text{Fe} \cdots \text{O}$, bloquant par la même, la formation d'agrégats de haute masse.

III.5. Etude de l'effet de l'environnement chimique

Nous avons vu que le rapport oxygène /fer est important quant à la détermination des degrés d'oxydation du fer au sein des échantillons analysés. Aussi, le rôle de l'oxygène semble être majeur dans cette discrimination. C'est pourquoi nous avons décidé d'étudier par LAMMA ($\lambda = 293,7$ nm) un mélange d'oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ en présence de sulfate de sodium (Na_2SO_4) (figure III-15) afin de déterminer si oui ou non l'enrichissement en oxygène conduit à une réponse différente ou non en ce qui concerne la distribution des agrégats ionisés "*en pente descendante*" spécifique à l'oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$.

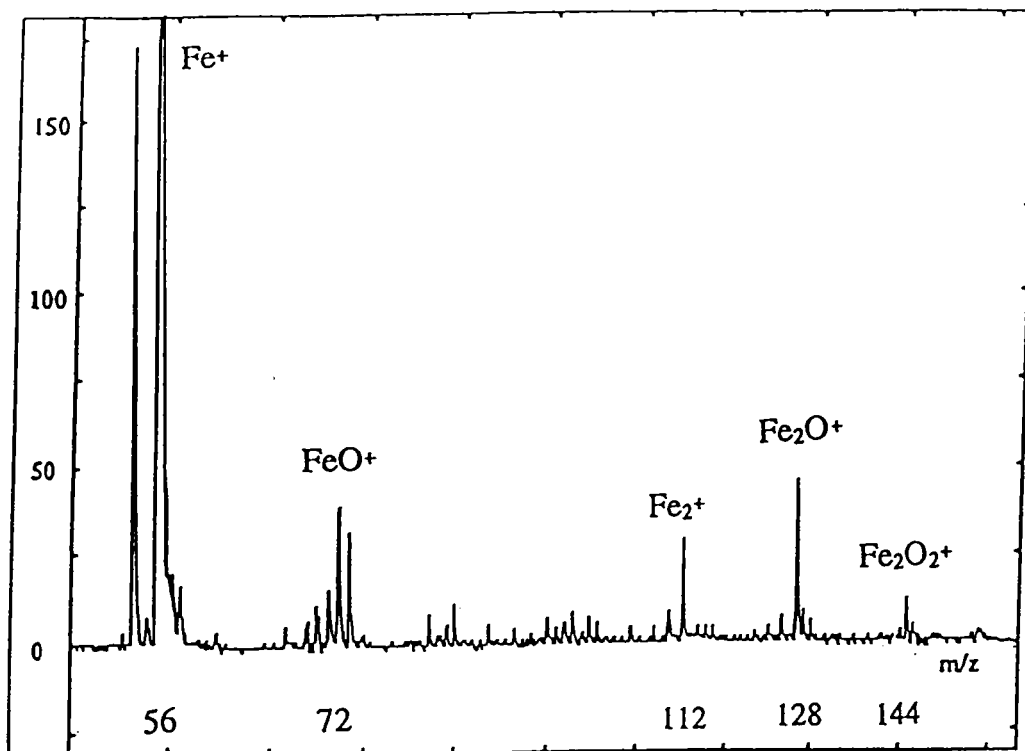


Figure III-15. Spectre LAMMA à 293,7 nm du mélange ($\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$) avec une énergie de 0,9 μJ .

L'empreinte spectrale obtenue montre une modification quant à la distribution des agrégats Fe_2^+ , Fe_2O^+ et Fe_2O_2^+ qui se rapproche de l'empreinte spectrale de Fe_3O_4 . Cette inversion peut s'expliquer par l'influence de l'environnement chimique de l'atome de fer dans l'échantillon de départ. En effet, chaque atome de fer, bien qu'étant dans son degré d'oxydation II, est en présence d'un nombre d'atomes d'oxygène important. Aussi, le rapport oxygène/fer s'en trouve modifié et la formation d'agrégats oxygénés de haute masse s'en trouve favorisée. Cela nous indique donc que l'oxygène joue un rôle primordial en ce qui concerne les mécanismes de formation des agrégats oxygénés du fer.

Conclusion

Ainsi, nous voyons que la distribution des différents agrégats est liée entre autre au mode d'ionisation utilisé et à l'énergie photonique. L'utilisation de l'ionisation multiphotonique est à proscrire dans notre cas et il faut

d'avantage préférer l'ionisation en mode résonant qui a pour effet d'augmenter la sensibilité de la détection et d'améliorer la différenciation entre le fer II ($\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$), le fer III (Fe_2O_3) et le fer de degré d'oxydation mixte fer II, fer III (Fe_3O_4). En définitive, l'utilisation de l'ionisation résonante minimise l'effet de l'agrégation du fait de la faible proportion en FeO .

III.6. Analyses des oxydes de fer à base de fer 54

Par souci de "partager" le laser à colorant avec d'autres chercheurs du laboratoire, nous avons changé de colorant. Ainsi, nous avons été amenés à travailler non plus à 293,7 nm mais à 344 nm qui correspond également à une transition électronique du fer ($^5\text{D}_4 \rightarrow ^5\text{P}_3$).

L'analyse en mode d'ionisation résonante à 344 nm de l'oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ (figure III-16) révèle une distribution des agrégats oxygénés identique à l'empreinte en forme de "parapluie" obtenue lors des analyses de ce même oxyde à 266 nm ou à 293,7 nm. En effet, nous voyons apparaître l'ion Fe^+ et des agrégats ionisés Fe_2^+ ($m/z = 108$), Fe_2O^+ ($m/z = 124$), Fe_2O_2^+ ($m/z = 140$), Fe_3O_2^+ ($m/z = 194$) Fe_3O_3^+ ($m/z = 210$) et Fe_4O_4^+ ($m/z = 280$).

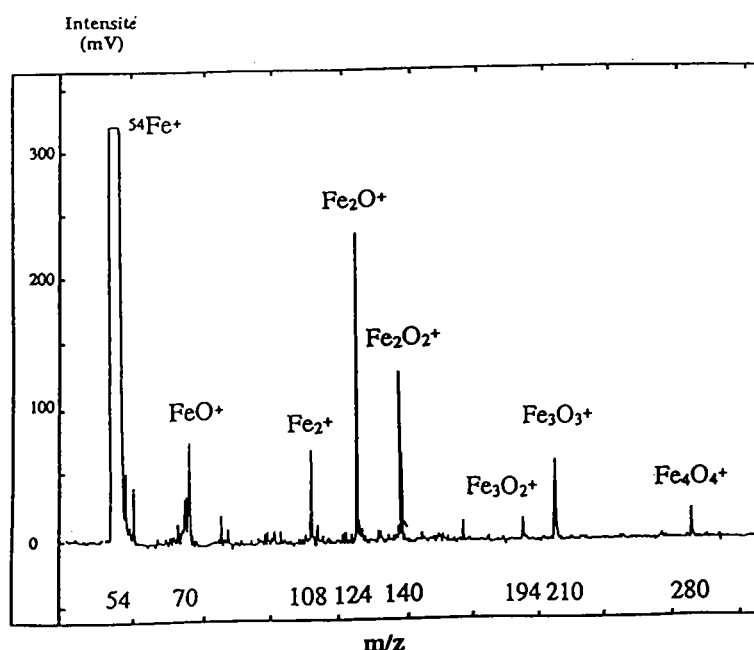


Figure III-16. Spectre LAMMA en ions positifs de $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ ($\lambda = 344$ nm). L'empreinte spectrale est identique à celle obtenue avec $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ avec une longueur d'onde $\lambda = 293,7$ nm.

Nous avons également effectué les rapports $\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+$ pour chacun des oxydes conformément à la méthodologie que nous avons mise au point (figure III-17).

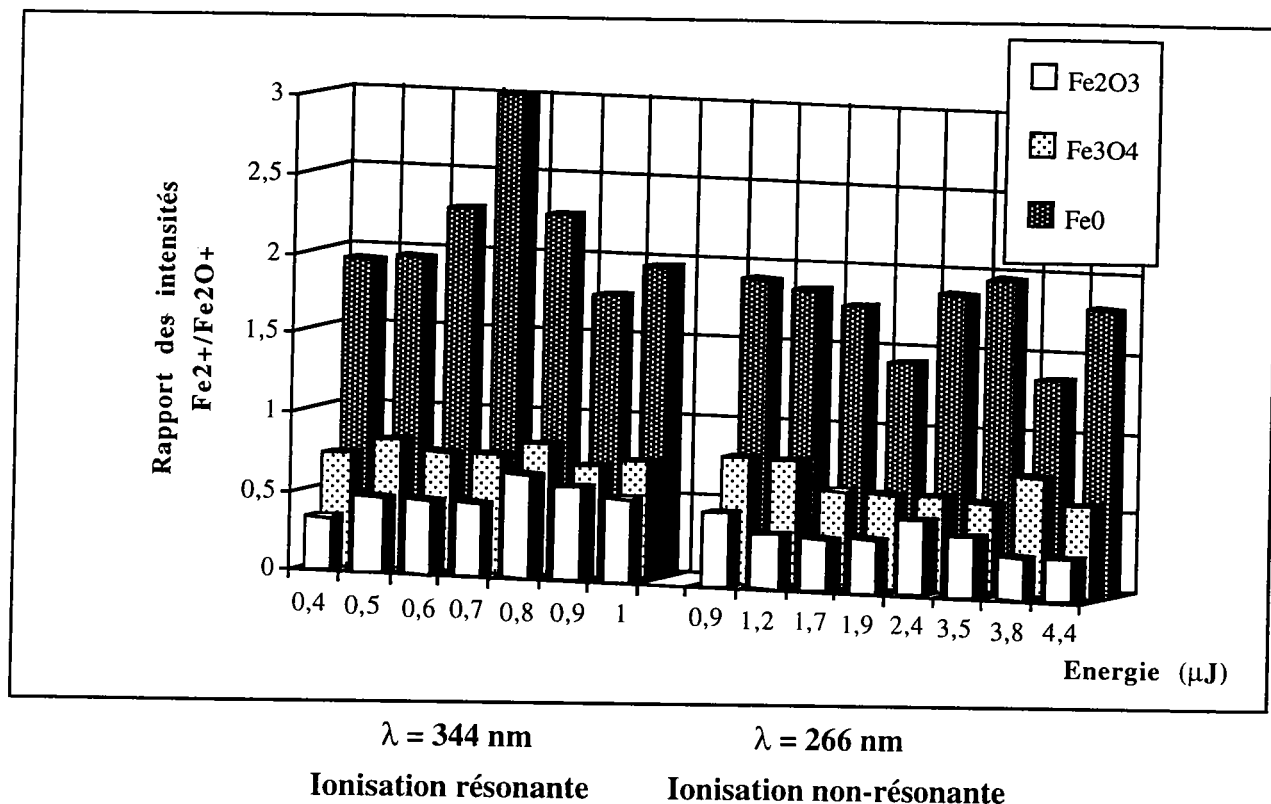


Figure III-17. Etude comparative en mode d'ionisation résonante ($\lambda = 344$ nm) et non résonante ($\lambda = 266$ nm) à différentes énergies sur les oxydes de fer $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$.

Ainsi, nous voyons que notre méthodologie nous permet de faire la distinction entre les différents oxydes de fer synthétisés et celle-ci a été confortée par les analyses par Diffraction X dont les résultats confirment la validité du protocole d'analyse que nous avons mis en place. De plus, nous pouvons constater qu'à 344 nm, l'écart entre $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ est plus faible qu'à 293,7 nm. Il semblerait ainsi que plus l'on va vers le visible, plus le phénomène d'agrégation est important (effet thermique) et moins il y a de discrimination entre les espèces.

Parallèlement, l'ensemble des mesures obtenues par LAMMA 500 sur les trois oxydes de fer $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ et $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$ a été traité par Analyse en Composantes Principales (ACP).

Nous avons effectué 37 spectres moyennés sur vingt tirs laser chacun et ce pour chacun des trois oxydes. Suite à des études préliminaires, les masses 70, 110 et 142 ont été choisies comme variables d'après le cercle de corrélation. En effet, pour un axe donné, les variables qui ont le plus fort coefficient (en valeur absolue) sont celles qui contribuent le plus à la formation de cet axe.

L'analyse en composantes principales conduit à une représentation géographique en deux dimensions (axes principaux) de l'ensemble des individus étudiés (oxydes de fer) tout en réduisant la dimension d'un tableau de données en minimisant et en quantifiant la perte d'information. Ainsi nous observons sur la figure III-18 deux regroupements distincts : les 37 points représentatifs des analyses effectuées sur $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ sont en effet bien séparés de ceux relatifs à $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$, en sachant que la part de variation des variables (masses) expliquées par les deux axes principaux est égale à 99,8 %.

En ce qui concerne le traitement par ACP des données relatives à $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et à $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$, la part de variation des variables (masses) expliquées par les deux axes principaux est égale à 99,8 % (figure III-19).

Il est alors possible de différencier de façon graphique les oxydes de fer ce qui renforce les analyses effectuées précédemment. Cependant, la discrimination entre $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ à 344 nm est très faible.

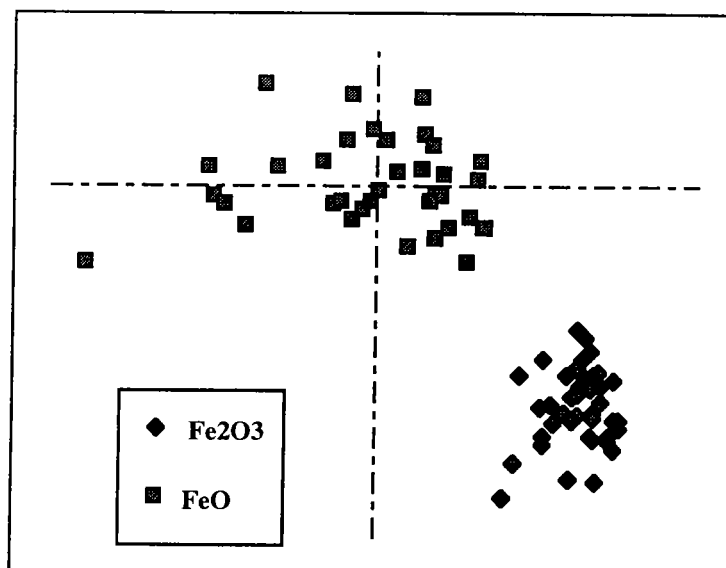


Figure III-18. Représentation des données LAMMA 500 sur les oxydes de fer $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ par Analyse en Composantes Principales.

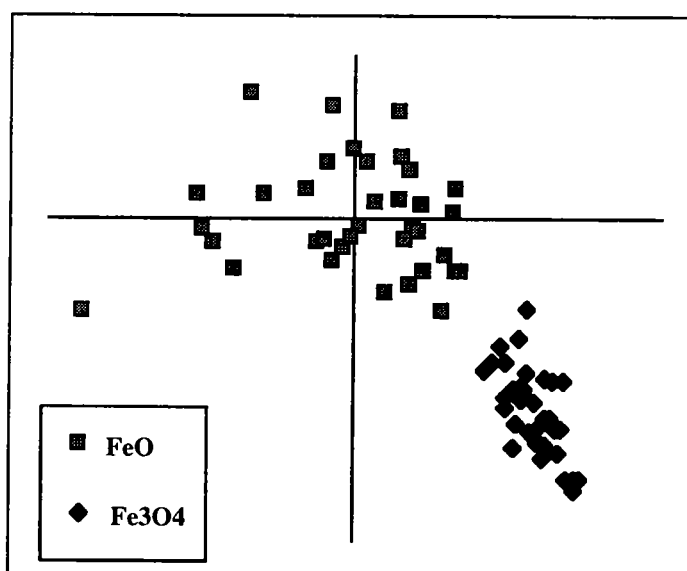


Figure III-19. Représentation des données LAMMA 500 sur les oxydes de fer $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ par Analyse en Composantes Principales.

Cette étude montre que les données physico-chimiques permettent une discrimination entre les oxydes $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ - Fe_2O_3 et $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ - Fe_3O_4 et a permis de confirmer de façon statistique (par les axes principaux) les différences directement observées sur les spectres de masse LAMMA 500.

Conclusion

Avec l'aide du Laboratoire de Chimie du Solide Minéral de la Faculté des Sciences de Nancy, nous avons mis au point un protocole de synthèse des trois oxydes de fer Fe_{1-x}O , Fe_3O_4 et Fe_2O_3 à base de fer 54.

Les études effectuées sur ces trois oxydes de fer par Microsonde Laser LAMMA 500 permettent de faire une différenciation de ces derniers, avec une augmentation non négligeable de la sensibilité lorsque nous travaillons en mode résonant ($\lambda = 344 \text{ nm}$). Cependant, nous pouvons constater qu'à 344 nm, l'écart entre $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ est plus faible qu'à 293,7 nm. Il semblerait ainsi que plus l'on va vers le visible, plus le phénomène d'agrégation est important (effet thermique) et moins il y a de discrimination entre les espèces.

Cette constatation se retrouve sur les représentations des données LAMMA par Analyse en Composantes Principales. Néanmoins, par une définition judicieuse des axes de représentation graphique des différents individus (oxyde de fer), cette méthode apporte un poids supplémentaire à la démonstration selon laquelle la discrimination des différents oxydes de fer par microsonde laser LAMMA 500 est possible.

La variation de l'énergie (0,4 à 4,4 μJ) ne modifie pas les valeurs des rapports d'intensité des agrégats ionisés détectés. De plus, les valeurs similaires des moyennes arithmétiques et les faibles variances montrent la bonne reproductibilité des mesures. Ainsi, la comparaison des valeurs des rapports d'intensité $\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+$ permet de différencier deux oxydes de fer de stoechiométrie différente.

Suite à la synthèse des oxydes de fer à base de fer 54 et à leur caractérisation, nous allons poursuivre nos recherches sur la compréhension à proprement dit des mécanismes de formation des agrégats ionisés Fe_2^+ et Fe_2O^+ qui sont directement impliqués dans la caractérisation des degrés d'oxydation du fer. Pour cela, nous allons utiliser deux techniques complémentaires que sont les microsondes laser LAMMA 500 et FT/ICR/MS.

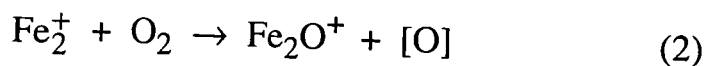
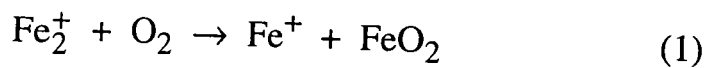
B. ETUDE DES MECANISMES DE FORMATION DES AGREGATS IONISÉS DU FER

Comme nous l'avons vu précédemment, la variation relative des intensités de pics de masse Fe_2^+ , Fe_2O^+ et Fe_2O_2^+ permet la détermination des degrés d'oxydation du fer. L'utilisation de l'ionisation résonante apporte une meilleure sensibilité compte-tenu de l'exaltation des intensités des pics de masse précités (Maunit et al, 1995). De là, nous avons souhaité savoir comment ces ions Fe_2^+ et Fe_2O^+ du fer se formaient lors de l'impact laser.

Une approche particulière dans ce sens a été menée en étudiant directement les processus de recombinaison via la production d'agrégats ionisés d'une part, à partir de mélange $^{54}\text{Fe} + ^{56}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et $^{56}\text{Fe} + ^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, et d'autre part d'un mélange Fe_2O_3 en présence du 1,3 Diphénylisobenzofurane (DPBF), cette molécule étant utilisée comme sonde pour détecter la présence de l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ au sein du plasma. Ces études ont été menées par microsonde laser LAMMA 500 ($\lambda = 344 \text{ nm}$, $278,8 \text{ nm}$ (mode résonant) et 266 nm (mode non résonant)) et FT/ICR/MS ($\lambda = 266 \text{ nm}$).

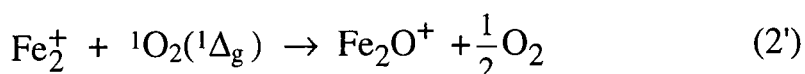
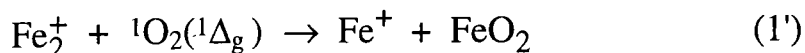
I. Formation de Fe_2O^+

Jacobson et al. (1986) ont montré que l'oxygène moléculaire introduit dans une cellule FT/ICR/MS pouvait réagir avec le dimère Fe_2^+ par des réactions ion/molécule pour former, selon les réactions 1 et 2, les espèces ionisées :

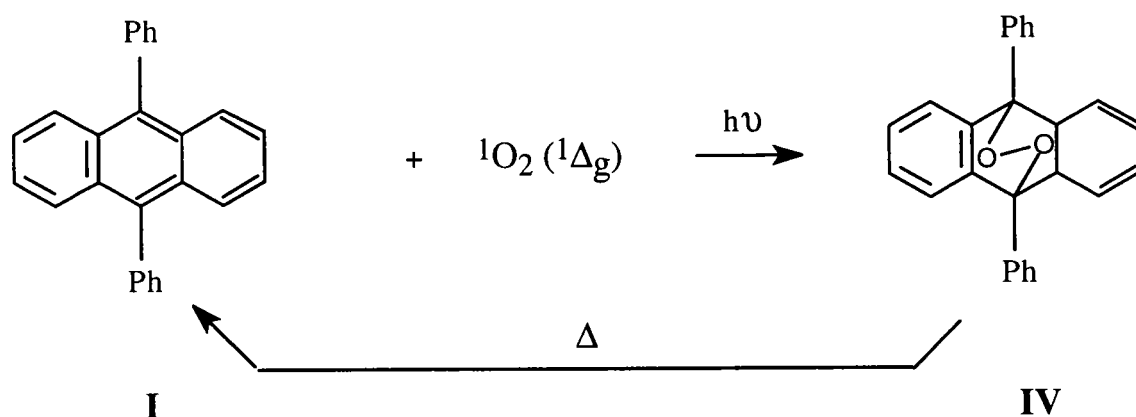


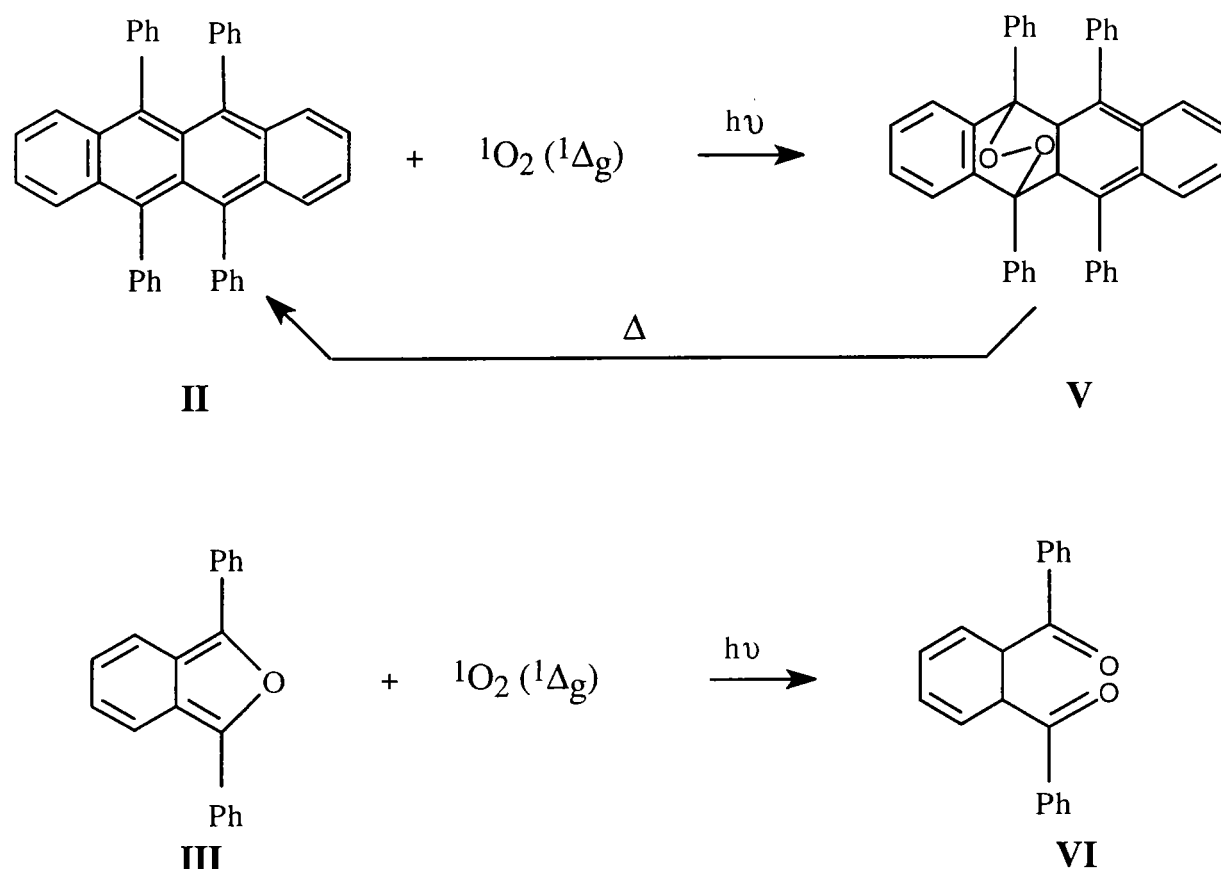
où $[\text{O}] \equiv 1/2 \text{ O}_2$ vraisemblablement.

Selon cette équipe, la réaction (1) serait prépondérante étant donné que l'oxygène réagirait faiblement avec le dimère. Cependant, lors de nos études sur les oxydes de fer, notamment Fe_2O_3 , nous avons une exaltation du pic Fe_2O^+ qui nous laisse à penser que le dimère Fe_2^+ serait susceptible de réagir avec l'oxygène. Étant donné la forme excitée particulière de l'oxygène moléculaire à l'état singulet $^1\text{O}_2(^1\Delta_g)$, nous avons tout d'abord émis plusieurs hypothèses suivant les réactions 1' et 2' :



En premier lieu, afin de valider la présence au sein du plasma de l'oxygène moléculaire à l'état singulet $^1\text{O}_2(^1\Delta_g)$, suite à l'irradiation d'un échantillon d'oxyde de fer Fe_2O_3 , nous avons recherché des molécules susceptibles d'être utilisées comme sonde pouvant ainsi réagir avec l'oxygène singulet à l'intérieur même du plasma. De nombreux hydrocarbures aromatiques tels que le 9,10 Diphénylanthracène (I) (Turro et al., 1979), le Rubrène (II) (Dewar et al., 1977 ; Cody et al., 1982), ou bien des dérivés furanniques tel que le 1,3 Diphénylisobenzofurane (DPBF) (III) (Wasserman et al., 1972) subissent des autooxydations pour former des produits de réaction que sont le 9,10 Diphénylanthracène endoperoxyde (DPAP) (IV), le Rubrène peroxyde (V) et le o-Bibenzoylbenzène (o-BB) (VI). Il est important de signaler ici que la molécule responsable de la formation de ces différents "photoperoxydes" est l'oxygène moléculaire à l'état singulet $^1\text{O}_2(^1\Delta_g)$.





Ainsi, la détection par spectrométrie de masse de l'un ou l'autre de ces "photopéroxydes" sera la preuve de la présence, au sein même du plasma, de l'oxygène singulet.

Par ailleurs, le DPAP et le Rubrène peroxydés sont également utilisés comme donneurs d'oxygène singulet pour permettre l'oxygénation de molécules organiques lors de réactions particulières.

Ainsi, à une température de 180°C , le DPAP libère 96 % de son oxygène tandis que le Rubrène peroxyde est connu pour délaisser 80 % de son oxygène pour des températures de $140\text{--}150^\circ\text{C}$.

Aussi, compte-tenu des températures qui peuvent régner lors de l'impact laser et lors de l'expansion du plasma, nous avons logiquement écarté ces deux molécules.

Nos recherches ont ainsi consisté à irradier un échantillon d'oxyde de fer Fe_2O_3 sur lequel furent préalablement adsorbées des molécules de 1,3 Diphénylisobenzofurane (DPBF) et à effectuer les analyses par LAMMA 500 et FT-ICR/MS en mode d'ionisation non résonante, compte tenu que les

deux microsondes bénéficient chacune d'un laser calibré sur cette longueur d'onde.

Cependant avant de procéder à cette étude, nous avons analysé par FT-ICR/MS les produits standards purs à savoir le 1,3 Diphénylisobenzofurane (DPBF) (figure III-20) et le o-dibenzoylbenzène (o-BB) (figure III-21), ce dernier étant le produit de la photooxydation du 1,3 Diphénylisobenzofurane.

Ces analyses nous apportent une empreinte spectrale pour chacun des deux produits, empreinte qui nous sera très utile par la suite pour détecter la présence ou non de l'oxygène moléculaire à l'état singulet.

De plus, le fait de n'avoir aucun pic correspondant à la formation de l'o-benzoylbenzène lors de l'analyse du 1,3 Diphénylisobenzofurane (DPBF) standard pur, nous indique que, d'une part, ce dernier ne libère aucune molécule d'oxygène lors de l'interaction laser et l'expansion du plasma, et d'autre part, que la probabilité que cette molécule réagisse avec de l'oxygène résiduel est quasi-nulle.

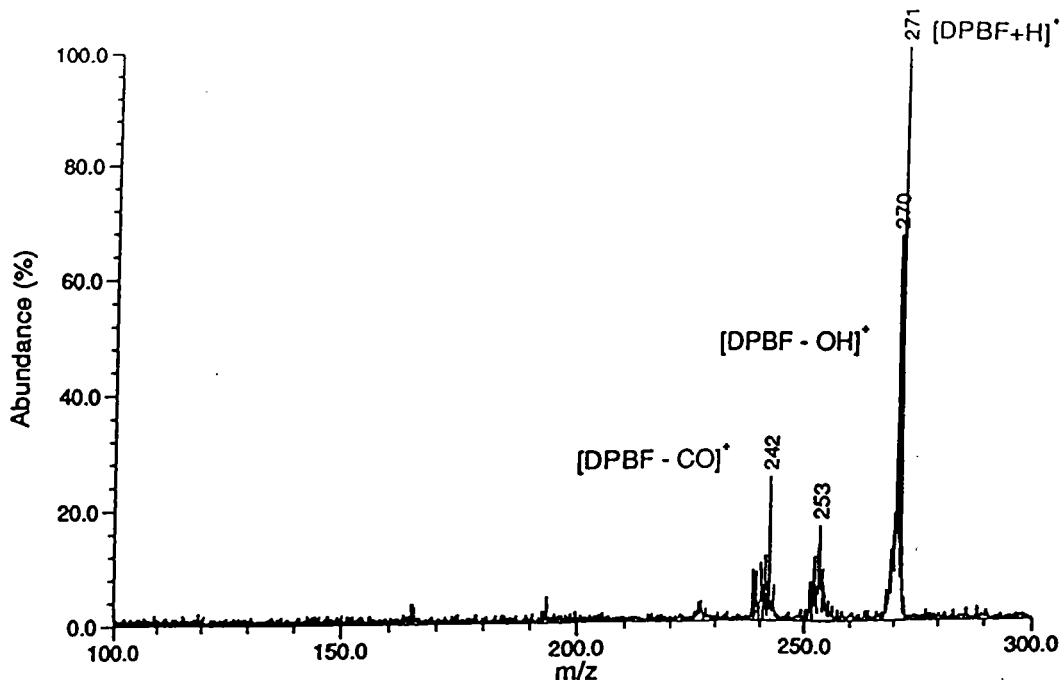


Figure III-20. Spectre FT-ICR/MS ($\lambda = 266$ nm, $I = 10^8$ W/cm²) en ions positifs du 1,3 Diphénylisobenzofurane standard.

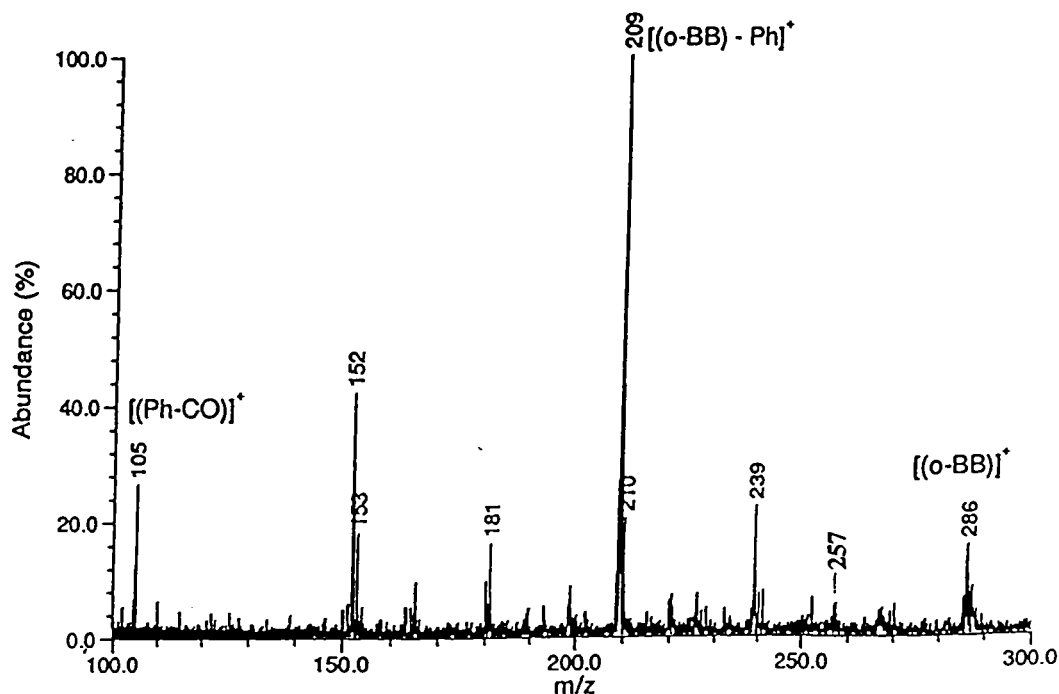


Figure III-21. Spectre FT-ICR/MS ($\lambda = 266 \text{ nm}$, $I = 10^8 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs de l'o-Benzoylbenzène standard.

Lors de l'analyse de l'oxyde de fer Fe_2O_3 en présence du 1,3 Diphénylisobenzofurane (figure III-22), nous avons détecté le pic de masse $m/z = 286$ qui correspond à la présence de l'o-benzoylbenzène $[(o\text{-BB})]^+$ et plusieurs autres pics principaux comme $m/z = 105$ relatif au fragment $[(\text{Ph-CO})]^+$, $m/z = 209$ pour $[(o\text{-BB}) - \text{Ph}]^+$, $m/z = 257$ pour $[(o\text{-BB}) - \text{COH}]^+$, $m/z = 347$ pour $[\text{DPBF} + \text{Ph}]^+$. Mis à part l'ion $[\text{DPBF} + \text{Ph}]^+$, tous les ions se retrouvent dans le spectre de l'o-benzoylbenzène standard. Les processus de fragmentation qui aboutissent à la formation des pics 209 et 181 sont respectivement donnés sur les schémas 1 et 2. Le pic de masse $m/z = 105$ est particulièrement important car ce fragment ne peut provenir que de la molécule parent o-Benzoylbenzène et constitue donc une preuve supplémentaire que ce dernier a bien été formé lors de l'irradiation laser et qu'il est bien présent au sein du plasma en expansion.

Le processus de formation de ce fragment est quant à lui donné sur le schéma 3.

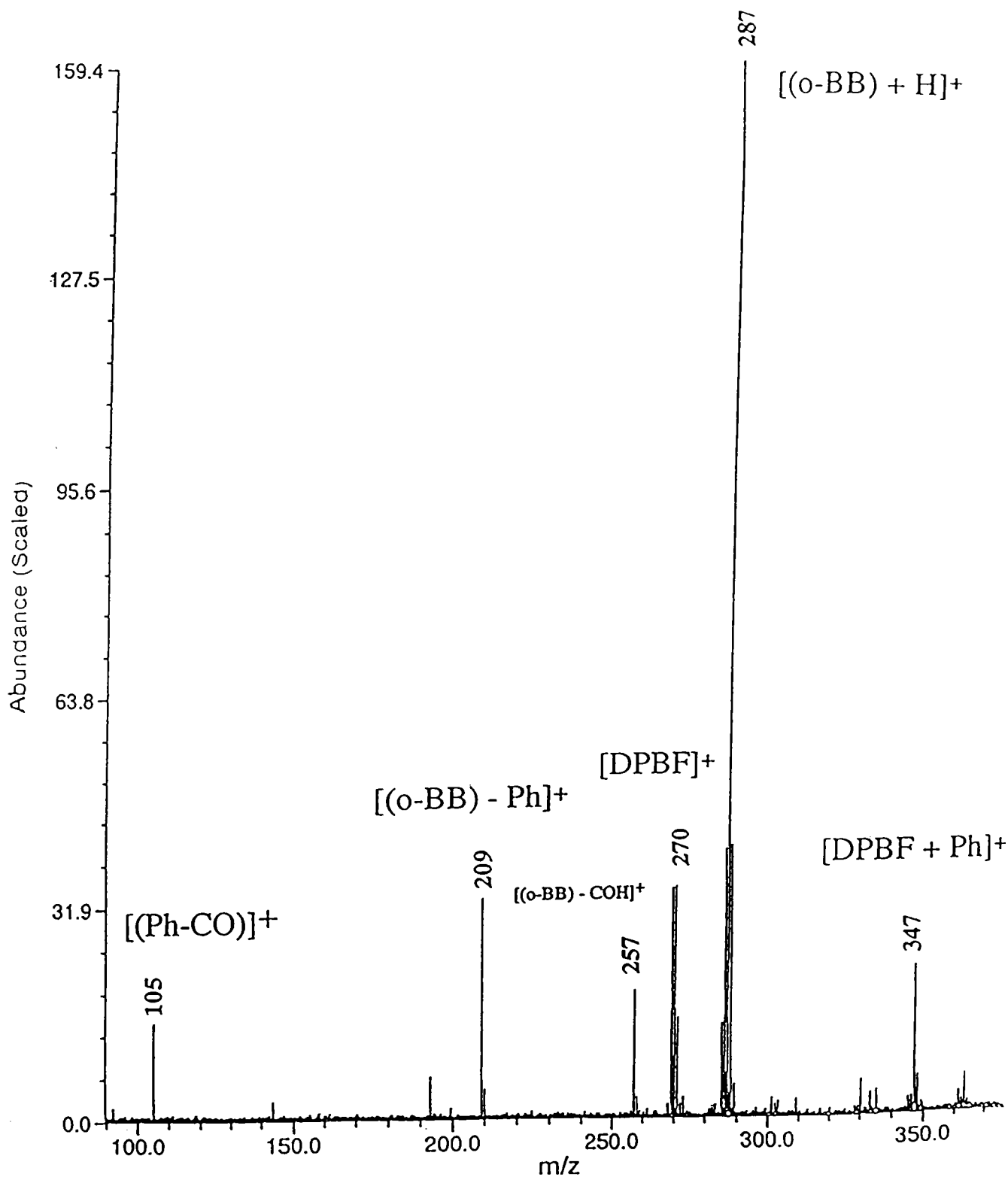


Figure III-22. Spectre FT-ICR/MS ($\lambda = 266 \text{ nm}$, $I = 10^8 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs de Fe_2O_3 sur lequel fut adsorbé du 1,3 Diphénylisobenzofurane.

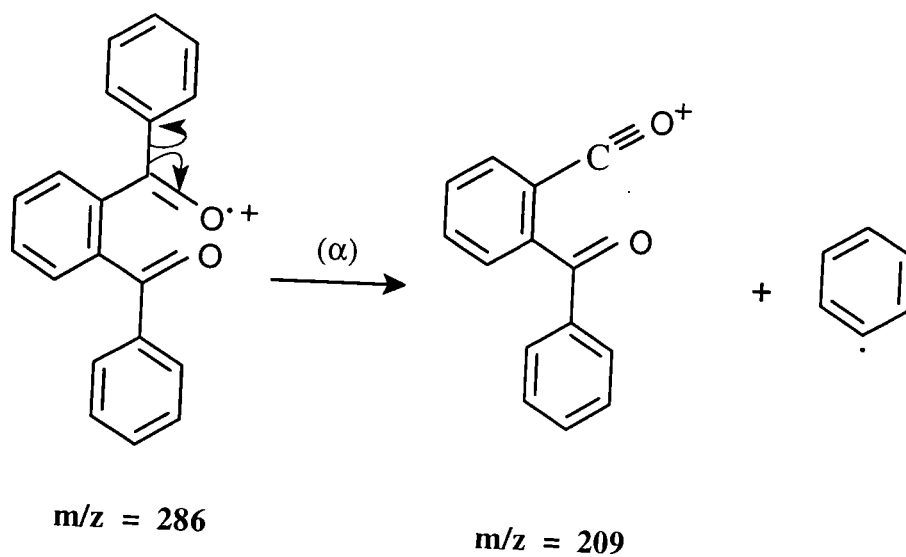


Schéma 1

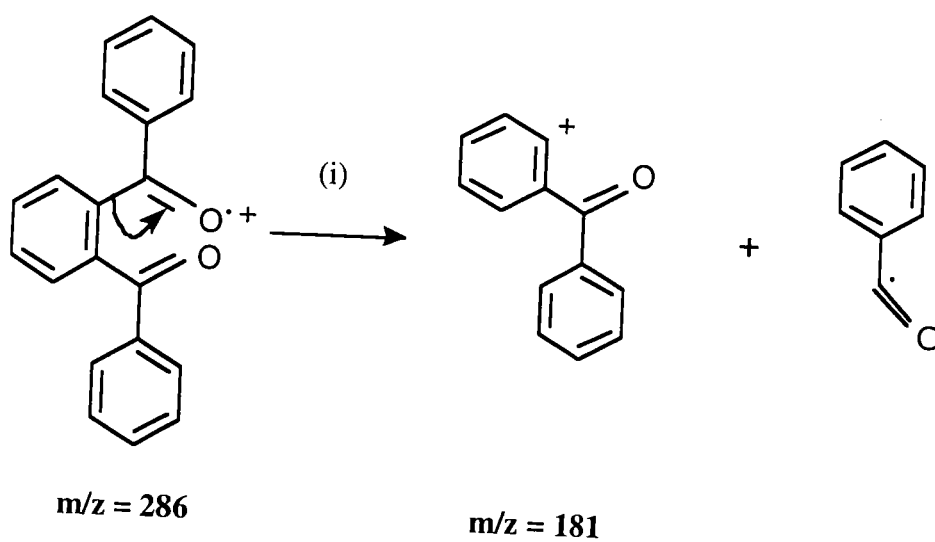


Schéma 2

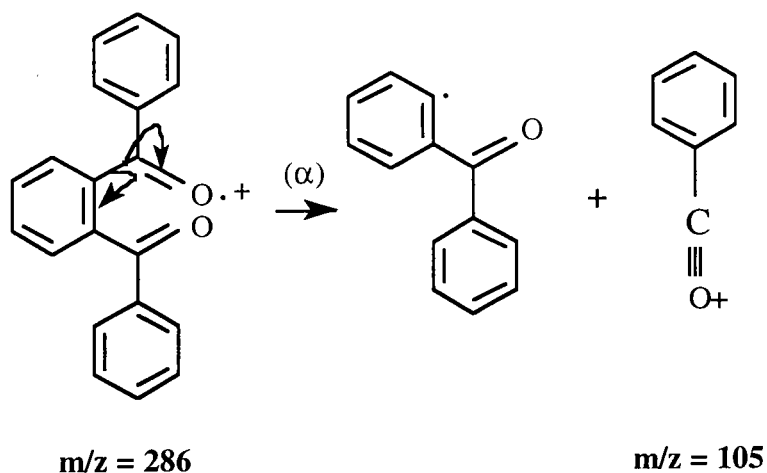
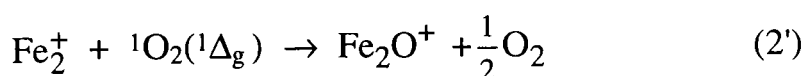


Schéma 3

De fait, nous avons montré la production d'oxygène moléculaire à l'état singulet $^1\text{O}_2(^1\Delta_g)$ lors de l'irradiation laser de notre échantillon d'oxyde de fer Fe_2O_3 dans nos conditions opératoires. La formation de l'oxygène $^1\text{O}_2(^1\Delta_g)$ est reproductible. Il est important de noter que ces réactions sont induites au sein même du nuage gazeux en un temps extrêmement court sous haute pression et en aucun cas ne sont le fruit de réactions ion/molécule générées dans la cellule du FT-ICR/MS. Cet oxygène singulet est responsable de la photooxydation du DPBF et il ne peut provenir que de notre oxyde compte tenu des expériences effectuées sur les produits purs au préalable.

Aussi, la réaction (2') selon laquelle le dimère Fe_2^+ réagit avec l'oxygène singulet est possible :



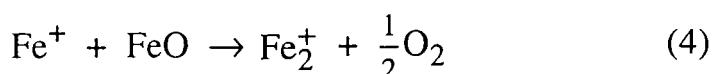
On ne peut cependant exclure, à ce stade, que Fe_2O^+ ne puisse provenir de la réaction :



II. Formation du dimère Fe_2^+

Suite à ces premières études, nous nous sommes focalisés sur le mécanisme de formation du dimère Fe_2^+ , car cet ion constitue, avec Fe_2O^+ , un des pics de masse contribuant à la différenciation des états d'oxydation du fer.

Ainsi, nous avons commencé par formuler deux hypothèses concernant les voies éventuelles selon lesquelles le dimère Fe_2^+ serait susceptible de se former :



Afin de confirmer l'une ou l'autre des deux hypothèses, nous avons procédé en premier lieu à l'analyse d'un échantillon standard de fer 56 seul (figure III-23) puis, en second lieu, à l'analyse d'un mélange de fer métal 56 et 54 standard, le tout par microsonde laser LAMMA 500 ($\lambda = 344 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) (figure III-24). Dans les deux cas, nous n'observons pas la présence du dimère Fe_2^+ sur les spectres de masse. De plus, ce résultat est confirmé dans des expériences similaires mais à différentes énergies ; aussi, nous pouvons affirmer que l'énergie déposée sur l'échantillon n'a aucune influence sur la formation du dimère Fe_2^+ et que celui-ci ne provient pas de la réaction 3.

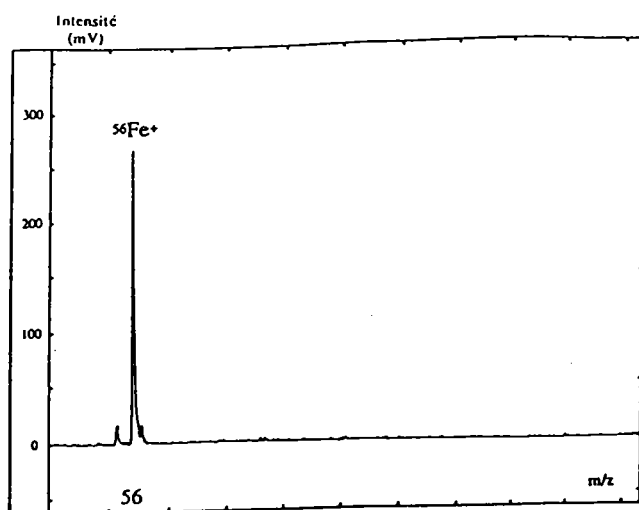


Figure III-23. Spectre LAMMA ($\lambda = 344 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs d'un échantillon de fer ^{56}Fe pur standard.

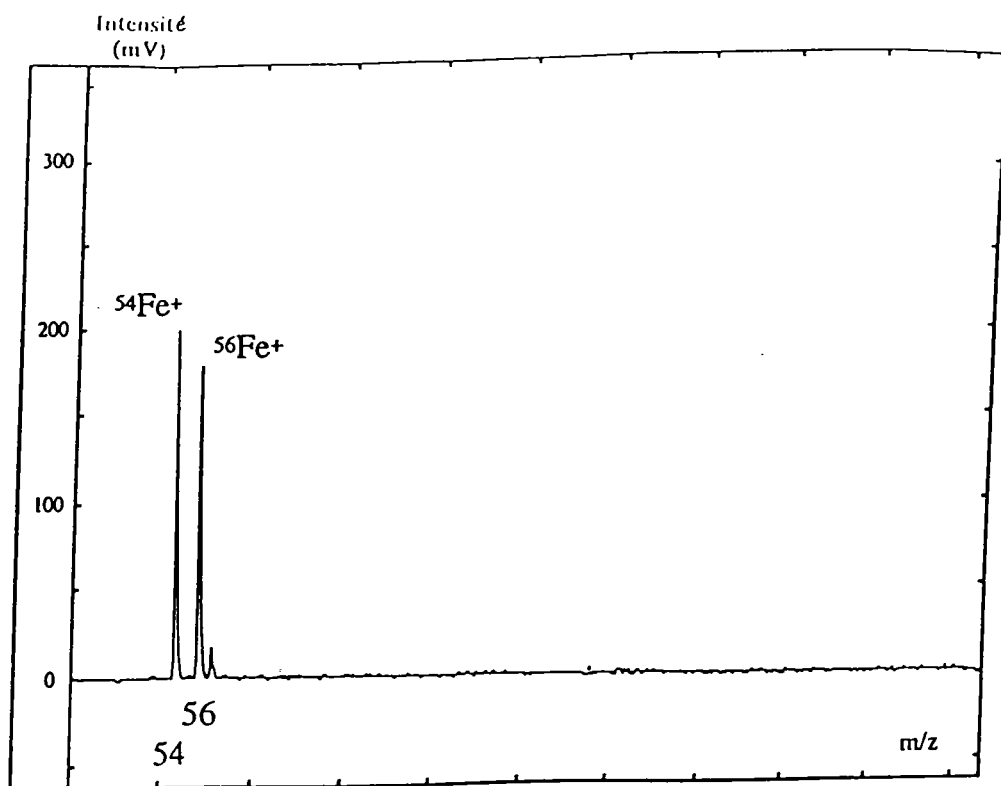
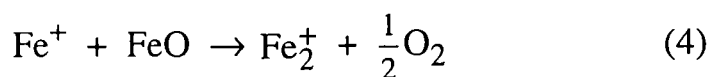


Figure III-24. Spectre LAMMA ($\lambda = 344 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs d'un mélange constitué de fer ^{56}Fe et de fer ^{54}Fe métal purs standards.

En outre, nous nous apercevons que l'ion FeO^+ est également absent des spectres de masse, ce qui nous donne à penser que celui-ci joue un très grand rôle dans la formation du dimère, formation dont le mécanisme se rapprocherait plus de l'équation de réaction (4) :



Afin de valider cette hypothèse, nous avons fait des études sur deux mélanges : un mélange 1 constitué d'oxyde de fer $^{56}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et de fer métal ^{54}Fe , et un mélange 2 fait à partir d'oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et de fer métal ^{56}Fe .

Les résultats obtenus suite aux analyses du mélange 1 par LAMMA 500 ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) sont présentés sur la figure III-25. Nous observons la présence du dimère Fe_2^+ ($m/z = 110$, $m/z = 112$) et des agrégats ionisés Fe_2O^+ ($m/z = 126$, $m/z = 128$) et Fe_2O_2^+ ($m/z = 142$, $m/z = 144$).

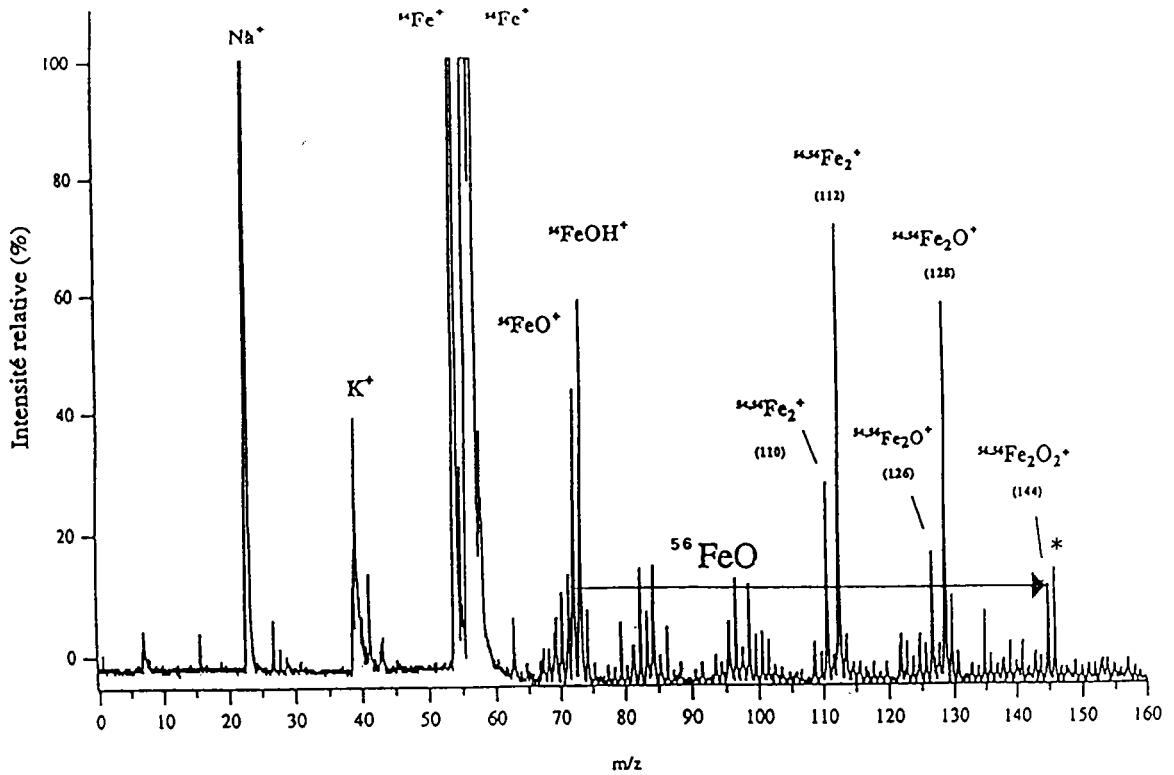
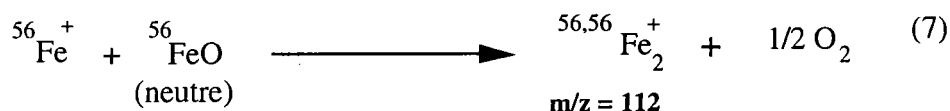
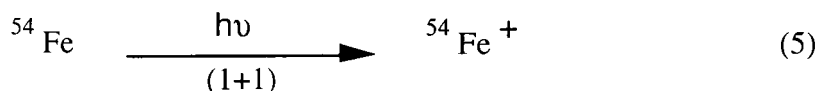


Figure III-25. Spectre LAMMA ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs d'un mélange constitué d'oxyde de fer $^{56}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et de fer ^{54}Fe métal. Les agrégats ionisés protonés sont indiqués par (*).

Ainsi, il apparaît clairement qu'il y a une formation de paires d'ions séparés par une masse égale à 2. Cela implique la présence de réactions ion/molécule au sein même du plasma entre les deux isotopes ^{54}Fe et ^{56}Fe .

Nous pouvons dire qu'il y a une recombinaison qui s'effectue lorsque nous sommes en présence de $^{56}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et de fer ^{54}Fe , étant donné que nous avons montré précédemment que la présence simultanée de fer ^{54}Fe et ^{56}Fe ne conduisait à aucun ion, autres que $^{54}\text{Fe}^+$ et $^{56}\text{Fe}^+$. Aussi, suite à ces observations, nous proposons un processus de formation du dimère Fe_2^+ :



La présence du pic de masse $m/z = 112$ peut être expliquée par l'interaction du pulse laser avec l'oxyde de fer $^{56}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ conduisant à la formation du dimère Fe_2^+ ($^{56,56}\text{Fe}_2^+$; $m/z = 112$). Ainsi, lorsque nous pratiquons le mode d'ionisation résonante RELAI sur le mélange 1, nous facilitons la désorption et l'ionisation des espèces ^{54}Fe .

Afin de renforcer l'hypothèse selon laquelle le dimère Fe_2^+ se formerait suivant la réaction (4), nous avons effectué dans les mêmes conditions l'analyse du mélange 2 (figure III-26). Nous observons la présence des mêmes ions qu'auparavant, avec toutefois des masses plus faibles pour chacun d'entre eux mais toujours séparés d'un écart de masse égal à 2.

En effet, nous obtenons pour le dimère Fe_2^+ , deux pics de masse correspondant à $^{54,54}\text{Fe}_2^+$ ($m/z = 108$) et $^{54,56}\text{Fe}_2^+$ ($m/z = 110$). Cette étude montre clairement que notre hypothèse selon laquelle le dimère se forme suivant la réaction (4) est justifiée.

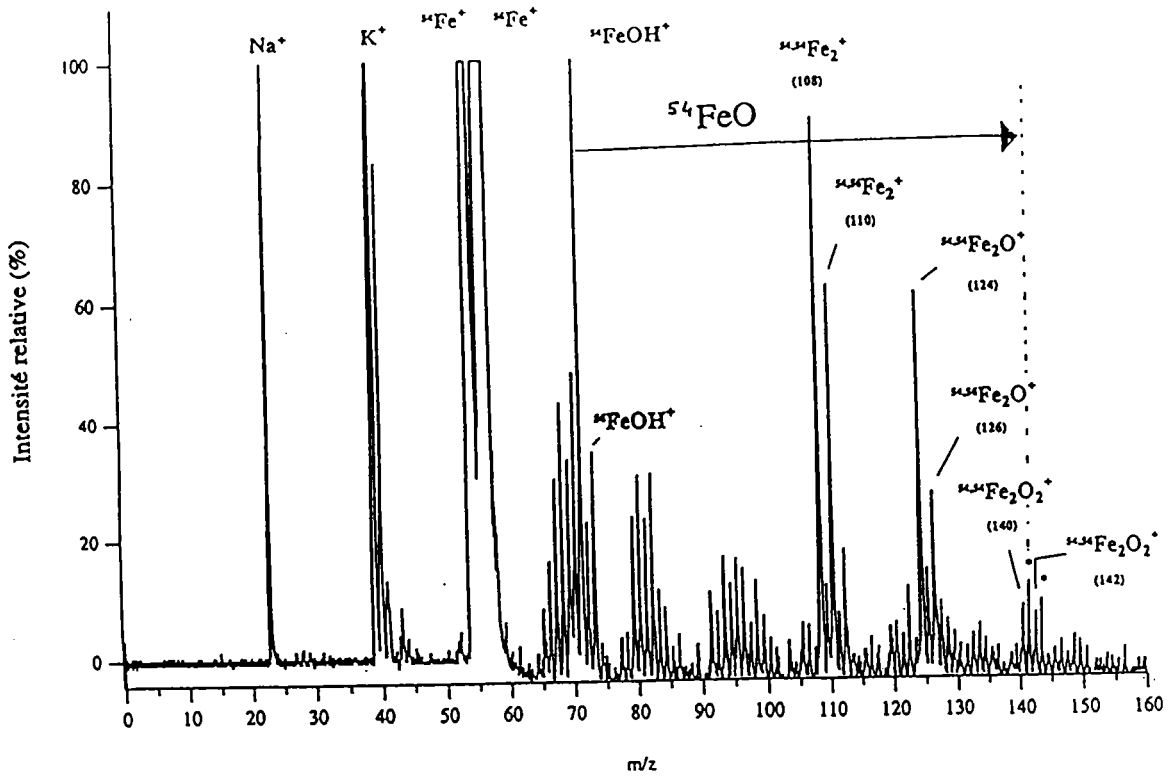
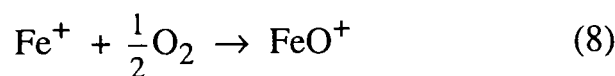
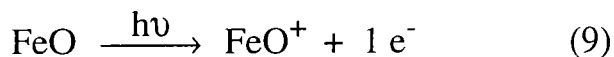


Figure III-26. Spectre LAMMA ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs d'un mélange constitué d'oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et de fer ^{56}Fe métal. Les agrégats ionisés protonés sont indiqués par (*).

III. Formation de l'ion FeO^+

L'utilisation de l'ionisation en mode résonant augmente le taux d'ionisation de Fe, et par conséquent, la quantité d'ions Fe^+ importante au sein du plasma peut réagir avec l'oxygène présent pour former l'ion FeO^+ . Cependant, à côté de cette première hypothèse, il existe une autre possibilité qui consisterait à dire que l'ion FeO^+ puisse se former suite à l'ionisation directe de l'espèce FeO par le pulse laser. Ainsi, les réactions susceptibles de conduire à la formation de l'ion FeO^+ sont les suivantes :





Etant donné que les bandes d'absorption de FeO se situent d'une part dans les régions infrarouge et visible ($\lambda_{\text{max}} = 621,89 \text{ nm}$), et d'autre part, que le potentiel d'ionisation de FeO (8,9 eV) est plus élevé que celui du fer (7,87 eV) (Whetten et al., 1985), nous considérons que la réaction (8) est la plus probable. De plus, nous avons vu que la réaction (4) produit de l'oxygène qui selon la réaction (8), interviendrait dans la production de l'ion FeO^+ . En outre, Schröder et al. (1995) ont montré que l'énergie de dissociation d'une espèce ionique de type (M^+-O) doit être assez importante afin que cette énergie puisse, à nouveau, permettre la réoxydation du métal M pour aboutir à l'oxyde correspondant par une espèce "donneuse" d'oxygène selon la réaction : $\text{M}^+ + \langle \text{O} \rangle \rightarrow \text{MO}^+$. En d'autre terme, la formation de l'espèce FeO^+ demande un apport d'énergie important ($E_{\text{dissoc.}} = 3,51 \text{ eV}$) et donc correspond à une réaction de type endothermique. Cela va dans le sens des travaux de l'équipe de Chertihin (1996) pour lesquels la formation de FeO repose sur une réaction endothermique entre des atomes de fer produits par ablation laser et des molécules d'oxygène. Dans nos conditions expérimentales, l'utilisation de densité photonique de l'ordre de $10^7 - 10^8 \text{ W/cm}^2$ induit une température importante du nuage gazeux et des réactions endothermiques telles que $\text{Fe}^+ + \frac{1}{2}\text{O}_2 \rightarrow \text{FeO}^+$ peuvent avoir lieu.

Conclusion

Nous avons souhaité lors de cette partie montrer les mécanismes de formation des espèces ionisées Fe_2^+ et Fe_2O^+ car la distribution de leur intensité relative constitue un critère primordial quant à la différenciation des degrés d'oxydation du fer.

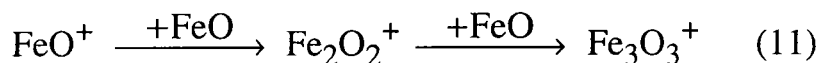
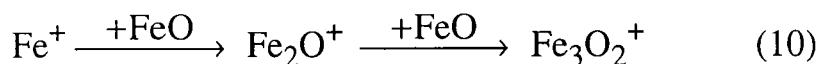
Sur la base des observations effectuées par LAMMA 500 et FT-ICR/MS, il s'avère que, d'une part, le dimère Fe_2^+ provient de la réaction

entre l'ion Fe^+ et le neutre FeO et d'autre part, que l'ion Fe_2O^+ existe suite à une réaction entre le dimère Fe_2^+ et l'oxygène à l'état moléculaire singulet $^1\text{O}_2$.

Il est important de noter que ces mécanismes de formation ne sont en aucun cas le fruit de réactions ion/molécule réalisées en cellule FT/ICR/MS, mais existent bien au sein même du nuage gazeux généré suite à l'impact laser.

Nous voyons que l'ion Fe^+ est l'ion précurseur et lorsque l'on travaille à l'aide de longueur d'onde résonante, nous favorisons largement la formation de cet ion, amenant par là même une sensibilité plus importante comparée à l'ionisation non résonante.

Le neutre FeO est également très important notamment en ce qui concerne les mécanismes de formation des ions Fe_2^+ et Fe_2O^+ . De plus, il intervient sans doute dans la formation des agrégats oxygénés de haute masse selon les deux réactions (10) et (11) suivantes :



Une étude par spectrométrie d'émission a été engagée afin de mettre en évidence le neutre FeO au sein du plasma et ainsi de valider de façon plus poussée nos hypothèses.

L'utilisation de faibles énergies suffit amplement pour la caractérisation sans équivoque des différents oxydes de fer. Ceci va nous être très utile lors des études sur des coupes cellulaires biologiques, utile dans le sens où l'ionisation résonante à faible énergie va nous permettre d'étudier les éventuels changements de degré d'oxydation du fer et ce, en faisant totale abstraction des effets de matrices.

C. CARACTERISATION DE POUSSIÈRES INDUSTRIELLES

I. Méthodologie expérimentale

La mesure de concentration et l'identification des composés présents sur les particules en suspension dans l'atmosphère d'un site industriel donné constituent un objectif important en matière de surveillance de la pollution atmosphérique, notamment en raison des risques que constitue pour la santé la présence de ces particules inhalables.

I.1. Technique de prélèvement des échantillons de poussières

La connaissance de la distribution en taille des composés organiques sur la matière particulaire est essentielle pour deux raisons :

- ✓ elle apporte des informations sur les mécanismes de formation des aérosols (mécanismes de condensation ou de dispersion),
- ✓ les risques pour la santé liés à l'inhalation de ces composés dépendent fortement de la taille des particules.

Le choix des appareils d'échantillonnage pour l'étude des aérosols s'avère essentiel pour effectuer des mesures de qualité de l'air, de pollution de l'air et d'hygiène industrielle.

Les prélèvements ont été effectués par le Laboratoire d'Etudes et de Contrôle de l'Environnement Sidérurgique (LECES) à l'aide d'un impacteur en cascade Andersen, opérant à une vitesse d'aspiration de 1,7 m³/h. Il se compose d'une série d'étages d'impaction constitués d'un orifice perpendiculaire à une surface plane (Figure III-27). Il permet de séparer les particules dans le flux d'air par impaction inertielle suivant leur diamètre aérodynamique moyen (diamètre d'une sphère de densité 1, soit de masse volumique de 1 g.cm⁻³, dont la vitesse limite de chute est la même que celle de la particule. (Muranyi-Kovacs, 1992)).

Le fractionnement granulométrique en neuf tranches respectives : $> 9 \mu\text{m}$, $9-5,8 \mu\text{m}$, $5,8-4,7 \mu\text{m}$, $4,7-3,3 \mu\text{m}$, $3,3-2,1 \mu\text{m}$, $2,1-1,1 \mu\text{m}$, $1,1-0,7 \mu\text{m}$, $0,7-0,4 \mu\text{m}$, $< 0,4 \mu\text{m}$, apporte des informations sur la distribution des molécules organiques (HAP) susceptibles d'être adsorbées suivant la taille des particules.

Celles-ci sont recueillies sur des filtres en aluminium et peuvent être analysées directement (in situ).

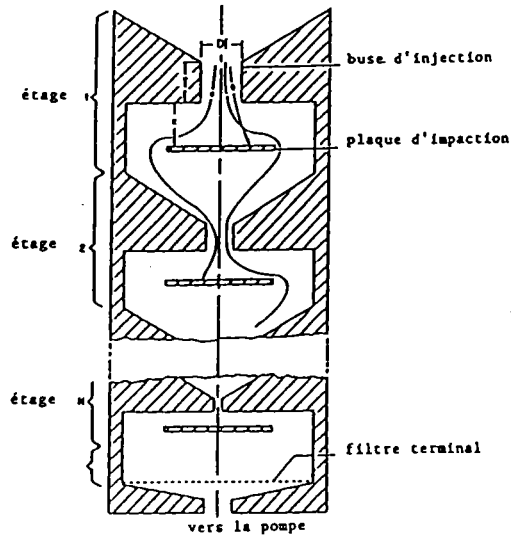


Figure III-27. Représentation de l'impacteur en cascade Andersen.

De plus, cette méthode donne une simulation de la déposition des poussières inhalées et progressant dans le système respiratoire (Figure III-28).

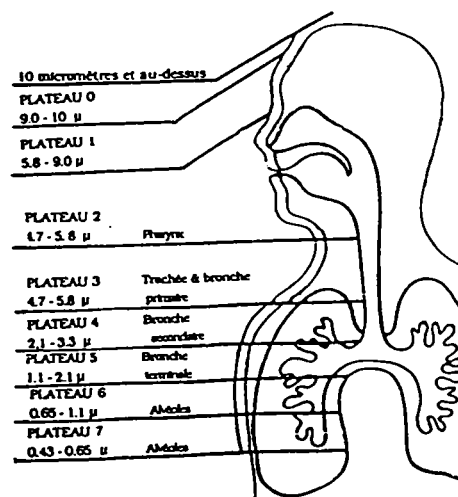


Figure III-28. Simulation de l'appareil respiratoire.

Durant l'échantillonnage, l'appareillage (filtres, porte-filtres, pompe) est protégé des intempéries et de l'influence directe de la lumière.

Un certain nombre de précautions supplémentaires doivent être prises si l'on veut minimiser les risques d'erreur notamment dans l'analyse des HAP :

- la durée de prélèvement sur site doit être réduite pour ne pas favoriser les réactions de dégradation et les phénomènes de sublimation et d'évaporation des composés déjà collectés,

- les filtres en aluminium sont stockés au réfrigérateur à l'abri de la lumière pour éviter les modifications photochimiques (réactions d'oxydation, de décomposition),

- le temps entre le moment de prélèvement et l'analyse en laboratoire doit être le plus court possible.

Les poussières récupérées sont analysées par trois techniques complémentaires que sont les microsondes laser LAMMA et FT/ICR/MS et la chromatographie en phase gazeuse après extraction.

1.2. Analyse ponctuelle simultanée minérale et organique par microsonde laser LAMMA

1.2.1. Préparation des échantillons

Pour les analyses par spectrométrie de masse LAMMA, les poussières sont récupérées directement à l'aide d'un scalpel en acier, par grattage de la surface à l'endroit désiré du filtre. Elles sont ensuite déposées par simple pression sur des grilles de microscopie électronique de différentes tailles (200, 400 mesh), recouvertes ou non d'un film de formvar de 0,1 μm d'épaisseur.

Cette éventualité est choisie lorsque les particules sont très fines. Les grilles ainsi préparées peuvent alors être fixées sur le porte échantillon de la microsonde laser LAMMA afin d'y être analysées.

1.2.2 Méthodologie

Un protocole d'analyse spécifique a été mis en place dans notre laboratoire (Verdun et al., 1986) pour obtenir conjointement la désorption à très faible énergie des HAP adsorbés et la caractérisation minérale du support particulaire.

L'analyse ponctuelle d'une particule est réalisée en **deux étapes** :

✓ à faible longueur d'onde d'ionisation (223,2 nm soit environ une énergie par photon de 5,55 eV) pour une irradianance de 10^6 W/cm², on focalise le faisceau laser sur la particule sans que celle-ci ne soit visiblement endommagée par l'impact. On peut ainsi mettre en évidence la présence de HAP adsorbés sur la particule avec une bonne sensibilité par désorption laser.

✓ à une irradianance plus élevée ($=10^8$ W/cm²) en mode d'ionisation RELAI ($\lambda = 278,8$ nm), cela conduit à la destruction complète du substrat par pulvérisation, fournissant des informations sur la composition chimique minérale des particules. Il convient de rappeler que le choix de la longueur d'onde privilégie la détection des espèces contenant du fer..

En ce qui concerne l'analyse des produits adsorbés sur les particules, l'énergie laser doit être abaissée afin de favoriser la désorption et de minimiser la fragmentation moléculaire afin d'identifier les espèces organiques présentes. Les ions produits lors de l'irradiation laser sont ensuite analysés dans le spectromètre de masse à temps de vol en ions positifs.

L'originalité de notre protocole est due essentiellement à l'abaissement de la longueur d'onde d'irradiation du faisceau laser. Cette particularité entraîne une diminution notable des seuils d'énergie nécessaire à la désorption des HAP, et ce quelle que soit la matrice d'adsorption, ainsi qu'une ionisation sélective et spécifique des composés en surface. A de faibles irradiances, les particules de petites tailles n'étaient pas nécessairement éjectées de leur support minéral et pouvaient donner lieu à des spectres de masse. Ce résultat s'avère particulièrement important et montre la potentialité de la microsonde laser LAMMA pour les poussières potentiellement toxiques.

Cette méthode a été adoptée dans notre étude pour l'analyse d'échantillons solides et de particules caractéristiques prélevées sur différents sites industriels de l'environnement sidérurgique.

I.3. Analyse ponctuelle simultanée minérale et organique par microsonde laser FT/ICR/MS

I.3.1. Préparation des échantillons

Un morceau du filtre de un demi centimètre carré, recouvert des poussières, était découpé puis collé par du ruban adhésif aluminisé double face sur le porte échantillon. Ce dernier était ensuite placé dans la chambre d'échantillonnage afin de procéder aux analyses.

I.3.2. Méthodologie

Les analyses des poussières industrielles ont été réalisées en ions positifs à l'aide d'un faisceau laser de longueur d'onde $\lambda = 248$ nm.

Un des avantages de la microsonde laser FT/ICR/MS est sa résolution importante. Ainsi, il est possible de déterminer très exactement les masses de chacun des HAP détectés et donc d'en déduire le ou les noms pouvant correspondre à chacune des masses détectées. Cependant, on ne peut distinguer les isomères entre eux.

I.4. Analyse globale des phases organiques par Chromatographie en Phase Gazeuse GC/FID

Les résultats obtenus par microsondes laser LAMMA et FT/ICR/MS ont été contrôlés par des analyses chromatographiques des HAP contenus dans les échantillons étudiés.

I.4.1. Préparation des échantillons

Pour cette technique, le protocole analytique mis en oeuvre était le suivant :

- extraction des HAP par passage au bain à ultrasons (2×15 min.) du mélange constitué des poussières et d'un solvant cyclohexane-dichlorométhane (90/10).

Cette méthode a été préférée à celle du soxhlet pour une question de gain de temps, d'une économie au niveau de la quantité de solvant utilisée, et de la possibilité de pouvoir traiter simultanément un plus grand nombre d'échantillons.

- chaque extraction est suivie d'une centrifugation à 4500 tr/min. pendant 15 min. de façon à séparer les fractions minérales insolubles et organiques solubles.

- reprise de la phase liquide puis évaporation lente du solvant sous un flux de gaz inerte (azote) à température ambiante.

La température de l'évaporation qui suit l'extraction a une influence notable sur la concentration des HAP légers ; une élévation de température favorise leur volatilisation.

- injection et passage en chromatographie gazeuse GC/FID.

1.4.2. Méthodologie

Les paramètres des analyses par GC/FID étaient les suivants :

- injection "splitless" automatique,
- colonne BPX 5 (diméthylpolysiloxane) ; $12 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$, diamètre interne de $0,25 \text{ }\mu\text{m}$,
- débit d'hélium (gaz vecteur) dans la colonne capillaire : 1 ml/mn ,
- température injecteur : $250 \text{ }^\circ\text{C}$,
- température four : $220 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 1 min.,

- rampe de 5 °C par min. jusqu'à 345 °C maintenue 5 min,

- caractérisation par étalonnage externe : une quarantaine de HAP peuvent être actuellement dosés par cette méthode dont la linéarité de la réponse du détecteur à ionisation de flamme est très large, ce qui est appréciable dans le cas de mélanges dont les constituants sont en concentration très variable.

Ainsi, nous avons effectué une étude sur une solution standard composée de 13 HAP étalons : pyrène, benzo[a]anthracène, chrysène, benzo[a]pyrène, benzo[e]pyrène, pérylène, picène, benzo[j]fluoranthène, 1-méthyl benzo[a]anthracène, benzo[b]chrysène, dibenzoanthracène, coronène, dibenzopyrène, dibenzofluoranthène.

L'optimisation des conditions analytiques permet d'atteindre un profil d'HAP présentant une bonne résolution et une bonne reproductibilité. Lorsque cette procédure est suivie, une séparation satisfaisante des produits (figure III-29 et tableau III-2) est obtenue au bout d'un temps d'analyse de 35 minutes.

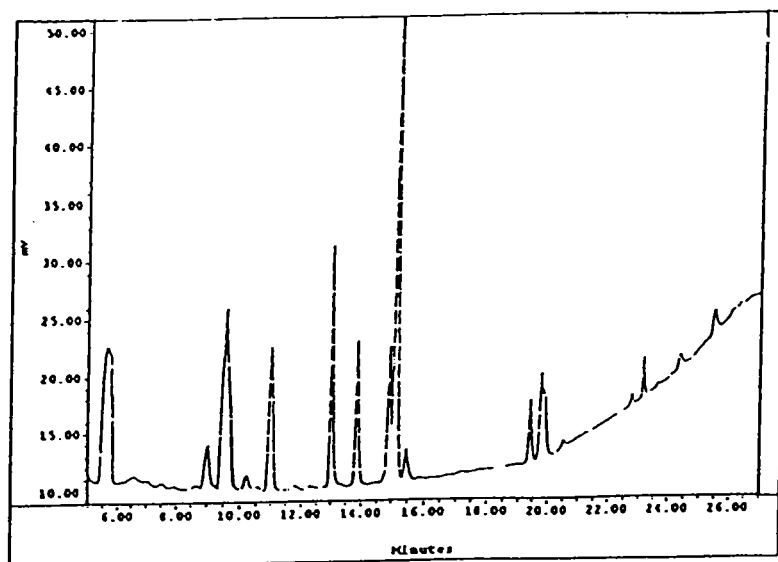


Figure III-29. Chromatogramme GC/FID d'une solution étalon de HAP

Temps de rétention (min)	HAP détectés
5,64	Pyrène
9,05	benzo[a]anthracène
9,60	chrysène
11,00	méthylbenzo[a]anthracène
13,86	benzo[j]fluoranthène
14,91	benzo[e]pyrène
15,13	benzo[a]pyrène
15,46	pérylène
19,41	dibenzoanthracène
19,77	benzo[b]chrysène
19,93	picène
24,33	dibenzofluoranthène
25,46	coronène

Tableau III-2. Temps de rétention des différents HAP détectés sur la figure III-29.

II. Analyse de prélèvements dans l'environnement d'une aciérie

Une campagne de mesures sur les caractéristiques physico-chimiques des poussières émises dans l'atmosphère a été réalisée. Ces travaux visaient à examiner la ou les sources d'émission responsables de pollution et à rechercher la nature d'une part du support particulaire susceptible de véhiculer des HAP lors de leur séjour dans l'atmosphère et d'autre part le type de HAP adsorbés sur ces particules émises.

II.1. Identification de la nature minérale du support particulaire

II.1.1. Prélèvement dans une halle d'une aciérie

Ainsi, des prélèvements de poussières en suspension d'une durée en moyenne de 23 heures ont été effectués sur trois sites d'une halle

d'aciérie comme indiqué sur la figure III-30 : le site A correspondant à la coulée continue, le site B relatif à la halle des réfractaires (ou halle des poches) et le site C pour le poste de métallurgie en poche avec injection profonde.

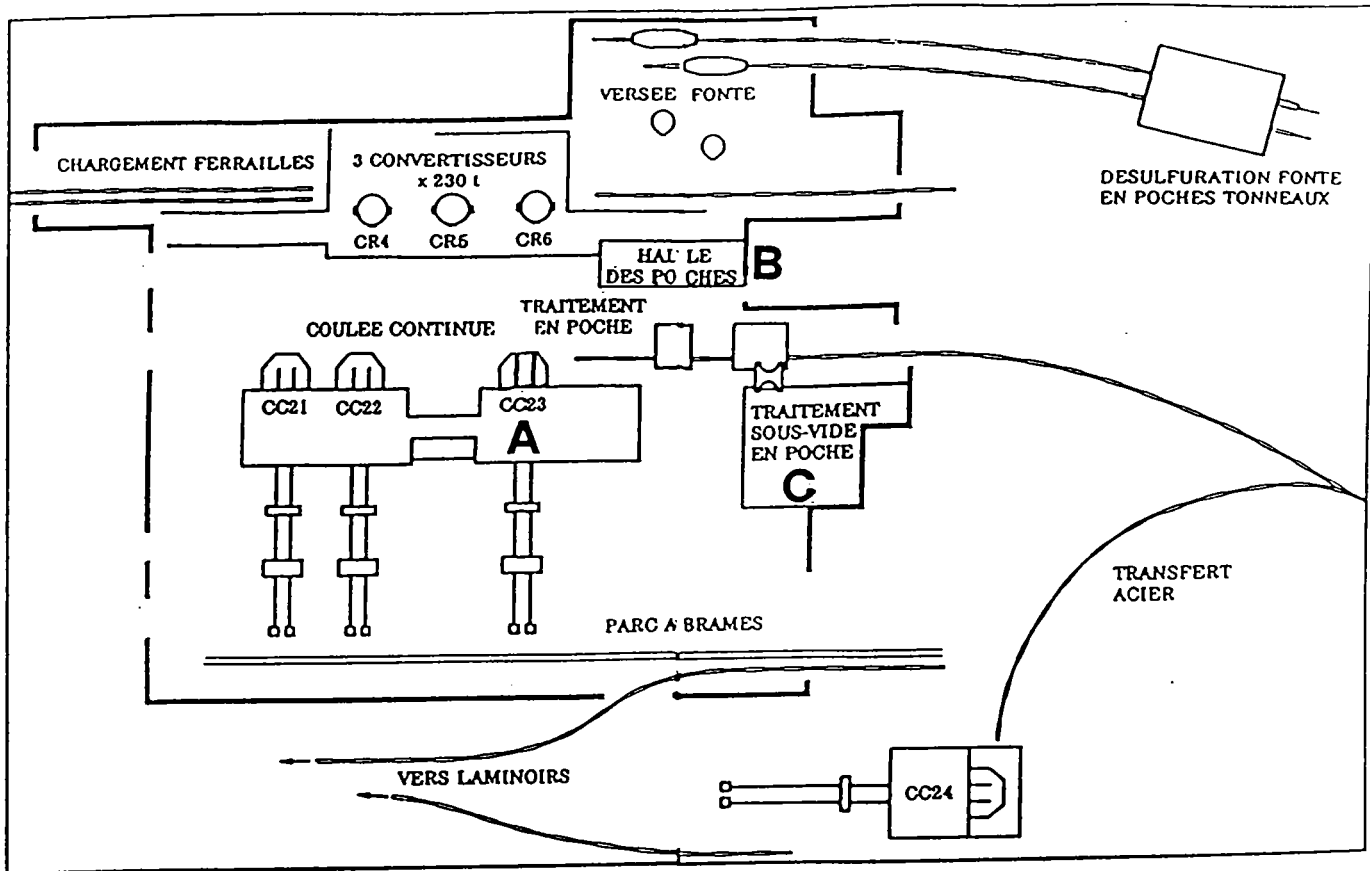


Figure III-30. Position des sites de prélèvement dans la halle de l'aciérie.

Les masses de poussières recueillies par tranche granulométrique ainsi que les emplacements de prélèvements sont indiqués dans les tableaux III-3 :

Emplacement des prélèvements	Coulée continue	Halle des réfractaires	Métallurgie en poche avec injection profonde
n° de série	1	2	3
Volume prélevé (m ³)	40,58	40,037	45,484
Durée du prélèvement (min.)	1325	1300	1515
Tranches granulométriques (µm)	Concentration en poussières (mg/m ³)	Concentration en poussières (mg/m ³)	Concentration en poussières (mg/m ³)
9,0 - 10,0	0,06 (2,45)	0,06 (2,43)	0,07 (3,03)
5,8 - 9,0	0,07 (2,83)	0,08 (3,35)	0,1 (4,41)
4,7 - 5,8	0,05 (1,87)	0,03 (1,40)	0,09 (4,03)
3,3 - 4,7	0,09 (3,56)	0,05 (2,04)	0,17 (7,60)
2,1 - 3,3	0,05 (2,21)	0,03 (1,21)	0,08 (3,69)
1,1 - 2,1	0,04 (1,53)	0,02 (0,89)	0,07 (3,38)
0,7 - 1,1	0,02 (0,99)	0,02 (0,69)	0,07 (3,19)
0,4 - 0,7	0,03 (1,23)	0,02 (0,71)	0,09 (4,30)
0,0 - 0,4	/	/	/

() masse de poussières par plateau

Tableau III-3 . Prélèvements de poussières par impacteur en cascade au niveau d'une aciérie.

Avant de passer aux résultats proprement dit, nous allons donner les critères qui ont été choisis pour $\lambda = 278,8$ nm afin d'identifier au sein des poussières industrielles le type d'oxyde de fer présent (figure III-31).

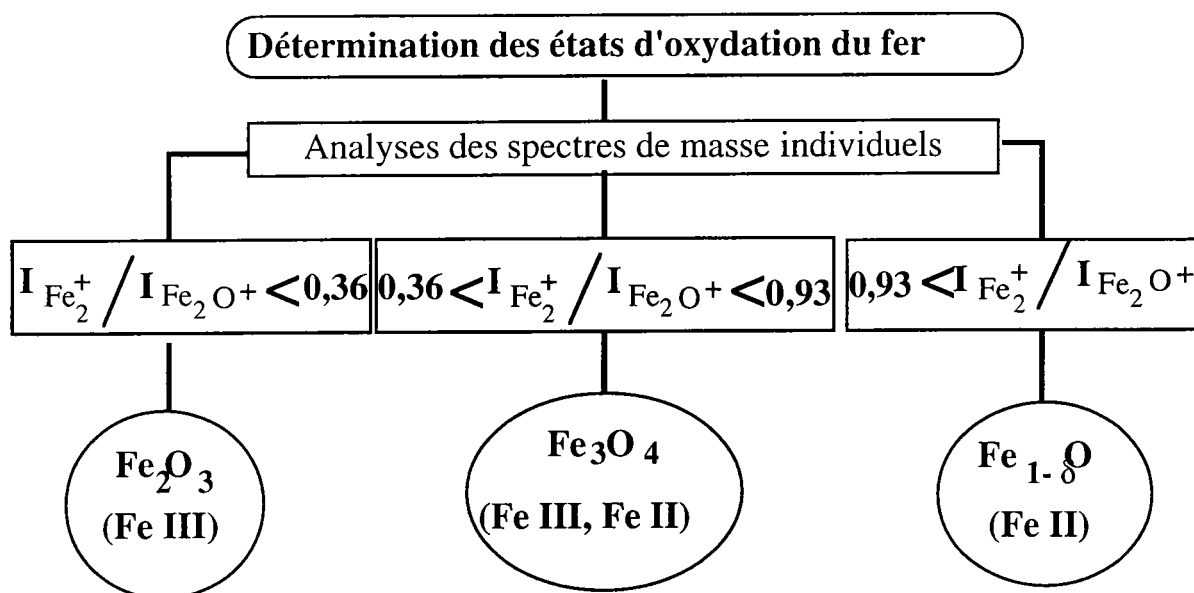


Figure III-31. Diagramme de détermination des oxydes de fer à $\lambda = 278,8$ nm.

Les analyses effectuées sur les poussières recueillies près de *la coulée continue* (série 1) ont révélé deux types de particules ayant des compositions chimiques très différentes qui ont pu être mises en évidence :

✓ des poussières riches en sodium, potassium, calcium et aluminium. La figure III-32 montre un spectre reflétant la composition minérale de particules de granulométrie 2,1-3,3 μm (filtre 1.6).

Ces particules contiennent principalement les éléments Na^+ ($m/z=23$), K^+ ($m/z=39,41$), Ca^+ ($m/z=40,44$) et Al^+ ($m/z=27$). Le spectre III-32 est dominé par les séries CaO^+ , Ca_2O^+ , Ca_2O_2^+ , CaOAl^+ , CaO_2Al^+ , KC_2H_2^+ , Na_2Cl^+ , NaKCl^+ .

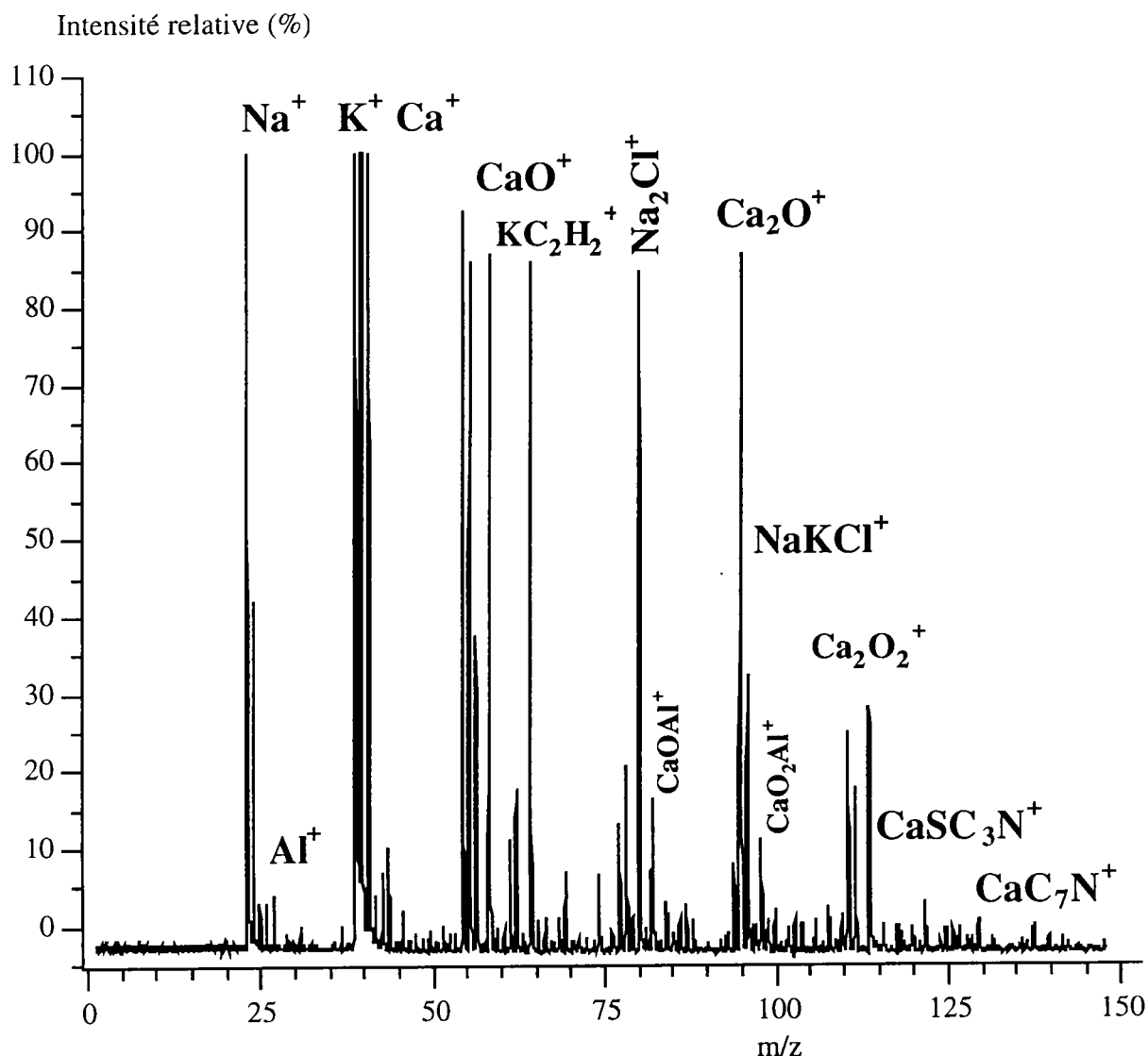


Figure III-32 . Spectre LAMMA en ions positifs d'une particule (Coulée continue) de diamètre 1,1-2,1 μm riche en sodium, calcium et aluminium, ($\lambda=278,8 \text{ nm}$, $I=10^8 \text{ W/cm}^2$).

✓ des poussières riches en oxyde de fer. La figure III-33 illustre une composition de la matrice riche en oxyde de fer Fe_3O_4 . Les analyses effectuées sur les tranches granulométriques inférieures montrent également la présence des oxydes de fer Fe_2O_3 . Cependant, par la présence du pic Fe^+ dans le spectre, on pourrait penser qu'il y a, en plus de Fe_3O_4 , du fer Fe° . Or, tous les spectres reportés dans la partie précédente montrent que les oxydes de fer conduisent à la formation de Fe^+ . Ainsi, rien ne nous autorise à dire que les poussières analysées contiennent véritablement du fer Fe° .

· Intensité relative (%)

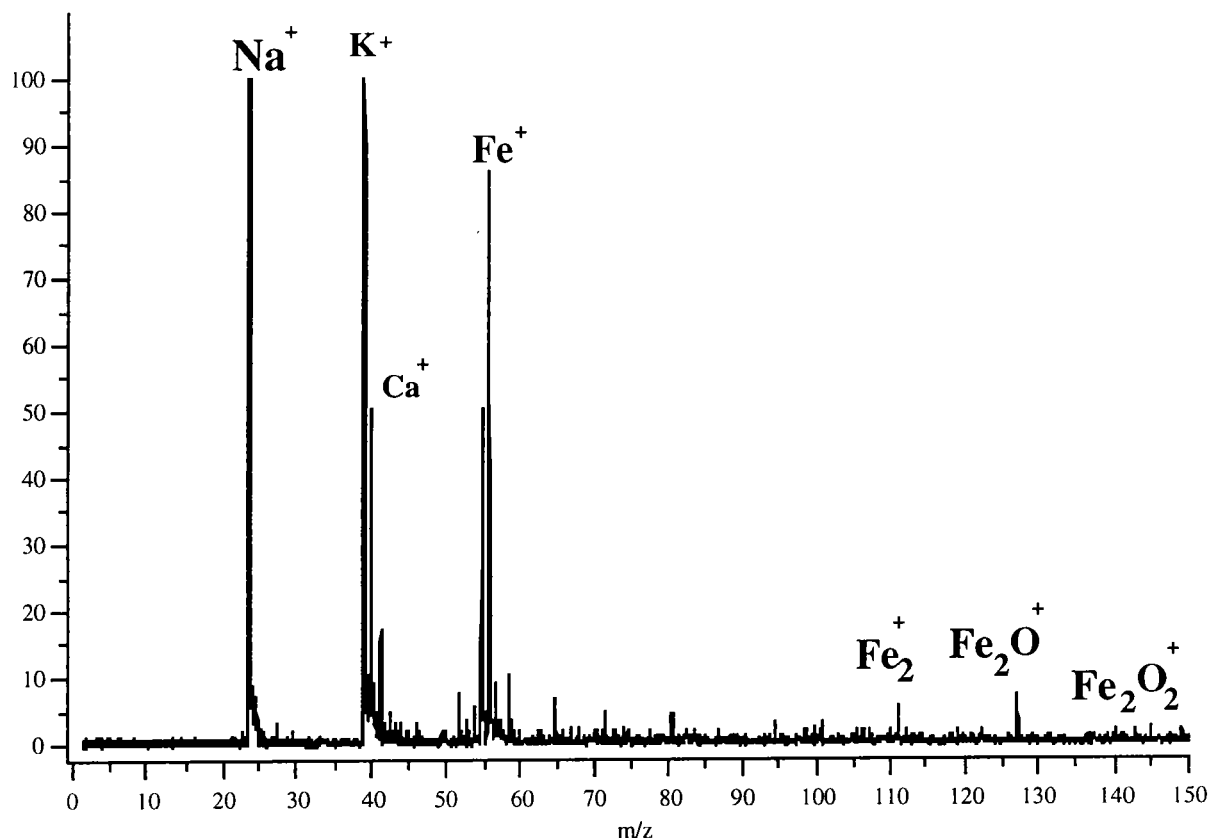


Figure III-33. Spectre LAMMA en ions positifs d'une particule (coulée continue) de diamètre 2,1-3,3 μm riche en oxyde de fer, ($\lambda=278,8 \text{ nm}$, $I = 10^8 \text{ W/cm}^2$).

Les analyses sur les poussières issues de la *halle des réfractaires* (filtres série 2) montrent une présence plus importante des oxydes de fer Fe_3O_4 et Fe_2O_3 dans ce secteur (figure III-34). Cependant la nature des oxydes détectés n'est pas la même suivant la granulométrie (tableau III-4) :

Tranches granulométriques (μm)	Présence de l'oxyde de fer Fe_3O_4	Présence de l'oxyde de fer Fe_2O_3
9,0 - 10,0	oui	non
5,8 - 9,0	non	oui
4,7 - 5,8	non	oui
3,3 - 4,7	oui	non
2,1 - 3,3	oui	non
1,1 - 2,1	oui	non
0,7 - 1,1	non	non
0,4 - 0,7	non	non
0,0 - 0,4	/	/

Tableau III-4. Analyses effectuées sur les filtres de la série 2 (Halle des réfractaires). Oui : détection de l'allure spectrale caractéristique des oxydes de fer Fe_2O_3 et Fe_3O_4 .

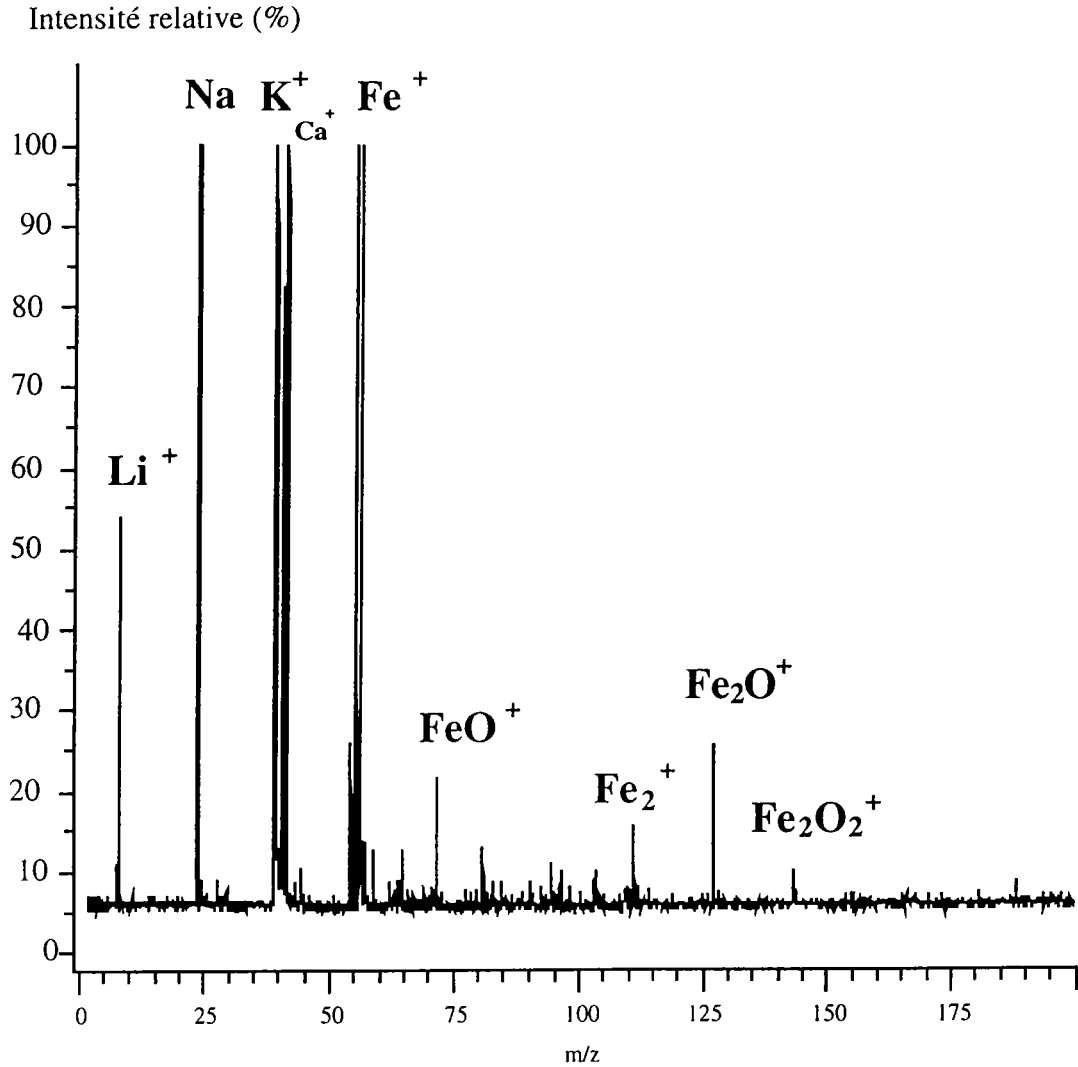


Figure III-34. Spectre LAMMA en ions positifs ($\lambda=278,8$ nm, $I = 10^8$ W/cm²) d'une particule de diamètre 2,1-3,3 μm recueillie sur le filtre de la série 2 (Halle des réfractaires). Ce spectre montre la présence de l'oxyde de fer Fe_3O_4 .

Les analyses effectuées sur les poussières recueillies au niveau du *site de métallurgie en poche avec injection profonde* (filtres série 3) montrent la présence d'oxydes de fer Fe_3O_4 compte-tenu d'un rapport $\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+$ égal à 0,57 (figure III-35).

· Intensité relative (%)

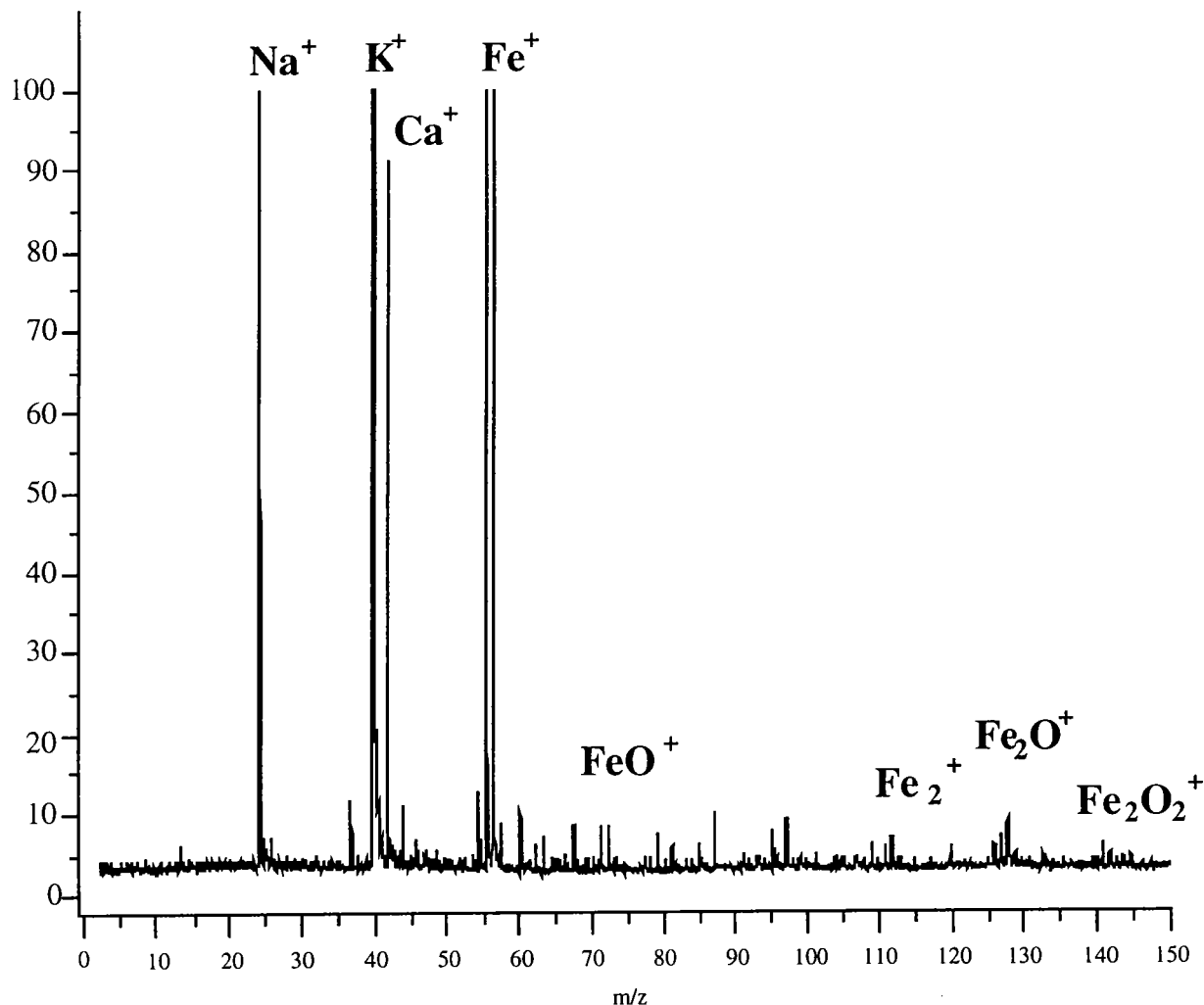


Figure III-35. Spectre LAMMA en ions positifs ($\lambda=278,8$ nm, $I = 10^8$ W/cm²) d'une particule de diamètre 2,1-3,3 μm recueillie sur le filtre de la série 3 (traitement en poche avec injection profonde).

De telles études soulignent que les particules de l'environnement sidérurgique sont morphologiquement et chimiquement hétérogènes, et cela même après la séparation granulométrique.

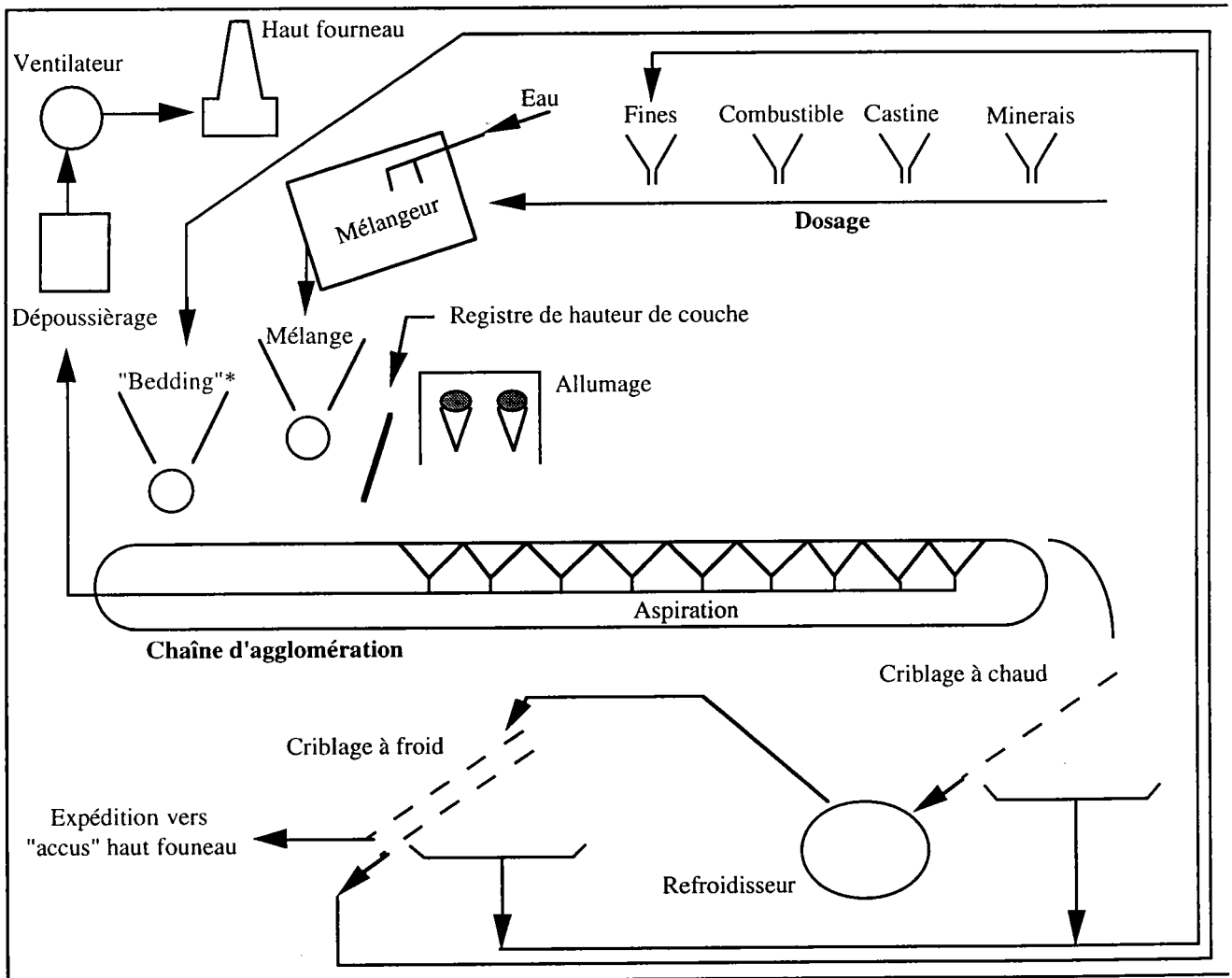
II.1.2. Prélèvement au niveau d'un haut fourneau

Dans un premier temps, nous avons poursuivi nos études sur la détermination de la nature des poussières émises au niveau du secteur

d'agglomération du minerai (Mattaglo), plus précisément entre la hotte d'allumage et le rouleau répartiteur (figure III-36).

La hotte d'allumage assure une phase importante du processus d'agglomération qui est de réaliser un apport thermique permettant la combustion du poussier de coke contenu dans le mélange (minerai, combustible, castine, chaux vive, fines de récupération).

Le rouleau répartiteur ainsi que les sondes de talutage assurent le chargement du mélange sur la chaîne d'agglomération.



(*) Bedding : couche de protection obtenue après criblage à froid de l'aggloméré. Celle-ci a trois fonctions principales : (i) protéger les barreaux de la grille, (ii) éviter les collages de l'aggloméré sur la grille, (iii) empêcher que le mélange ne passe entre les barreaux

Figure III-36. Représentation schématique d'une chaîne d'agglomération.

En second lieu, nous avons fait l'étude de poussières prélevées au niveau du trou de coulée (plancher de coulée) d'un haut fourneau (figure III-37).

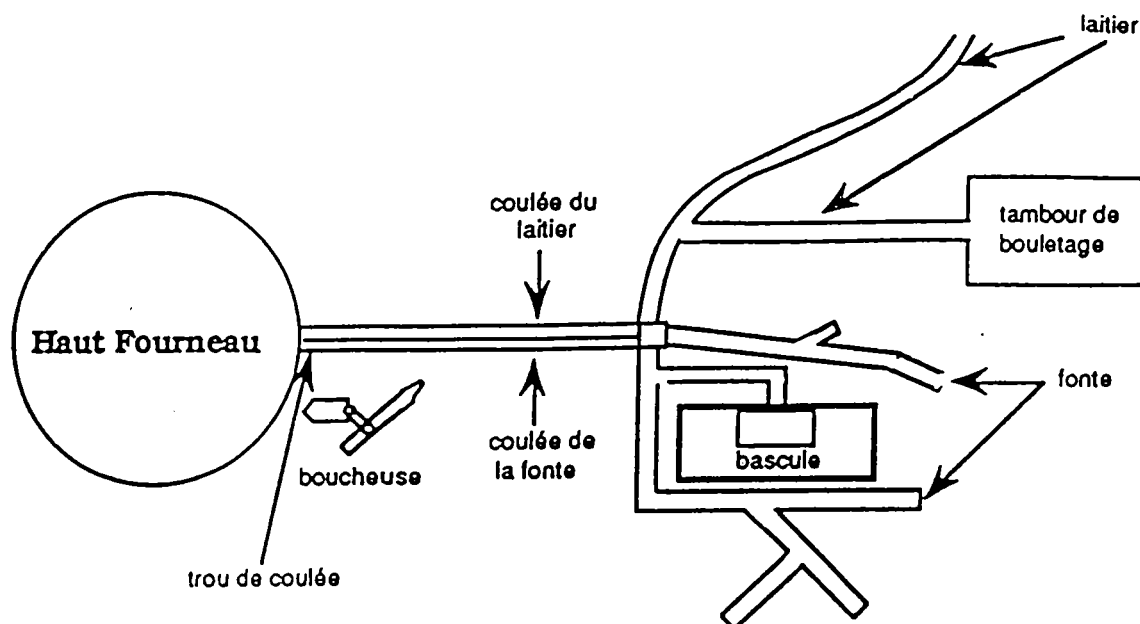


Figure III-37. Représentation schématique de la halle de haut fourneau.

Les masses de poussières recueillies par tranches granulométriques à l'aide d'un impacteur Andersen sont indiquées dans le tableau III-5.

Emplacement des prélèvements	Mattaglo (entre hotte et rouleau répartiteur)	Haut-Fourneau (trou de coulée) plancher de coulée
n° de série	1	2
Volume prélevé (m ³)	33,00	23,015
Tranches granulométriques (μm)	Masse (mg)	Masse (mg)
9,0 - 10,0	2,42	7,46
5,8 - 9,0	1,87	12,01
4,7 - 5,8	0,94	7,26
3,3 - 4,7	1,29	14,53
2,1 - 3,3	0,56	10,21
1,1 - 2,1	0,68	5,87
0,7 - 1,1	0,63	7,45
0,4 - 0,7	0,99	5,27
0,0 - 0,4	0,02	1,13

Tableau III-5. Prélèvements de poussières par impacteur en cascade.

Les analyses effectuées sur les poussières recueillies près du secteur *Mattaglo* (série 1) ont révélé deux types de particules ayant des compositions chimiques différentes :

✓ des poussières riches en sodium, aluminium, potassium et calcium. La figure III-38 montre un spectre indiquant la composition minérale de particules de granulométrie 4,7-5,8 μm . Ces particules contiennent principalement les éléments Na^+ ($m/z=23$), Al^+ ($m/z=27$), K^+ ($m/z=39,41$). Le spectre est dominé par les agrégats ionisés Na_2CN^+ , Na_2Cl^+ , Ca_2CN^+ , CaC_7N^+ .

Intensité relative (%)

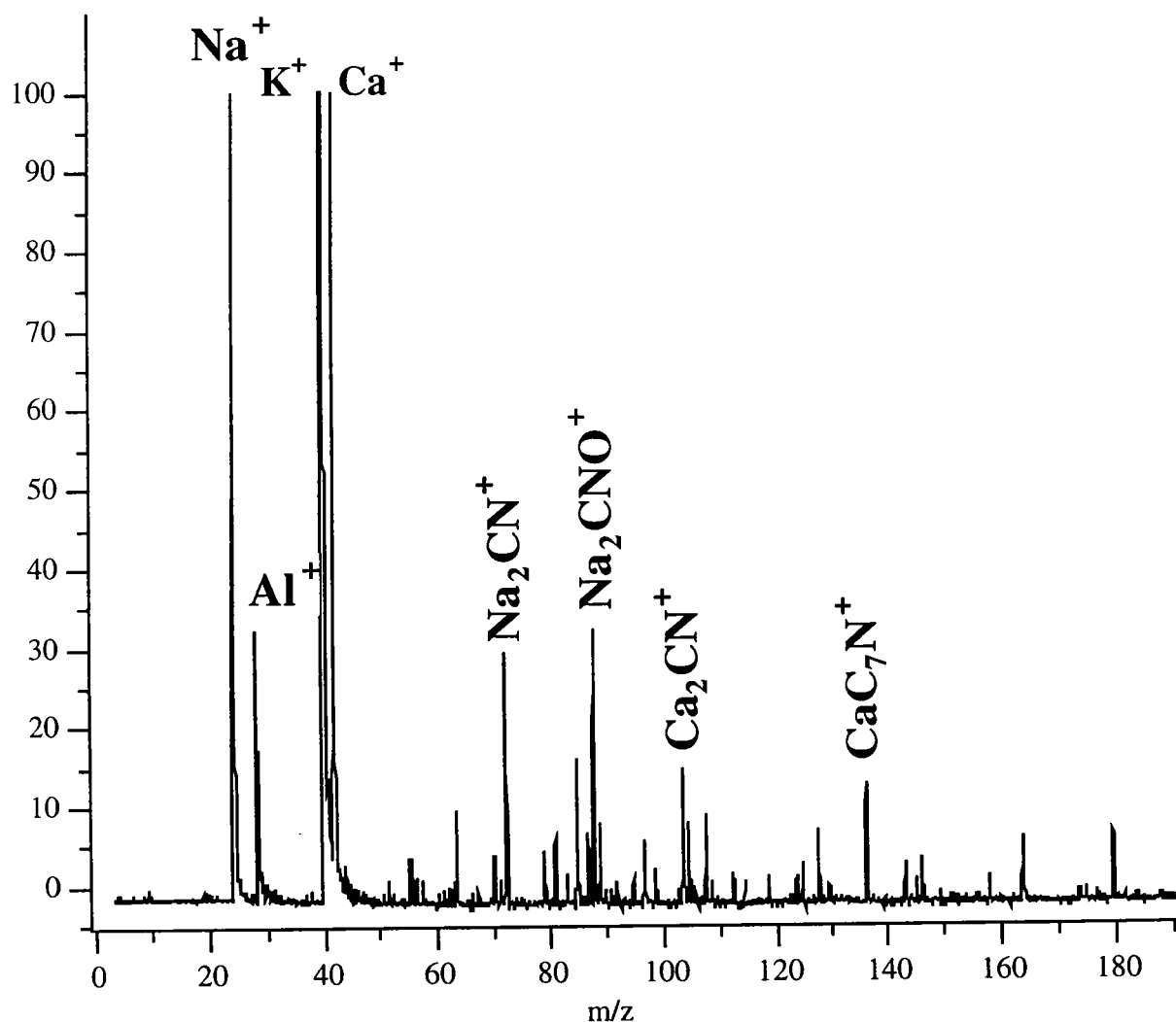


Figure III-38 . Spectre LAMMA ($\lambda=278,8 \text{ nm}$, $I = 10^8 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs de poussières Mattaglo de 4,7-5,8 μm riches en sodium, potassium et calcium (particules salines).

✓ des poussières riches en fer. La figure III-39 illustre une composition de la matrice riche en oxyde de fer Fe_2O_3 (granulométrie 4,7-5,8 μm). Les analyses effectuées sur les tranches granulométriques inférieures montrent également la présence des oxydes de fer Fe_3O_4 .

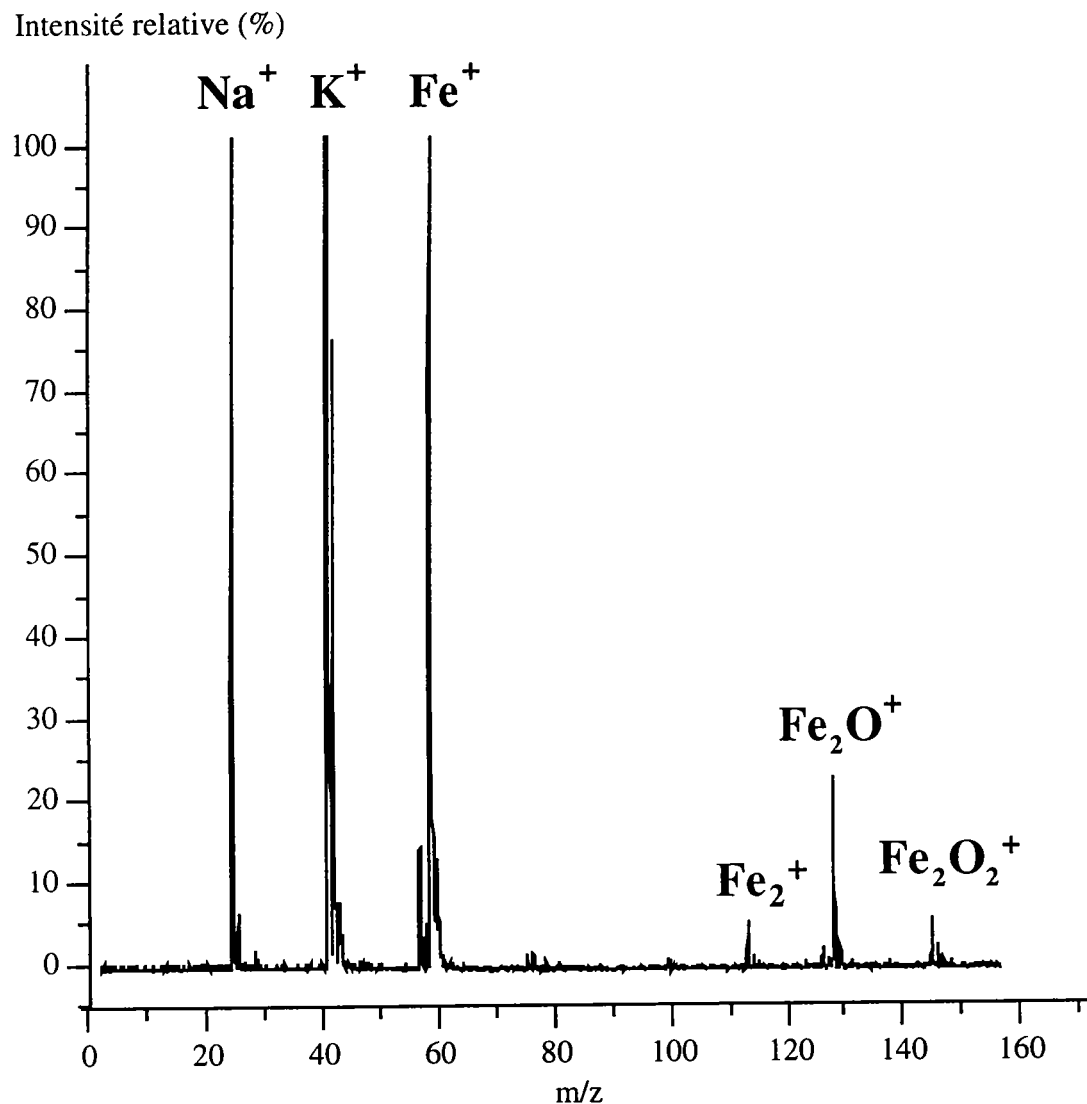


Figure III-39. Spectre LAMMA ($\lambda=278,8 \text{ nm}$, $I = 10^8 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs de poussières Mattaglo de 4,7-5,8 μm (empreinte caractéristique de Fe_2O_3).

Les analyses effectuées sur les poussières de *Haut Fourneau* montrent essentiellement la présence de l'oxyde de fer Fe_2O_3 que ce soit pour les hautes ou faibles granulométries (figures III-40 et III-41).

Intensité relative (%)

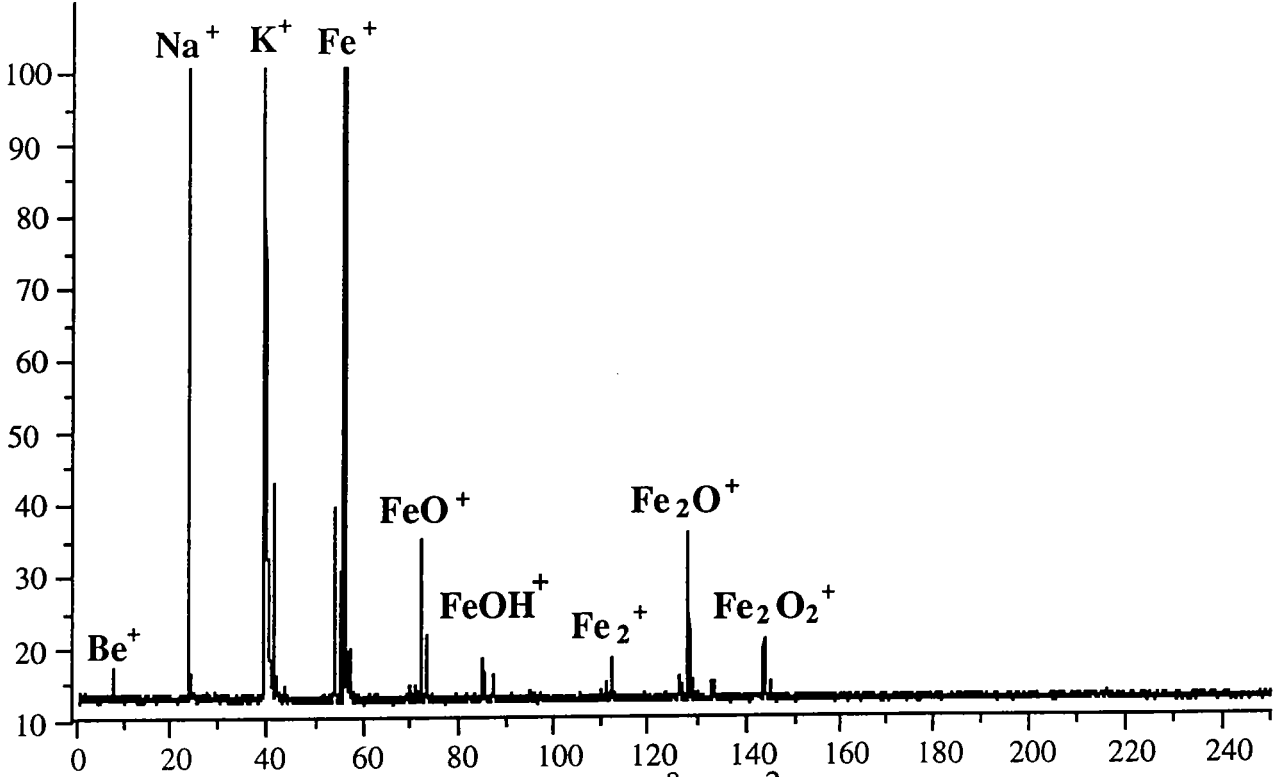


Figure III-40. Spectre LAMMA ($\lambda=278,8$ nm, $I = 10^8$ W/cm²) en ions positifs de poussières de Haut-Fourneau de 4,7-5,8 μ m (empreinte caractéristique de Fe_2O_3).

Intensité relative (%)

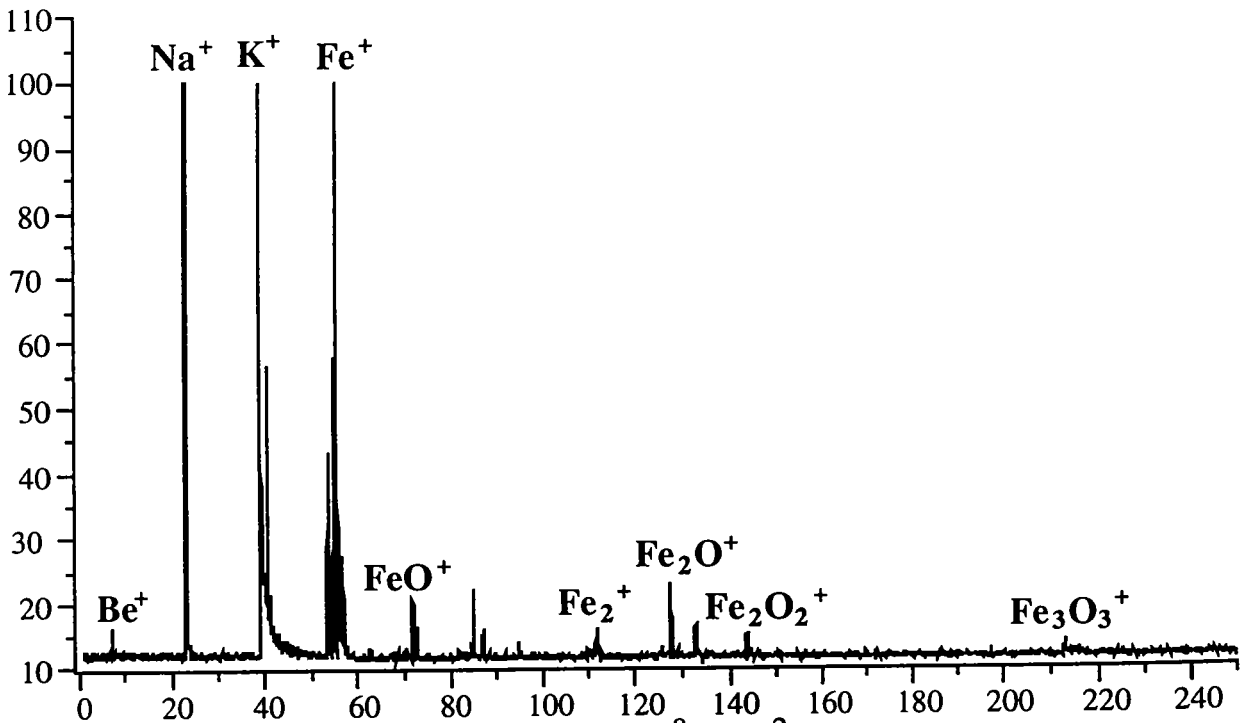


Figure III-41. Spectre LAMMA ($\lambda=278,8$ nm, $I = 10^8$ W/cm²) en ions positifs de poussières de Haut-Fourneau de 0,7-1,1 μ m riches en fer (empreinte caractéristique de Fe_2O_3).

L'utilisation de la microsonde laser LAMMA, couplée à un laser à colorant accordable en fréquence, s'est avérée particulièrement adaptée à la détermination des phases minérales constitutives des poussières industrielles prélevées dans le hall d'une aciérie et au niveau d'un haut fourneau.

Le mode d'ionisation RELAI permet ainsi de déterminer sans équivoque la présence d'oxydes de fer au sein de ces particules polyphasiques industrielles complexes. Il serait cependant très intéressant de faire des contrôles par microsonde Raman étant donné notamment l'influence de sel oxygéné pouvant modifier l'empreinte spectrale. De plus, l'ACP sur les oxydes de fer nous a montré que la distinction entre Fe_3O_4 et Fe_2O_3 n'est pas flagrante. Aussi, une certaine prudence s'impose.

Parallèlement à la caractérisation minérale des particules, nous avons effectué des études sur la caractérisation des HAP susceptibles de s'être adsorbés sur ces particules d'origine industrielle en utilisant une faible longueur d'onde (désorption laser).

II.2. Caractérisation des HAP adsorbés sur les poussières industrielles

II.2.1. Caractérisation d'un HAP par microsonde laser

Nous avons tout d'abord voulu savoir si l'information au niveau du spectre de masse, suite à l'analyse d'un HAP, correspondait bien à la détection du pic moléculaire M^{o+} relatif à ce dernier.

Pour cela, nous avons analysé un échantillon composé d'un HAP, le pyrène ($M = 202$) et d'oxyde de plomb PbO (figure III-42) ; tous deux étant préalablement broyés dans un mortier afin d'obtenir une bonne homogénéité de l'échantillon.

Connaissant parfaitement les masses de chacun des isotopes du plomb ($M = 204, 206, 207$ et 208) et leur abondance naturelle respective (1,37 %, 25,15 %, 21,11 % et 52,38 %), nous avons pu déterminer avec précision la masse correspondant à l'apparition du pic de masse relatif au pyrène. Il s'est avéré que celle-ci était égale à 202.

Nous pouvons en conclure que la présence d'un HAP est déterminée par la détection de son pic de masse M^{o+} .

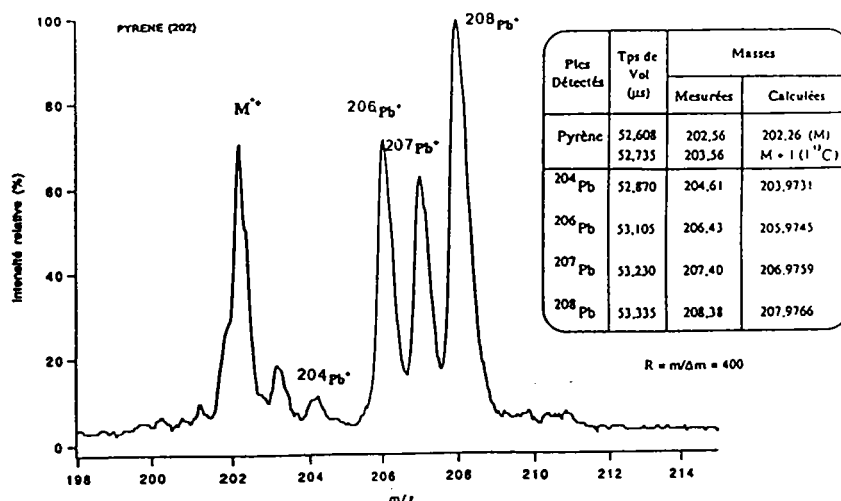
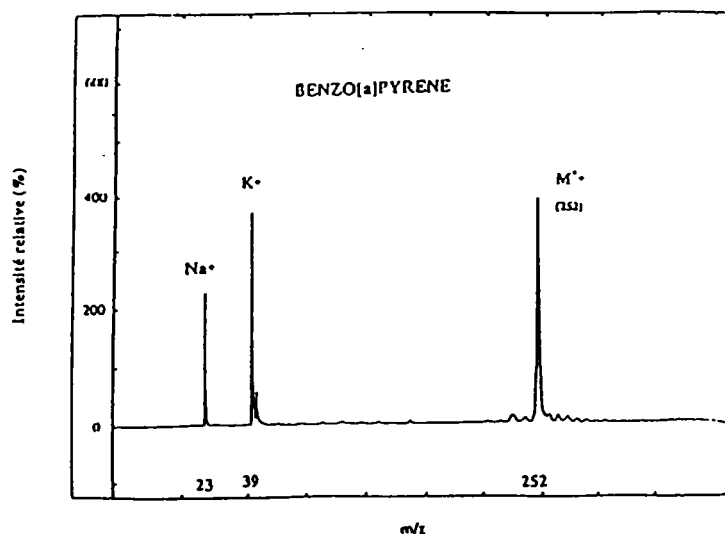


Figure III-42. Spectre LAMMA ($\lambda = 223,2 \text{ nm}$, $I = 10^6 \text{ W/cm}^2$) d'un mélange de pyrène et d'oxyde de plomb PbO.

La puissance laser considérablement abaissée ($I=10^6 \text{ W/cm}^2$) favorise l'apparition des pics de masse observés correspondant aux ions moléculaires positifs $M^{+•}$ de chaque HAP (figures III-43). Ceci est en relation avec les faibles potentiels d'ionisation des HAP (de 6,55 eV à 8,63 eV)(Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 1983) et avec la très grande stabilité thermique des ions correspondants. L'analyse par microsonde laser LAMMA et FT/ICR/MS peut ainsi permettre d'établir la distribution des HAP susceptibles d'être adsorbés sur les particules.



Figures III-43 Analyses LAMMA en mode positif ($\lambda=223,2 \text{ nm}$, $I = 10^6 \text{ W/cm}^2$) du Benzo[a]pyrène.

Le sodium et le potassium sont systématiquement détectés par nos microsondes. En effet, ces éléments résiduels sont présents dans l'atmosphère et leur faible potentiel d'ionisation rend inévitable leur détection. Ces impuretés ne peuvent être en aucun cas considérées comme des contaminants importants des HAP analysés.

II.2.2. Seuil de détection d'un HAP particulier : le Benzo[a]pyrène

D'après des enquêtes épidémiologiques, les HAP ont une action mutagène et cancérigène sur les travailleurs exposés (travailleurs de cokerie, d'aciérie, fabricants de briquettes de charbon, goudronneurs, ...) (Jan Van Schooten et al, 1990 ; Tokiwa et al., 1993).

Or, le groupe des HAP comprend un grand nombre de composés chimiques d'activité cancérigène variable, et dans la très grande majorité des cas, leur cancérigénicité dépend de la teneur en Benzo[a]pyrène (B[a]P), celui-ci étant connu pour être très cancérigène. Il est utilisé comme témoin de pollution (Sabab et al., 1981).

Afin d'obtenir des échantillons homogènes et de concentration en B[a]P connue nécessaire à une détermination de seuil de détection, il est nécessaire de préparer des échantillons standard.

Pour ce faire, nous avons préparé des coupes polymériques dopées en B[a]P.

Dans un premier temps, nous mélangeons aux monomères de la résine (ERL 4206 : vinyl cyclohexène dioxyde ; DMAE : diméthylaminoethanol ; DER 736 : diglycidyle ether de propylène glycol ; NSA : nonenyl succinique anhydre) une quantité connue de B[a]P préalablement dissout dans du benzène bidistillé.

ERL 4206 (résine époxy) :	2,5 ml
DER 736 (additif) :	2 ml
NSA (durcisseur) :	6,5 ml
DMAE (accélérateur) :	0,1 ml
	—————
	11,1 ml

Par dilution avec les monomères de la résine "spurr", nous avons préparé un certain nombre de solutions à diverses concentrations en B[a]P (1, 10, 50, 100 et 200 ppm) déposées ensuite dans de petits moules souples.

Ces derniers sont ensuite mis à polymériser pendant 12 heures dans une étuve régulée à 80 °C. Suite à cette opération, nous laissons durcir les gélules une huitaine de jours.

Le choix de la résine "spurr" pour préparer nos échantillons standards a été fait pour plusieurs raisons:

- la résine "spurr" est bien décrite dans la littérature (Glauert, 1975). Ainsi, il est possible en modifiant les proportions des divers constituants dans la conception de la résine de faire varier sa dureté et ce, jusqu'à l'obtention des duretés optimales désirées.

- les monomères de cette résine ont des coefficients de viscosité très faibles ; de ce fait, l'homogénéisation des solutions est beaucoup plus sûre et plus rapide.

- enfin, l'étude de ce type de résine est très utile pour les analyses réelles d'inclusions biologiques (cellules par exemple).

Pour finir, les blocs de résine obtenus sont coupés par ultramicrotome. Aussitôt faites, les coupes flottent sur le plan d'eau d'un réservoir situé juste au dessous du fil du couteau. Elles sont ensuite récupérées à l'aide d'un fil de soie et déposées sur des grilles classiques utilisées en spectrométrie LAMMA. Nous avons ainsi des grilles sur lesquelles y sont déposées 4 à 6 coupes d'épaisseur 0,2 μm .

Ce mode de découpage des blocs de résine a un inconvénient non négligeable dû à l'impossibilité de contrôler la diffusion éventuelle du B[a]P dans l'eau avant le repêchage des coupes.

Une fois les grilles élaborées, nous avons procédé à l'analyse de chacune des coupes correspondant aux différentes concentrations de B[a]P par microsonde laser LAMMA à $\lambda = 223,2 \text{ nm}$.

Sur la figure III-44, chaque point représente la moyenne de 50 spectres individuels pour une concentration en B[a]P donnée. Le coefficient de régression linéaire est égal à 95 %. Il est donc possible avec notre microsonde laser LAMMA de faire la détection de faible concentration en B[a]P (1 ppm) et d'établir une corrélation entre la concentration en B[a]P et l'intensité du signal obtenu lors de l'analyse LAMMA.

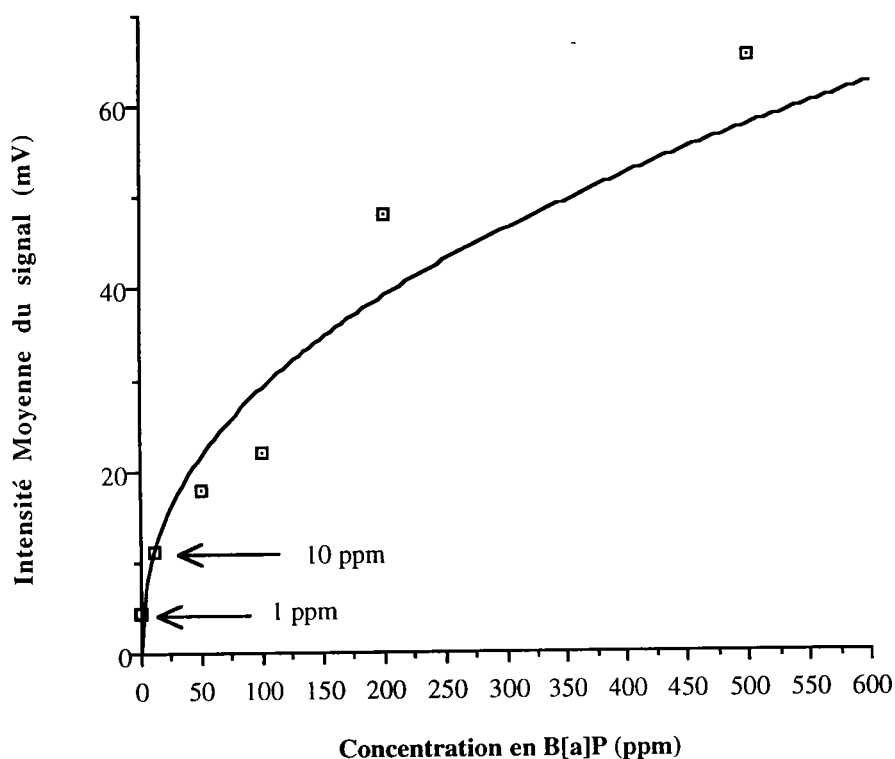


Figure III-44. Intensité moyenne du signal en fonction de la concentration en B[a]P ($\lambda = 223,2$ nm).

II.2.3. Poussières de la halle d'une aciérie

L'étendue des pertes pour les HAP présents dans les poussières en suspension dans l'air, lors du transport de la source d'émission vers l'emplacement du prélèvement dépend de plusieurs paramètres :

- le temps de séjour dans l'atmosphère de l'aciérie,

- la lumière. Les dégradations photochimiques des molécules polyaromatiques peuvent donner lieu à des réactions de substitution, d'élimination, d'oxydation et de dimérisation (Behymer et al., 1988 ; Yockley et al., 1986),

- la taille et la composition chimique des particules "transport" (Korfmacher et al., 1980 ; Dlugi et al., 1983),

- la température de l'air ambiant. A 25 °C, les HAP tricycliques se trouvent principalement à l'état gazeux, les HAP à 4 ou 5 cycles sont présents dans les deux phases, particulaire et gazeuse et les HAP à 6 cycles et plus sont presque exclusivement à l'état particulaire.

- la tension de vapeur du composé (tableau III-6) :

HAP	Tension de vapeur à 25 °C (en atm.)
Phénanthrène	$1,6 \cdot 10^{-7}$
Anthracène	$7,9 \cdot 10^{-9}$
Fluoranthène	$1,2 \cdot 10^{-8}$
Pyrène	$5,9 \cdot 10^{-9}$
Benzo[a]pyrène	$7,2 \cdot 10^{-12}$
Benzo[e]pyrène	$7,3 \cdot 10^{-12}$
Benzo[k]fluoranthène	$2,4-3,6 \cdot 10^{-12}$
Benzo(ghi)pérylène	$1,3 \cdot 10^{-13}$
Coronène	$1,9 \cdot 10^{-15}$

Tableau III-6. Tension de vapeur de quelques HAP (Sonnenfeld et al., 1983).

Les spectres des figures III-45 et III-46 permettent d'apprécier la potentialité de la microsonde laser pour la caractérisation des particules individuelles :

- d'une part, l'analyse qualitative et semi-quantitative pour l'identification et l'estimation à la fois de la matrice et des éléments à l'état de trace, sachant que dans ces conditions les composés du fer sont privilégiés.

- d'autre part la répartition des différents HAP adsorbés sur les particules.

Pour un lot de poussières de granulométrie 0,7-1,1 μm , provenant d'une part du trou de coulée et d'autre part de la halle des réfractaires, des composés aromatiques polycycliques ont été détectés ($\lambda=278,8 \text{ nm}$) sur différents types de support particulaire, dans les mêmes conditions opératoires.

Les HAP adsorbés sur des particules d'oxyde de fer (figure III-45) sont principalement de masse $m/z = 216$ (benzo[a]fluorène + isomères), $m/z = 228$ (benzo[a]anthracène + isomères), $m/z = 252$ (benzo[a]pyrène + isomères), $m/z = 276$ (benzo[ghi]pérylène + isomères), $m/z = 300$ (coronène).

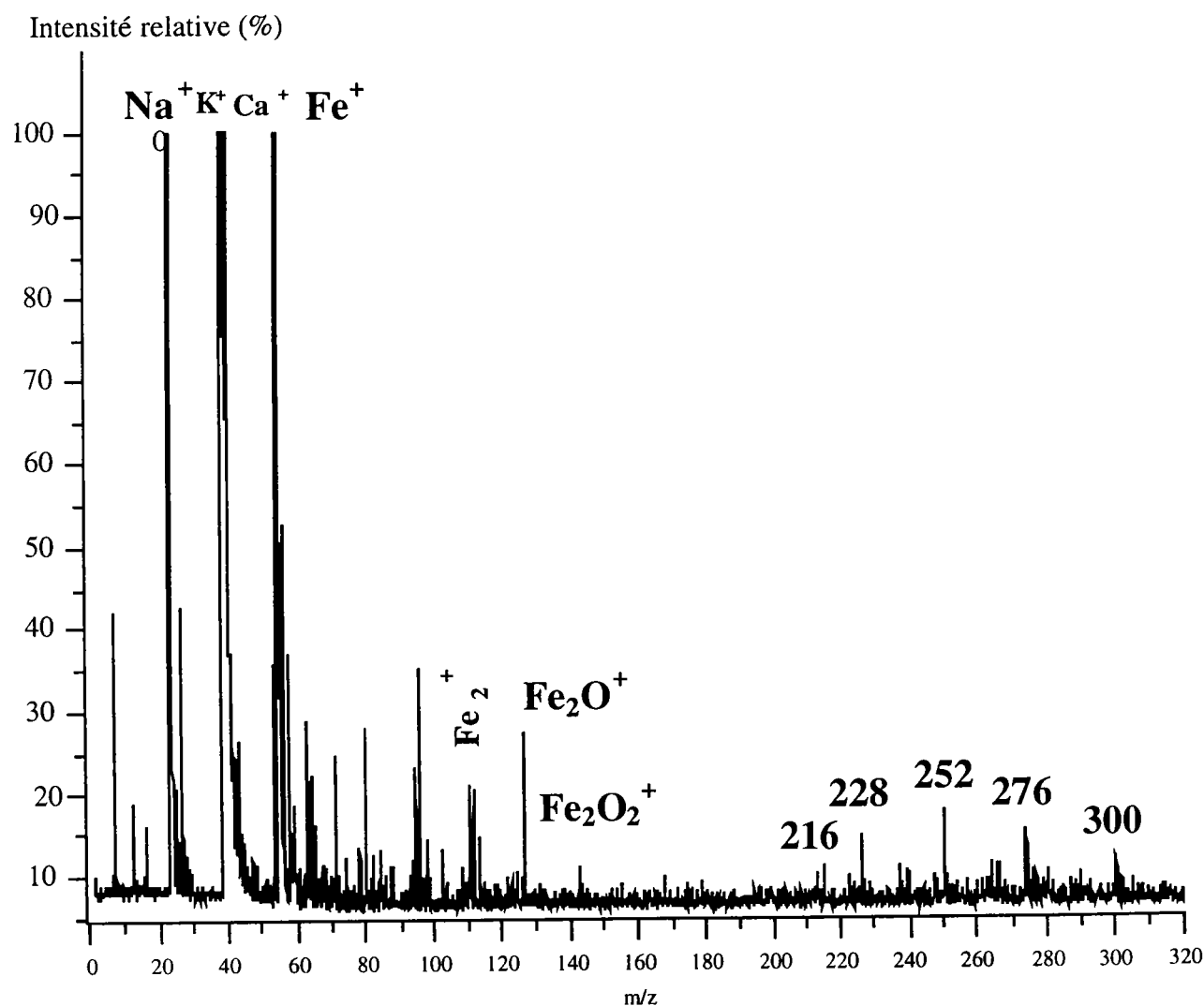


Figure III-45. Spectre LAMMA ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs d'une particule de diamètre 0,7-1,1 μm recueillie dans la halle des réfractaires.

Le calcul du rapport $\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+$ égale à 0,52 nous laisse à penser qu'il s'agit de particules riches en oxyde de fer Fe_3O_4 .

Sur les poussières riches en calcium (figure III-46), nous retrouvons la présence de ces mêmes HAP avec toutefois l'apparition majoritaire du pic de masse $m/z = 252$.

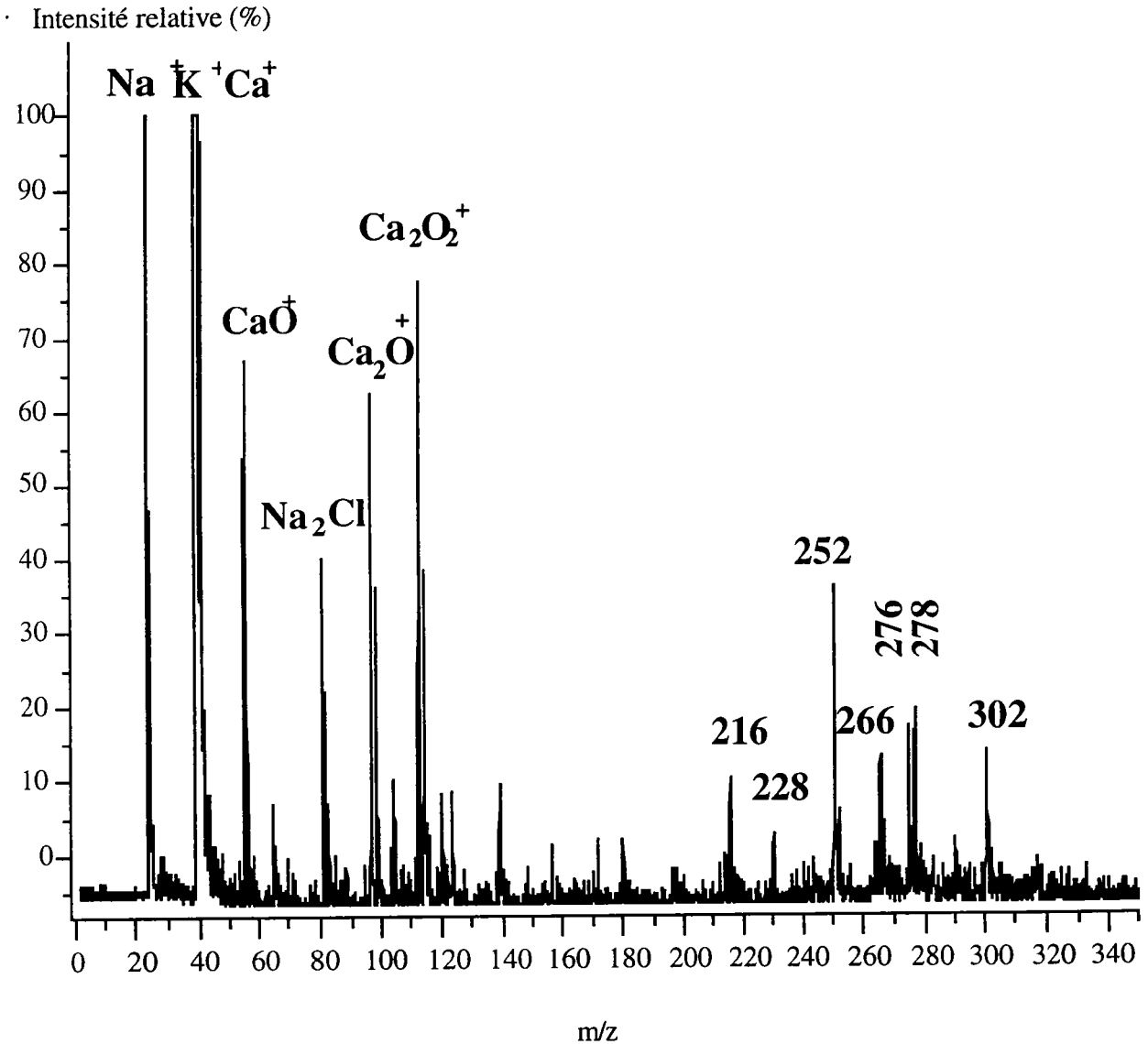


Figure III-46. Spectre LAMMA ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs d'une particule de diamètre 0,7-1,1 μm recueillie sur la coulée continue.

Nous voyons que le benzo[a]pyrène ($m/z = 252$) est préférentiellement adsorbé sur les particules salines avec une intensité multipliée par 3,5 par

rapport à celle indiquée sur le spectre III-45. Ces résultats montrent ainsi que les HAP sont notamment adsorbés sur des poussières de fine granulométrie et qui peuvent être, de surcroît, riches en oxyde de fer. Ceci peut avoir des implications au niveau de la réactivité des HAP et particulièrement au niveau biologique.

La détection de ces différents HAP a été améliorée par l'utilisation d'une longueur d'onde égale à 223,2 nm (figure III-47) favorisant une ionisation par un processus biphotonique. L'originalité de cette étude est due essentiellement à l'abaissement de la longueur d'onde d'irradiation du faisceau laser. Cette particularité entraîne une diminution notable des seuils d'énergie nécessaire à la désorption des HAP, et ce quelle que soit la matrice d'adsorption, ainsi qu'une ionisation sélective et spécifique des composés en surface. A des irradiances très faibles, les particules de petites tailles ($< 5 \mu\text{m}$) ne sont pas nécessairement éjectées de la grille et peuvent ainsi donner lieu à un spectre. Ce résultat s'avère particulièrement important pour une caractérisation rapide des molécules organiques adsorbées sur une matrice et montre la potentialité de la microsonde laser LAMMA 500 pour la caractérisation de poussières potentiellement toxiques.

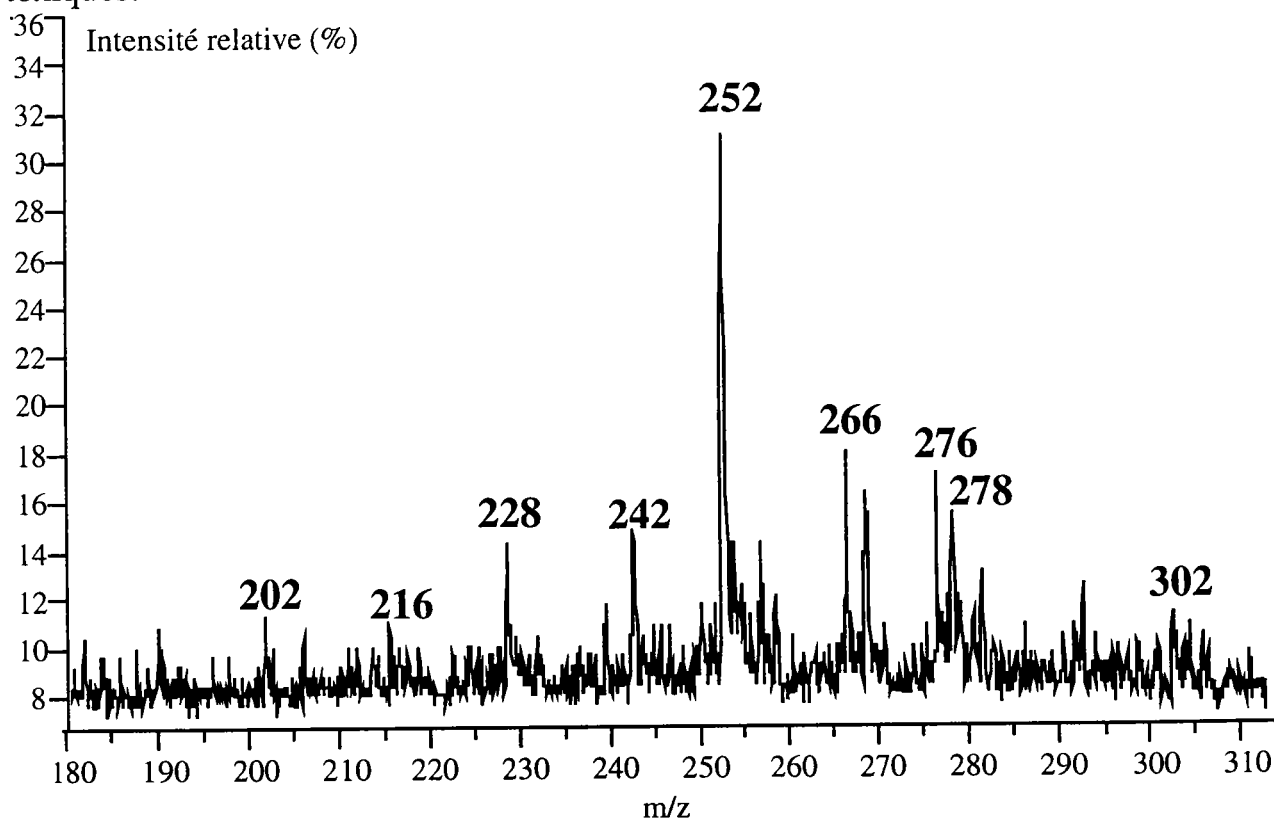


Figure III-47. Spectre LAMMA (223,3 nm, $I = 10^6 \text{ W/cm}^2$) en ions positifs d'une particule de diamètre 0,7-1,1 μm recueillie dans la Halle de réfractaires.

Nous avons dressé un tableau récapitulatif dans lequel apparaissent pour chacun des spectres III-45, III-46 et III-47 les intensités en mV des pics de masse correspondant aux HAP détectés (tableau III-7) :

	Intensité en mV des HAP détectés									
Masses	202	216	228	242	252	266	276	278	300	302
Spectres										
III-45	/	2,56	4,86	/	6,65	2,81	5,12	/	3,07	/
III-46	/	7,68	3,07	/	23,55	9,47	12,03	13,31	/	9,98
III-47	1,53	2,56	4,60	4,86	14,84	6,91	6,4	5,37	/	3,58

Tableau III-7. Intensité en mV des HAP détectés au niveau des poussières industrielles.

Ces résultats ont été confirmés par spectrométrie de masse à Transformée de Fourier (FT/ICR/MS) à 248 nm (figure III-48).

A noter que la présence du plomb, comme élément contaminant, a été mise en évidence sur les trois sites de prélèvements ainsi que le coronène dans la distribution des HAP. La proximité de routes avec un trafic automobile régulier pourrait être une explication à cette détection.

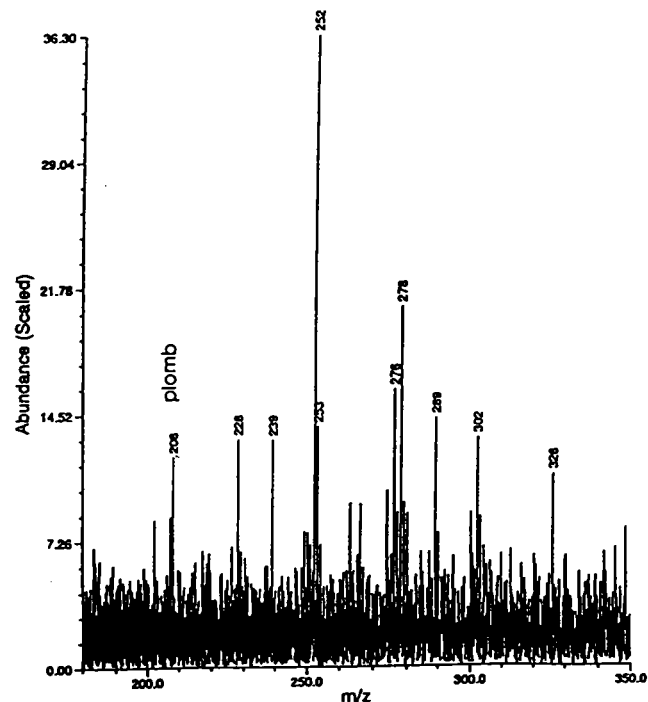


Figure III-48. Spectre FT/ICR/MS ($\lambda=248$ nm, $I = 10^6$ W/cm²) en ions positifs d'une particule de diamètre 0,7-1,1 μ m recueillie dans la Halle des réfractaires.

A ce stade, il convient de rappeler que la spectrométrie de masse est une technique qui ne nous permet pas de déterminer les différents isomères de chaque HAP présent dans les poussières. En effet, pour chaque pic moléculaire, un seul composé représentatif a été mentionné sachant qu'il peut en exister de nombreux autres. 16 isomères de masse moléculaire 252 sont ainsi possibles parmi lesquels nous pouvons citer par exemple : le pérylène, le benzo[a]pyrène, le benzo[e]pyrène, le cyclopenta[de]naphtacène et le benzo[k]fluoranthène.

Aussi, les études menées par GC/FID nous ont permis d'une part de vérifier et de confirmer la présence de certains HAP sur les poussières prélevées au niveau de la halle des réfractaires et d'autre part de mettre un nom sur certains des HAP détectés auparavant par microsonde laser LAMMA et FT/ICR/MS. Ainsi, sur l'ensemble des particules, toutes granulométries confondues, la nature des HAP présents sur ces poussières est : pyrène (202), chrysène (228), benzo[a]anthracène (228), méthylbenzo[a]anthracène (242), benzo[j]fluoranthène (252), Benzo[a]pyrène (252), coronène (300), dibenzofluoranthène (302) (Tableau III-8). Cependant, pour que l'identification soit complète, il serait bon d'étudier les temps de rétention de tous les isomères connus pour chaque HAP.

Masses des HAP	HAP détectés par LAMMA et/ou par FTMS
202	Pyrène*
216	Benzo[fluorène, benz[de]anthracène
228	Chrysène*, Benzo[a]anthracène*
242	Méthylbenzo[a]anthracène*
252	Benzo[j]fluoranthène*, Benzo[a]pyrène*, Benzo[e]pyrène*
266	Méthylbenzopyrène, Méthylbenzofluoranthène
276	Benzo[ghi]pérylène, indéno[123cd]pyrène, Anthanthrène.
278	Dibenzo[ah]anthracène
300	Coronène*
302	Dibenzofluoranthène*
326	Dibenzo[aghi]pérylène
350	Benzo[a]coronène

Tableau III-8. Identification et confirmation par GC/FID de la nature de certains HAP adsorbés sur les poussières de la halle des réfractaires (0,4-10 µm) préalablement détectés par microsonde laser LAMMA et FT/ICR/MS. (* : Détection confirmée par GC/FID).

Les techniques de spectrométrie de masse LAMMA et FT/ICR/MS s'avèrent beaucoup plus sensibles que le protocole d'analyse classique GC/FID pour la désorption et la caractérisation de composés aromatiques polycycliques de hautes masses moléculaires. En effet, cette technique d'analyse permet de mettre en évidence l'existence d'autres produits possédant plus de six noyaux aromatiques ($m > 300$). Les raisons essentielles de cette différence de comportement sont les suivantes : i) les tensions de vapeur élevées des composés de masse supérieure à 300 empêchent leur vaporisation dans le chromatographe, ii) l'augmentation du nombre des isomères possible pour les HAP de masse élevée exige une très haute résolution chromatographique ou un moyen de détection particulièrement performant, iii) les faibles rendements d'extraction sur certains supports, les rétentions sur les colonnes chromatographiques ainsi que leur faible solubilité dans les solvants usuels restent les facteurs limitants essentiels.

Par contre, l'analyse chromatographique apparaît être la plus adaptée pour le dosage des composés légers comme l'acénaphène, le naphthalène ou l'acénaphthylène. Leur faible tension de vapeur entraîne très certainement leur sublimation lors de leur mise sous vide dans la chambre d'échantillonnage du spectromètre de masse.

Conclusion

Les études systématiques par LAMMA des composés oxygénés du fer (wüstite $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, hématite Fe_2O_3 et magnétite Fe_3O_4), caractérisées par l'analyse combinée de l'empreinte spectrale et des intensités relatives des agrégats ionisés du fer, ont permis de définir une méthodologie semi-empirique de détermination de deux composés de stoechiométrie différente appliquée ici à l'étude de poussières industrielles (poussières prélevées sur une aciérie, auprès d'un haut fourneau et au niveau de l'agglomération de minerai).

Les études à 266 nm permettent d'évaluer et de caractériser les degrés d'oxydation Fer II et Fer III et ce, par leur empreinte spectrale spécifique obtenue par ionisation laser. Cependant, les énergies nécessaire sont importantes

et provoquent un rapport signal/bruit très faible, diminuant par la même la sensibilité de détection.

Une recherche de différentes longueurs d'onde en mode résonant a été engagée et a débouché sur le choix de la longueur d'onde $\lambda = 293,7$ nm, 344 nm et 278,8 nm. Ainsi, en adoptant ces longueurs d'onde d'irradiation correspondant à des transitions électroniques spécifiques du fer, on abaisse sensiblement le seuil de détection et on inhibe tous les effets de matrices. Ces deux facteurs sont importants dans le cadre de la suite de nos travaux, notamment en ce qui concerne les analyses en milieu cellulaire.

Les intensités relatives des signaux correspondant aux différents ions sont plus importantes que celles obtenues à 266 nm. Cela permet d'émettre l'idée de réactions de collisions dans le plasma entre les ions directement liés au fer et à l'oxygène atomique provenant de l'environnement chimique du fer dans la molécule mère. On établit donc une relation entre la valence du fer et les intensités relatives des ions et agrégats ionisés formés.

Le traitement des données LAMMA par Analyses en Composantes Principales, découlant des analyses des oxydes de fer, montre la possibilité d'une discrimination au niveau de ces oxydes et a permis de confirmer d'une façon statistique (par les axes) les différences observées directement sur les spectres LAMMA. Cependant, ces analyses nous ont montré que la discrimination entre Fe_3O_4 et Fe_2O_3 reste délicate.

Les analyses effectuées par microsonde laser LAMMA en mode d'ionisation positif à 278,8 nm sur les poussières industrielles ont révélé l'existence de types de particules ayant des compositions chimiques différentes :

- des poussières riches en sodium, potassium, calcium et aluminium,
- des poussières constituées d'oxydes de fer Fe_2O_3 et Fe_3O_4 .

Ces études ont également montré la présence de HAP adsorbés sur ces différentes poussières. La détection de ces HAP a été améliorée par l'utilisation d'un laser ionisant de plus faible longueur d'onde (223,2 nm). Cela entraîne une diminution notable des seuils d'énergie nécessaire à la désorption des HAP, et ce

quelle que soit la matrice d'adsorption, ainsi qu'une ionisation sélective et spécifique des composés en surface.

Les principaux HAP détectés et dont la présence a été confirmée par GC/FID sont : pyrène, chrysène, benzo[a]anthracène, méthylbenzo[a]anthracène, benzo[j]fluoranthène, benzo[a]pyrène, benzo[a]e]pyrène, coronène, dibenzofluoranthène.

La présence de HAP tel que le benzo[a]pyrène a été confirmée sur des poussières de fine granulométrie en concentration non négligeable d'oxyde de fer. De plus, l'application de notre méthodologie sur la détermination du degré d'oxydation du fer montre qu'il s'agirait de Fe_2O_3 et/ou de Fe_3O_4 .

Les microsondes laser LAMMA et FT/ICR/MS apparaissent comme des techniques sensibles et rapides pour la détermination du degré d'oxydation du fer dans des matrices complexes telles que des poussières issues de l'environnement sidérurgique et pour l'identification des molécules organiques (HAP) susceptibles d'y être absorbées.

Des études par ionisation/désorption laser assistée par matrice (MALDI) ont également été entreprises par d'autres équipes de recherche notamment sur les adduits finaux de certains HAP et plus particulièrement sur le 7R,8S,9S-trihydroxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo[a]pyrène (Stemmer, 1994). La caractérisation de cet adduit, lié à un groupement déoxyguanosyl 3'-phosphate, a été faite par MALDI-FT/ICR/MS au moyen d'un laser ionisant à 355 nm. L'utilisation de différentes matrices permet de fragmenter plus ou moins la molécule cible. Par conséquent, la technique MALDI-FT/ICR/MS paraît tout à fait prometteuse pour la détection in situ des métabolites directement au niveau cellulaire ou directement au niveau de brins d'ADN préalablement extraits du milieu cellulaire.

Ces recherches sont pour nous une base de travail afin d'amorcer, au sein de notre laboratoire, la mise au point d'un protocole qui nous permettra d'arriver à la détection et à la caractérisation de plusieurs adduits finaux de certains HAP, d'une part en solution standard et d'autre part en milieu intracellulaire.

Bibliographie

Behymer T.D., Hites R.A., **1988**. *Environ. Sci. Technol.*, 22, p 1311.

Chertihin G.V., Saffel W., Yustein J.T., Andrews L., Neurock M., Ricca A., Bauschlicher C.W., **1996**. *J. Phys. Chem.*, 100(13), p 5261.

Cody R.B., Freiser B.S., **1982**. *Int. J. of Mass Spectrometry and Ion Physics*, 41, p 199.

CRC Handbook of Chemistry and Physics, **1985**. 65th edition, p E-328.

Dewar M.J.S., Thiel W., **1977**. *J. Am. Chem. Soc.*, p 2338.

Dlugi R., Gusten H., **1983**. *Atmos. Environm.*, 17(9), p 1765.

Fredeen D.J.A., Russell D.H., **1985**, *J. Am. Chem. Soc.*, 107, p 3762.

Glauert A.M., **1975**. *Practical methods in electron Microscopy*, North-Holland Publishing Company, Amsterdam . Oxford ; American Elsevier Publishing CO., INC.- New York.

Gobert O., Gibert T., Dubreuil B., **1991**. *J. Appl. Phys.*, 70(12), p 7602.

Hachimi A., Millon E., Poitevin E., Muller J.F., **1993**. *Analisis*, 21, p 11 .

Hachimi A., Poitevin E., Krier G., Muller J.F., Pironon J., Klein F., **1993**. *Analisis*, 21, p 77.

Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, **1983**. Ed. Bjorseth A., Marcel Dekker, INC, New York et Bâle, p 302.

Jacobson D.B., Freiser B.S., **1986**. *J. Am. Chem. Soc.*, 108, p 27.

Jan Van Schooten, Van Leeuwen F.E., Hillebrand M.J.X., De Rijke M.E., Hart A.A.M., Van Veen H.G., Oosterink S., Kriek E, **1990.** *J. Natl. Cancer. Inst.*, 82, p 927.

Johann L., Stuck R., Kern Ph., Sipp B., Siffert P., **1993.** *Applied Surface Science*, 63, p 75.

Kormacher W.A., Werhy E.L., Mamantov G., Natusch D.F.S., **1980.** *Environ. Sci. Technol.*, 14(9), p 1094.

Maunit B., Hachimi A, Calba P.J., Krier G., Muller J.F., **1995.** *Rapid Comm. in Mass Spectrom.*, 9, p 225.

Mele A., Consalvo D., Strange D., Giardini A., Teghil R., **1990.** *Int. J.. Mass. Spectrom. Ion. Processes.*, 95, p 359.

Michiels E., Gijbels R., **1984.** *Anal. Chem.*, 56, p 1115.

Muranyi-Kovacs I, **1992.** *Initiation à la prévention des Risques Chimiques*, I.N.S.E.R.M.

Musselman I.H., Linton R.H., Simons D.S., **1988.** *anal. Chem.*, 60, p 110.

Operti L., Tews E.C., Mac Mahon T., Freiser B.S. , **1989.** *J.Am. Chem. Soc.*, 111, p 9152 .

Pan Y.H. and Ridge D.P., **1992.** *J. Am. Chem. Soc.*, 114, p 2773 .

Parent D.C., Mc Elvany S.W., **1989.** *J. Am. Chem. Soc.*, 111, p 2393 .

Rossmann T.G., Molina M., Meyer L.M., **1984.** *Environ. Mutagenesis.*, 6, p 59 .

Sabab L.M., Janyseva N.J.A., **1981.** *Giigiiena Truda*, URSS, 6, p 29 (traduction I.N.R.S.)

Schröder D., Schwarz H., **1995.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 34, p 1973.

Sonnefeld W.J., Zoller W.D., May W.E., **1983.** *Anal. Chem.*, 55, p 257.

Stemmer E.A., **1994.** *Anal. Chem.*, 66, p 1274.

Tokiwa H., Sera N., Horikawa K., Nakanishi Y., Shigematu N., **1993**. *Carcinogenesis*, 14, p 1933.

Turro N.J., Chow M.F., Rigaudy J., **1979**. *J. Am. Chem. Soc.*, 101(5), p 1300.

Verdun F., Muller J.F., Klein F., Sowa L., Petit P., **1986**. *Pollution Atmosphérique*, p 257.

Wasserman H.H., Scheffer J.R., Cooper J.L., **1972**. *J. Am. Chem. Soc.*, 94(14), p 4991.

Whetten R.L., Cox D.M., Trevor D.J., Kaldor D.R., **1985**. *J. Phys. Chem.*, 89, p566.

Yockley R.A., Garrison A.A., Wehry E.L., Mamantov G., **1986**. *Environ. Sci. Technol.*, 20, p 86.

Chapitre IV

A. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA REACTIVITE CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DU FER ET DE SES OXYDES $Fe_{1-8}O$, Fe_3O_4 , Fe_2O_3

I. Fer et viabilité cellulaire

Le fer est un élément essentiel aux organismes vivants, il est impliqué dans de nombreuses réactions nécessaires à la viabilité et à la multiplication cellulaire. C'est un métal important au fonctionnement d'enzymes de la chaîne respiratoire (cytochromes) et du métabolisme oxydatif (péroxydase, mono- et di-oxygénases) (Dhur et al., 1990, Nemery, 1990). Il intervient également en tant que cofacteur de la ribonucléotide réductase, enzyme dont la fonction importante est de catalyser la réduction de nucléotides en désoxyribonucléotides, passage obligé pour la synthèse de l'ADN (Sussman et al., 1992). Chez un homme et une femme adulte, la teneur en fer est respectivement égale à 55 et 45 mg par kilogramme (Fontecave et al., 1993). L'hémoglobine compte pour 60 - 70 % du total du fer du corps tandis que la myoglobine, les cytochromes et autres enzymes en renferment un peu plus de 10 %. Les 20 - 30 % restant sont également distribués entre les protéines (ferritine) et les produits de dégradation lysosomiaux.

II. Incorporation cellulaire du fer

Le fer sous forme oxydée Fe^{3+} est peu soluble au pH physiologique. Chez les vertébrés, il existe un système de protéines spécifiques permettant la solubilisation et le transport du fer trivalent. Le transport extracellulaire est assuré par la transférine alors que le stockage intracellulaire est réalisé quant à lui sous forme de ferritine (Kretchmar Nguyen et al., 1993, Ryan 1992).

La membrane plasmique est pourvue de récepteurs à la transférine qui vont capter le complexe ferrotransférine (fer + transférine) (Darnell et al.,

1989, Weinberg, 1990). Puis, par un mécanisme d'endocytose, le fer est incorporé au milieu intracellulaire en fonction des besoins de la cellule (figure IV-1). C'est le principal mécanisme d'incorporation du fer à la cellule.

Ainsi, le fer intracellulaire est réparti sous deux formes :

- associé à la ferritine pour la majeure partie,
- sous forme d'un complexe soluble de faible poids moléculaire en faible quantité. Ce complexe constituerait la fraction active du fer intracellulaire et serait régulateur de métabolisme de ce métal (Sussman, 1992).

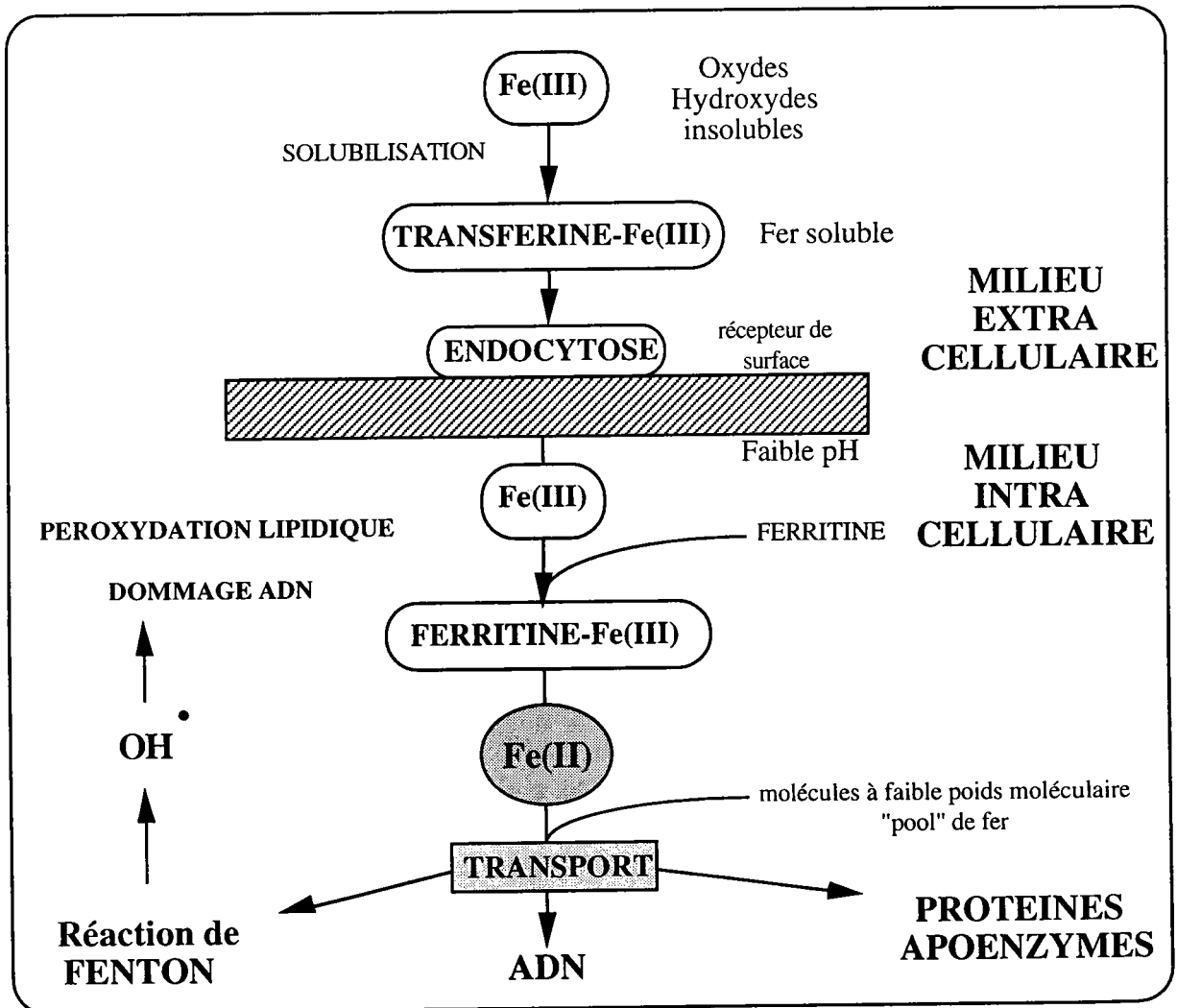


Figure IV-1. Mécanisme d'incorporation cellulaire du fer (De Silva, 1996).

III. Fer, stress oxydant et génotoxicité

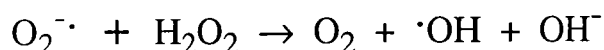
Au plan biologique, l'accessibilité des particules aux différents niveaux de l'appareil respiratoire est déterminée par leur diamètre aérodynamique (d_{ae} : diamètre d'une sphère de densité 1 ou de masse volumique de 1 g/cm^3 , dont la vitesse limite de chute est identique à celle de la particule). Les particules les plus grosses, de diamètre aérodynamique moyen $d_{ae} > 10 \text{ }\mu\text{m}$ sont retenues par filtration et impaction au niveau du nez et des voies aériennes supérieures. Les particules ayant un d_{ae} compris entre 2 et $10 \text{ }\mu\text{m}$ se déposent selon d'autres mécanismes (impaction et interception) au niveau de l'arbre trachéobronchique d'où elles pourraient être éliminées par clearance (coefficient d'épuration) mucociliaire et la toux. Au niveau des voies aériennes terminales et des alvéoles pulmonaires, les particules les plus petites ($d_{ae} < 3 \text{ }\mu\text{m}$) se déposent en partie par sédimentation et diffusion car la vitesse du courant aérien est quasiment nulle ; elles peuvent alors être phagocytées par les macrophages alvéolaires (Petit Coviaux et al., 1990). Ainsi l'élimination des particules déposées au niveau des alvéoles pulmonaires (ou fraction "alvéolaire") est principalement assurée par ces cellules spécialisées, dont le rôle est de phagocyter puis détruire ou transporter les corps étrangers vers "l'escalator" mucociliaire. Une fraction du matériel sera ainsi éliminée vers le système lymphatique et pleural par des macrophages migrant au travers de l'interstitium (tissu conjonctif de soutien d'un organe).

Des mécanismes d'activation du macrophage le conduisent à relarguer des facteurs de chimiotactisme (fibronectine ...) et à produire une batterie de plus de 100 médiateurs cellulaires qui peuvent stimuler l'activation ou la prolifération des autres cellules inflammatoires ou du fibroblaste (cellules précurseur du tissu conjonctif).

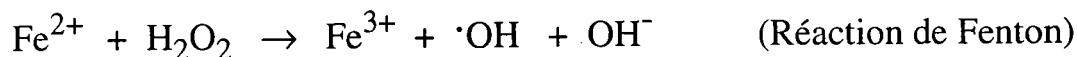
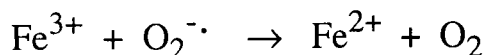
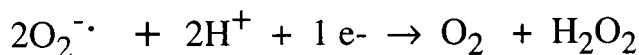
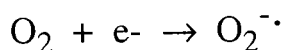
En complément à ces différents mécanismes, il est important de rappeler que le macrophage relargue des espèces activées de l'oxygène hautement réactives tels que le radical hydroxyle $\cdot\text{OH}$ ou l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$. Selon Zalma et al. (1989) et Olakanmi et al. (1993), l'anion superoxyde $\text{O}_2^{\cdot-}$ se formerait par capture d'un électron célibataire par O_2 moyennant un apport d'énergie.

En présence d'ions H^+ , l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ subit in vitro une réduction spontanée de dismutation avec formation d'oxygène moléculaire O_2 et de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 .

L'effet destructeur de $O_2^{\cdot-}$ pourrait indirectement s'exercer in vivo. En effet, en présence de H_2O_2 , l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ serait le précurseur du radical hydroxyle $\cdot OH$ (pouvoir oxydant important) suivant la réaction dite de Haber-Weiss (Borel et al., 1987, Van Lente, 1993).



Une autre réaction, voisine, permet de mieux comprendre certains effets de l'ion superoxyde dans les tissus : c'est la réaction de Fenton, qui nécessite la présence des ions Fe^{2+} . C'est une suite de réactions de radicaux libres :



Cette dernière réaction peut se produire in vivo puisque l'ion Fe^{2+} est très répandu dans les tissus. Ainsi, le relargage du radical hydroxyle $\cdot OH$, très réactif et très toxique, apparaît comme l'entité pouvant initier les mécanismes radicalaires de peroxydation lipidique. Cette oxydation radicalaire attaque préférentiellement des lipides membranaires des protéines et des acides nucléiques et conduit à une altération profonde des membranes et du métabolisme cellulaire avec, *in fine*, la mort des cellules.

Outre le fait que la réaction de Fenton ne peut exister sans la présence d'ions Fe^{2+} comme catalyseur, Fuhrman (1994) a montré que les ions Fe^{2+} peuvent catalyser la peroxydation lipidique sur des macrophages intacts sans toutefois conduire à la mort cellulaire. En effet, lorsqu'une culture de macrophages est exposée aux ions Fe^{2+} (50 μM FeSO_4) pendant 4 heures à 37 °C, la peroxydation lipidique cellulaire des cellules augmente de deux à quatre fois plus par rapport à des cellules macrophages non-traitées. Cependant, la viabilité cellulaire et la morphologie des cellules ne semblent pas être affectées par ce stress oxydant induit.

III.1. Etudes épidémiologiques

Le poumon est la cible privilégiée des agents toxiques présents dans l'environnement industriel. En milieu professionnel, trois types de pathologie pulmonaire peuvent être associés à l'inhalation d'aérosols gazeux ou particulaires : les maladies allergiques (asthme, alvéolite), les maladies dégénératives (pneumoconiose, fibrose, emphysème) et le cancer broncho-pulmonaire.

Si des toxiques tels que le chrome ou le benzo[a]pyrène sont reconnus comme cancérogènes pulmonaires, d'autres aérocontaminants font encore l'objet de controverses et c'est notamment le cas des oxydes de fer. L'exposition aux poussières d'oxydes de fer est répandue dans le monde industriel et concerne notamment les mines de fer, les ouvriers de fonderies et aciéries et les soudeurs.

Durant ces quarante dernières années, de nombreuses études épidémiologiques ont été menées afin d'établir s'il y avait un excès de cancers du poumon parmi les travailleurs d'environnement divers tels que les ateliers de soudures, les aciéries et les extractions de minerai de fer dans les mines.

Une étude épidémiologique réalisée à Taïwan sur une population de 21153 hommes suivis pendant 10 ans a montré un risque de cancer plus important chez les sujets dont le taux de fer intracellulaire était élevé (Stevens et al., 1986).

En 1955, les travaux de Bonser et al. ont révélé une fréquence de cancers bronchiques multipliée par 5 par rapport à un groupe témoin dans la population du West-Cumberland. Les auteurs attribuent cette augmentation à l'association oxyde de fer -silice dans les poussières d'extraction minière (le minerai d'hématite du West-Cumberland est riche en silice libre). Ces études ont été confortées par des travaux effectués sur une période de 22 ans parmi la population des mineurs d'hématite du West-Cumberland et qui ont également montré une augmentation du taux de cancers bronchiques de 4,4 % en 1947 à 14,6% en 1953 (Faulds et al., 1956).

En France, les études statistiques réalisées en 1960 au centre anticancéreux de Lorraine montrent que les cancers pulmonaires chez les mineurs de fer représentent 13,3 % de l'ensemble des cancers du poumon traités (les mineurs ne représentent que 4,5 % de la population active). Ces travaux semblent indiquer que le cancer du poumon est une affection nettement plus fréquente chez le mineur de fer que dans les autres professions du bassin de Lorraine (Braun et al., 1960, Roussel et al., 1960)

D'autres études effectuées en lorraine (Mur et al., 1987, Pham et al., 1976, Pham et al., 1977) ont permis de recenser sur un plan épidémiologique les principaux facteurs cancérigènes suspectés :

- la nature physique des poussières : l'inhalation prolongée de poussières, quelle que soit sa nature chimique, peut à terme et de façon non spécifique contribuer à la survenue d'un cancer.

- la nature chimique de la poussière : l'hématite n'est pas habituellement considérée comme un cancérigène expérimental. Costa et al. (1989) ont montré que les oxydes de fer Fe_3O_4 (magnétite) et Fe_2O_3 (hématite) étaient inactifs quant à l'oxydation de HCO_2^- en radicaux $\text{CO}_2^{\cdot-}$.

Les travaux de Dalal (1995) ont mis en évidence le fait que l'apparition de pneumoconioses chez les mineurs de charbon serait due au potentiel qu'ont les poussières de mines à générer des radicaux oxygénés. Selon l'auteur, ces radicaux seraient liés à la concentration en fer du charbon. Plus la concentration en fer est élevée dans les poussières de mine, plus la probabilité d'une augmentation de pneumoconiose serait grande. Toutefois, ces résultats

sont à prendre avec prudence compte tenu du nombre de mines de charbon (5 mines en Virginie et 1 dans l'Utah) sur lesquelles ont été menées les études.

Sur le plan étiopathogénique, si la communauté scientifique s'accorde à reconnaître le travail souterrain de ces mines comme étant un facteur de risque de cancer broncho-pulmonaire, elle reste prudente quant au rôle cancérigène propre des oxydes de fer en raison de la présence d'autres aérocontaminants dans les atmosphères de travail.

Ainsi, le radon et ses produits de filiation sont très souvent retenus comme cancérigènes potentiels (Battista et al., 1988). A côté de cela, d'autres nuisances sont invoquées dans les processus de cancérogenèse pulmonaire des mineurs de fer : silice, hydrocarbures aromatiques polycycliques , NOx (Chau et al., 1993 ; Mur et al, 1987).

Enfin, la consommation tabagique ajoute toujours des difficultés supplémentaires dans l'interprétation des résultats.

Cependant, l'épidémiologie, bien qu'elle apporte des réponses globales sur les risques encourus par les travailleurs, apparaît impuissante à donner des réponses un peu plus précises à des questions du type :

- Quels sont parmi les composés du fer ceux qui sont effectivement cancérigènes ou peuvent induire une cancérogenèse?

- Qu'elle est la nature des cancérigènes dans un certain nombre de sites où il y a excès de cancer de poumon ?

Par ailleurs, les épidémiologistes rencontrent des difficultés parmi lesquelles le coût des études, la difficulté d'obtenir la collaboration des employeurs, la diversité des expositions, la difficulté à reconstituer l'histoire professionnelle des individus et même leur cause de décès, ne sont pas les moindres.

Toujours est-il qu'il est difficile pour les épidémiologistes de donner une identification précise des composés à l'origine de certains excès de cancer.

Nous voyons ainsi qu'il serait hasardeux d'affirmer de façon catégorique que le fer peut être incriminé comme un agent cancérigène préférentiel.

III.2. Toxicité du fer

III.2.1. au niveau cellulaire

Des cas de sarcomes ont été rapportés sur des personnes ayant suivi un traitement par du fer (complexe fer-dextran (Imféron) et fer-sorbitol avec un complexe d'acide citrique) en injection intramusculaire (Greenberg, 1976, Robertson et al., 1977).

Des études sur des amiantes plus ou moins riches en fer ont montré que la disponibilité biologique du fer sur la surface des amiantes serait un facteur majeur dans la production de radicaux oxygénés mesurés par ESR (Electron Spin Resonance) (Vallyathan et al., 1992).

D'autres auteurs (Siegers et al., 1991) ont trouvé une augmentation significative des tumeurs du côlon chez des souris traitées par la diméthylhydrazine (20 mg/kg en injection sous cutanée, une fois par semaine pendant dix semaines) et dont la nourriture était supplémentée en fer (fumarate de fer 0,5%-3,5%). Toutefois, il est bon de noter que la diméthylhydrazine est suspectée comme pouvant être un agent cancérigène.

Rudd et al. (1990) ont montré une diminution des clones des lymphocytes T ainsi que du nombre de précurseurs lymphocytaires pour des concentrations allant de 0,03 à 1 mM en fer Fe^{3+} sous forme de citrate au niveau cellulaire.

L'inhalation par des lapins mâles de concentrations faibles en fer ($1,4 \pm 0,7 \text{ mg/m}^3$) ou fortes ($3,1 \pm 1,8 \text{ mg/m}^3$) sous forme de FeCl_3 et ce, pendant 2 mois, 5 jours par semaine et 6 heures par jour, a conduit dans le second cas à une augmentation du nombre des macrophages alvéolaires dont les lysosomes renferment des inclusions particulièrement riches en fer. Il y a également une augmentation significative de la quantité totale des phospholipides

pulmonaires (lipides combinés à l'acide phosphorique sous forme estérifiée ; ces phospholipides sont des constituants importants des cellules vivantes, notamment au niveau de la membrane cellulaire) ainsi que du nombre de cellules de type II. (cellules épithéliales pulmonaires dont le rôle est la sécrétion de surfactant au niveau alvéolaire). Ainsi, le fer affecterait principalement les macrophages alvéolaires et les effets du fer suggèrent que ce dernier affecte aussi le catabolisme du surfactant pulmonaire (Johansson et al. 1992).

III.2.2. au niveau des brins d'ADN

Des cassures "simple brin" de la molécule d'ADN et des échanges au niveau des chromatides (SCE : Sister Chromatid Exchanges) ont été mis en évidence, in vitro, sur des cellules V 79 d'hamsters de Chine, traités par du fer complexé à l'acide nitrilotriacétique $C_6H_9NO_6$ (Fe-NTA), avec des concentrations allant de 250 μM à 100 μM pendant des temps d'incubation de 24 à 72 heures (Hartwig et al., 1993).

Afin d'examiner les mécanismes possibles de l'activité carcinogène, l'équipe de Toyokuni (1993) a étudié in vitro la production de cassures simple et double brin de l'ADN (le plasmide pZ819) en présence de fer seul (chlorure ferrique) et H_2O_2 (0,25 mM Fe(III) et 0,25 mM H_2O_2). La même expérience a été reconduite avec un mélange composé d'un chélate Fe/NTA et de H_2O_2 (0,25 mM Fe(III), 0,25 mM H_2O_2 et 1 mM NTA). Il s'avère que ni le fer seul ni le NTA seul ne casse l'ADN. Au contraire, le chélate Fe/NTA serait un médiateur pour la production de radicaux libres en présence de H_2O_2 , susceptibles de casser l'ADN. La production de cassures est maximale pour des valeurs du rapport NTA/Fe comprise entre 4 et 10 en concentration. Ces recherches ont également montré que le fer, sous la forme d'un complexe Fe-citrate, était pour la plus grande part inactif.

Des études similaires effectuées à 37°C pendant 10 minutes avec un mélange de 1 mM alloxan ($C_4H_2N_2O_4 \cdot H_2O$), molécule très étudiée dans le diabète), 2 mM GSH (Gluthation réduit), 20 $\mu g/ml$ de λ ADN et 10 -100 μM $FeCl_3$ dans 10 mM de tampon HEPES-NaOH ont montré la formation d'un complexe ADN- Fe^{3+} dans lequel l'ion Fe^{3+} est réduit, non pas par un radical

superoxyde $O_2^{\cdot-}$, mais par un radical alloxan $HA^{\cdot}$. La génération des radicaux $HA^{\cdot}$ fut observée par ESR (Electron Spin Resonance) à température ambiante. Le complexe ADN- Fe^{3+} va catalyser les cassures des brins d'ADN, système qui mettrait en jeu, selon les auteurs, une génération de radicaux libres $OH^{\cdot}$ via une réaction de type Fenton dépendante de $HA^{\cdot}$ (Sakurai et al, 1994).

Le fer est présent dans le noyau cellulaire et joue un rôle important dans la production de radicaux hydroxyles $OH^{\cdot}$, via la réaction de Fenton, responsables de modifications pré-mutagènes et pré- malignes au niveau des brins d'ADN. Les données récoltées suite aux expériences indiquent que la majorité des cassures de brin d'ADN formées sous des conditions de stress oxydant est le produit de l'attaque des radicaux hydroxyles $OH^{\cdot}$, nécessairement formés et très probablement catalysés par le fer lié à l'ADN (Meneghini et al., 1995).

Au vue de la complexité et de l'hétérogénéité des travaux réalisés sur la détermination d'une éventuelle toxicité du fer, il semble ici encore hasardeux d'affirmer que le fer sous ses différentes formes peut être incriminé comme agent cancérogène préférentiel.

III.3. Toxicité des oxydes de fer seuls ou en association avec des HAP

III.3.1. Oxydes de fer seuls

Des études similaires conduites par l'équipe Berger et al. (1993) ont révélé la faible capacité de l'hématite, de la magnétite et de la "minette" (minerai de Lorraine composé d'hydroxyde naturel de fer, brun, opaque) à hydroxyler les molécules 2' déoxyadénosine et 2' déoxyguanosine. Ces études ont montré que la présence de Fe^{2+} , ou plutôt la nature des

espèces réactives générées par la réaction de Fenton ($\text{OH}^\cdot$ et les espèces ferry) est le facteur critique pour l'hydroxylation préférentielle du carbone en position C(8) de la 2' déoxyguanosine. Par conséquent, la détermination du rapport (7,8 dihydro- 8 oxo-2'-déoxyadénosine / 7,8 dihydro-8 oxo-2'-déoxyguanosine) pourrait fournir des informations sur la nature des conditions d'oxydation intervenant dans les réactions d'hydroxylation des nucléosides puriques.

Différents types d'oxydes complexes de fer (hématite, magnétite et goethite FeOOH) et de minerais ont été étudiés par Steinhoff et al. (1991) en instillation intratrachéale (10 mg/kg, toutes les deux semaines pendant 920 jours) et injection interpéritonéale (200 mg/kg, dans les mêmes conditions) chez des rats de Sprague-Dawley. Aucun effet carcinogène n'a pu être mis en évidence.

Keenan (1989) insiste sur le fait que cette réponse proliférative de l'épithélium après inhalation de Fe_2O_3 augmente le nombre de cycle cellulaire et les possibilités d'actions des cancérigènes. En effet, l'hématite Fe_2O_3 augmenterait la sécrétion par les macrophages de facteurs chimiotactiques. Les macrophages et les lymphocytes, une fois recrutés dans le poumon, sécrètent des médiateurs de l'inflammation, des enzymes protéolytiques et des radicaux libres qui soit endommagent les cellules environnantes, soit provoquent leur prolifération (Keenan et al., 1989, Ooi et al., 1994, Shvedova et al., 1994).

Après inhalation d'oxyde de fer Fe_2O_3 par des hamsters et ce, pendant 3 heures, la capacité phagocytaire des macrophages récupérés dans le liquide bronco-alvéolaire et le volume macrophagique augmentent avec un recrutement des monocytes phagocytaires. Ces phénomènes ainsi qu'une réponse inflammatoire sont prédominants 24 heures après l'inhalation (Kavet et al., 1978).

L'implication de particules minérales (chrysotile $(\text{Mg}_3\text{SiO}_5(\text{OH})_4$, némalite $(\text{Mg}(\text{OH})_2$ avec 8 % de Mg^{2+} substitués par Fe^{2+} et l'hématite) riches en fer II ou en fer III dans les processus de stress oxydant a été étudiée in vitro sur des cultures de cellules épithéliales de la trachée de lapins

(Guilianelli et al., 1993, Guilianelli et al., 1994). Ces trois types de particules minérales ont été impliqués dans la croissance des cellules et dans l'induction de métaplasie squameuse. Ainsi, ces études *in vitro* expliquent le pouvoir cancérogène des fibres d'amiantes par leur capacité à engendrer des formes actives de l'oxygène grâce au fer contenu à l'interface minéral-milieu liquide. D'autres expériences menées avec des minerais de fer ont aussi montré une production *in vitro* d'oxydants oxygénés et ont suggéré une activité possible d'oxydes de fer comme la magnétite (Costa et al., 1989). Le fer Fe(II) semble plus apte à produire des radicaux libres de l'oxygène.

Nous pouvons constater que les avis sont partagés quant aux propriétés génotoxiques des oxydes de fer notamment et du fer lui-même. Bien que ce dernier ne semble pas avoir des propriétés génotoxiques lorsqu'il est testé seul, il pourrait, par son rôle de catalyseur dans la production d'espèces réactives de l'oxygène (réaction de Fenton) induire indirectement des altérations du matériel génétique.

III.3.2. Oxydes de fer en association avec des HAP

Une catégorie de polluants connus pour leur propriétés cancérogènes est le groupe des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) qui sont émis dans l'atmosphère suite à une pyrolyse ou à une combustion incomplète de matériaux organiques et par carbonisation lors de processus naturels (biosynthèse, activité volcanique) ou anthropogènes (incinération de déchets, installations industrielles, véhicules diesels). L'effet cancérigène des HAP suspects peut se trouver amplifier lorsque ces derniers sont liés à des particules d'aérosols insolubles. Chaque aérosol doit être considéré comme une matrice polyphasique de forme variable sur laquelle une ou plusieurs couches de HAP peuvent être adsorbées. On peut très bien imaginer rencontrer dans certains sites, tels que les aciéries par exemple, des particules polyphasiques riches en fer ou en oxyde de fer sur lesquelles peuvent être adsorbés des HAP. Si la taille de ces particules a un diamètre aérodynamique suffisamment petit, ces dernières après inhalation, peuvent se retrouver au niveau du système respiratoire et y être déposées. L'étude des

HAP en phase particulaire est essentielle car ils représentent 70 à 90 % des HAP totaux.

En ce qui concerne plus précisément la sidérurgie, les poussières, engendrées à différents stades du traitement de l'acier, peuvent jouer le rôle de porteur d'HAP tel que le Benzo[a]pyrène (B[a]P), connu pour son pouvoir carcinogène, et donc acheminer celui-ci au niveau des voies respiratoires jusqu'aux alvéoles pulmonaires.

Dans le but de mieux comprendre l'action des particules sur la métabolisation des xénobiotiques comme le B[a]P, Warshawsky et al. (1994) ont orienté ses recherches vers les mécanismes d'action toxique du B[a]P et de l'oxyde de fer Fe_2O_3 seuls ou en association (B[a]P adsorbé sur Fe_2O_3). Il a montré que l'adsorption de cet hydrocarbure aromatique polycyclique sur le Fe_2O_3 entraîne une production accrue d'anions superoxydes et de métabolites du B[a]P par les macrophages alvéolaires de hamster en culture primaire. Il explique ses résultats par une phagocytose accrue du B[a]P en présence d'oxyde ferrique. Cependant, la synthèse préférentielle de métabolites réactifs du B[a]P pourrait laisser supposer un rôle plus spécifique du fer que le simple effet particulaire. L'oxyde de fer Fe_2O_3 , comme d'autres particules (silice) peut ainsi jouer le rôle de cocarcinogène (Greife et al., 1975).

Plusieurs facteurs influencent l'apparition de tumeurs trachéo-bronchiques chez le hamster : la dose de B[a]P, la taille des particules de B[a]P, la durée d'exposition au B[a]P et l'adsorption du B[a]P sur des particules de Fe_2O_3 , capable de diminuer le temps de latence tumorale. Il semblerait que l'oxyde de fer Fe_2O_3 favorise la rétention pulmonaire du B[a]P et donc augmente le temps de contact de ce dernier avec les cellules épithéliales pulmonaires (Henry et al, 1975). En effet, sur des expériences menées sur des hamsters golden syrian, Henry et al. ont constaté que de gros agrégats de B[a]P et d'oxyde ferrique conduisent à un démarrage plus rapide et à une incidence plus fréquente de tumeurs respiratoires par rapport à des agrégats plus fins. En fait, la granulométrie des particules a un effet important sur la rétention du B[a]P dans les voies respiratoires. Il est probable que l'oxyde ferrique dans ces expériences joue le rôle de promoteur aussi bien que celui de transporteur du carcinogène.

Ces constatations vont dans le sens des travaux de Warshawsky (1984) sur le poumon de lapin isolé et perfusé. L'oxyde de fer Fe_2O_3 peut accroître l'activation métabolique du B[a]P dans le poumon aussi bien que jouer le rôle de transporteur pour la pénétration et la rétention du B[a]P au niveau des poumons. Fe_2O_3 agissant comme transporteur physique, le B[a]P, avec le temps, peut être une fois dans le poumon "relargué" à partir de Fe_2O_3 et être métabolisé ou déposé par les macrophages alvéolaires dans d'autres tissus tels que les bronches. Il a montré également le rôle de Fe_2O_3 dans la production du métabolite 7-8-dihydrodiols du B[a]P.

Des études réalisées *in vivo* ont montré que le B[a]P est un carcinogène efficace. Il est très souvent associé à l'oxyde de fer Fe_2O_3 qui lui sert de vecteur et qui pour certaines équipes de recherches a un rôle de cocarcinogène. Cette dernière notion reste encore discutée (Steinhoff et al., 1991, Wolterbeek et al., 1995) mais même lorsqu'il n'est pas mis en évidence une augmentation du nombre de cancer avec l'association Fe_2O_3 - B[a]P, le délai d'apparition de cancer broncho-pulmonaire est raccourci (Wolterbeek et al., 1994 et 1995).

Par la suite, il a été possible de mieux cerner les caractéristiques physiques de l'oxyde de fer qui accentueraient l'effet cancérigène du B[a]P.

En effet, la rétention du B[a]P et le taux de cancer broncho-pulmonaire sont augmentés proportionnellement avec la taille des particules. La pénétration du cancérigène dans les voies respiratoires et sa migration vers l'épithélium bronchique par diffusion semblent être des facteurs importants dans le mécanisme d'induction des tumeurs (Saffiotti et al., 1968). Il a également montré l'existence d'une relation dose/réponse au niveau de la toxicité du mélange Fe_2O_3 - B[a]P. A partir du rapport 1/1 en masse du mélange (3 mg Fe_2O_3 , 3 mg B[a]P), l'augmentation de la quantité en oxyde de fer n'apporte rien en ce qui concerne la cancérogénicité (Saffiotti et al., 1972).

Cependant, d'autres auteurs ont montré que le B[a]P, en présence d'oxyde de fer en tant que transporteur induirait des tumeurs trachéales, bronchiques et pulmonaires (Stenbäck et al., 1976).

L'augmentation de la rétention du B[a]P n'entraîne pas nécessairement de potentiel tumoral plus élevé ; en plus de la rétention, l'évolution du carcinogène à partir des particules porteuses devrait jouer un rôle important. En effet, les particules supports (15-30 μm), avec une aire interstitielle plus grande, adsorbent le carcinogène très fortement ; celui-ci ne peut être dissocié qu'en faible quantité avant que les particules ne soient éliminées par des mécanismes d'épuration pulmonaire (Henry et al., 1973)

Des travaux sur la cytotoxicité de Fe_2O_3 en présence de B[a]P sur des macrophages alvéolaires montrent qu'en présence de cet oxyde, la quantité de l'anion superoxyde (mesurée par son effet réducteur sur le cytochrome c, effet détecté par spectrophotométrie à 550 nm) et le métabolite ultime cancérigène du B[a]P (l'époxydiol détecté par HPLC avec une détection à 254 nm) est significativement plus élevée en comparaison avec des études menées avec le B[a]P seul. Il est suggéré que la formation d'anions superoxydes causerait des dommages tissulaires prédisposant le tissu épithéliale à l'action de métabolites du B[a]P biologiquement actifs (Greife et al., 1993).

Une explication possible de la synergie entre l'oxyde de fer Fe_2O_3 et le B[a]P implique des interactions directes entre solides et HAP. Il est connu que les HAP sont fortement liés sur des particules possédant une surface à caractère donneur d'électrons, en milieu solvant, telle que les amiantes. Or, les oxydes de fer montrent l'existence de sites donneurs superficiels de même type (Fournier et al., 1985).

Dans des domaines de concentration en HAP compris entre $2 \cdot 10^{-4}$ et $3 \cdot 10^{-2} \text{ mol.l}^{-1}$, seuls les solides à caractère donneur d'électrons (amiantes, magnésie) ont montré une forte affinité pour toutes les molécules HAP testées. Par contre, les solides à dominante acide (silice alumine) n'ont pas révélé de phénomène d'adsorption (Fournier, 1987).

Avec le phénanthrène, comme avec la plupart des autres HAP, l'adsorption est essentiellement une adsorption physique mettant en jeu des forces de Van der Waals.

Les forces de dispersion (ou forces de London) proviennent des fluctuations des moments dipôles et multipôles liées au mouvement des électrons dans les molécules adsorbées et dans les atomes de surface de l'adsorbant. Ces forces sont toujours présentes dans tous les phénomènes d'adsorption physique et elles jouent le rôle principal de l'adsorption.

On peut considérer que le rôle de l'amiante dans la cinétique de transfert des HAP vers des cultures cellulaires peut être attribué aux interactions directes entre HAP et amiante résultant des propriétés de surface de ces fibres minérales.

On peut en conclure que la préadsorption des HAP sur des solides inorganiques peut jouer un rôle non négligeable dans la "distribution" et la disponibilité de ces HAP en milieu biologique. Les résultats, sur les expérimentations animales, donnés par Saffiotti (1965) et Henry (1975) vont dans ce sens, les auteurs n'obtenant, par injection intratrachéale, une incidence élevée des cancers broncho-pulmonaires avec du B[a]P, qu'à condition de préadsorber celui-ci sur un oxyde de fer : l'hématite.

A ce rôle de "distributeur" de HAP, conféré ainsi à la plupart des solides inorganiques, il faut indéniablement ajouter un rôle de "collecteur" des molécules polluantes en milieu atmosphérique et donc un rôle de "transporteur" de ces polluants organiques, via l'inhalation des poussières vers le milieu pulmonaire. Ces deux rôles (collecteur et transporteur) sont directement fonction des propriétés adsorbantes de la surface des particules, propriétés qui sont étroitement dépendantes de l'énergie libre de surface, liée à leur caractère plus ou moins basique.

Conclusion

La plupart des mécanismes intracellulaires (réaction de Fenton (Ryan, 1992), peroxydation lipidique (Fuhrman et al., 1994)) implique la participation active du fer sous forme Fe(II). Le fer Fe(III) quant à lui est plus sollicité au niveau des couplages avec les macromolécules (Transferrine et ferritine).

L'oxyde de fer Fe₂O₃ (Fe(III)) pourrait en cela avoir un effet toxique moindre que l'oxyde de fer Fe₃O₄ (Fe(II), Fe(III)).

En ce qui concerne une intervention directe éventuelle (rôle "d'activation") des particules minérales support dans l'oxydation des HAP adsorbés avec, pour conséquence, la formation d'espèces oxydées ou de métabolites actifs en cancérogenèse, peu d'études ont été entreprises laissant ainsi un large domaine encore à explorer. Cependant, des travaux effectués sur l'oxydation de l'anthracène ont montré de façon générale que les processus d'oxydation en phase adsorbée pour certaines molécules ne sont pas identiques selon que le solide ait un caractère donneur ou accepteur (adsorption sur la tranche ou à plat). On ne peut exclure que ce mode d'adsorption joue un rôle dans la disponibilité et la métabolisation de certains polluants organiques.

Delmas (1991) a étudié les dégradations hétérogènes de certains HAP (anthracène, pyrène, benzo[a]pyrène) adsorbés sur du gel de silice et sur du charbon actif dans une atmosphère contrôlée en NO₂. La dégradation partielle ou totale de tous les HAP adsorbés sur le support de gel de silice en nitro-HAP a été montrée. Cependant, il faut tenir compte, lorsqu'on parle de synergie, des interactions possibles des HAP avec d'autres polluants présents dans l'atmosphère tels que l'ozone ou SO_x qui peuvent agir sur les HAP eux-mêmes.

Aussi, l'ensemble des études effectuées sur le fer et ses oxydes nous laisse à penser que :

- * il est hasardeux, au vu des études épidémiologiques, d'affirmer catégoriquement que le fer sous ses différentes formes peut être incriminé comme agent cancérigène préférentiel,

- * la toxicité du fer soluble seul est difficile à interpréter compte tenu des modes opératoires complexes différents mis en oeuvre,

- * la génotoxicité n'est pas démontrée de façon patente,

- * l'association des oxydes de fer avec les HAP pourrait avoir une incidence sur le transport et la disponibilité des HAP et donc encourager l'apparition de lésions au niveau cellulaire voire même au niveau des brins d'ADN. En effet, la quantité de HAP contenue dans les poumons peut

dépendre de la taille et de la forme des particules d'oxydes de fer et de leur capacité d'adsorption. L'aire (surface spécifique) plus importante des particules pourrait accroître la pénétration de cancérrogènes compte tenu d'une présence plus importante de HAP sur les particules.

B . ETUDES DE LA TRANSFORMATION DES OXYDES DE FER AU NIVEAU CELLULAIRE

I. Le matériel biologique

Les poumons étant les organes cibles des substances inhalées en milieu professionnel, nous avons décidé, en collaboration avec le Laboratoire de Toxicologie (CERESTE - I.M.T.N.F.) de Lille, de travailler sur des cellules pulmonaires de deux types : les cellules L 132 et les macrophages alvéolaires. Les travaux concernant les cultures cellulaires ainsi que les coupes par ultramicrotome et les microphotographies par microscopie électronique à transmission ont été effectués par l'équipe de recherche du Laboratoire de Lille.

I.1. Les cellules L 132

Il s'agit d'une lignée établie à partir de cellules épithéliales pulmonaires embryonnaires d'origine humaine. Elles possèdent une viabilité de 90 % environ et une capacité de clonage de 37 %. Ces cellules sont cultivées en monocouche et nous réalisons un repiquage lorsqu'elles sont en tapis continu. Ces cellules possèdent un potentiel enzymatique très faible. Leurs réponses à une agression sont donc limitées. C'est pour cette raison que nous avons par la suite utilisé des cellules beaucoup plus physiologiques.

I.2. Les Macrophages Alvéolaires

Les macrophages proviennent des cellules souches hématopoïétiques totipotentes. Ils constituent avec les monocytes, le système des phagocytes mononucléés ou le système réticuloendothélial.

I.3. Les cultures cellulaires

I.3.1. Les cellules épithéliales embryonnaires pulmonaires humaines L 132

Il s'agit d'une lignée établie de cellules épithéliales pulmonaires embryonnaires d'origine humaine adaptée à la culture *in vitro*. Ces cellules sont maintenues en culture dans des flacons en plastique (elles forment une couche monocellulaire au fond de ces flacons) dans le milieu M.E.M. supplémenté en antibiotiques et avec 5 % de sérum de veau foetal (S.V.F.) La lignée cellulaire L132 est maintenue par des repiquages hebdomadaires.

Les cellules sont décollées du fond du flacon par une solution de trypsine (0,17 g pour une activité de 14,6 UI dans une solution saline à pH neutre).

I.3.2. Les Macrophages Alvéolaires

* La préparation :

Les cobayes sont anesthésiés par 15 mg de thiopental sodique. Les animaux sont disséqués et les poumons prélevés de façon aseptique pour réaliser un lavage bronchoalvéolaire (MYRVIC et coll., 1961). Le lavage est réalisé en injectant stérilement une solution saline de Hanks additionnée d'antibiotiques et d'antifongiques maintenue à 37°C. L'aspiration de la solution saline injectée permet de récupérer les macrophages alvéolaires.

* Mise en culture :

Les macrophages sont lavés deux fois avec du M.E.M. 0011 (Minimum Essential Medium, additionné de streptomycine, pénicilline, baypen) de Eagle (Eurobio) supplémenté avec 5 % de sérum de veau foetal (S.V.F.). Ils sont ensuite mis en culture monocouche dans des flacons de verre et maintenus en survie dans ce milieu M.E.M. à 37°C.

* Obtention des macrophages :

Le lavage bronchoalvéolaire apporte un mélange de cellules (polynuclées, lymphocytes, pneumocytes,...). Celles-ci sont mises en culture. Afin de sélectionner les macrophages alvéolaires, le milieu de culture est rejeté au bout de 3 heures et remplacé par du milieu neuf. Le mélange de cellules restées en suspension est éliminé, et seuls subsistent les macrophages alvéolaires qui adhèrent au fond du flacon.

1.3.3. Incubation des cellules en présence d'oxyde de fer

✓ Les cellules L 132 furent incubées pendant 72 heures à 37 °C au contact de particules d'oxyde de fer à des concentrations déterminées (0,1 mmol/l pour $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et 0,045 mmol/l pour $^{56}\text{Fe}_3\text{O}_4$) dans du milieu de culture MEM 2011 à 5 % de S.V.F..

Une autre série de préparation de cellules L 132 a été élaborée avec incubation de celles-ci en contact d'oxyde de fer Fe_3O_4 sur lequel fut préalablement adsorbé du benzo[a]pyrène (100 µg/ml).

Enfin une dernière série de cellules L132 fut incubée en présence des poussières industrielles prélevées sur la halle des réfractaires d'une aciérie, poussières analysées auparavant par microsonde laser LAMMA et FT/ICR/MS (Cf. chapitre III, partie 2).

✓ les macrophages quant à eux ont été mis en incubation pendant 72 heures à 37 °C au contact de particules d'oxyde de fer à base de fer 54 à des concentrations déterminées : 0,1 mmol/l pour $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et 0,045 mmol/l pour $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$) dans du milieu de culture MEM 2011 à 5 % de S.V.F..

Pour analyser les cellules, celles-ci sont décollées du fond du flacon par une solution d'EDTA (1,25 g dans 1 litre de tampon), lavées et remises en suspension avant le traitement qui aboutira à l'obtention de coupes cellulaires.

I.4. Etude ultrastructurale - Microphotographie cellulaire

Après le traitement, les cellules sont décollées du flacon par une solution d'EDTA (1,25g dans 1 litre de tampon), lavées dans du milieu de culture sans sérum de veau foetal et préparées pour l'observation au microscope électronique à transmission.

I.4.1. Fixation

Les cellules subissent une double fixation. La première se fait dans le glutaraldéhyde à 2,5 % dans du milieu de culture pendant 35 min à 4°C. Puis, elles sont lavées dans du tampon Millonig 0,1 M à pH 7,2 pendant 1 heure à 4°C. Elles sont ensuite centrifugées et mises en culot. La postfixation se fait par le tétraoxyde d'osmium à 1 % dans du tampon Millonig 0,1 M à pH 7,2 pendant 30 min à 4°C.

I.4.2 Déshydratation

La déshydratation se fait dans des solutions d'éthanol de concentrations : 50 % (4 rinçages à 4 °C), 70 % (2 x 20 minutes à 4 °C), 90 % (20 minutes à température ambiante) et 100 % (3x 20 minutes à température ambiante).

I.4.3. Inclusion

Après deux passages dans l'oxyde de propylène (2 x 20 minutes à 4 °C), puis dans un mélange oxyde de propylène/épon (40/60 : 2 x 30 minutes) et enfin dans l'épon pur pendant 12 heures, le culot de cellules est fragmenté. Les fragments ainsi obtenus sont inclus dans l'épon au sein de gélules plastifiées. Les gélules sont ensuite placées environ 3 jours à 60 °C de façon à ce que la polymérisation de l'épon soit totale.

I.4.4. Coupes cellulaires

Les coupes sont effectuées à l'aide d'un ultramicrotome LKB III. Les coupes sont recueillies sur des grilles en cuivre (grilles de

microscopie électronique) et examinées au microscope électronique à transmission (MET Zeiss EM 0 CR à 60 KV). Ces mêmes coupes seront analysées par microsonde laser LAMMA afin de définir la valence des oxydes de fer internalisés dans les cellules.

II. Etude cinétique de la stabilité des particules d'oxyde de fer dans différents milieux biologiques

Il est important de travailler avec des particules correspondant à celles que l'on trouve dans les milieux sidérurgiques, c'est à dire essentiellement des oxydes de fer sur lesquels peuvent être adsorbées des molécules organiques tels que les HAP.

Etant donné que les formes Fe(II) sont généralement peu stables en solution, nous avons testé la stabilité de l'état d'oxydation des particules $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ dans le milieu de culture MEM (Milieu Essentiel Minimum) par microsonde laser LAMMA au travers d'une cinétique d'incubation (30 min, 1 h, 2 h, 4 h et 24 h). Après 30 minutes de contact avec le milieu MEM, (figures IV-2a, IV-2b, IV-2c), nous observons une transformation manifeste de l'empreinte de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ en celle correspondant à Fe_2O_3 .

Il en est de même lorsque l'on met en présence $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ avec OsO_4 (oxydant puissant), le glutaraldéhyde, le milieu Millonig ou le milieu biologique PBS. Pour ce dernier, le passage de l'empreinte spectrale de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ en l'empreinte spectrale Fe_2O_3 se manifeste après un temps d'incubation de 30 minutes.

Par contre, en ce qui concerne la stabilité de l'oxyde de fer Fe_2O_3 , nous n'avons observé aucune modification de l'empreinte spectrale de ces particules même après un temps d'incubation de 24 heures (Figure IV-2d).

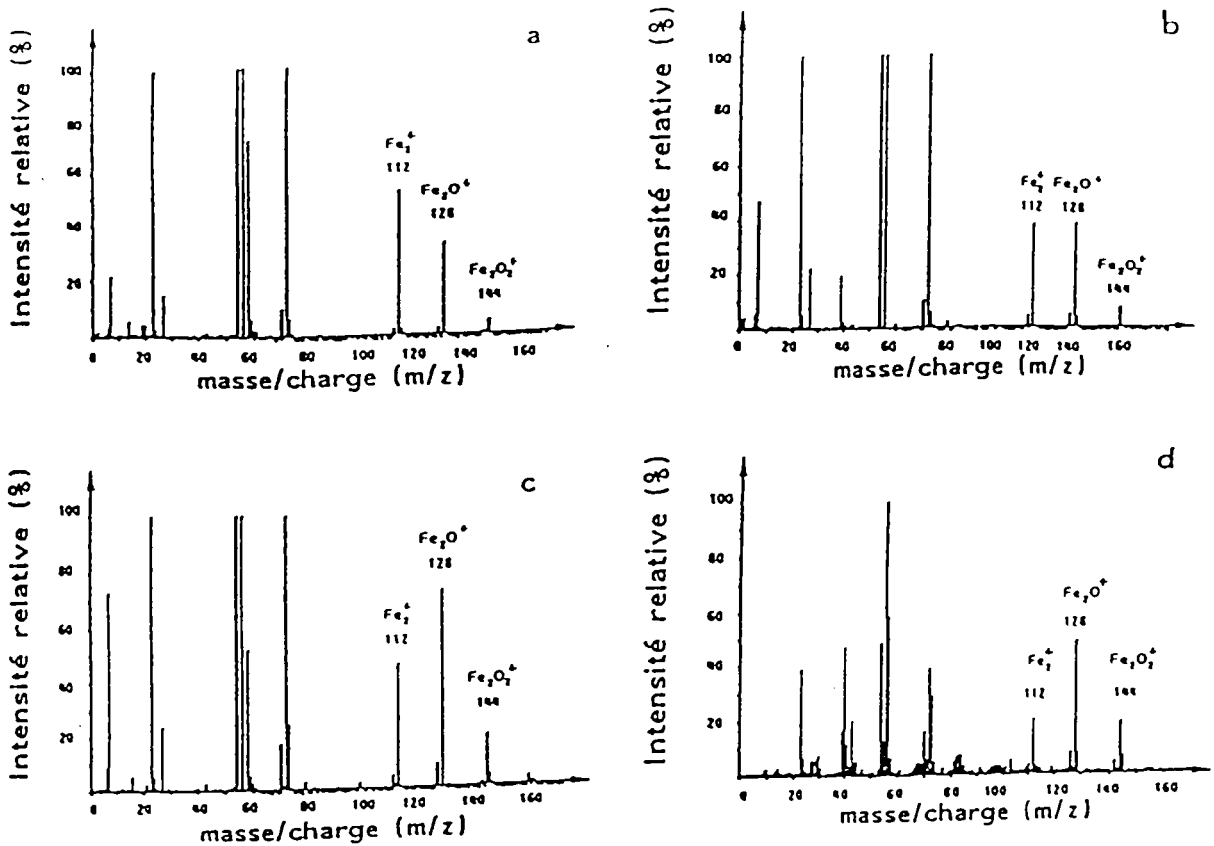


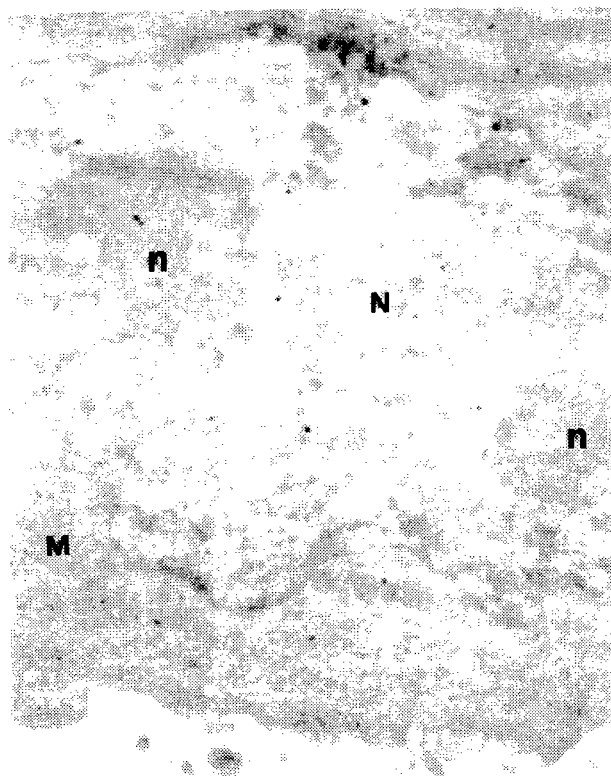
Figure IV-2. Changement progressif de l'empreinte spectrale de $Fe_{1-x}O$ en Fe_2O_3 après 30 minutes d'incubation (a, b et c) et conservation de l'empreinte spectrale de Fe_2O_3 (d) jusqu'à 24 heures d'incubation dans le milieu de culture MEM (Milieu Essentiel Minimum).

Ainsi, nous avons constaté une bonne stabilité des oxydes de fer Fe_2O_3 et Fe_3O_4 dans le milieu de culture MEM sans cellule contrairement à l'oxyde de fer $Fe_{1-\delta}O$.

Compte-tenu de ces observations, nous avons poursuivi nos travaux en milieu biologique uniquement sur les oxydes de fer Fe_2O_3 et Fe_3O_4 . En effet, toutes mesures faites sur des particules dont le milieu de culture seul induit leur transformation, n'auraient aucun sens.

III. Analyse par Microscopie Electronique à Transmission (MET)

L'étude MET des coupes histologiques a été effectuée tout d'abord sur des cellules L 132 témoins (microphotographie 1) : cette microphotographie ($\times 10000$) nous montre une cellule témoin dans laquelle nous distinguons un noyau (N), deux nucléoles (n) et quelques mitochondries (M). La cellule présente un aspect parfaitement normal.



Microphotographie 1. Cellule L 132 témoin ($\times 10000$).

Sur les microphotographies 2a, 2b et 2c, sont montrées les différentes voies de pénétration de l'oxyde de fer Fe_2O_3 (0,1 mmol/l) dans les cellules épithéliales humaines L 132 exposées pendant 72 heures:

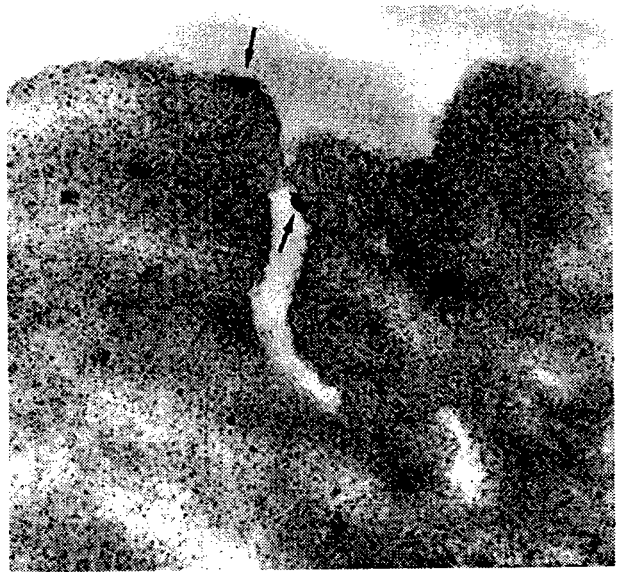
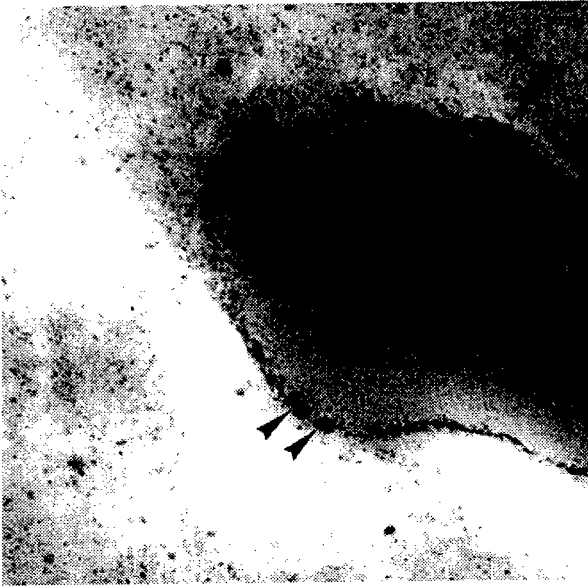
a - pénétration par phagocytose (P) ($\times 12500$) avec une synthèse de phospholipides (L = liposomes : petites vésicules formées de plusieurs feuillets phospholipidiques renfermant une solution aqueuse).

b - pénétration par pinocytose (➤) (absorption d'une particule extracellulaire par une vésicule cellulaire) ($\times 31500$) avec la présence de fines particules ($\rightarrow$) au niveau d'une gouttelette lipidique (Lp).

c - pénétration transmembranaire ($\times 31500$) par un phénomène passif ($\rightarrow$) ("flip-flap" : Passage des particules de part et d'autre de la membrane cytoplasmique cellulaire par simple basculement de celle-ci).



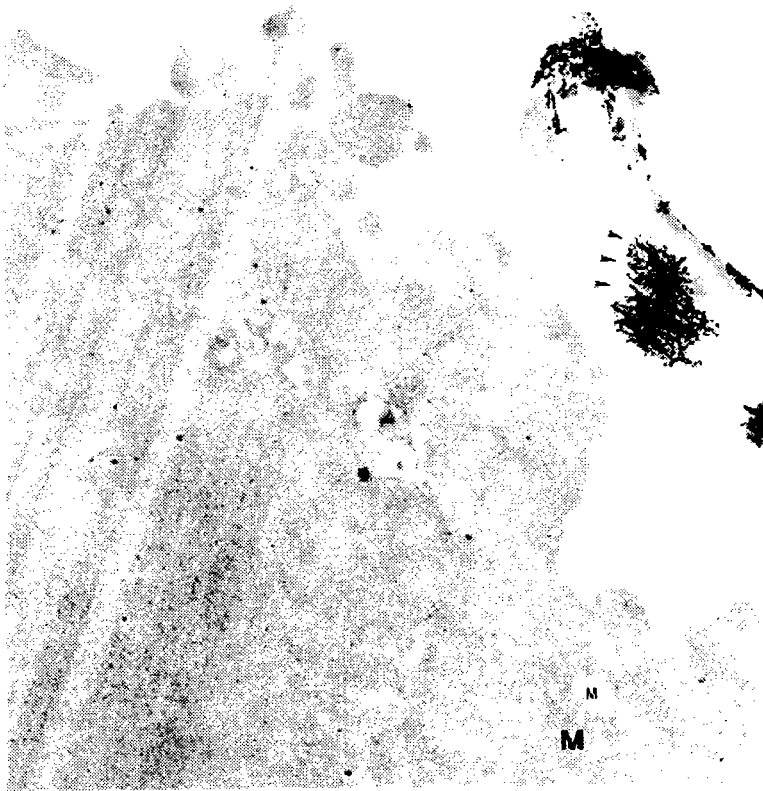
Microphotographies 2a. pénétration de Fe_2O_3 dans les cellules épithéliales humaines L 132 par phagocytose (P) ($\times 12500$).



Microphotographies 2b et 2c. Voies de pénétration de Fe_2O_3 dans les cellules épithéliales humaines L 132 respectivement par pinocytose et par passage transmembranaire passif (x 31500).

Ces études se sont poursuivies par l'étude en MET de cellules L 132 mis en contact avec des poussières industrielles prélevées au niveau des halles de réfractaires.

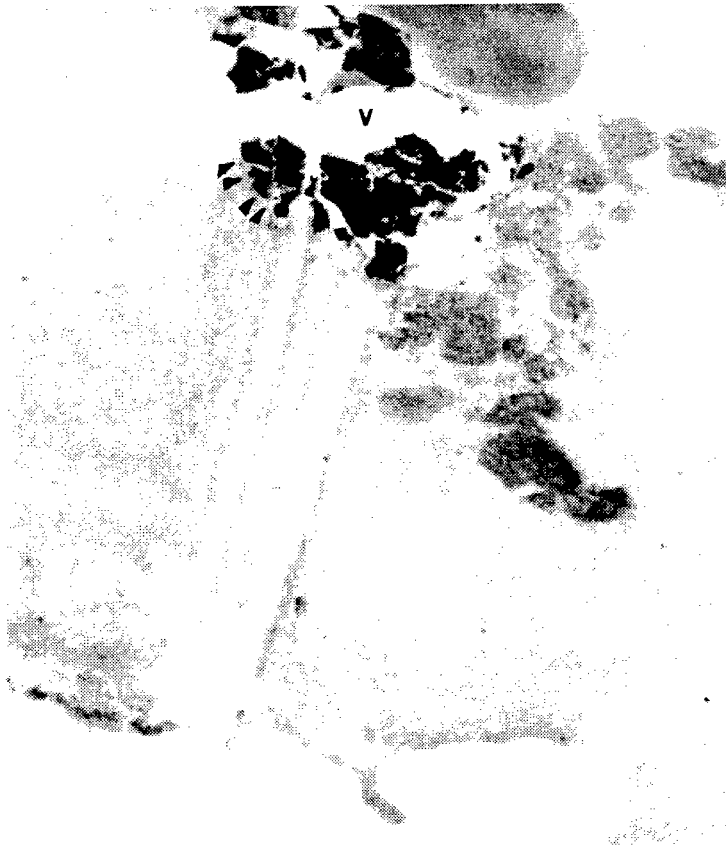
La microphotographie 3 ($\times 16000$) présente les cellules L 132 intoxiquées par les poussières. Nous y constatons quelques signes de "souffrance" cellulaire au niveau des mitochondries (M), avec des microvillosités importantes qui témoignent une activité cellulaire dans la phagocytose. Par ailleurs, des amas de particules ($\blacktriangleright$) sont observés à l'extérieur de la cellule.



Microphotographie 3. Cellules L 132 en présence de poussières industrielles (Halle des réfractaires ($\times 16000$)).

La microphotographie 4 ($\times 20000$) nous montre une cellule L 132 exposée au même lot de poussières industrielles qu'auparavant. Nous y trouvons une vacuole de phagocytose (V) avec des particules phagocytées de formes structurales différentes de celles présentes sur la microphotographie 3.

De plus, nous y constatons une "souffrance" cellulaire avec une dégradation des organites sous formes de taches.



Microphotographie 4. Cellules L 132 en présence de poussières industrielles (Halle des réfractaires) (x 20000).

Que se soit dans le cas de cellules humaines L 132 mises en contact avec l'oxyde de fer Fe_2O_3 ou avec des poussières industrielles (halle des réfractaires), des particules sont phagocytées et sont susceptibles d'être dégradées par les enzymes lysosomiales en particules plus fines. Les oxydes de fer subissent vraisemblablement une action biologique (métabolisation) après phagocytose par le passage de l'oxyde de fer (III) en oxyde de fer (II) ou en fer probablement solubilisé sous forme Fe^{2+} .

Les études par microsonde laser LAMMA couplée à l'ionisation résonante (mode RELAI) vont nous permettre de confirmer certains aspects de cette biotransformation.

IV. Analyse des cellules L 132 incubées en présence de particules d'oxyde de fer par microsonde laser LAMMA

VI.1. Les cellules L 132 témoins

Afin de mieux comparer les éventuelles transformations des oxydes de fer, nous avons réalisé des études sur un lot de cellules épithéliales humaines L 132 témoins. L'analyse spectrale nous montre la présence plus particulière de sodium (Na^+), de potassium (K^+) et de calcium (Ca^+) (figure IV-3). Remarquons que le fer Fe^+ n'est pas détecté.

La présence de l'osmium (Os^+) est due à la procédure de fixation.

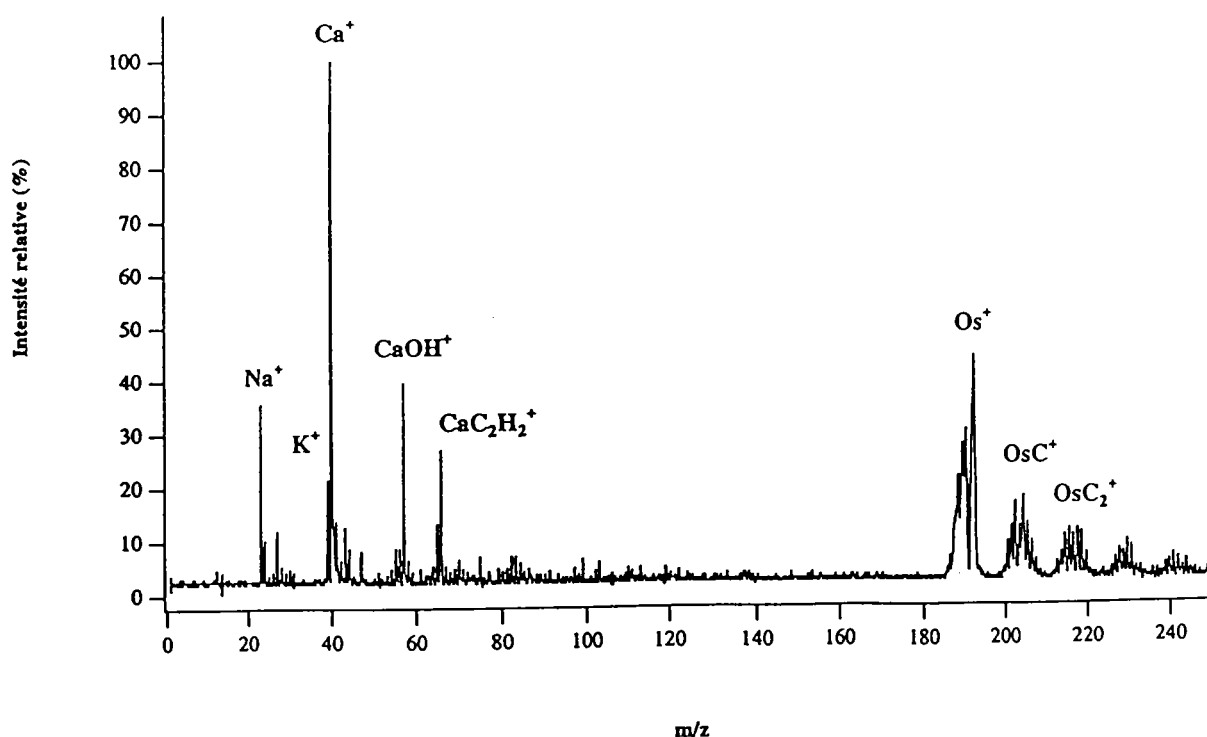


Figure IV-3. Spectre LAMMA en mode RELAI ($\lambda=293,7$ nm, $I = 10^7$ W/cm²) d'une cellule L 132 témoin. Fe^+ n'est pas détecté.

IV.2. Les cellules L 132 incubées en présence de Fe_2O_3

L'analyse des cellules ayant phagocyté l'oxyde de fer Fe_2O_3 (figures IV-4) montre la présence de sodium, potassium, calcium et également de fer sous forme Fe^+ . La certitude sur la présence du fer nous est donnée par le rapport isotopique $^{54}\text{Fe}/^{56}\text{Fe}$ égal à 0,066. Ces résultats sont reproductibles compte tenu du nombre des études qui ont été menées sur cinq grilles de microscopie électronique, chacune d'entre elles comportant 5 à 6 coupes cellulaires. Nous voyons qu'il y a une absence totale des ions Fe_2^+ , Fe_2O^+ et Fe_2O_2^+ qui apparaissent normalement sur tous les spectres suite à l'analyse de l'oxyde de fer Fe_2O_3 . Les particules de ce dernier ont été totalement métabolisées par les cellules.

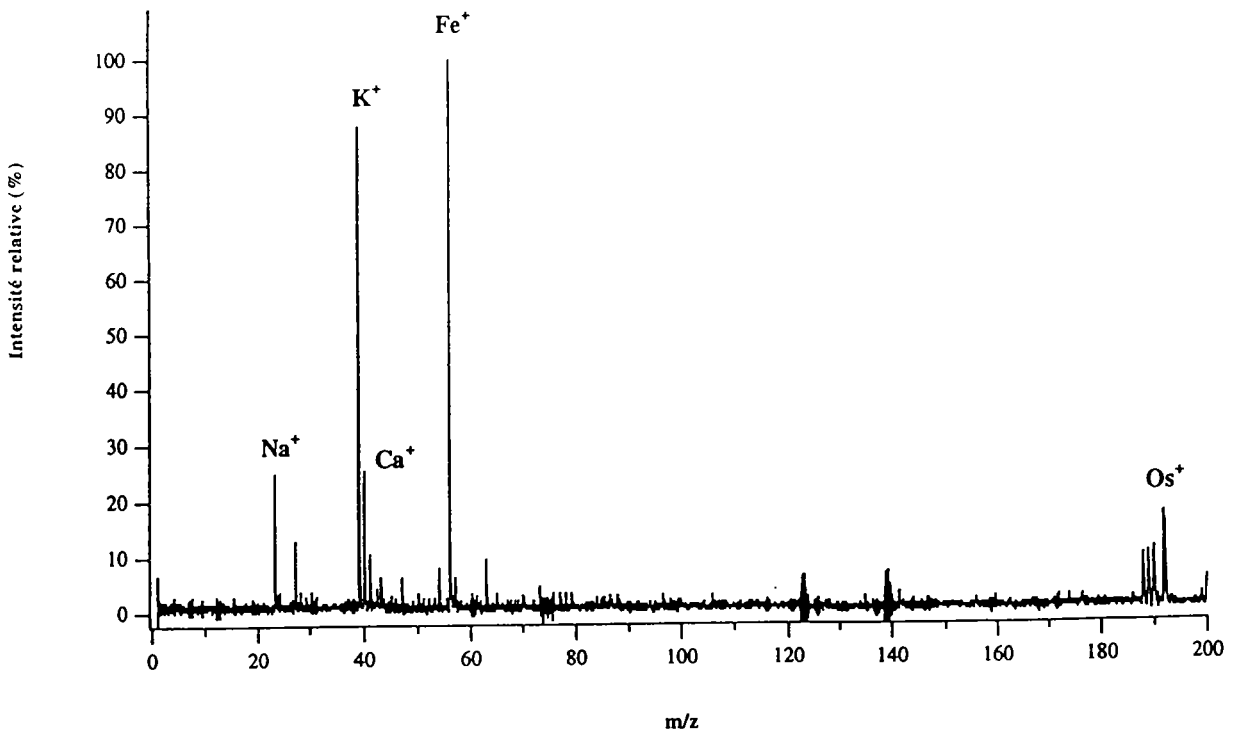


Figure IV-4. Spectre LAMMA en mode RELAI ($\lambda=293,7$ nm, $I = 10^7$ W/cm²) d'une cellule L 132 incubée en présence de Fe_2O_3 .

La figure IV-5 présente l'analyse d'une cellule L 132 après la phagocytose de particules d'oxyde de fer Fe_3O_4 . L'empreinte spectrale obtenue est caractéristique de la présence de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ avec les ions ionisés Fe_2^+ , Fe_2O^+ et Fe_2O_2^+ . Là encore, les résultats sont d'une grande reproductibilité.

Ainsi, les analyses réalisées sur les cellules témoins nous donnent une information sur la composition de la matrice cellulaire à savoir la présence plus particulière de sodium (Na^+), de potassium (K^+), de calcium (Ca^+) et de l'ion Os^+ , ce dernier jouant le rôle de standard interne.

En outre, les études menées sur les cellules ayant phagocyté l'oxyde de fer Fe_2O_3 montrent une réduction de cet oxyde car seul l'ion Fe^+ est détecté.

Les analyses effectuées par la suite sur les cellules ayant phagocyté l'oxyde de fer Fe_3O_4 nous révèlent une empreinte caractéristique de l'oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et un rapport des intensités $\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+ = 1,45$, ce qui correspondrait à une réduction de l'oxyde initial.

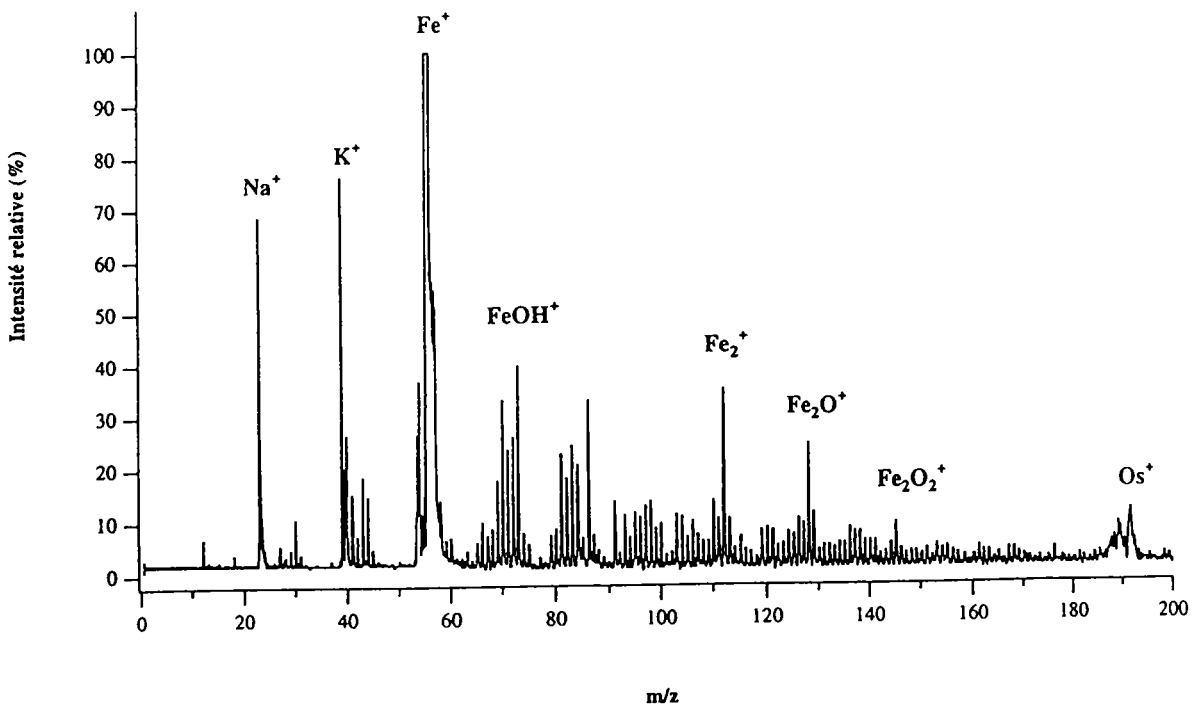


Figure IV-5. Spectre LAMMA en mode RELAI ($\lambda=293,7 \text{ nm}$ $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) d'une cellule L 132 incubée en présence de Fe_3O_4 .

Les recherches se sont poursuivies par l'analyse en mode résonant 278,8 nm de cellules L 132 mises en contact avec des poussières industrielles prélevées sur la halle des réfractaires, poussières sur lesquelles nous avons auparavant détecté la présence de Fe_2O_3 et Fe_3O_4 .

Ces études ont été menées afin de conforter notre protocole d'analyse sur la détection cellulaire in situ du degré d'oxydation du fer en situation réelle et pour savoir également si le fer ou les oxydes de fer éventuellement présents au sein de poussières polyphasiques sont ou non internalisés par les cellules L 132.

Les analyses en mode d'ionisation positif résonant ($\lambda=278,8$ nm) des coupes cellulaires L 132 révèlent l'existence de deux types de particules :

- des particules métabolisées caractérisées par une distribution d'agrégats Fe_2^+ ($m/z = 112$) et Fe_2O^+ ($m/z = 128$) avec un rapport entre les deux de 1,5, empreinte caractéristique de l'oxyde de fer de degré d'oxydation II (Fe^{2+}) (figure IV-6). Le cuivre également détecté provient de la grille sur laquelle ont été mises les coupes cellulaires.

· Intensité relative (%)

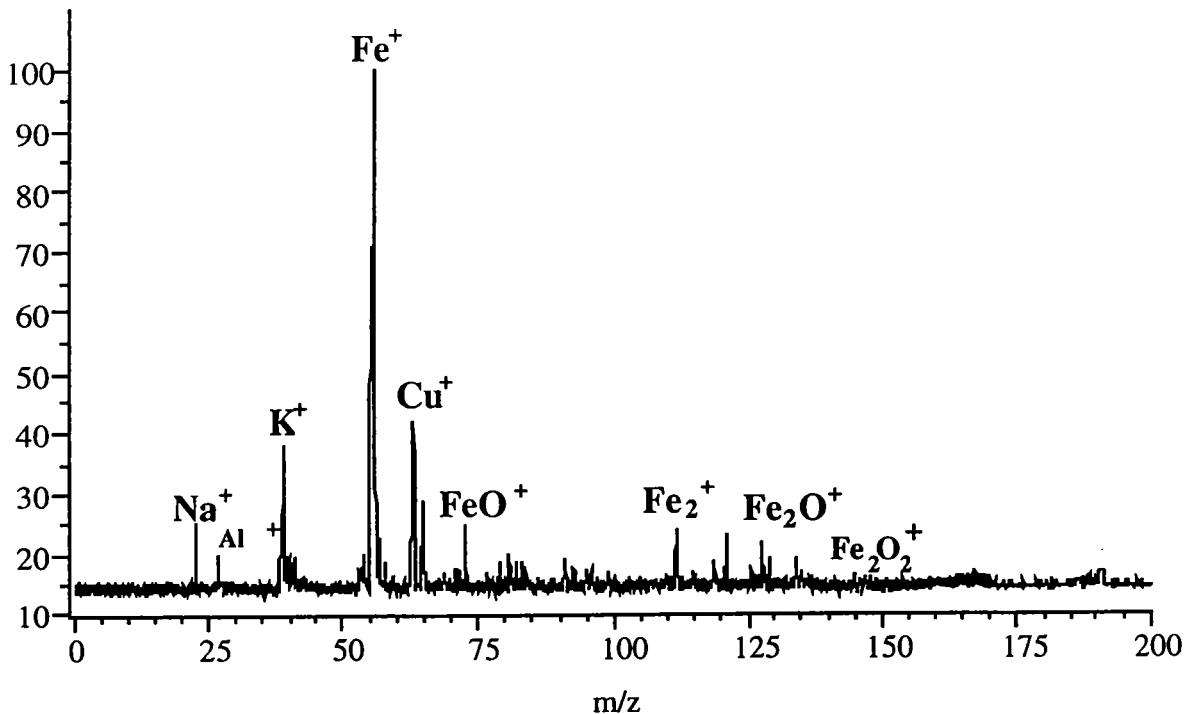


Figure IV-6. Analyse LAMMA ($\lambda=278,8$ nm, $I = 10^7$ W/cm²) d'une cellule L 132 incubée en présence de poussières industrielles (Halle des réfractaires).

- des particules totalement métabolisées caractérisées par la seule présence du fer Fe^+ ($m/z = 56$) sur le spectre de masse (figure IV-7).

.Intensité relative (%)

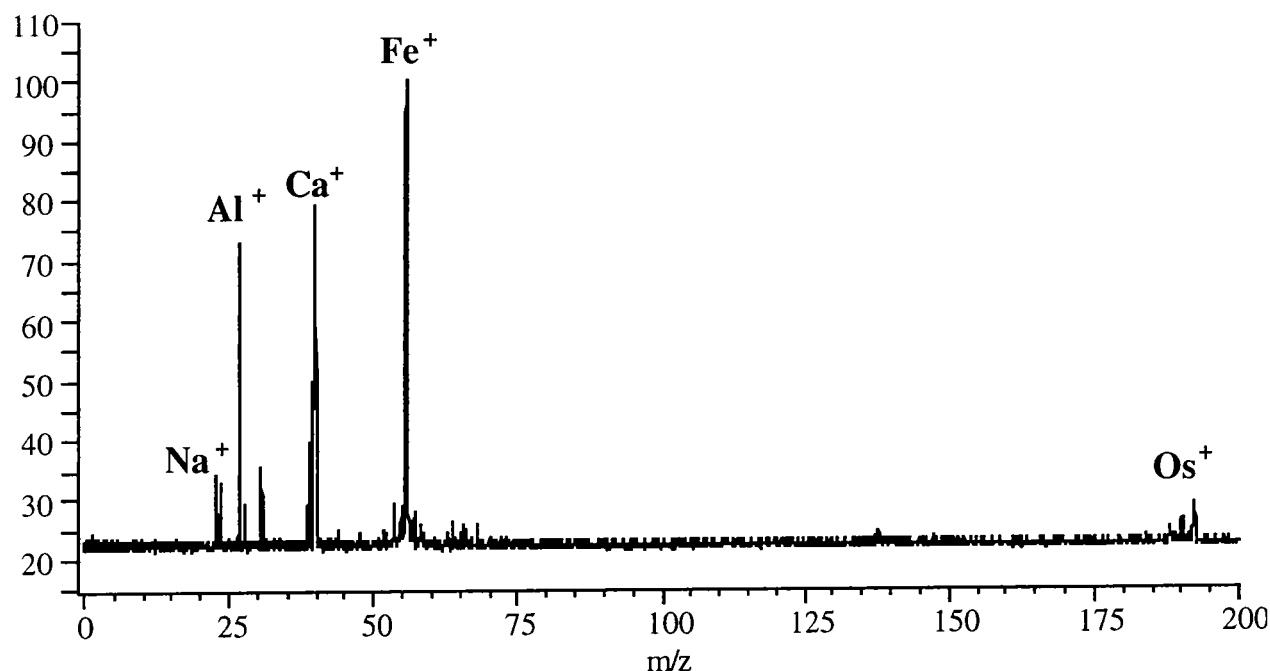


Figure IV-7. Analyse LAMMA ($\lambda=278,8$ nm, $I = 10^7$ W/cm²) d'une cellule L 132 incubée en présence de poussières industrielles (Halle des réfractaires).

Ainsi, nous voyons que les poussières industrielles sont transformées par les cellules et que l'empreinte caractéristique de Fe_{1-8}O nous laisse à penser que les cellules étaient au départ présentées à l'oxyde de fer Fe_3O_4 . A l'inverse, la présence de Fe^+ uniquement nous indique que les cellules furent au contact de l'oxyde de fer Fe_2O_3 .

Afin d'éliminer les effets de certains ions isobares (notamment l'ion Fe^+ et CaO^+ qui ont tous deux un rapport $m/z = 56$) et de confirmer ou d'infirmer les résultats précédents sur la biotransformation éventuelle des oxydes de fer par les cellules L 132, nous avons poursuivi nos études sur la phagocytose, d'oxydes de fer à base de fer 54 par des macrophages alvéolaires.

V. Analyse des Macrophages alvéolaires incubés en présence de particules d'oxyde de fer par microsonde laser LAMMA

Les recherches se sont poursuivies par l'analyse en mode résonant 278,8 nm de cellules macrophages ayant phagocyté des oxydes de fer $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ enrichis en fer 54 afin d'augmenter la sensibilité et la sélectivité de la détection des oxydes de fer intracellulaires par l'élimination au niveau de la détection du fer endogène de la cellule.

L'analyse spectrale de cellules macrophages témoins nous montre la présence plus particulière de sodium (Na^+), de potassium (K^+), de calcium (Ca^+) et de fer (^{56}Fe) ou de CaO^+ (figure IV-8).

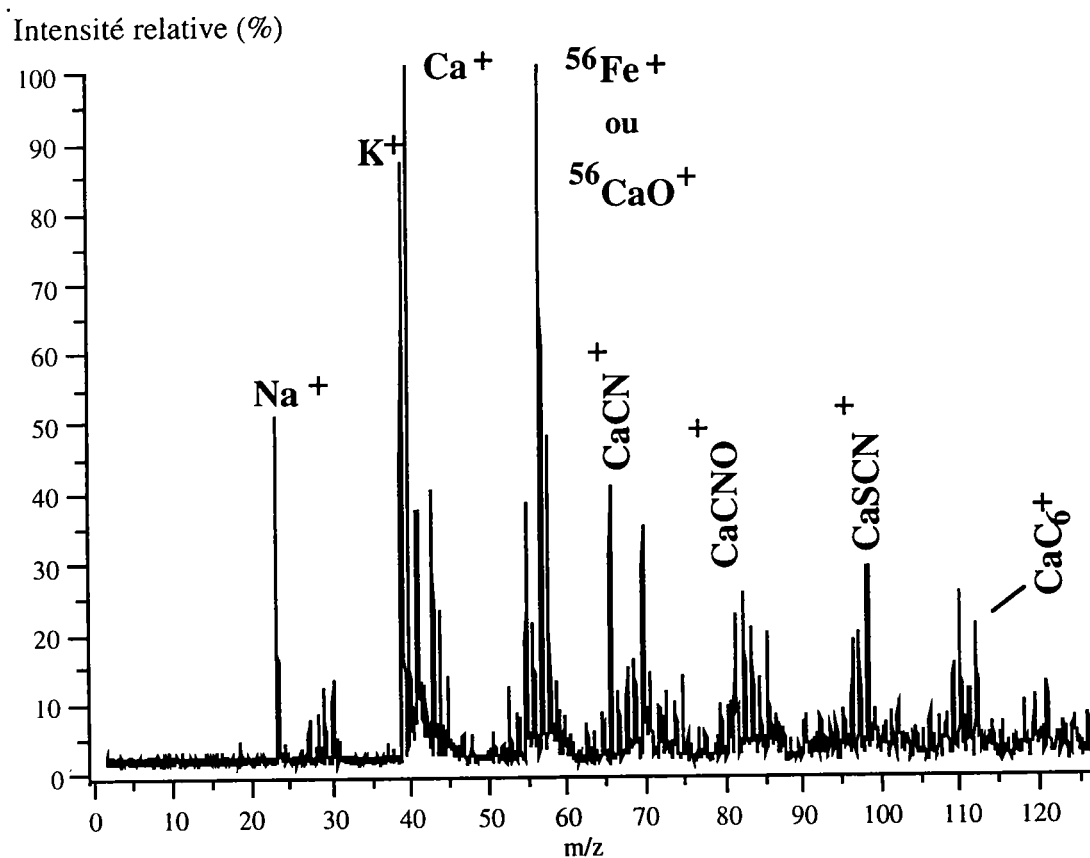


Figure IV-8. Spectre LAMMA en mode RELAI ($\lambda=278,8$ nm, $I = 10^7$ W/cm²) d'une cellule macrophage témoin.

Les études effectuées en mode d'ionisation positif résonant de la coupe cellulaire ($\text{MAC} + {}^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$) montrent la présence de deux types de particules :

- des particules ayant subi une métabolisation moins avancée qui se traduit par une réduction du degré d'oxydation III (Fe^{3+}) à un degré d'oxydation II (Fe^{2+}) (figure IV-9). Par conséquent, il s'agit d'une distribution d'agrégats ${}^{54}\text{Fe}_2^+$ ($m/z = 108$) et ${}^{54}\text{Fe}_2\text{O}^+$ ($m/z = 124$) comparable caractéristique d'un oxyde de fer de degré d'oxydation II (Fe^{2+}). La présence de l'osmium (Os^+) est due à la procédure de fixation.

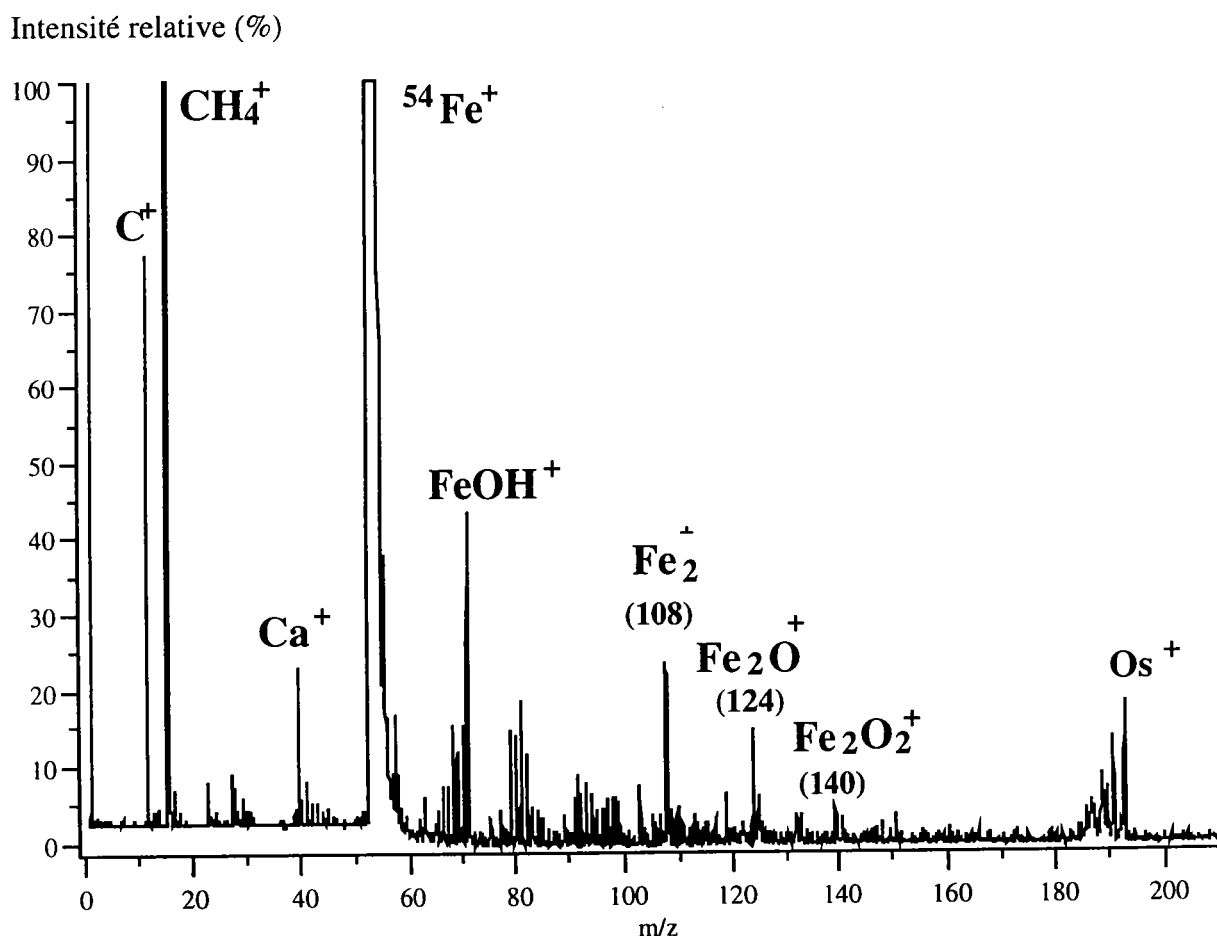


Figure IV-9. Caractérisation par LAMMA ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) de particules ${}^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ réduites en oxyde de fer ${}^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$.

- des particules totalement métabolisées caractérisées par une réduction du degré d'oxydation III (Fe^{3+}) sous forme de fer $^{54}\text{Fe}^+$. En effet, aucun agrégat de type $^{54}\text{Fe}_2^+$ ($m/z = 108$) ou $^{54}\text{Fe}_2\text{O}^+$ ($m/z = 124$) n'a été observé. Par contre, nous détectons uniquement le pic $^{54}\text{Fe}^+$ ($m/z = 54$) sur le spectre de masse (figure IV-10). Ici, le fer $^{54}\text{Fe}^+$ ne peut provenir que de la métabolisation de l'oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$. C'est ici une certitude.

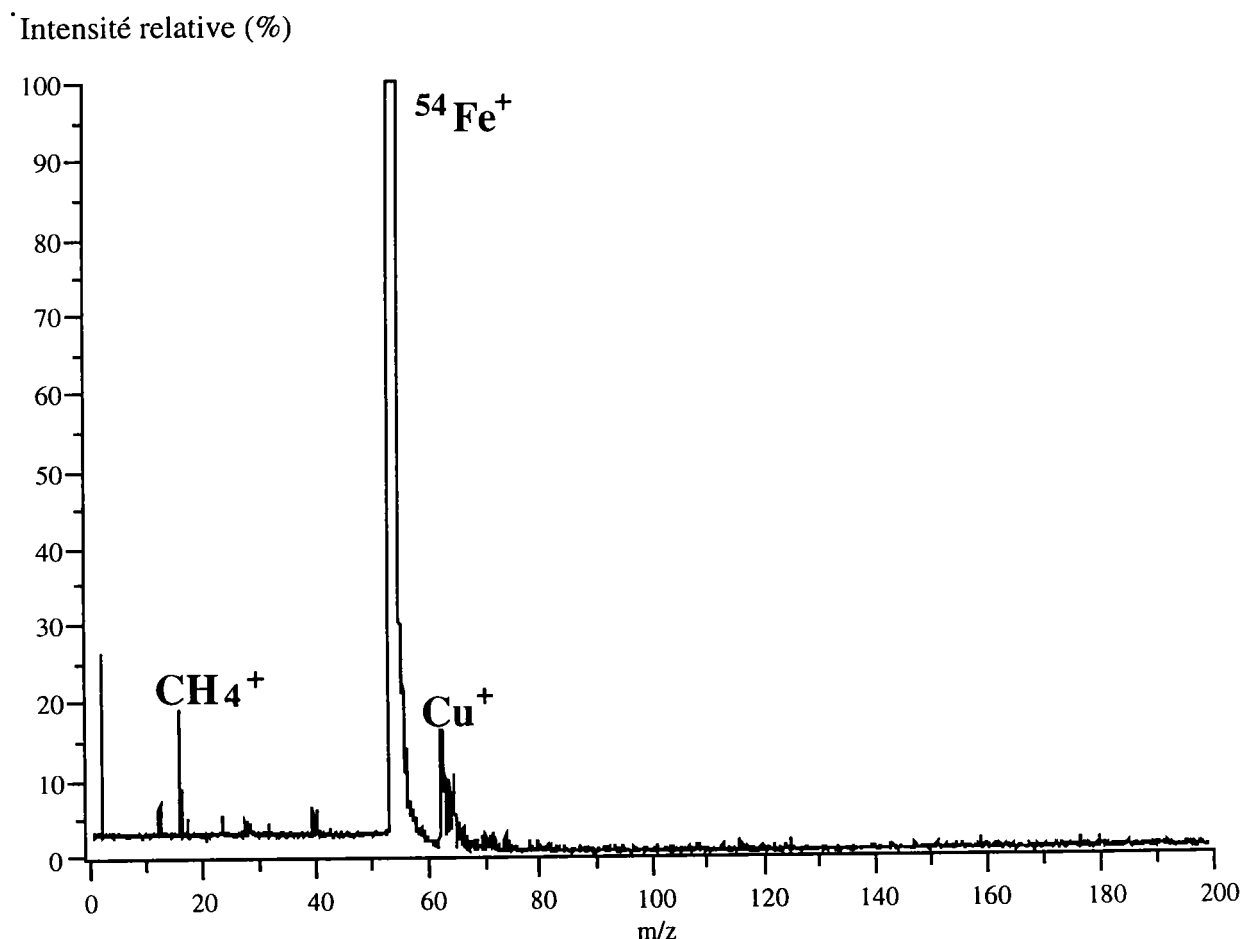


Figure IV-10. Caractérisation par LAMMA ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) de particules $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ réduites sous forme de fer métal ^{54}Fe .

Les analyses en mode d'ionisation positif résonant de la coupe cellulaire (MAC + $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$) révèlent l'existence de deux types de particules :

- des particules non métabolisées possédant une empreinte caractéristique ($\text{Fe}_2^+/\text{Fe}_2\text{O}^+ = 0,76$) du composé natif $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ (figure IV-11),

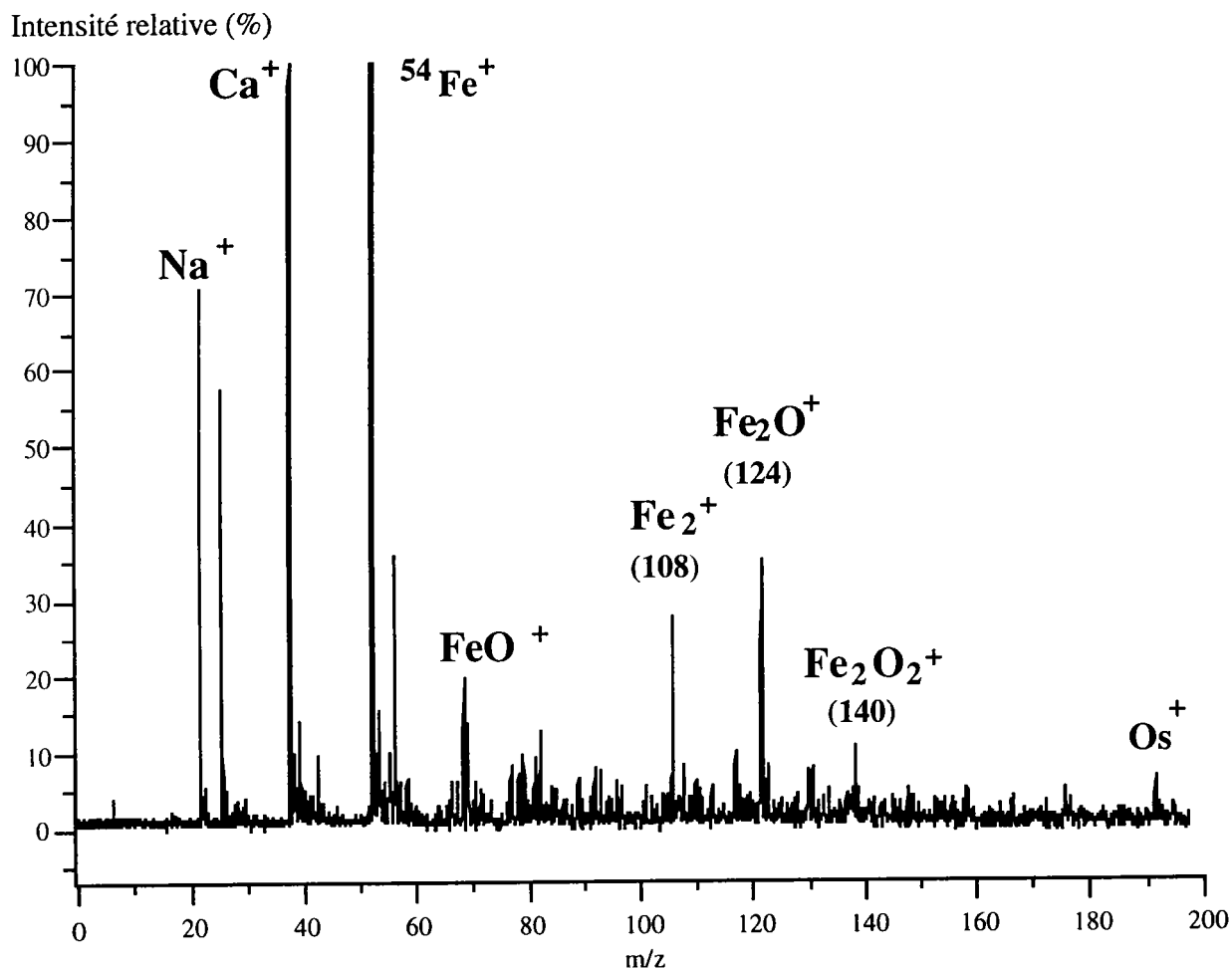


Figure IV-11. Caractérisation par LAMMA ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) de particules $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ non métabolisées par les macrophages.

- des particules métabolisées caractérisées par une distribution d'agrégats Fe_2^+ ($m/z = 108$) et Fe_2O^+ ($m/z = 124$) différente du produit natif.

En effet, l'empreinte spectrale est comparable à celle d'un oxyde de fer de degré d'oxydation II (Fe^{2+}). Il y a eu réduction de l'oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ (figure IV-12).

. Intensité relative (%)

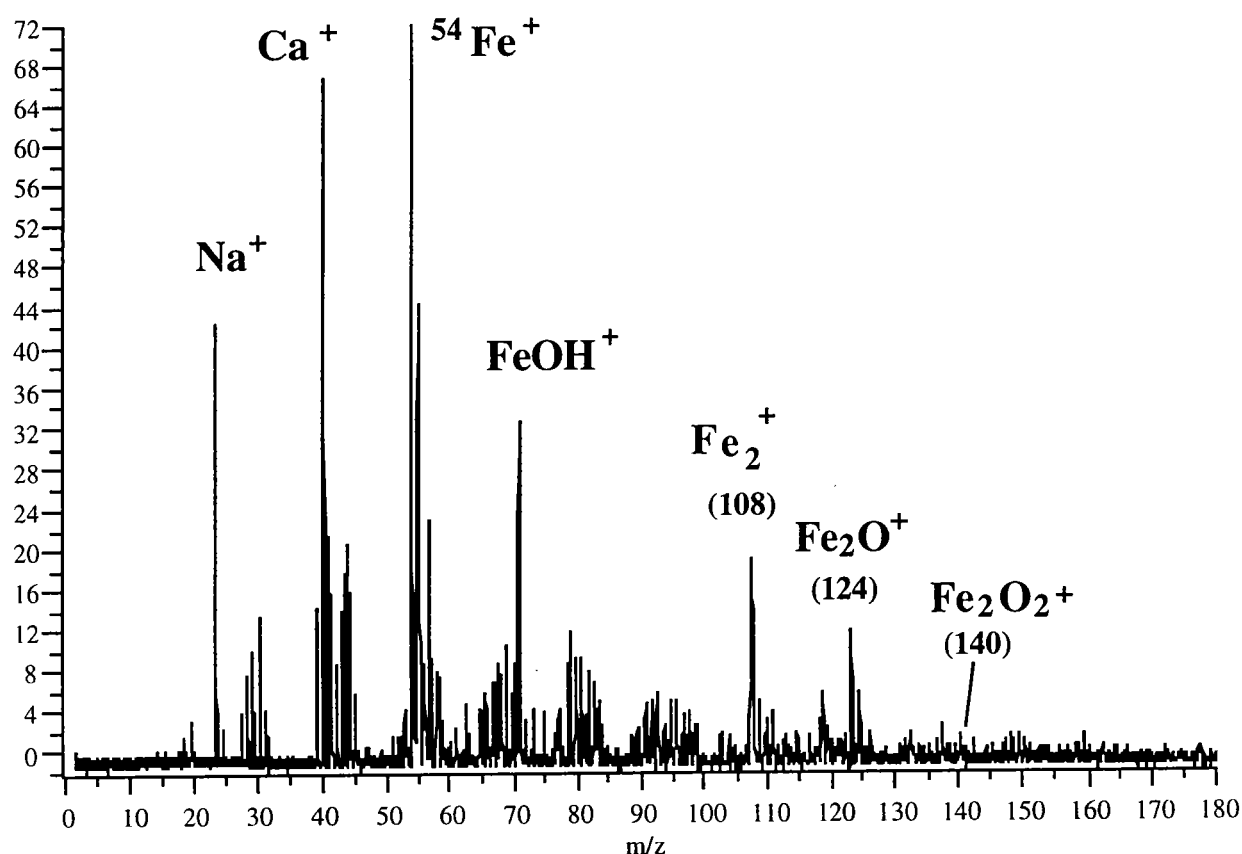


Figure IV-12. Caractérisation par LAMMA ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$, $I = 10^7 \text{ W/cm}^2$) de particules $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ réduites en oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$.

Ces premiers essais par mode d'ionisation RELAI se sont révélés particulièrement fructueux et très prometteurs. En effet, il semble que l'on puisse s'affranchir des effets de matrices, donnant par la même des informations claires et précises sur la nature des particules phagocytées par les cellules. Ainsi, nous pouvons suivre sur ces coupes de cellules biologiques (Cellules embryonnaires épithéliales humaine L 132 et macrophages alvéolaires), par microsonde laser LAMMA, l'évolution in vitro des oxydes de fer purs Fe_2O_3 et Fe_3O_4 ou de poussières industrielles.

En effet, l'ionisation résonante nous a montré que certaines particules possèdent l'empreinte spectrale caractéristique de l'oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ et

d'autres se trouve totalement réduites sous forme de fer probablement solubilisé sous forme Fe^{2+} .

Auparavant, il était indispensable, pour isoler les particules des milieux biologiques, de mettre en oeuvre la digestion de la matrice biologique en milieu fortement oxydant, ce qui pouvait induire une réoxydation des espèces préalablement réduites par le milieu biologique (Dufresne et al., 1994).

Par ailleurs, la technique d'ionisation résonante pourrait être étendue pour l'identification in situ des HAP en milieu cellulaire, possibilité que nous avons cherchée à mettre en évidence dans la suite de nos recherches.

VI. Analyse par microsonde laser LAMMA de cellules L 132 incubées avec des particules d'oxydes de fer Fe_3O_4 imprégnées de Benzo[a]pyrène

Nous avons poursuivi nos travaux sur la détection des HAP à faible longueur d'onde (223,2 nm) correspondant à un processus d'ionisation biphotonique de ces molécules. L'utilisation d'une faible longueur d'onde telle que celle-ci permet d'abaisser le seuil de détection des HAP en accord avec les études menées au sein du laboratoire par F. Verdun (1984 ; 1985 ; 1987) et S. Delmas en 1991. Ce protocole d'analyse nous a permis d'aboutir à la détection et à la caractérisation du Benzo[a]pyrène dans le milieu intracellulaire des cellules L 132 (figure IV-13).

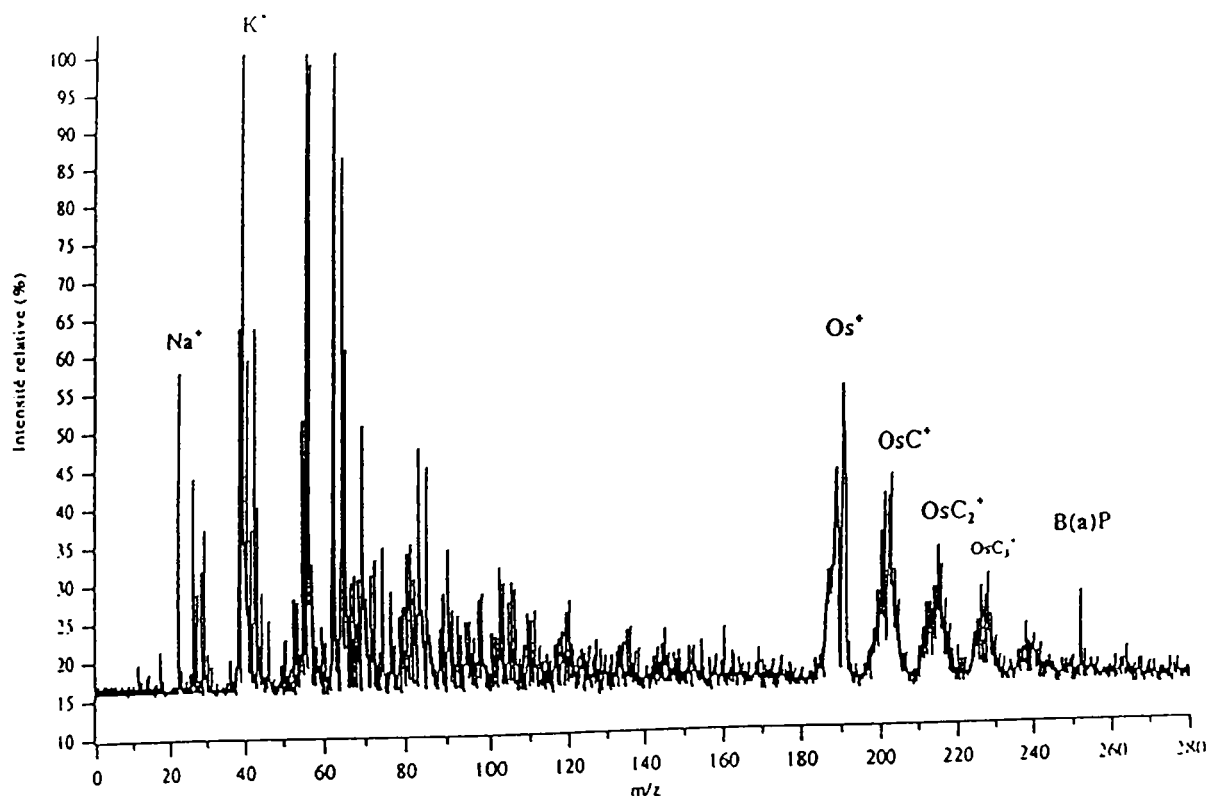


Figure IV-13. Spectre LAMMA ($\lambda = 223,2 \text{ nm}$, $I = 10^6 \text{ W/cm}^2$) du B[a]P en milieu cellulaire.

Conclusion

Suite aux études effectuées sur les milieux de culture, nous avons constaté que les oxydes de fer (Fe_2O_3 et Fe_3O_4) gardent une bonne stabilité dans le milieu de culture M.E.M sans cellule. En revanche, $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ s'oxyde en Fe_2O_3 dans ce même milieu.

L'avantage du mode d'ionisation laser RELAI (REsonant Laser Ablation Ionisation) apparaît clairement : la sélection d'une longueur d'onde d'absorption-émission du fer en phase gazeuse, le choix du degré de focalisation et de l'irradiance permettent une analyse ponctuelle à la fois très sensible, sélective offrant une description à la fois minérale et organique des particules analysées.

Les analyses réalisées sur les cellules témoins L 132 nous donnent une information sur la composition de la matrice cellulaire à savoir la présence plus particulière de sodium (Na^+), de potassium (K^+), de calcium (Ca^+) et de l'ion Os^+ (provenant du trétoxyde d'osmium utilisé comme fixateur), ce dernier jouant ici le rôle d'indicateur du milieu intracellulaire.

Les études menées en mode résonant ($\lambda = 278,8 \text{ nm}$), d'une part sur les cellules témoins L 132 et d'autre part sur les macrophages alvéolaires (MAC) ayant phagocyté l'oxyde de fer Fe_2O_3 ou Fe_3O_4 , nous permettent de conclure de la façon suivante (tableau IV-1) :

Type de l'oxyde phagocyté par la cellule	Type de cellule <i>ions détectés</i>	
	<u>Cellules embryonnaires</u> <u>L 132</u>	<u>Macrophages alvéolaires</u>
$^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$	$^{56}\text{Fe}^+$	/
$^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$	/	^{54}FeO ($^{54}\text{Fe}^+$)
$^{56}\text{Fe}_3\text{O}_4$	^{56}FeO ($^{56}\text{Fe}^+$)	/
$^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$	/	$^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ ^{54}FeO ($^{54}\text{Fe}^+$)

Tableau IV-1. Tableau récapitulatif des résultats sur la phagocytose des oxydes de fer Fe_2O_3 ou Fe_3O_4 par les cellules L 132 et les macrophages alvéolaires.

* les études menées sur les **cellules L 132** ayant phagocyté l'oxyde de fer $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$ montrent une réduction de cet oxyde car seul l'ion Fe^+ est détecté.

* en ce qui concerne les cellules ayant phagocyté l'oxyde de fer $^{56}\text{Fe}_3\text{O}_4$, les analyses nous révèlent une empreinte caractéristique de l'oxyde de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ ce qui correspondrait à une réduction de l'oxyde initial.

Les analyses des coupes cellulaires L 132 en présence de poussières industrielles (halle des réfractaires) révèlent l'existence de deux types de particules :

- des particules métabolisées caractérisées par une distribution d'agrégats Fe_2^+ ($m/z = 112$) et Fe_2O^+ ($m/z = 128$) comparable à celle d'un oxyde de fer de degré d'oxydation II (Fe^{2+}).

- des particules totalement métabolisées caractérisées par une absence des agrégats de type Fe_2^+ ($m/z = 112$) et Fe_2O^+ ($m/z = 128$). Nous détectons uniquement du Fe^+ ($m/z = 56$) sur le spectre de masse.

* les études effectuées en mode d'ionisation positif résonant des coupes cellulaires ($\text{MAC} + ^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$) montrent également la présence de deux types de particules :

- des particules ayant subi une métabolisation moins avancée qui se traduit par une **réduction** du degré d'oxydation III (Fe^{3+}) à un degré d'oxydation II (Fe^{2+}) avec une distribution d'agrégats $^{54}\text{Fe}_2^+$ ($m/z = 108$) et $^{54}\text{Fe}_2\text{O}^+$ ($m/z = 124$) comparable à celle d'un oxyde de fer de degré d'oxydation II (Fe^{2+}).

- des particules **totalement métabolisées** caractérisées par une réduction du degré d'oxydation III (Fe^{3+}). Aucun agrégat de type Fe_2^+ ($m/z = 108$) ou Fe_2O^+ ($m/z = 124$) n'a été observé. Par contre, nous détectons uniquement du $^{54}\text{Fe}^+$ ($m/z = 54$) sur le spectre de masse.

* les analyses en mode d'ionisation positif résonant des coupes cellulaires (MAC + $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$) révèlent l'existence de deux types de particules :

- des particules non métabolisées possédant une empreinte comparable au composé natif $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$,

- des particules métabolisées caractérisées par une distribution d'agrégats Fe_2^+ ($m/z = 108$) et Fe_2O^+ ($m/z = 124$) comparable à celle d'un oxyde de fer de degré d'oxydation II (Fe^{2+}). Il y a eu **réduction** de l'oxyde de fer $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$.

Enfin, l'ionisation à plus faible longueur d'onde (223,2 nm) a permis la détection du Benzo[a]pyrène dans le milieu intracellulaire des cellules L 132.

Bibliographie

- Battista G., Belli S., Carboncini F., Comba P., Levante G., Sartorelli P., Strambi F., Valentini F., Axelson O., **1988**. *Environm. Health*, 14, p 280.
- Berger M., Hazen M., Nejjar A., Fournier J., Guignard J., Pezerat H., Cadet J., **1993**. *Carcinogenesis*, 14(1), p 41.
- Bonser G.M., Faulds J.S., Stewart M.J., **1955**. *Am. J. Clin. Pathol.*, 25, p 126.
- Borel JP., Randoux A., Maquart FX., Le Peuch C., Valeyre J., **1987**. Biochimie dynamique. *Maloine Editeur Paris, Décarie Editeur Montréal*, p 601.
- Braun P., Guillerme J., Pierson B., Sadoul P., **1960**. *Rev. Méd. Nancy*, 85, p 702.
- Chau N., Benhamghar L., Pha Q.T., Teculescu D., Rebstock E., Mur J.M., **1993**. *Brit. J. Industr. Med.*, 50, p 1017.
- Costa D., Guignard J., Pezerat H., **1989**. *NATO ASI Series*, Vol. H 30, p 189.
- Costa D., Guignard J., Zalma R., Pezerat H., **1989**. *Toxicol. Ind. Health*, 5, p 1061.
- Dalal N.S., Newman J., Pack D., Leonard S., Vallyathan V., **1995**. *Free Radical Biology & Medicine*, 18(1), p 11.
- Darnel J., Harvey L., Baltimore D., **1989**. La cellule, biologie moléculaire. *Decarie Editeur Inc., Editions Vigot*, p 638.
- De silva D, Askwith C.C., Kaplan J., **1996**. *Biological Reviews*, 6(1), p 31.
- Delmas S., **1991**. *Thèse*, Université de Metz.
- Delmas S., **1991**. *Thèse*, Université de Metz.
- Dhur A., Galan P., Herberg S., **1990**. *Coll. Inserm*, 197, p 599.

- Dufresne A., Krier G., Muller J.F., Case B., Perrault G., **1994**. *The Science of the Total Environment*, 151, p 249.
- Faulds J.S., Stewart M.J., **1956**. *J. Pathol. Bacteriol.*, 72, p 353.
- Fontecave M., Pierre J. L., **1993**. *Biochimie*, 75, p 767.
- Fournier J., **1987**. *Thèse*, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI.
- Fournier J., Nwa Nangwa J.B., Guignard J., Pezerat H., **1985**. *NATO ASI Series*, G3, p 477.
- Fuhrman B., Oiknine J., Aviram M., **1994**. *Atherosclerosis*, 111, p 65.
- Greenberg G., **1976**. *Br. Med. J.*, 1, p 1508.
- Greife A.L., Warshawski D., **1993**. *J. of Toxicol. and Environ. Health*, 38, p 399.
- Guilianelli C., Baeza-Squiban A., Boisvieux-Ulrich E., Houcine O., Zalma R., Guennou C., Pezerat H., Marano F., **1993**. *Environmental Health Perspectives*, 101(5), p 436.
- Guilianelli C., Baeza-Squiban A., Houcine O., Pezerat H., Marano F., **1994**. *NATO ASI Series*, Vol. H 85, p 39.
- Hartwig A., Klyszcz-Nasko H., Schlepegrell R., Beyersmann D., **1993**. *Carcinogenesis*, 14(1), p 107.
- Henry M.C., Kaufman D.G., **1973**. *J. Nat. Cancer Inst.*, 51(6), p 1961.
- Henry M.C., Port C.D., Kaufman D.G., **1975**. *Cancer research*, 35, p 207.
- Jette E.R., Foote R., **1933**. *J. Chem. Phys.*, 1, p 29.
- Johansson A., Curstedt T., Rasool O., Jarstrand C., Camner P., **1992**. *Enviromental Research*, 58, p 66.
- Kavet R.I., Brain J.D., Levens D.J., **1978**. *Lab. Invest.*, 38(3), p 312.

Keenan K. P., Saffiotti U., Stinson S.F., Riggs C.W., McDowell E.M., **1989**. *Cancer research*, 49, p 1521.

Keenan K. P., Saffiotti U., Stinson S.F., Riggs C.W., McDowell E.M., **1989**. *Cancer research*, 49, p 1528.

Kretechmar Nguyen S. A., Craig A., Raymond K.N., **1993**. *J. Am. Chem. Soc.*, 115, p 6758.

Marion F., **1955**. *Thèse*, Université de Nancy.

Meneghini R., Benfato M. S., Bertoncini C. R., Carvalho H., Gurgueira S. A., Robalinho R. L., Teixeira H. D., Wendel C. M. A., Nascimento A. L. T. O., **1995**. *The Cancer Journal*, 8(3), p 109.

Mur J.M., Meyer-Bisch C., Pham Q.T., Massin N., Moulin J.J., Cavellieri C., Sadoul P. **1987**. *J. Occup. Med.*, 29, p 762.

Myrvic Q.N., Leake E.S., Fariss B., **1961**. *J. Immunol.*, 86, p 128.

Nemery B., **1990**. *Eur. Respir. J.*, 3, p 202.

Olakanmi O., McGowan S.E., Hayek M.B., Britigan B.E., **1993**. *The Journal of Clinical Investigation, Inc.*, 91, p 889.

Ooi H., Arakawa M., Ozawa H., **1994**. *Arch. Histol. Cytol.*, 57(1), p 87.

Petit-Coviaux F., Person A., Le Moullec Y., Courtois Y., Festy B., Dufour G., Brochard P., **1990**. *Pollution Atmosphérique*, 125, p 21.

Pham Q.T., Beigbeder R., Deniau R., Mur J.M., **1976**. *Arch. Mal. Prof.*, 37, p 393.

Pham Q.T., Mur J.M., Beigbeder R., Deniau R., Leonet O., **1977**. *Rev. Epidém. et Santé Publ.*, 25, p 255.

Robertson A., Dick W., **1977**. *Br. Med. J.*, p 946.

Roussel J., Pernot C., Schoumacher P., Pernot M., Pierson B., **1960**. *Arch. Mal Prof.*, 21, p 755.

- Rudd M.J., Good M.F., Chapman D.E., Powell L.W., Halliday J.W., **1990**. *Immunol. Cell. Biol.*, 68, p 317.
- Ryan T.P., Aust S.D., **1992**. *Critical Reviews in Toxicology*, 22(1), p 119.
- Saffiotti U., Cefis F., Kolb L.H., **1968**. *Cancer Research*, 28, p 104.
- Saffiotti U., Montesano R., Sellakumar A.R., Cefis F., Kaufman D.G., **1972**. *Cancer research*, 32, p 1073.
- Sakurai K., Haga K., Ogiso T., **1994**. *Biol. Pharm. Bull.*, 17(2), p 227.
- Shvedova A.A., Kramarik J.A., Keohavong P., Chumakov K.M., Karol M.H., **1994**. *Exp. Lung. Res.*, 20, p 297.
- Siegers C., Bumann D., Trepkau H., Swadwinkel B., Baretton G., **1991**. *Chemically induced cell proliferation : implications for risk assessment*, Wiley-Liss, Inc., p 439.
- Steinhoff D., Mohr U., Hahnemann S., **1991**. *Exp. Pathol.*, 43, p 189.
- Stenbäck F., Rowland J., Sellakumar A., **1976**. *Oncology*, 33, p 29.
- Stevens R., Beasley R.P., Blumberg B.S., **1986**. *J. Natl. Cancer Inst.*, 76(4), p 605.
- Sussman H., **1992**. *Pathobiology*, 60, p 2.
- Toyokuni S., Sagripanti J.L., **1993**. *Carcinogenesis*, 14(2), p 223.
- Vallyathan V., **1992**. *NATO ASI Series*, Vol. H 85, p 9.
- Van Lente F., **1993**. *Anal. Chem.*, 65(12), p 374R.
- Verdun F., **1985**. *Thèse*, Université de Metz.
- Verdun F., Muller J.F., **1984**. *J. de Physique*, C2(45), p 819.
- Verdun F., Muller J.F., **1987**. *Environ. Sci. Technol.*, 21, p 643.

Warshawsky D., Bingham E., Niemeier R.W., **1984**. *J. of Toxicol. and Environ. Health*, 14, p 191.

Warshawsky D., Reilman R., Cheu J., Radike M., Rice C., **1994**. *J. of Toxicol. and Environ. Health*, 42, p 407.

Weinberg E.D., **1990**. *Drug Metabolism Reviews*, 22(5), p 531.

Wolterbeek A.P.M., Rutten A.A.J.J.L., Feron V.J., **1994**. *Carcinogenesis*, 15(1), p 133.

Wolterbeek A.P.M., Schoevers E.J., Rutten A.A.J.J.L., Feron V.J., **1995**. *Cancer Letters*, 89, p 107.

Zalma R., Guignard J., Pezerat H., Jaurand M.C., **1989**. *NATO ASI Series*, H30, p 257.

Conclusion générale

CONCLUSION GENERALE

Les travaux de recherches faisant l'objet du présent rapport ont été réalisés en liaison étroite avec le LECES (Laboratoire d'Etude et de Contrôle de l'Environnement Sidérurgique) et le CERESTE (Centre de Recherche en Santé du Travail - Ergonomie) de Lille. Leur finalité consistait à fournir à la Sidérurgie les moyens d'apprécier correctement les risques qu'encourent les travailleurs de ce secteur lorsqu'ils sont exposés à des poussières riches en oxydes de fer sur différents sites, reconnus comme particulièrement sensibles (halle d'aciérie, haut-fourneau, agglomération de minerai, etc...).

Pour atteindre l'objectif fixé, trois étapes ont été nécessaires :

✓ en premier lieu, mettre au point une méthode d'analyse rapide permettant d'identifier la composition minérale de chaque particule et notamment de différencier les trois types d'oxydes de fer ($\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 et Fe_3O_4) ;

✓ en second lieu, appliquer un protocole de désorption/ionisation laser en deux étapes pour identifier au niveau de chaque type de particule les hydrocarbures aromatiques polycycliques éventuellement adsorbés ;

✓ enfin, suivre directement au niveau cellulaire la métabolisation des différents oxydes de fer. Pour éviter toute ambiguïté liée à la présence naturelle du fer dans le milieu cellulaire, nous avons délibérément opté pour l'étude de la métabolisation des trois types d'oxyde $^{54}\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ et $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$ synthétisés à partir de l'isotope 54 pur du fer. Ces synthèses ont été menées en collaboration avec le Laboratoire de Chimie du Solide Minéral de la Faculté des Sciences de Nancy.

Les résultats obtenus ouvrent de nombreuses perspectives et constituent une avancée que nous considérons comme décisive pour ce type d'étude.

En ce qui concerne la première étape, l'ablation/ionisation laser des matériaux en mode résonant (méthode RELAI : **RE**sonant **L**aser **A**blation/**I**onization) découle des premiers travaux du Laboratoire LSMCL sur le cuivre publiés dès 1987 dans la revue Analytical Chemistry.

Dans le contexte de la caractérisation des oxydes de fer, nous avons mis en évidence au cours des études RELAI les faits suivants :

- 1) L'ion Fe^+ , considéré comme ion précurseur des autres espèces ionisées, est prépondérant.
- 2) L'augmentation du taux d'ions Fe^+ dans le microplasma laser abaisse significativement son seuil de détection et surtout permet de s'affranchir des effets de matrice, notamment dans les milieux biologiques.
- 3) Les mécanismes de formation des agrégats oxygénés et ionisés du fer à partir des ions dits de première génération ont été élucidés grâce à des expériences croisées mettant en jeu l'isotope 54 du fer. Il apparaît également qu'il y a formation d'oxygène moléculaire singulet excité $[^1\text{O}_2]^*$ au sein du nuage gazeux induit par ablation laser.
- 4) Les différents oxydes de fer $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_2O_3 et Fe_3O_4 sont identifiés par RELAI avec un meilleur pouvoir de discrimination et surtout avec une énergie laser moindre (une diminution d'au moins un facteur 2).
- 5) L'identification in situ des espèces minérales à base de fer peut être aussi réalisée par microsonde laser à très faible irradiance.
- 6) Le concept peut être généralisé pour d'autres séries de composés minéraux.

Pour la deuxième étape, la microsonde laser LAMMA, toujours couplée à un laser accordable en fréquence, mais cette fois en mode mixé, est également adaptée pour détecter in situ les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). La procédure mise en oeuvre comporte deux étapes à faible longueur d'onde :

- l'une à basse irradiance pour désorber et ioniser les HAP adsorbés sur chaque particule.

- l'autre à haute irradiance, en mode résonant RELAI (ou non) pour identifier la nature de la particule prélevée sur différents sites industriels.

Les HAP étant ponctuellement identifiés par désorption laser à l'aide de leur pic moléculaire (m/z), chaque pic peut correspondre à plusieurs isomères. De ce fait, une identification par extraction et chromatographie en phase gazeuse a été réalisée sur chaque lot de particules. Bien que cette technique soit moins sensible, elle nous a permis de confirmer les résultats précédents et d'établir, par comparaison du temps de rétention, la liste des HAP que nous avons détectés par leur pic de masse en désorption laser.

De plus, cette méthodologie a permis de mener à bien la détection intracellulaire du B[a]P.

Enfin, la troisième partie du travail, relative à la transformation des oxydes de fer par des cellules embryonnaires L 132 et par des macrophages alvéolaires, a conduit à des résultats particulièrement intéressants :

- 1) La métabolisation de $Fe_{1-\delta}O$ n'a pas été étudiée car il s'est avéré que cet oxyde de Fe II était très rapidement oxydé en Fe III par le milieu de culture cellulaire.
- 2) Les cellules embryonnaires métabolisent rapidement l'hématite : seul l'ion Fe^{+} est détecté dans le milieu cellulaire, tandis que la magnétite, dans les mêmes conditions, laisse apparaître des résidus solides de $Fe_{1-\delta}O$.

- 3) Les macrophages alvéolaires, pour leur part, ont une action de même type mais moins rapide : avec l'hématite, certaines cellules contiennent encore les résidus de $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ solide, tandis que d'autres l'ont totalement métabolisé (seul Fe^+ est détecté). Dans le cas de la magnétite, toutes les graduations de la transformation ont été observées au niveau des macrophages : présence de magnétite non transformée dans certains d'entre eux, identification de résidus solides $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ dans d'autres.

Cette capacité de suivre, en milieu complexe, la biotransformation d'espèces minérales telles que les oxydes de fer par ablation/ionisation laser en mode résonant ouvre un champ analytique très prometteur dont la généralisation à d'autres types de composés mérite d'être réalisée.

A l'issue des recherches, il existe encore de nombreux domaines à explorer :

- la mesure des composés organiques particuliers reste dominée par celle des HAP ; leurs dérivés, nitrés ou oxygénés sont encore difficilement accessibles. L'analyse par désorption laser ouvre des perspectives intéressantes pour la détection et la caractérisation de telles molécules.

- l'étude sur l'existence d'une éventuelle relation entre la taille des particules "support" (poussières d'origine industrielle) et la distribution en HAP adsorbés devra être effectuée, notamment par microsonde laser LAMMA et FT-ICR/MS mais également par pyrolyse laser GC/MS afin d'avoir des informations sur l'éventuelle présence de différents isomères et aboutir à une mesure quantitative précise d'HAP par quantité de poussières prélevées.

- un suivi ponctuel de l'évolution des propriétés physicochimiques des HAP adsorbés devra être mis en oeuvre. Ces travaux devront débiter par l'étude du comportement des HAP adsorbés sur des particules ferreuses ou ferriques en atmosphère ambiante artificielle contrôlée (conditions d'humidité, d'éclairage, de température en fonction du temps).

- un protocole d'analyse pour la détection de certains métabolites d'HAP en milieu intracellulaire devra être mis en oeuvre grâce à la Désorption/Ionisation Laser Assistée par Matrice (MALDI-FT-ICR/MS) qui est une technique tout à fait prometteuse dans ce domaine.

ABSTRACT

The first aim of this work was a physical characterization of iron oxides $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_3O_4 and Fe_2O_3 (microphotographies SEM, specific area, granulometry). Then, these oxides were studied by laser microprobe mass spectrometry (LMMS) in order to distinguish them by their fingerprint. Multiphoton ionization must be banished ; it is preferable to employ the RELAI ionization (Resonant Laser Ablation/Ionization) which permits to increase sensibility of the detection and to improve the difference between the iron oxides.

Moreover, the $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$, Fe_3O_4 and Fe_2O_3 oxides were synthesized from iron 54 and were characterized by X ray diffraction and by LMMS with RELAI mode. The differentiation of these three oxides was reinforced by statistical method (Principal Component Analysis PCA).

The second purpose is devoted to the understanding of the formation mechanisms of Fe_2^+ and Fe_2O^+ for which their intensity vary significantly according to the studied species. The results provided by LMMS and FT/ICR/MS analyses show that several mechanisms are possible : we can say that the dimer Fe_2^+ is provided by a reaction between Fe^+ and neutral FeO , and the Fe_2O^+ ion arises at the same time from the reaction of the dimer Fe_2^+

with the singlet oxygen $^1\text{O}_2$. These reactions are induced inside the gaseous cloud after the laser pulse and they are not ion/molecule reactions occurring in the FT/ICR/MS cell.

Then, we accounted our protocol to examine the characteristics of particles descended from steel-works, blast furnace and ore agglomeration. Fe_3O_4 and Fe_2O_3 oxides are detected in contrary to $\text{Fe}_{1-\delta}\text{O}$ which has never been observed.

Besides, we analysed polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) by LAMMA and FT/ICR/MS in particles of steel -works. The presence of benzo[a]pyren (B[a]P) is confirmed in small size particles (0,7 - 1,1 μm) containing a non negligible concentration of iron oxide. The identification of different PAH is confirmed by gas chromatography GC/FID.

Finally, the studies allow us to show the biological transformation of iron oxides $^{56}\text{Fe}_3\text{O}_4$, $^{56}\text{Fe}_2\text{O}_3$, $^{54}\text{Fe}_3\text{O}_4$, $^{54}\text{Fe}_2\text{O}_3$ and of industrial particles in embryonic cells and macrophages by LMMS in RELAI mode. From the results, it can be shown a reduction of Fe_3O_4 and Fe_2O_3 oxides when they are present in biological cells. The detection of B[a]P is also possible in biological tissue by an ionization with small wavelength.

Keywords : Iron oxides, Mass Spectrometry, Laser Ionization/Ablation, LMMS, FT-ICR-MS, Resonant Ionization, Formation Mechanisms, In situ Characterization.