Mensuel
numéro
8-9
Août-Sept 2003

l'actualité chimique

Les isotopes stables

en collaboration avec
la Société Française des Isotopes Stables

Premier effet isotopique observé.
Plongés dans l'eau légère :

le glaçon d'eau légère (d = 0,91) flotte,
le glaçon d'eau lourde (d = 1,01) coule.

sfc
société française de chimie

Édité par la Société Française de Chimie - ISSN 0151 9093

INSTITUTE

Institut de l'Eau Nestlé et la Recherche avec des isotopes stables

L'Institut de l'Eau Nestlé est le premier Centre de Recherches spécialisé dans le domaine de l'eau conditionnée et de l'eau minérale. Créé en 1994, l'Institut de l'Eau a réalisé un Centre de Documentation moderne ayant la plus grande base de données dans ce domaine, rendant accessible au monde scientifique et médical toutes ces connaissances.

Il développe aussi ces connaissances à travers des programmes de recherches, en collaboration avec de nombreux laboratoires en France et à l'étranger.

Les études réalisées et publiées font souvent appel à l'emploi d'isotopes stables permettant d'analyser précisément leur absorption, leur bio disponibilité et leur métabolisme chez l'humain. Les travaux concernent principalement les minéraux présents dans les eaux minérales et de source comme le calcium et le magnésium mais aussi la molécule d'eau avec le deutérium et l'oxygène 18.

Quelques publications employant des isotopes stables sont indiquées.

Etudes publiées:

Calcium bioavailability from a calcium- and sulfate-rich mineral water, compared with milk, in young adult women, F Couzy, P Kastenmayer, M Vigo, J Clough, R Munoz-Box and DV Barclay.
Am J Clin Nutr, 62, 1239-1244 (1995)

Body Water Spaces and Cellular Hydration during Healthy Aging,
P. Ritz, N Fellmann, E Levadoux, B Morio, C Vache, MJ Arnaud, S Acher, B. Beaufrère, F. Blonde-Cynober, A. Boulier, F. Bouthier and F. Bouthier-Quintard, T. Constans, V. Dardaine, JC. Desport, A. Ghisolfi, R. Hermet, C. Lambert, B. Vellas, J.P. Vincent.
Ann New York Acad. Sci., 904, 474-483 (2000)

Chronic Cellular Dehydration in the Aged Patients.
P. Ritz, N Fellmann, E Levadoux, B Morio, C Vache, MJ Arnaud, S Acher, B. Beaufrère, F. Blonde-Cynober, A. Boulier, F. Bouthier and F. Bouthier-Quintard, T. Constans, V. Dardaine, JC. Desport, A. Ghisolfi, R. Hermet, C. Lambert, B. Vellas, J.P. Vincent
J Gerontol. Series A-Biological Sci. and Medical Sci., 56, M344-M348 (2001)

Bioelectrical impedance analysis estimation of water compartments in elderly diseased patients.
P. Ritz, S Acher, , B. Beaufrère, F. Blonde-Cynober, A. Boulier, F. Bouthier, F. Bouthier-Quintard, T. Constans, V. Dardaine, N Fellmann, JC. Desport, A. Ghisolfi, R. Hermet, C. Lambert, B. Vellas, J.P. Vincent, MJ Arnaud.
J Gerontol. Series A-Biological Sci. And Medical Sci., 56, M349-M352 (2001)

Meal effect on magnesium bioavailability from mineral water in healthy women
M Sabatier, MJ Arnaud, P Kastenmayer, A Rytz and DV Barclay
Am J Clin Nutr., 75, 1, 65-71 (2002)

Comparison of stable isotope tracer methods for the determination of magnesium absorption in humans.
M Sabatier, WR. Keyes, F Pont, MJ. Arnaud, J R. Turnlund
Am J Clin Nutr. 77, 1206-1212, 2003

A compartmental model of magnesium metabolism in healthy men based on two stable isotope tracers
M Sabatier, F Pont, MJ. Arnaud, J R. Turnlund
American J. Physiology: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, May 2003

Magnesium Stable Isotope Enrichments in Plants
D Courtois, P Kastenmayer, J. Clough, M Vigo, M Sabatier and M J. Arnaud
Isotopes in Environmental and Health Studies, in press, 39, 4, 2003

Les demandes de tirés à part peuvent être adressées à l'adresse :
Institut de l'Eau, BP 101, 88804 Vittel Cedex.

l'actualité chimique

RÉDACTION
Rédacteur en chef : Bernard Sillion
Rédactrice en chef adjointe : Séverine Bléneau-Serdel
Secrétaire de rédaction, maquettiste, webmaster : Évelyne Girard
Secrétaire de rédaction, activités de la SFC, manifestations : Roselyne Messal
Chargés de rubrique : Marika Blondel-Mégrelis (Histoire de la chimie), Yves Dubosc (Livres et médias, Manifestations), V. Nardello-Rataj (Comment ça marche ?), Gilbert Schorsch (Industrie), Pierre Vermeulin (Chimie francophone)
Comité de rédaction : P. Aldebert (CNRS), P. Arpino (div. Chim. anal.), A. Audibert-Hayet (IFP), B. Badet (ICSN), X. Bataille (Histoire des sciences), M. Blanchard-Desce (div Chim. orga.), M. Blondel-Mégrelis (club Histoire), E. Bordes-Richard (div. Cat.), J. Buendia (SCI), M. Carrega (div. Matér. polym.), G. Chambaud (com. interdiv. Enseignement), N. Cheymol (CPGE), J.-C. Daniel (groupe Formulation, GFP), R.-E. Eastes (ENS), E. Florentin (ENS), J.-P. Foulon (UDP), J. Fournier (club Histoire), Y. Gauduel (div. Chim. phys.), G. Gros (chimie des procédés), J.-F. Lambert (div. Cat.), V. Nardello-Rataj (groupe Formulation), P. Pichat (ADT), A. Picot (Prévention des risques chimiques), P. Rigny (exp. scient.), D. Rutledge (div. Chim. anal.), G. Schorsch (SFC), F. Secheresse (div. Chim. coord.), H. This (INRA-Collège de France), M. Verdaguer (UPMC), P. Vermeulin (CNRS), C. Viel, D. Vivien (div. Chim. solide)
Journaliste stagiaire : Colin Droniou
Publication analysée ou indexée par : Chemical Abstracts, la base de données PASCAL

ÉDITION
Société Française de Chimie
250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris
Tél. : 01 40 46 71 64 - Fax : 01 40 46 71 61
E-mail : ac@sfc.fr - http://www.sfc.fr
Directeur de la publication : François Mathey, président de la Société Française de Chimie
Imprimerie : SPEI, BP 26, 54425 Pulnoy
Maquettage articles : e-Press, Casablanca Technopark, Route de Nouaceur, Angle RS 114 et CT 1029, Casablanca (Maroc)
ISSN 0151 9093

PUBLICITÉ
EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort
Tél. : 01 43 53 64 03 - Fax : 01 43 53 48 00
Chef de publicité : Albert Edery
edition@edif.fr
www.edif.fr

© SFC 2003 - Tous droits réservés
Dépôt légal : août-septembre 2003

Toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, fait sans le consentement de l'auteur, ou des ayants droits, ou ayant cause, est illicite (loi du 11 mars 1957, alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal. La loi du 11 mars 1957 n'autorise, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'articles 41, que les copies et les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective d'une part, et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration.

TARIFS 2003 - L'ACTUALITÉ CHIMIQUE
(11 numéros par an)
Particuliers : France 85 € - Étranger 90 €
Institutions : France 183 € - Étranger 195 €
Membres de la SFC :
abonnement inclus dans la cotisation
Abonnement : SFC, Nadine Colliot
250, rue Saint-Jacques, 75005 Paris
Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61
adhesion@sfc.fr
Prix de vente au numéro : 18 € (port inclus)

sfc société française de chimie

A propos de L'Actualité Chimique

Vous avez reçu, chers lecteurs, un questionnaire qui vous demandait votre opinion sur l'évolution de *L'Actualité Chimique*. Ce questionnaire doit être examiné pendant le Comité de rédaction du 25 septembre, et quand vous lirez cet éditorial, vos réponses devraient être retournées à la rédaction. Je n'ai donc aucun scrupule pour intervenir dans le débat. Mon propos ne sera pas de prendre position, vous vous en doutez bien, sur la politique éditoriale et à cet égard, vos remarques et vos pertinentes (je n'en doute pas !) critiques seront importantes pour la suite. Non, mon propos portera sur la relation entre le journal et sa société mère : la Société Française de Chimie. Rassurez-vous, les relations sont excellentes, mais la question est : la SFC peut-elle seule supporter le coût d'un journal dans sa forme actuelle en quadrichromie avec 11 numéros de 64 pages en moyenne par an ? Le compte prévisionnel pour 2003 fait apparaître une charge d'exploitation de 290 000 €, et le suivi mensuel numéro par numéro montre que les prévisions seront respectées. Sauf si l'on évolue fortement vers une présentation beaucoup plus triste du style « bulletin paroissial », ces charges sont incompressibles. En face de cela, les sommes affectées par la SFC et les 30 000 € que les recettes publicitaires nous laissent espérer ne permettent pas l'équilibre, et le déficit estimé est de l'ordre de 65 000 €. Peut-on envisager que les recettes publicitaires augmentent ? Il est peu probable que notre agence de publicité puisse réaliser un chiffre d'affaires de 170 000 € (ce qui correspond à 65 000 € pour le journal).

Si l'on ajoute à cela que les moyens de communication informatique coûtent environ 55 000 € , on voit par là que la SFC se trouve dans une situation de déficit structurel récurant pour ce que l'association appelle « sa communication » ! C'est bien là le problème : pourquoi *L'Actualité Chimique* serait-elle un moyen de communication de la SFC ? Je pense que la revue a vocation à être un journal scientifique pour une large audience de professionnels de la recherche du monde académique et industriel, pour les enseignants et les étudiants. Mais si l'on va dans cette direction, il est clair que la solution réside dans une recherche de partenariats. Nous avons pu constater pendant les discussions qui portaient sur la Fédération des Chimistes de France le peu d'enthousiasme de nos partenaires pour que *L'Actualité Chimique* devienne le journal de tous… et on peut les comprendre : la réunion d'associations pauvres ne fait pas une Fédération riche ! Mais il y avait plus, chaque association voulait se garder SON moyen de communication, et cela illustre bien la contradiction entre journal d'association et périodique scientifique.
Je suis convaincu que si la SFC s'ouvre à d'autres partenaires que les sociétés savantes, je pense aux éditeurs et aux organismes pour lesquels la chimie joue un rôle important…, il sera possible de faire un grand journal de revue dans lequel tous les domaines de la chimie seront traités, ce qui permettra d'élargir le lectorat et d'attirer la publicité.

Mais revenons à ce numéro qui a été conçu par nos amis de la Société Française des Isotopes Stables. Nous remercions l'équipe de coordination qui, autour d'Edgar Soulié et Fabien Palhol, s'est montrée attentive à la qualité des articles, aux délais, et… au respect du nombre de pages, aspect très important pour ce qui concerne le contrôle des dépenses de la revue.

Bernard Sillion
Rédacteur en chef

Élection à la présidence de la SFC : en encart sous la 1ère de couverture

Sommaire

Éditorial 2

A propos de L'Actualité Chimique, par **B. Sillion** 2

Numéro spécial : Les isotopes stables

en collaboration avec la Société Française des Isotopes Stables

Avant-propos 3

Avant-propos, par **M.J. Arnaud** 3

La SFIS 4

La SFIS, Société Française des Isotopes Stables 4

Rappels 5

Quelques rappels et définitions, par **C. Lamoureux** 5

Séparation isotopique 10

Progrès en séparation isotopique d'éléments légers, par **Y. Barré** et **D. Axente** 10

Analyses isotopiques et réglementation 14

Obtenir des résultats de chimie analytique fiables, comparables et répondant aux besoins de la société, par **C.R. Quétel** 14

RMN et analyses isotopiques, par **S. Akoka** et **G. Remaud** 18

Utilisation réglementaire des analyses isotopiques des aliments. Dix ans d'expérience européenne, par **G. Calderone**, **C. Guillou** et **N. Naulet** 22

Contribution des analyses isotopiques à la lutte contre les trafics de drogue, par **F. Palhol** 27

Les analyses isotopiques au laboratoire des Douanes, par **C. Lamoureux** 31

Applications au monde vivant 34

Oxydation des glucides ingérés pendant l'exercice. Mesure par traçage au carbone 13, par **F. Péronnet** 34

Reconstitutions des paléovégétations. Mesure de la composition en isotopes stables des végétaux, par **C. Descolas-Gros** 38

Le devenir de l'azote dans les litières forestières. Étude par marquage isotopique, par **B. Zeller**, **E. Dambrine** et **L. Caner** 41

Applications à la Terre et à l'Univers 44

Les nouveaux isotopes dans les sciences de l'eau, par **W. Kloppmann** 44

Mélange des eaux de la nappe phréatique et de la rivière, par **L. Lambs** 48

Datation des événements magmatiques ou métamorphiques, par **A. Cocherie** 51

Formation du système solaire et de l'Univers. Décryptage au moyen des outils de la cosmochimie isotopique, par **E. Deloule** 55

Conclusion 60

Conclusion, par **E. Roth** 60

Livres et médias 61

Manifestations 62

Activités de la SFC 63

Index des annonceurs

CNAM	*p. 40*	*GV Instruments*	*p. 25, IVe de couv.*	*Kompetenz Zentrum Wasser Berlin*	*p. 8-9*
CNAM-IHIE	*p. 50*	*Interchimie 2004*	*IIIe de couv.*	*Nestlé Waters*	*p. 26, IIe de couv.*
EDIF	*p. 21*				

Avant-propos

La Société Française des Isotopes Stables (SFIS) est née le 31 octobre 2000 et cette naissance a été publiée dans le *Journal officiel* un mois après, le 25 novembre. C'est donc une nouvelle et jeune société scientifique qui a établi son siège au Laboratoire de minéralogie du Muséum national d'histoire naturelle à Paris.

Les isotopes stables font l'objet d'études fondamentales qui se poursuivent depuis leur découverte et ils se révèlent de plus en plus des outils irremplaçables dans de nombreuses applications et disciplines de la recherche.
La SFIS a pour ambition de réunir tous les scientifiques et experts de langue française intéressés aux isotopes stables. Cette société, qui est par définition multidisciplinaire, présente l'avantage d'être un lieu de débats et d'idées, de permettre des contacts entre les jeunes chercheurs débutant leur carrière et d'autres ayant une grande expérience dans leurs domaines spécifiques.
Dès sa création, pour favoriser les échanges et offrir aux jeunes chercheurs la possibilité de présenter leurs résultats, la SFIS a organisé à Nancy du 13 au 15 décembre 2000, les 1ères Journées françaises des isotopes stables. Elles ont réuni plus de 100 participants dont près de 20 % venaient de l'étranger. Les secondes Journées de la SFIS ont eu lieu deux ans plus tard, à Nantes, à l'occasion d'une « Semaine des isotopes stables » qui s'est déroulée du 7 au 12 juillet 2002 à la Faculté des sciences et des techniques de l'université de Nantes. C'est en constatant la qualité des présentations orales ou sous forme d'affiches qu'a été évoquée la publication d'un numéro thématique sur les isotopes stables dans *L'Actualité Chimique*.

Le choix des thèmes les plus représentatifs et des articles correspondants a été difficile car s'ils montrent la diversité, ils ne représentent cependant que quelques recherches et applications des isotopes stables.
Dans ce choix, l'optimisation des procédés chimiques de séparation et de production des isotopes stables (Y. Barré et D. Axente) et les analyses isotopiques, en particulier la fiabilité des méthodes, leur reproductibilité inter laboratoires, leur sensibilité, leur précision (C. Quétel), constituent les bases fondamentales pour toutes les autres disciplines. Ces méthodes sont appliquées à la mesure des différents effets isotopiques observés, soit après une synthèse chimique, soit au cours de fractionnements biologiques. Ces différences mesurées permettent l'authentification d'aliments ou d'additifs (S. Akoka et G. Remaud ; G. Calderone, C. Guillou et N. Naulet), ou encore l'adultération de produits alimentaires (C. Lamoureux) ou l'origine de drogues (F. Palhol).

Dans les sciences du vivant, les isotopes stables sont maintenant partout présents. Ils permettent d'étudier les mécanismes moléculaires et enzymatiques, l'utilisation et le devenir de molécules ou de nutriments en nutrition humaine (F. Péronnet), mais aussi en physiologie végétale pour suivre le devenir de l'azote dans les écosystèmes (E. Dambrine, B. Zeller et L. Caner). L'analyse des plantes permet également de reconstituer les changements de végétations et de climats à partir de matériel fossile (C. Descolas-Gros).

Dans les applications, les sciences de la Terre et de l'espace mettent en valeur l'emploi des isotopes stables et les progrès des connaissances concernent l'analyse des roches, les caractéristiques des eaux de surface ou souterraines, mais aussi la cosmochimie. L'article de A. Cocherie décrit les résultats de géochronologie obtenus à partir de mesures de rapports isotopiques. Ces mêmes mesures permettent de mieux comprendre l'origine et la formation du système solaire (E. Deloule). Enfin, les isotopes sont des indicateurs permettant de dépister les interactions entre les roches et l'eau et de suivre les mouvements de l'eau en surface ou en profondeur (W. Kloppmann), ou leur mélange entre la rivière et la nappe phréatique ou dans le cas de confluence de deux rivières (L. Lambs).

Ce numéro fait donc le point de recherches actuelles sur les isotopes stables. Les ***3e Journées françaises des isotopes stables***, qui auront lieu **en 2004 à Orléans**, permettront de montrer les progrès de ces travaux, mais aussi de constater que de nombreux autres domaines s'ouvrent aux isotopes stables.

Maurice J. Arnaud
Président de la SFIS

Maurice J. Arnaud
est président de la SFIS. Il dirige l'Institut de l'Eau Nestlé à Vittel*.

* Institut de l'Eau Nestlé, BP 101,
88804 Vittel Cedex.
E-mail : Maurice.Arnaud@waters.nestle.com

La SFIS

Société Française des Isotopes Stables

Créée en 2000, la SFIS est juridiquement une association régie par la Loi de 1901 et pratiquement une « société savante ». Elle a vocation à rassembler toutes les personnes physiques ou morales (organismes publics ou privés), dont les secteurs d'activité sont concernés par les isotopes stables ou leurs applications dans le but :
- de contribuer au développement de ces secteurs dans tous leurs aspects ;
- d'agir en faveur du développement de la recherche scientifique et de ses applications ;
- d'être un centre d'information et de rencontre des personnes intéressées ;
- d'assurer la diffusion des connaissances et du savoir-faire dans le domaine des isotopes stables.

Thématiques de la SFIS

• ***Théorie***
Effets isotopiques cinétiques et d'équilibre.
• ***Chimie biologique***
Métabolisme, mécanismes réactionnels, médecine et santé, sport.
• ***Environnement***
Traçage des contaminations, agronomie, cycles biogéochimiques.
• ***Géologie/géographie***
Géochimie générale et pétrolière, archéologie, hydrologie, climatologie.
• ***Physique nucléaire, physique des particules élémentaires***
• ***Astrophysique, cosmochimie***
• ***Méthodologie***
Séparation des isotopes, nouvelles méthodes isotopiques.
• ***Alimentaire***
Boissons, authentification des arômes naturels, autres produits alimentaires, fraudes.
• ***Méthodes analytiques, métrologie***
Instrumentation, dilution isotopique.

Réunions et congrès

- Tous les deux ans, les « ***Journées françaises des isotopes stables*** » rassemblent un public de chercheurs français et étrangers autour de conférences sur les développements récents des analyses des isotopes stables et sur des recherches relatives aux applications des isotopes stables dans des domaines variés allant de la chimie environnementale à l'étude du métabolisme, en passant par la géochimie et les cycles biologiques.
- Deux fois par an, la SFIS organise un ***après-midi scientifique*** au Muséum national d'histoire naturelle à Paris. A cette occasion, deux ou trois conférences portant généralement sur des sujets d'actualité sont présentées. Ces réunions sont également l'occasion de rencontres au sein de la communauté des isotopistes.

Contacts

Siège social : Laboratoire de minéralogie du MNHN,
61 rue Buffon, 75005 Paris.
Secrétaire : Edgar Soulié. Tél. : 01 69 08 47 37.
E-mail: Bsoulie@drecam.cea.fr
Site Internet : http://www.sfis.asso.fr
E-mail : contact@sfis.asso.fr

Quatre spécialistes renommés ont récemment quitté le monde des isotopes

• **Bernard Beaufrère**, 46 ans
Spécialiste de l'application des techniques isotopiques aux problèmes de nutrition et de métabolisme, il dirigeait le Centre de recherche en nutrition humaine (INRA-Université d'Auvergne) de Clermont-Ferrand.
• **Harmon Craig**, 77 ans
Spécialiste de l'application des techniques isotopiques aux roches et aux minéraux, il travaillait à l'Université de Californie.
• **Éliane Deléens**, 55 ans
Spécialiste de l'application des techniques isotopiques aux plantes, elle était directrice de recherche au Laboratoire de métabolisme et structure de plantes à la Faculté des sciences d'Orsay.
• **Samuel Epstein**, 81 ans
Éminent géochimiste isotopique, il enseignait à l'Université de Californie.
Leurs biographies sont consultables sur le site Internet de la SFIS.

Quelques rappels et définitions

Catherine Lamoureux

La notion d'isotope est encore trop souvent associée à celle de radioactivité et donc à l'idée de danger. Ce terme recouvre, en fait, un ensemble d'éléments chimiques ayant le même nombre d'électrons et donc de protons, qui ne se différencient que par leur nombre de neutrons et donc par leur masse atomique. Dans le tableau de Mendeleïev, tous les isotopes d'un même élément se situent au même endroit (du grec *iso*, même, et *topos*, lieu). Une minorité d'entre eux, la plus médiatisée, possède un noyau instable qui se désintègre avec éventuellement émission de radioactivité, tandis que la majorité silencieuse est pourvue d'un noyau de structure stable.
Vous trouverez ci-dessous des rappels plus axés sur les aliments, mais qui se généralisent pour toute branche utilisant les isotopes stables.

Quelques rappels sur les isotopes stables et le fractionnement isotopique

La matière vivante, constituée principalement de carbone, hydrogène, oxygène et azote, est ainsi un mélange d'isotopes stables de ces quatre éléments. L'isotope le plus léger – ^{1}H, ^{12}C, ^{14}N et ^{16}O – est de loin majoritaire, tandis que le ou les plus lourds ont une abondance naturelle beaucoup plus faible (*tableau I*). La composition en isotopes stables d'un bioélément n'est pas constante, elle varie en fonction de son origine. Les différences observées sont liées non seulement à la composition isotopique des matières premières, mais aussi au fractionnement isotopique consécutif aux diverses transformations qui ont conduit à l'élaboration de la molécule ; en effet, la présence d'un isotope lourd dans une molécule induit un comportement (propriétés physiques, cinétique de réaction...) légèrement différent, lié à l'augmentation de taille et de masse.

L'eau est la source primaire unique d'hydrogène [1] et, avec le dioxygène, une des principales sources primaires d'oxygène pour la biosynthèse des molécules organiques. L'évaporation et la condensation dans le cycle global de l'eau donnent lieu à un épuisement en isotopes lourds dans la vapeur et les nuages, et à un enrichissement relatif pour les précipitations ; cela entraîne pour l'eau des teneurs en deutérium décroissantes de l'équateur vers les pôles, des côtes vers l'intérieur des terres, et avec l'altitude. L'évaporation de l'eau des plantes est accompagnée d'un enrichissement en isotopes lourds.
La source de carbone, pour les plantes terrestres, est le gaz carbonique atmosphérique. Les plantes sont classées en trois groupes selon le fractionnement isotopique lié aux différents mécanismes de fixation du carbone lors de la photosynthèse. La première catégorie, dite « C3 » car l'assimilation du CO_2 passe par un intermédiaire à 3 atomes de carbone, rassemble la majorité des plantes cultivées (raisin, betterave, céréales autres que le maïs, pomme de terre, pomme, orange...), et montre des déviations isotopiques $\delta^{13}C$ (cf. *encadré*) variant de - 23 à - 30 ‰. Le deuxième groupe, dit « C4 » car l'intermédiaire a 4 carbones, comprend le maïs, la canne à sucre, le sorgho et le millet comme plantes d'un réel intérêt économique, et les $\delta^{13}C$ varient de - 9 et - 13 ‰. Le dernier, dit « CAM » (« crassulacean acid metabolism »), de mécanisme intermédiaire, regroupe des plantes tels l'ananas, l'agave et le vanillier et présente des $\delta^{13}C$ allant de - 12 à - 18 ‰. Il paraît donc facile de détecter la présence d'un produit issu d'une plante « C4 » tel la canne ou le maïs par mesure du $\delta^{13}C$, mais en revanche, la distinction entre les produits issus des nombreuses plantes « C3 » semble plus complexe.
Toute étape supplémentaire dans l'élaboration d'un composé induit un fractionnement isotopique complémentaire

Tableau I - **Abondances naturelles moyennes des isotopes stables couramment étudiés.**

élément	hydrogène		carbone		azote		oxygène		
isotope	^{1}H	^{2}H ou D	^{12}C	^{13}C	^{14}N	^{15}N	^{16}O	^{17}O	^{18}O
masse	1	2	12	13	14	15	16	17	18
abondance naturelle relative (%)	99,984	0,0156	98,891	1,108	99,635	0,365	99,759	0,037	0,204

Tableau II - **Références internationales utilisées pour les mesures isotopiques.**

isotope	^{2}H	^{13}C	^{15}N	^{18}O
molécule de référence	H_2O	$CaCO_3$	N_2	H_2O
étalon international	V-SMOW *Vienna standard mean ocean water*	V-PDB *Vienna Pee Dee Belemnite*	AIR	V-SMOW *Vienna standard mean ocean water*
	mélanges de différentes eaux océaniques	carbonate fossile de Caroline du Sud	azote atmosphérique	mélanges de différentes eaux océaniques
R rapport isotopique	155,76 ppm	1,12372 %	0,36765 %	0,20052 %

qui conduit généralement à des teneurs en isotopes lourds plus faibles.
Ainsi, la composition en isotopes stables d'un composé constitue une sorte de curriculum reflétant la matière d'origine et l'histoire des différents processus de transformation subis.

Les techniques analytiques

Les deux techniques analytiques principalement utilisées pour mesurer les rapports en isotopes stables des aliments et boissons sont la spectrométrie de masse de rapport isotopique pour le carbone 13, l'azote 15, l'oxygène 18 et le deutérium, et la résonance magnétique nucléaire pour la répartition intramoléculaire du deutérium.

La spectrométrie de masse de rapport isotopique (SMRI)

La SMRI permet, sur les gaz simples – dioxyde de carbone ou diazote – résultant de la dégradation du composé, de mesurer l'enrichissement ou l'appauvrissement global en isotope lourd. Les différents isotopomères de ces gaz (molécules ne se différenciant que par leur composition isotopique) sont, après ionisation, séparés dans un champ magnétique constant et récupérés sur différents collecteurs (un par faisceau d'ions). Le rapport R = lourd/léger obtenu pour l'échantillon est comparé à celui d'un étalon et la valeur de la déviation isotopique δ peut être établie (cf. *encadré*).

SMRI ^{15}N d'un composé organique
Le calcul de la déviation isotopique $\delta^{15}N$ (/air) s'effectue à partir de l'abondance des isotopomères de masse 28 ($^{14}N^{14}N$) et 29 ($^{15}N^{14}N$) de l'azote isolé après combustion puis réduction du composé transformant respectivement l'azote organique en oxydes d'azote (NO_x), puis ces oxydes d'azote en azote moléculaire (N_2).

SMRI ^{13}C d'un composé organique
Les rapports des différents isotopomères de masse 44 ($^{12}C^{16}O^{16}O$), 45 ($^{13}C^{16}O^{16}O$ et $^{12}C^{17}O^{16}O$), et 46 ($^{12}C^{18}O^{16}O$) ($^{13}C^{17}O^{16}O$ et $^{12}C^{17}O^{17}O$ pouvant être négligés étant donné leur faible abondance) du dioxyde de carbone isolé après combustion du composé sont mesurés. Le calcul de la déviation isotopique $\delta^{13}C$ (/PDB) est alors effectué à partir de l'abondance des isotopomères de masse 45 corrigée de la contribution de l'isotopomère $^{12}C^{17}O^{16}O$.

La quantification des isotopes stables

L'étude de la répartition des isotopes lourds par rapport aux isotopes légers revient à observer de très faibles variations, de l'ordre du ppm (parties par million). Afin de manipuler des valeurs plus « palpables », la notion de déviation isotopique par rapport à un étalon international, notée δ, a été introduite :

$$\delta E_{(éch/STD)} = \frac{R_{éch} - R_{STD}}{R_{STD}} \times 1000\ (‰)$$

R étant le quotient des concentrations d'isotopes lourd sur léger de l'élément E pour l'échantillon *éch* et l'étalon international *STD*.
La valeur δE représente un enrichissement ou un appauvrissement en isotope lourd de l'élément E pour le composé relativement à une référence internationale (cf. *tableau II*) représentant le point zéro de l'échelle δ. Ainsi, plus une déviation isotopique est négative, moins il y a d'isotopes lourds.

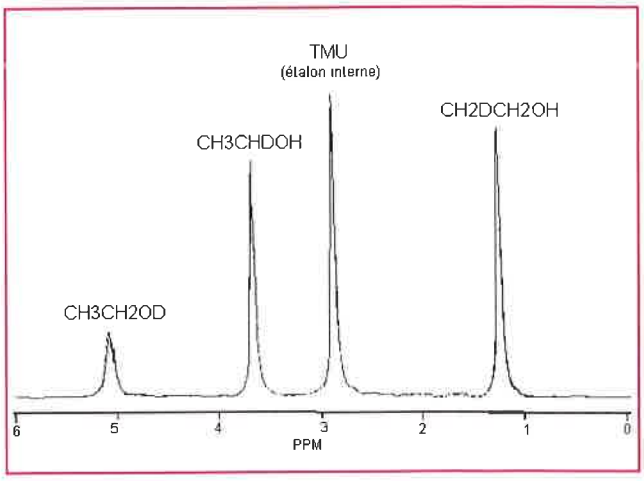


Figure 1 - **Spectre RMN du deutérium en abondance naturelle de l'éthanol.**

SMRI ^{18}O d'une eau
Le calcul de la déviation isotopique $\delta^{18}O$ (/V-SMOW) s'effectue à partir de l'abondance des isotopomères de masse 44, 45 et 46 du CO_2 recueilli après équilibration de l'eau d'un échantillon avec un gaz carbonique :

$$H_2{}^{18}O + C^{16}O^{16}O \rightleftarrows H_2{}^{16}O + C^{16}O^{18}O$$

la teneur en oxygène 18 du CO_2 après équilibration reflétant celle de l'eau.

CG-C-SMRI ^{13}C et ^{15}N
Le système de couplage, chromatographie en phase gazeuse – combustion/réduction – spectrométrie de masse isotopique, permet la détermination des teneurs isotopiques en carbone 13 ou en azote 15 des différents constituants d'un mélange préalablement séparé par chromatographie.

La SMRI est une technique simple et rapide qui ne nécessite que de très petites quantités d'échantillon (de l'ordre du milligramme et même inférieures), elle s'applique à tous les composés isolés ou en mélange, mais ne permet de quantifier qu'une teneur isotopique moyenne.

La résonance magnétique nucléaire du deutérium

La technique RMN-FINS [2] (fractionnement isotopique naturel spécifique) permet une quantification sur les différents sites deutérium d'une molécule, apportant ainsi une « empreinte » très précise du composé. La teneur en deutérium mesurée en RMN s'exprime directement en rapport isotopique absolu $^2H/^1H$.
Pour l'éthanol, par exemple, le spectre de la *figure 1* caractérise les isotopomères suivants : (I) CH_2D-CH_2-OH, (II) CH_3-CHD-OH et (III) CH_3-CH_2-OD (les composés avec deux isotopes lourds étant statistiquement très peu probables). Le calcul des rapports $^2H/^1H$, (D/H)I et (D/H)II pour les deux principaux sites s'effectue à partir des surfaces de raies, et par étalonnage interne au moyen de TMU (N,N,N',N'-tétraméthylurée) de teneur en deutérium précisément connue. Les raies étant fines et de même largeur, la mesure des surfaces peut être limitée à celle des hauteurs. La teneur

en deutérium (D/H)I du site méthyle de l'éthanol ou site (I) reflète l'origine botanique de l'alcool, tandis que celle (D/H)II du site méthylène ou site (II) est liée à la composition isotopique de l'eau du milieu de fermentation.
Compte tenu d'un manque de sensibilité lié à la faible abondance naturelle du deutérium, la méthode réclame une prise d'essai assez importante (de l'ordre du gramme). Si pour l'éthanol, isoler une telle quantité ne pose pas trop de problème, cela peut constituer un facteur limitant pour d'autres composés tels les arômes.

Note et référence

[1] Si des engrais ammoniaqués sont utilisés, leur hydrogène prendra, par échange chimique, la même teneur en deutérium que l'eau assimilée par la plante.

[2] Martin G., *Ann. Fals. Exp. Chim.*, **1982**, *85*, p. 249.

Catherine Lamoureux
est ingénieur chargée des méthodes isotopiques au laboratoire des Douanes de Paris*.

* Laboratoire des Douanes de Paris, 1 rue Gabriel Vicaire, 75141 Paris Cedex 03.
Tél. : 01 44 54 21 32. Fax : 01 42 77 46 92.
E-mail : catherine.lamoureux@douane.finances.gouv.fr

Index des sigles et expressions rencontrés dans le dossier

- **AFD** : analyse factorielle discriminante.
- **AOAC** : Association of Analytical Communities.
- **AREVA/COGEMA** : société dont les usines produisent et traitent matériaux et composants nécessaires aux installations nucléaires.
- **BEVABS** : Bureau Européen des Vins, Alcools et Boissons Spiritueuses.
- **BIPM** : Bureau International des Poids et Mesures.
- **CCQM** : Comité Consultatif pour la Quantité de Matières.
- **CCR** : Centre Communautaire de Recherches (Ispra, Geel, Petten, Karlsruhe).
- **CEA** : Commissariat à l'Énergie Atomique.
- **CEN/TC** : Comité Européen de Normalisation/Technical Commission.
- **CIPM** : Comité International des Poids et Mesures.
- **CLPG** : chromatographie liquide à haute pression.
- **CPG** : chromatographie en phase gazeuse.
- **GC-C-SMRI** : chromatographie en phase gazeuse-combustion-spectrométrie de masse des rapports isotopiques.
- **HEPT** : hauteur équivalente à plateau théorique.
- **HPLC** : de l'anglais « high performance liquid chromatography ».
- **ICP-MS** : inductively coupled plasma-mass spectrometry.
- **IDMS** : isotope dilution mass spectrometry.
- **IHCP** : Institute for Health and Consumer Protection.
- **IMEP** : International measurement evaluation program.
- **INM** : Instituts Nationaux de Métrologie.
- **INRDTIM** : Institut National de Recherche et Développement pour les Technologies Isotopiques et Moléculaires.
- **IRMM** : Institut des Matériaux et Mesures de Référence du CCR.
- **OIV** : Office International de la Vigne et du Vin.
- **RMN-FINS** : résonance magnétique nucléaire appliquée au fractionnement isotopique naturel spécifique (SNIF-NMR en anglais).
- **SI** : système international d'unités.
- **SMRI** : spectrométrie de masse des rapports isotopiques.
- **SNIF** : site specific natural isotope fractionation.
- **TMS** : spectromètres de masse à thermo-ionisation (d'après l'anglais).
- **V- SMOW** : Vienna standard mean ocean water.

Filtration sur berges et recharge artificielle de nappes : le programme de recherche berlinois NASRI
(Natural and Artificial Systems for Recharge and Infiltration)

La filtration sur berges est utilisée depuis près d'un siècle à Berlin pour traiter les eaux de surface destinées à l'alimentation en eau potable. Les mécanismes physiques, chimiques et biologiques entrant en jeu lors de ce procédé n'ont cependant jamais fait l'objet d'études approfondies. Le projet NASRI a donc été lancé par le Centre de Compétence sur l'Eau de Berlin en mai 2002, avec le soutien financier de Veolia Water et Berliner Wasserbetriebe.

Objectifs du projet NASRI

- Assurer la durabilité et la fiabilité à long terme de la ressource en eau souterraine et la qualité de l'eau potable obtenue par filtration sur berges et recharge artificielle.
- Développer le savoir-faire et quantifier les processus correspondants.
- Obtenir des lignes directrices pour optimiser la conception et l'exploitation de sites existants et transférer ce savoir-faire vers d'autres sites.

Axes de recherche

Le projet NASRI aborde de façon interdisciplinaire le devenir des micro-organismes et éléments-trace organiques de l'eau de surface, en particulier les résidus pharmaceutiques, les algues, les bactéries et les virus, ainsi que les caractéristiques hydrogéologiques et hydrochimiques. L'étude est réalisée en collaboration avec des instituts de recherche berlinois : l'Université Technique (Technische Universität Berlin), l'Université Libre (Freie Universität Berlin), l'Institut d'Ecologie et des Pêcheries d'Eau Douces (IGB) et l'Agence Fédérale de l'Environnement (Umweltbundesamt).

Détermination des processus hydrogéologiques et hydrochimiques par approche multi-traceurs

Dans le cadre du projet NASRI, le département Hydrogéologie de l'Université Libre de Berlin a développé l'utilisation de traceurs spécifiques pour estimer les vitesses d'écoulement et la proportion d'eau brute issue de la filtration sur berges.

Certains des traceurs utilisés sont stables et conservatifs : ils sont utilisés pour suivre l'écoulement de l'eau. D'autres permettent d'analyser l'impact des effluents ou la proportion d'eau souterraine saline. Les principaux traceurs utilisables à Berlin sont détaillés dans le tableau ci-dessous.

Les expériences menées à Berlin sur trois sites d'observation (Lac Wannsee, lac Tegel, site de recharge artificielle de Tegel) grâce à ces traceurs permettent d'évaluer la qualité de l'eau de surface, les phénomènes de colmatage, les caractéristiques de l'aquifère, et en particulier les temps de transport de l'eau de surface vers les puits de production ainsi que la proportion d'eau issue de la filtration sur berges dans les sites d'extraction.

Bibliographie

[1] PEKDEGER A., MASSMANN G., OHM B., 2003, « Investigation of hydrogeological and hydrochemical processes accompanying bank filtration in Berlin using different tracers", Wasser Berlin 2003, Proceedings KWB Conference, April 2003, pp 19-30.

Contact

Dr. Birgit FRITZ, Directrice du programme NASRI
Centre de Compétence sur l'Eau de Berlin
Email : birgit.fritz@kompetenz-wasser.de
www.kompetenz-wasser.de

Principaux traceurs utilisables à Berlin

Traceur:	Origine :	Utile pour l'interprétation de:	Difficultés:
δD, $\delta^{18}O$	Eau de surface avec variations saisonnières	écoulement de l'eau	aucune, traceur conservatif
Température	Eau de surface avec variations saisonnières	écoulement de l'eau	retard
Cl^-	Eau de surface avec variations saisonnières	écoulement de l'eau	uniquement si l'influence de l'eau souterraine saline peut être exclue
Cl^-, Na^+, B	Eau souterraine profonde chargée en sels	proportion d'eau souterraine profonde saline	fortes variations locales possibles
SO_4^{2-}	Dissolution dans l'aquifère supérieur de gypse issu de déchets de démolition	proportion d'eau souterraine dans l'eau souterraine "native" à faible profondeur	fortes variations locales possibles
B	Eau de surface, effluent	écoulement de l'eau, proportion d'eau brute issue de la filtration sur berges	uniquement si l'influence de l'eau souterraine saline peut être exclue
Gd	Eau de surface, effluent	écoulement de l'eau, proportion d'eau brute issue de la filtration sur berges	susceptible de se dégrader
EDTA	Eau de surface, effluent	écoulement de l'eau, proportion d'eau brute issue de la filtration sur berges	présent également dans l'eau souterraine native
Sr	Eau de surface, très peu de variations saisonnières	proportion d'eau brute issue de la filtration sur berges	pas toujours utilisable
T/He	Eau de surface, apport atmosphérique	"âge" de l'eau souterraine	âge minimum requis de 2 mois

KOMPETENZZENTRUM Wasser Berlin
VEOLIA Water
Berliner Wasserbetriebe

KOMPETENZZENTRUM
Wasser Berlin

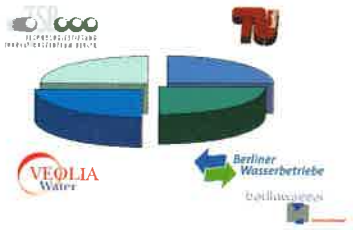
Centre de Compétence sur l'Eau de Berlin

Un centre international de recherche et de formation sur l'eau

Les objectifs du Centre de Compétence sont de favoriser la recherche ainsi que le transfert de technologies et de connaissances sur l'eau. Ses activités de recherche sont liées à la gestion durable des ressources en eau et l'innovation en terme de traitement et gestion des eaux usées.

Un réseau local de spécialistes de l'eau

Bénéficiant de la collaboration des experts berlinois dans le domaine de l'eau, le Centre de Compétence sur l'Eau de Berlin est un centre de recherche financé par l'université technique de Berlin (TU Berlin), TSB Technologiestiftung Innovationszentrum Berlin, le groupe Berlinwasser, et Veolia Water Allemagne. Ses activités sont développées à l'échelle locale, européenne et internationale, en étroite coopération avec l'ensemble des universités berlinoises, les organismes de recherche locaux et les PME de la région Berlin/Brandenbourg.



KOMPETENZZENTRUM
Wasser Berlin

Centre de Compétence sur l'Eau de Berlin

" Nous connaissons la valeur des partenariats"

Cicerostrasse 24, D-10 709 BERLIN
Tel : +49 (0)30 536 53 800
Fax : +49 (0)30 536 53 888
www.kompetenz-wasser.de
Contact :
Francis.luck@kompetenz-wasser.de

Projets de R&D en cours

Cyanobactéries dans la rivière Erdre

La prolifération de cyanobactéries, algues secrétant des toxines représentant un risque pour la santé humaine, a fortement mis en danger la pratique des activités nautiques dans la rivière Erdre (Loire-Atlantique).
Afin d'y faire face, une étude a été engagée par le syndicat local EDEN (Entente pour le développement de l'Erdre navigable) auprès du bureau d'étude SETUDE, qui a regroupé autour de lui des partenaires spécialistes afin d'étudier les facteurs de cette prolifération (nutriments, envasement), les caractéristiques des cyanobactéries et celles des toxines. Le KWB participe à l'étude en coopération avec des experts de l'Agence Fédérale de l'Environnement (Umweltbundesamt) à Berlin.

Un partenaire à votre écoute

Le KWB se tient à votre disposition pour étudier en toute confidentialité vos propositions de projet autour des thèmes suivants :

- Eaux potables
- Eaux de process
- Eaux résiduaires urbaines et industrielles
- Gestion des réseaux
- Gestion des ressources
- Socio-économie de l'eau

Ces documents peuvent nous être fournis en langue française, allemande ou anglaise.

Nouveaux concepts sanitaires

La mise au point de technologies adaptées à l'assainissement décentralisé revêt un intérêt particulier notamment dans les régions rurales ou les zones urbaines à développement rapide. Le KWB a lancé une étude sur de nouveaux concepts d'assainissement avec collecte et traitement séparés des rejets domestiques. L'urine peut être recyclée sous forme d'engrais, les matières fécales sont compostées avec les déchets organiques ménagers, tandis que les eaux grises sont recyclées pour certains usages. Un projet de démonstration est mis en place à échelle réelle dans la station d'épuration de Stahnsdorf (Berlin), afin de tester et comparer deux systèmes de toilettes séparatives, à collecte gravitaire ou collecte sous vide. Les objectifs sont d'évaluer l'efficacité et la stabilité des procédés, leurs coûts, l'acceptation par la population et l'impact de ces systèmes d'assainissement en termes de bilan écologique.

Filtration sur berges et recharge artificielle : Programme NASRI

Parmi les projets actuellement en cours, le programme NASRI (Natural and Artificial Systems for Recharge and Infiltration) regoupe depuis mai 2002 un vaste réseau international de chercheurs autour de la problématique de la filtration sur berges et la recharge artificielle des nappes souterraines. L'objectif est de comprendre en détail les processus physiques, chimiques et biologiques mis en jeu.

Progrès en séparation isotopique d'éléments légers

Yves Barré et Damian Axente

Summary **Advances in isotope separation of light elements**
Chemical processes of isotope separation based on different isotopic exchange reactions are presented. In case of ^{15}N and ^{13}C enrichment, studies are conducted to optimize operating conditions. In case of ^{7}Li enrichment by chromatography, crown ethers grafted on silica allow great improvements on the performance of this process.

Mots-clés **Isotope stable, échange chimique, chromatographie.**
Key-words **Stable isotope, chemical exchange, chromatography.**

Actuellement, seuls les procédés chimiques sont utilisés pour produire des isotopes légers avec des teneurs isotopiques importantes [1]. Les séparations isotopiques reposent sur des systèmes à l'équilibre (équilibre entre deux phases ou entre deux composés chimiques différents) qui sont, en théorie, d'autant plus favorables à la séparation des isotopes que ceux-ci sont plus légers.
Les propriétés de deux molécules isotopiques (qui ne diffèrent entre elles que par la masse atomique d'un de leurs éléments) présentent de légers écarts quantitatifs. En effet, le changement de masse atomique se traduit par une différence d'énergie de liaison dans la molécule [2].
Ces différences de propriétés chimiques, appelées *effets isotopiques*, sont très faibles [3] et ne permettent donc qu'un enrichissement très faible en une seule étape. Pour aboutir à un enrichissement important, il est nécessaire de répéter la réaction d'échange isotopique un grand nombre de fois (cf. *encadré*).
Le CEA et l'INRDTIM ont une longue expérience dans la recherche et le développement de procédés de séparation isotopique ; nous ne présentons ici que les résultats les plus récents obtenus sur l'enrichissement du ^{15}N, ^{13}C, ^{10}B et ^{7}Li.

Enrichissement du ^{15}N par échange isotopique entre NO, NO_2 et HNO_3 sous pression

La méthode la plus utilisée pour l'enrichissement du ^{15}N (valeur de α la plus élevée des réactions connues) est la réaction chimique d'échange isotopique entre les oxydes d'azote en phase gazeuse et l'acide nitrique en solution 10 M :

$$(^{15}NO, {}^{15}NO_2)_{gaz} + H^{14}NO_{3\,liq} \leftrightarrows (^{14}NO, {}^{14}NO_2)_{gaz} + H^{15}NO_{3\,liq} \quad (3)$$

Le facteur élémentaire de séparation isotopique α a une valeur de 1,055 à 25 °C et à la pression atmosphérique [5].
A l'INRDTIM, une installation de production du ^{15}N enrichi à 99 % fonctionne selon cette réaction.
La distillation cryogénique de NO à - 152 °C, avec un facteur $\alpha = 1{,}027$, est utilisée aux États-Unis et en Géorgie pour la production du ^{15}N, malgré les difficultés pour opérer à cette température.
Des données cinétiques récentes [6-7] ont montré que la vitesse (R) d'échange $^{15}N/^{14}N$ entre les phases gazeuse et liquide varie linéairement avec la pression du NO. En effet, il a été démontré une corrélation linéaire entre la concentration $[N_2O_3]$ dans la phase liquide et la pression du NO, l'équation cinétique étant :

$$R = k\,[HNO_3]^2\,[N_2O_3]$$

Il est donc apparu important de déterminer dans quelle mesure les performances de séparation isotopique de ce procédé pouvaient être améliorées lorsque le transfert isotopique entre les deux phases augmente avec la pression du NO [8]. Une étude expérimentale a été réalisée afin de mesurer les variations d'enrichissement à différentes pressions.

Échange isotopique et séparation des isotopes

Considérons la réaction d'échange d'un isotope léger A' et d'un isotope lourd A entre deux molécules X et Y (ou entre deux phases X et Y) :

$$A'X + AY \leftrightarrows AX + A'Y \quad (1)$$

A l'équilibre, le facteur élémentaire de séparation isotopique α se définit à partir du rapport des richesses isotopiques (mesurées par spectrométrie de masse) dans chacune des deux molécules :

$$\alpha = \left(\frac{A}{A'}\right)_X \Big/ \left(\frac{A}{A'}\right)_Y \quad (2)$$

On définit le coefficient d'enrichissement $\varepsilon = \alpha - 1$, qui est au maximum égal à quelques %, sauf pour les isotopes de l'hydrogène où, par exemple, entre l'hydrogène gazeux et l'ammoniac liquide, α atteint des valeurs supérieures à 5 à des températures inférieures à - 25 °C.
Une installation de séparation isotopique se compose généralement d'une colonne d'échange à contre courant avec des reflux aux extrémités de la colonne, permettant de multiplier et de cumuler les opérations élémentaires de partage et dont le principe présente de fortes analogies avec celui des colonnes à distillation fractionnée [4].
Pour une production donnée, le volume de l'installation est inversement proportionnel au carré du coefficient, ε^2. Aussi, la plupart des installations utilisent des coefficients d'enrichissement $\varepsilon \geq 0{,}01$ car en dessous de cette valeur, les dimensions de l'installation deviennent rapidement importantes et les coûts de fonctionnement prohibitifs.
Le travail de séparation isotopique fourni pour atteindre une teneur enrichie donnée est d'autant plus grand que la teneur naturelle de l'isotope (N_0) est faible. Celui-ci est nettement plus important pour ^{15}N et ^{13}C que pour ^{7}Li et ^{10}B, leur teneur naturelle étant dans le sens croissant : ^{15}N (N_0 = 0,366 %), ^{13}C (N_0 = 1,1 %), ^{10}B (N_0 = 19,9 %), ^{7}Li (N_0 = 92,5 %).

Tableau I - Données expérimentales pour la séparation du ^{15}N sous pression.

n° exp.	débit HNO_3 10 M (mL/h)	débit spécifique HNO_3 10 M (mL/cm^2.min)	débit H_2O (mL/h)	pression (atm absolue)	teneur isotopique (% ^{15}N)	séparation globale (S_∞)	HEPT (cm)
1	240	1,57	80	1	1,338	3,665	4,13
2	380	2,49	100	1	1,024	2,80	5,20
3	480	3,14	150	1	0,919	2,52	5,79
4	360	2,36	110	1,5	1,470	4,02	3,85
5	480	3,14	145	1,8	1,320	3,61	4,17
6	600	3,93	200	2,5	1,007	2,76	5,27

Lorsque la colonne de séparation isotopique fonctionne sans alimentation ni production, l'enrichissement au sein de la colonne atteint un équilibre. La teneur isotopique du ^{15}N enrichi en bas de la colonne (N_b) est alors mesurée et nous permet de déterminer le facteur de séparation globale (S_∞) :

$$S_\infty = N_b/0{,}366 \qquad (4)$$

où 0,366 est la teneur isotopique naturelle du ^{15}N de l'acide nitrique (% at. ^{15}N).

Soit la hauteur équivalente à un plateau théorique (HEPT), définie comme étant la hauteur de colonne telle que l'équilibre isotopique existe entre les deux flux sortant de cet intervalle ; la HEPT est représentative de la vitesse d'échange isotopique entre les deux phases et elle est calculée à partir des relations suivantes :

$$S_\infty = \alpha^n \qquad (5)$$

$$\text{et HEPT} = H/n \qquad (6)$$

où H est la hauteur utile du garnissage (1 000 mm) et n, le nombre de plateaux théoriques de la colonne.

A la pression atmosphérique et pour un débit spécifique d'acide nitrique 10 M de 2,49 mL/cm^2.min, la HEPT a augmenté de 25 % par rapport à la valeur mesurée pour 1,57 mL/cm^2.min (*tableau I*).

A 1,5 atm (exp. 4) et pour 2,36 mL/cm^2.min, la HETP a diminué de 7 % par comparaison avec la valeur mesurée à la pression atmosphérique et pour un débit spécifique 1,5 fois moins grand (exp. 1).

La HEPT pour 3,14 mL/cm^2.min et 1,8 atm (exp. 5) est pratiquement égale à celle obtenue à la pression atmosphérique et ce pour un débit spécifique 2 fois moins grand (exp. 1).

L'augmentation de la pression de NO dans l'installation améliore le transfert isotopique entre les deux phases qui circulent en contre-courant dans la colonne, en raison d'une cinétique d'échange isotopique qui augmente avec la pression. Une installation fonctionnant à la pression 1,8 atm (absolue) au lieu de la pression atmosphérique, devrait permettre de doubler le débit d'alimentation avec l'acide nitrique 10 M et doubler, de ce fait, la production de ^{15}N.

L'amélioration des performances de ce type de procédé est un point important dans le cadre des études de R & D sur les réacteurs nucléaires à caloporteur gaz avec un combustible nitrure d'uranium qui nécessite des quantités importantes de ^{15}N fortement enrichi.

Enrichissement du ^{13}C par échange isotopique entre CO_2 et carbamate en solvant organique

La méthode la plus utilisée pour enrichir le ^{13}C est la distillation cryogénique du CO à - 192 °C. Toutefois, la mise en œuvre de la technologie cryogénique pour une unité de production de ^{13}C très enrichi n'est pas aisée. Aussi, des études sont menées à l'INRDTIM sur une autre réaction d'échange isotopique, qui présente la même valeur de α que la distillation du CO ($\alpha = 1{,}01$) mais à température ambiante, qui est la réaction d'échange entre du CO_2 gazeux et un carbamate d'amine secondaire en solvant organique [9] :

$$R_2N^{12}CO_2 - R_2NH_{2\,liq} + {}^{13}CO_{2\,gaz} \leftrightarrows R_2N^{13}CO_2 - R_2NH_{2\,liq} + {}^{12}CO_{2\,gaz} \qquad (7)$$

Des solutions de di-n-butylamine (DNBA) dans le méthanol ont été utilisées dans le présent travail.

Kitamoto et Takeshita [10] considèrent que le processus global comporte deux étapes : (1) la dissolution physique du CO_2 dans le méthanol et (2) le CO_2 dissous réagit avec l'amine pour donner l'acide carbamique qui forme le carbamate avec une autre molécule d'amine. Dans ce cas, les réactions d'échange isotopique sont :

$${}^{13}CO_{2\,gaz} + {}^{12}CO_{2\,liq} \leftrightarrows {}^{12}CO_{2\,gaz} + {}^{13}CO_{2\,liq},\ \alpha_1 \qquad (8)$$

$$R_2N^{12}CO_2 - R_2NH_{2\,liq} + {}^{13}CO_{2\,liq} \leftrightarrows R_2N^{13}CO_2 - R_2NH_{2\,liq} + {}^{12}CO_{2\,liq},\ \alpha_2 \qquad (9)$$

où α_1 et α_2 sont les facteurs de séparation isotopique partiels.

Pour l'optimisation du processus d'enrichissement du ^{13}C, le facteur de séparation globale à l'équilibre (S_∞) et la HEPT ont été déterminés dans différentes conditions opératoires [11] et simulés pour des pressions supérieures à la pression atmosphérique en considérant les échanges isotopiques (8) et (9).

La variation de S_∞ pour des pressions comprises entre 0,1 et 0,9 MPa, obtenue avec le modèle en deux étapes, est présentée sur la *figure 1*.

Pour des pressions en CO_2 proches de la pression atmosphérique et une solution 2 M de DNBA/méthanol, la vitesse du transfert isotopique entre les deux phases est plus

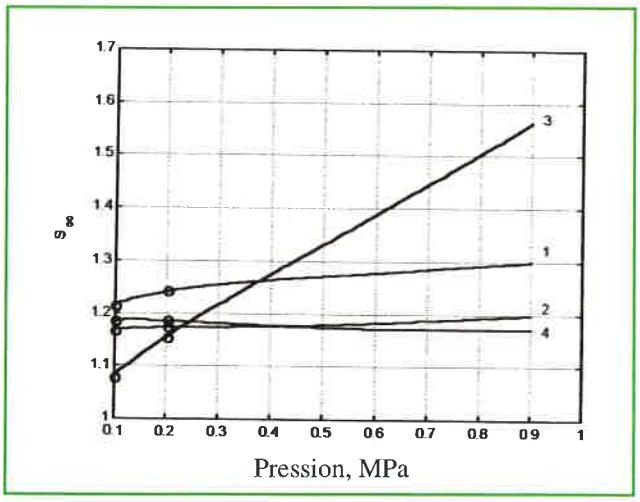


Figure 1 - Variation de la séparation isotopique pour différentes conditions en utilisant le modèle en deux étapes.
Données, dans l'ordre : température, concentration DNBA, débit solution. **exp. 1** : 25 °C, 2 M, 200 mL/h ; **exp. 2** : 25 °C, 1 M, 350 mL/h ; **exp. 3** : 5 °C, 2 M, 350 mL/h ; **exp. 4** : 25 °C, 2 M, 350 mL/h.
Les cercles **o** sont les valeurs mesurées.

faible à 5 °C (exp. 3) qu'à 25 °C (exp. 4) et il en résulte une efficacité de séparation globale moindre à 5 °C.
En revanche, lorsque la pression augmente, la quantité de CO_2 dissous dans l'amine s'accroît, et ce d'autant plus que la température est basse. A une pression de 0,9 MPa et à 5 °C, la vitesse de réaction est plus grande qu'à 25 °C et l'efficacité de séparation isotopique devient nettement plus importante.
Il faut signaler les résultats intéressants obtenus au CEA Saclay sur l'enrichissement du ^{13}C par dissociation laser de la molécule de formaldéhyde (H_2CO) [12] et plus récemment, l'ouverture à Kaliningrad en Russie d'une usine de production de ^{13}C (30 kg/an) par dissociation laser d'un fréon (CF_2HCl) [13].

Enrichissement du ^{10}B par chromatographie d'échange d'ions

Les travaux du CEA et d'AREVA/COGEMA ont permis la réalisation d'une unité de production industrielle de bore 10 enrichi à 90 % par chromatographie d'échange d'ions. Ce procédé a remplacé celui basé sur un échange chimique impliquant le BF_3 qui est corrosif.
La séparation isotopique par chromatographie d'échange d'ions repose sur la réaction d'échange isotopique entre une résine échangeuse d'anions, contenant l'anion borate $B(OH)_4^-$ et une solution aqueuse d'acide borique $B(OH)_3$:

$$R^+\ {}^{11}B(OH)_4^- + {}^{10}B(OH)_3 \leftrightarrows R^+\ {}^{10}B(OH)_4^- + {}^{11}B(OH)_3 \quad (10)$$

R^+ est un site échangeur d'anions de la résine de type ammonium quaternaire.
L'expérience montre que α diminue de 1,018 à 1,009 lorsque la concentration en acide borique croît de 0,01 à 0,75 mol/L à température ambiante. A mesure que la concentration en acide borique augmente, il y a formation d'anions polyborates à l'intérieur de la résine qui affaiblissent l'effet isotopique [14]. Dans les conditions de fonctionnement du procédé, α vaut environ 1,01.
Pour obtenir des enrichissements importants, on utilise la méthode dite de « déplacement de bande » dans cinq colonnes connectées les unes aux autres en « carrousel ». Cette méthode permet de faire migrer une bande de bore indéfiniment dans cette série de colonnes sans aucune dilution, jusqu'à obtenir la teneur enrichie désirée [15].
Si l'on considère un plan perpendiculaire à l'axe d'une colonne et se déplaçant à la même vitesse que la bande, à tout instant ce plan est traversé par un flux montant de bore contenu dans la résine, et donc enrichi en ^{10}B, et par un flux descendant et égal de bore contenu dans la solution, et donc appauvri en ^{10}B.
Cet axe mobile lié au déplacement de la bande permet l'assimilation du procédé chromatographique à une colonne à distiller.
En régime de production, le ^{10}B appauvri est soutiré au début de la bande, l'acide borique à une teneur naturelle est introduit en milieu de bande et le ^{10}B enrichi est soutiré en fin de bande.
La chromatographie d'échange d'ions a l'avantage, non négligeable, d'être facilement et rapidement mise en œuvre.

Enrichissement du ^7Li par chromatographie HPLC

AREVA/COGEMA a longtemps produit du lithium 7 enrichi à 99,9 % avec un procédé reposant sur une réaction d'échange isotopique entre un amalgame de mercure et de lithium métal et une solution aqueuse de LiOH. Des études de R & D ont été menées au CEA pour mettre au point un nouveau procédé d'enrichissement du ^7Li conforme aux nouvelles normes environnementales (sans mercure).

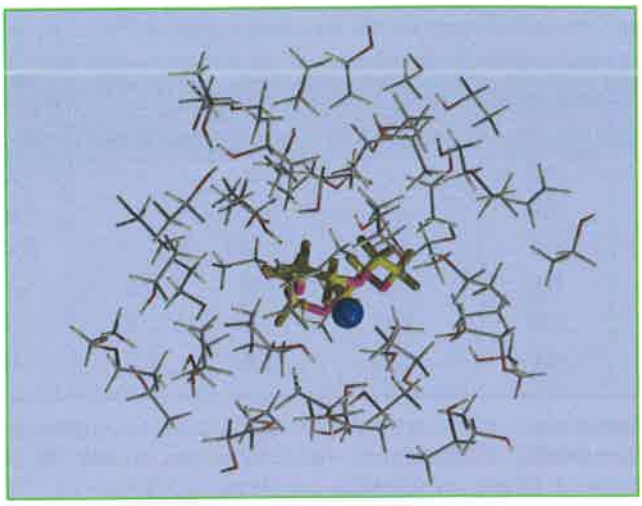


Figure 2 - Structure du complexe éther-couronne 12C4/Li^+ dans un bain d'éthanol.

En prenant exemple sur le procédé de séparation isotopique du bore par chromatographie d'échange d'ions, les premières études ont concerné la réaction d'échange isotopique entre une résine échangeuse de cations classique et une solution d'un sel de lithium :

$$R^-\ {}^7Li^+ + {}^6Li^+X^-_{solution} \leftrightarrows R^-\ {}^6Li^+ + {}^7Li^+X^-_{solution} \quad (11)$$

R^- est un site échangeur de cations de la résine et X^-, un anion.
Les mesures de α réalisées sur plusieurs types de résines donnent, au mieux, une valeur de 1,003 ; soit une valeur trop faible qui conduit à une installation de grande taille et un temps très long, supérieur à un an, avant de pouvoir produire du ^7Li à la teneur désirée [16].
Des progrès très importants ont été réalisés avec le développement en laboratoire d'un procédé chromatographique innovant de type HPLC. En particulier, une phase stationnaire spécifique à cette application a été mise au point : un ligand présentant une bonne sélectivité vis-à-vis des isotopes du lithium a été sélectionné puis greffé sur des billes de silices poreuses de fines granulométries.
Le choix du ligand s'est porté sur les éther-couronnes qui sont des polyéthers macrocycliques capables de complexer beaucoup plus sélectivement les alcalins que les résines échangeuses d'ions classiques (cf. *figure 2*). Pour certains de ces éther-couronnes, une valeur de α de 1,020 a été obtenue après greffage.
La nette amélioration de la valeur de α par rapport aux résines échangeuses d'ions ainsi que la bonne cinétique d'échange isotopique obtenue avec les billes de silice ont permis d'accroître fortement les performances de séparation isotopique : en partant d'une teneur naturelle de 92,5 % en ^7Li, un enrichissement de 99,98 % a été obtenu en trois jours avec une installation très compacte (cf. *figure 3*).
Cette technique est aisément transposable à d'autres isotopes ioniques métalliques. En effet, l'essor de la chimie moléculaire ces dernières décennies, permet d'envisager la synthèse de macrocycles capables de complexer sélectivement un métal donné.

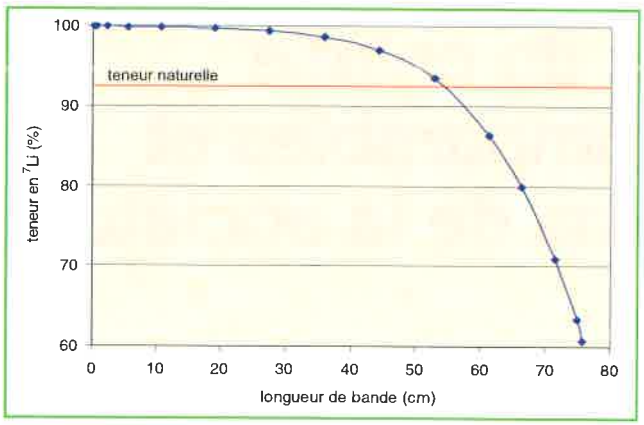


Figure 3 - Teneur isotopique obtenue par déplacement d'une bande de lithium sur un banc HPLC.

Il est à noter qu'une étude en modélisation moléculaire de la séparation isotopique du lithium par des éther-couronnes a été réalisée [17]. Elle a permis de mieux comprendre au niveau atomique les mécanismes responsables de l'effet isotopique et de retrouver par le calcul la valeur du facteur de séparation isotopique. La modélisation moléculaire sera un outil très utile pour aider au développement de nouveaux procédés de séparation isotopique par voie chimique.

Applications

Le ^{7}Li enrichi à 99,9 % et le ^{10}B enrichi à 90 % sont produits en quantités relativement importantes (quelques centaines de kg/an) pour leur utilisation dans les réacteurs nucléaires [18].
Le ^{10}B est employé comme agent neutrophage afin de contrôler la réactivité du cœur. On le trouve dans les barres de commande et en solution sous forme d'acide borique dans l'eau du circuit primaire des réacteurs à eau pressurisée.
Le ^{7}Li, sous forme LiOH, est la base utilisée pour contrôler le pH du circuit primaire et le maintenir à une valeur de 6,8 à chaud (^{7}Li possède une très faible section efficace de capture neutronique).
Il est à noter qu'il y aura une demande en quantité importante de ^{6}Li enrichi pour les futurs réacteurs à fusion.
Le marquage de molécules avec les isotopes ^{15}N et le ^{13}C (des atomes de carbone et d'azote situés dans des positions spécifiques sont remplacés par leur isotope) a ouvert la voie à de nouveaux modes de marquage alternatifs (ou complémentaires) aux marquages par isotopes radioactifs, dont l'utilisation est sévèrement réglementée. L'essor de la spectrométrie de masse et de la RMN – principaux moyens de détection et de mesure de ces molécules marquées – contribue largement à la diffusion des méthodes « isotopes stables » dans le domaine des sciences de la vie [19].
Les principaux domaines d'applications développés et maîtrisés sont essentiellement :
l'étude du devenir métabolique de nutriments en biologie humaine (par ex., l'étude faite au CEA Cadarache avec des pâtes marquées au ^{13}C [20]) ;
le diagnostic clinique de dysfonctionnements métaboliques ou la présence de bactéries par les tests respiratoires (ex. : la mise au point du diagnostic d'ulcères gastriques dus à *Helicobacter Pylori*, à l'aide d'urée marquée au ^{13}C, a entraîné récemment une augmentation de la production du ^{13}C à plus de 100 kg/an).
Le ^{15}N est employé principalement en recherche agronomique pour étudier, par exemple, l'assimilation par les plantes d'engrais azotés.

Conclusions

Nul ne peut ignorer les apports fondamentaux des isotopes aux progrès scientifiques et, indirectement, à la technologie. L'utilisation « en masse » d'isotopes séparés proviendra essentiellement du développement et du perfectionnement des installations nucléaires.
Si la plupart des besoins de la recherche en isotopes stables sont difficilement planifiables compte tenu de la diversité des thèmes de recherche abordés, les isotopes des éléments légers (^{13}C, ^{15}N et ^{18}O) et des terres rares resteront demandés pour la recherche en physique nucléaire et en biologie. Il en est de même pour les isotopes destinés à la production des radiopharmaceutiques [21].
Cependant, les pays producteurs d'isotopes stables sont peu nombreux. La rigidité de l'appareil de production face à la fluctuation des demandes a souvent pour conséquence une indisponibilité de ces isotopes. Il est donc nécessaire de maintenir une R & D à un niveau suffisant pour développer des procédés de séparation isotopique plus performants que ceux existants afin de répondre aux demandes.

Références

[1] Benedict M., Pigford D.M., Levy H.W., *Nuclear chemical engineering*, 2nd ed., Mc Graw Hill, New York, **1981**.
[2] Bigeleisen J., Mayer M.G., *J. Chem. Phys.*, **1947**, *15*, p. 267.
[3] Roth E., *Pure and Appl. Chem.*, **1997**, *69(8)*, p. 1753.
[4] Cohen K., *Theory of isotope separation as applied to the large scale production of ^{235}U*, Mc Graw Hill, New York, **1951**.
[5] Spindel W., Taylor T.I., *J. Chem. Phys.*, **1955**, *23*, p. 981.
[6] Axente D., Abrudean M., Bâldea A., *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1996**, *207*, p. 163.
[7] Axente D., Abrudean M., Bâldea A., *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1997**, *222*, p. 149.
[8] Axente D., Bâldea A., Teacă C., Abrudean M., Horga R., *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1999**, *240*, p. 987.
[9] Dronca S., Axente D., Bâldea A., Teacă C., *Rev. Chim.*, **2000**, *51*, p. 65.
[10] Kitamoto A., Takeshita K., *Proc. Intern. Symp. on Isotope Separation and Chemical Exchange Uranium Enrichment*, **1992**, Tokyo, Japan, T.I.T., p. 376.
[11] Raica P., Axente D., *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **2002**, *251(3)*, p. 443.
[12] Mussillon T., thèse de doctorat, Paris XI-Orsay, **1998**.
[13] Baranov V.Y. *et al.*, *Proc. of XII Intern. Symp. on lasers*, Portland, **1996**, MD3.
[14] Rosset R., *Bull. Soc. Chim.*, **1964**, p. 607.
[15] Caude M., Conrard P., thèses de doctorat, Paris VI, **1972**.
[16] Barré Y., thèse de doctorat, USTL, ENSC Montpellier, **1995**.
[17] Dehez F., thèse de doctorat, Nancy I, **2002**.
[18] Desmoulins P., *Les isotopes stables. Applications-production*, **1993**, INSTN Saclay (éd. CEA), p. 117.
[19] Létolle R., Mariotti A., *Isotopes stables : applications*, **1993**, ADIT, Strasbourg.
[20] *Défis du CEA*, **1996**, *49*, p. 19.
[21] Soulié E., Couairon M., Laizier J., Alberman A., *Proceeding of the 1st Conference « Isotopic and molecular processes »*, 27-29 September **1999**, Cluj-Napoca, Romania, p. 65.

Y. Barré

Yves Barré
est ingénieur de recherche au CEA Valrho*.

Damian Axente
dirige le Laboratoire de séparation isotopique et des composés marqués de l'INRDTIM en Roumanie**.

D. Axente

* CEA Valrho, DEN/DTE/STME/LPCM, BP 111, 26702 Pierrelatte Cedex.
E-mail : yves.barre@cea.fr
** Institut National de Recherche et Développement pour des Technologies Isotopiques et Moléculaires (INRDTIM), PO Box 700, 3400 Cluj-Napoca 5, Roumanie.
E-mail : axente@s6.itim-cj.ro

Obtenir des résultats de chimie analytique fiables, comparables et répondant aux besoins de la société

Christophe R. Quétel

Summary Many important decisions are taken daily in the society based on the results of measurements in chemistry. These results need to be reliable and comparable in time and space, from a measurement sector to another, between organisations as well as at the countries' borders (international trade). Two concepts were introduced recently in chemistry that are essential to achieve what is described before and thus to improve the quality of ordinary measurements in chemistry. Traceability to a common and long standing system of reference like the « Système International d'Unités » or another system equivalent, and the estimation of the real (« total ») uncertainty on the measurement result. These notions are discussed, describing the way for a laboratory to evaluate its analytical performance, and the role that isotope dilution mass spectrometry can play to establish Certified Reference values people can use to compare their performance against.

Mots-clés **Mesures chimiques, fiabilité, comparabilité, traçabilité, incertitude, métrologie, dilution isotopique.**
Key-words **Chemical measurements, reliability, comparability, traceability, uncertainty, metrology, isotopic dilution.**

Chaque jour, dans un grand nombre de secteurs d'activités de la société, des décisions importantes sont prises qui reposent sur des résultats de mesures chimiques et de chimie analytique en particulier. C'est le cas par exemple dans des domaines aussi majeurs que la santé (industrie pharmaceutique, suivi médical), l'industrie alimentaire (production, commerce et sécurité à la consommation) et la protection de l'environnement. Les conséquences économiques, politiques, industrielles, médicales, légales, scientifiques, etc. de ces mesures chimiques sont sévères et requièrent que les résultats soient fiables et comparables dans le temps et dans l'espace, d'un secteur de mesure à l'autre, entre les organisations et les différents acteurs de la société, ainsi qu'aux frontières des pays (commerce international). La fiabilité du résultat d'une mesure renvoie à la notion qualitative d'exactitude. Elle tient à la démonstration que ce résultat, accompagné de son incertitude estimée, recoupe la valeur réelle de la grandeur mesurée (également accompagnée d'une incertitude le plus souvent), ou du moins qu'il est conforme à l'écart avec la valeur réelle exigé ou attendu préalablement à la mesure. La comparabilité de résultats de mesures est réalisée dès lors que leur traçabilité à un système de référence identique et pérenne est établie. La traçabilité au Système International d'Unités (SI) est l'illustration la plus emblématique de ce concept dans la mesure où le SI, gardé à Sèvres par le Bureau International des Poids et Mesures (BIPM) [1], résulte d'un accord entre les pays signataires de la Convention du Mètre (dont la France et les autres nations industrialisées).
Curieusement, malgré l'importance des enjeux, l'essor de l'application de ces concepts à la chimie ne date que d'une dizaine d'années. Le Comité International des Poids et Mesures (CIPM) a créé en 1993 un Comité Consultatif pour la Quantité de Matière (CCQM) [2-3], dont les missions sont notamment de coordonner les activités des Instituts Nationaux de Métrologie (INM) en vue d'établir au plus haut niveau la traçabilité aux unités SI des mesures chimiques et de stimuler la compréhension du concept d'incertitude et de la nécessité d'associer la donnée d'une incertitude à la donnée du résultat d'une mesure chimique [4]. Les différents groupes de travail du CCQM sont constitués d'experts chargés d'identifier, de développer et d'exécuter des séries de comparaisons internationales (appelées « études pilotes » et « comparaisons clés ») qui permettent d'établir la base technique nécessaire à la reconnaissance mutuelle des capacités de mesure des INM [3].
L'Institut des Matériaux et des Mesures de Référence (IRMM) [5] du Centre Commun de Recherche représente la Commission européenne au CCQM et est engagé dans différents projets visant à la mise en œuvre et la diffusion auprès des « laboratoires de terrain » des concepts de métrologie appliqués à la chimie. L'IRMM a lancé plusieurs programmes d'intercomparaison, et notamment IMEP en 1986 (International Measurement Evaluation Programme [5]) qui, comme le recours à des méthodes validées et l'utilisation régulière de matériaux de référence, sont des outils importants au service des laboratoires pour améliorer la qualité de leurs mesures au quotidien. IMEP est un des rares programmes dans le monde qui n'évalue pas les performances revendiquées par les laboratoires, pour des échantillons tests envoyés par l'IRMM, par rapport à des valeurs de consensus (e.g. dérivées des résultats des participants : moyenne, médian), mais par rapport à des valeurs certifiées, non communiquées à l'avance, indépendantes et traçables aux unités du SI. Ces valeurs de référence, obtenues par application du principe de la dilution isotopique associée à la spectrométrie de masse (IDMS), résultent soit directement d'une certification par l'Unité de Mesures Isotopiques de l'IRMM, soit d'une combinaison des résultats de ce laboratoire et de ceux d'un ou plusieurs INM

choisis par l'IRMM sur la base exclusive de leurs compétences de mesurage.
En prenant l'exemple de résultats de mesures courantes du secteur alimentaire obtenus récemment lors d'une comparaison IMEP et d'une « étude pilote » du CCQM organisées simultanément [6-7], cet article traite de la façon dont certains concepts modernes de métrologie ainsi que le recours à la mesure isotopique (par le biais de l'IDMS) renforcent les bases scientifiques de la mesure chimique et permettent d'en améliorer la qualité.

Évaluation et expression de l'incertitude sur le résultat de la mesure

L'incertitude associée à un résultat de mesure chimique est encore le plus souvent, soit ignorée, soit largement sous-estimée au moment de reporter ce résultat. Communément, les mesures chimiques sont annoncées comme étant précises. Mais cela ne signifie pas qu'elles soient exactes pour autant. L'incertitude réelle associée est plus large que la reproductibilité de mesures répétées dans le même ou dans différents laboratoires [8]. Les causes à l'origine de cette situation sont multiples et couvrent un spectre allant d'impératifs économiques incompatibles avec l'expression d'une incertitude réaliste au manque de formation des chimistes, en passant par l'absence éventuelle de moyens (e.g. matériaux de référence appropriés) qui permettraient l'estimation correcte, si ce n'est la minimisation, de ces incertitudes.
Pourtant, la communauté internationale dispose depuis 1993 (réédition en 1995 d'une version corrigée) d'un guide ISO (Organisation Internationale pour la Standardisation) décrivant de façon explicite les règles générales pour l'évaluation et l'expression de l'incertitude associée au résultat de la mesure (GUM) [9]. Ce guide rappelle que « *en général, le résultat d'un mesurage consiste à déterminer la valeur du mesurande, c'est-à-dire la valeur de la grandeur particulière à mesurer* » [9a]. Or, bien que cela paraisse simpliste de le préciser, il existe pratiquement systématiquement une différence entre le mesurande et la grandeur réellement mesurée : ces deux grandeurs sont reliées entre elles par un modèle mathématique qu'il est impératif d'identifier. Par exemple, dans le cas de l'IDMS, il s'agit de relier l'expression d'une quantité de matière par unité de masse (mol•kg^{-1}) à celles d'intensités de faisceaux d'ions détectés dans le spectromètre de masse (ions•s^{-1}, voir plus loin). L'étape de la formulation mathématique permet d'associer de façon consciente, pour la partie instrumentale mais aussi pour les autres étapes du processus de mesure (y compris si nécessaire échantillonnage, stockage, homogénéité, préparation chimique...), le mesurande Y et les grandeurs d'entrée X_i, dont Y dépend et qui peuvent contribuer à une composante significative de l'incertitude sur Y (y compris les corrections de toutes sortes). Cette incertitude caractérise la dispersion des valeurs qui peuvent raisonnablement être attribuées à Y et elle résulte de la combinaison (loi de propagation) des incertitudes standards individuelles de toutes les grandeurs d'entrée X_i. En pratique, le calcul des dérivées partielles individuelles et des termes de covariance entre les grandeurs n'étant pas nécessairement très simple, il est possible d'utiliser une méthode numérique de différentiation telle que celle décrite par Kragten [10].
L'estimation de l'incertitude n'est ni une fantaisie, ni l'expression d'une nouvelle mode n'ayant d'autre conséquence que de compliquer inutilement la vie du chimiste. Requise pour l'accréditation ISO-17025, elle est essentielle au renforcement de la qualité d'un résultat, sans être nécessairement difficile et tout en restant proportionnée à l'objectif de la mesure. En d'autres termes, il est inutile d'investir des ressources considérables en temps et en argent pour tenter d'obtenir des incertitudes combinées les plus faibles possibles ; mais au contraire, il est utile au moyen d'une application si nécessaire simplifiée des concepts ISO/GUM [9], de veiller à ce que les incertitudes déclarées soient réalistes par rapport au contexte économique, politique, industriel, médical, légal, scientifique, etc. dans lequel s'inscrit la mesure.

IMEP-16 et CCQM-P12 comme illustration

Le vin, largement produit dans le monde entier (~ 26 milliards de litres en 2002 [11]), peut contenir du plomb à des niveaux de concentration élevés et d'origine soit artificielle (pollution atmosphérique, pratiques agricoles et contamination durant la fabrication), soit endogène (contenu naturellement dans les sols de culture des vignes). Pour des raisons de santé publique (et commerciales), des mesures de concentration en plomb dans le vin sont régulièrement pratiquées dans de nombreux pays. La directive CE-2001/22 et les lois CE-2676/1990 et CE-466/2001 décrivent les méthodes communautaires recommandées pour ces mesures ainsi que la limite autorisée (0,2 mg Pb•kg^{-1} vin) dans la Communauté européenne. La 16e édition du programme IMEP en relation à ces réglements avait pour objectif de démontrer internationalement le degré d'équivalence des résultats de la mesure de la concentration du Pb dans le vin (129 laboratoires dans 33 pays). Conduite parallèlement à IMEP-16 avec des échantillons tests similaires, « l'étude pilote » CCQM-P12 permettait par ailleurs la comparaison directe entre les performances des « laboratoires de terrain » et celles des INM de 12 pays et de l'IRMM.
Les résultats de IMEP-16 (*figure 1*) illustrent le déficit de qualité dont peuvent souffrir une partie non négligeable des mesures de chimie réalisées quotidiennement dans la société. Seuls ~ 25 % des participants ont reporté des résultats en accord avec la valeur certifiée et ~ 40 % avec une incertitude se recoupant avec le domaine ± 10 % autour de cette valeur. Pour environ 1/3 des résultats, l'écart à cette valeur est > 50 % ou < 50 %. Pour la majorité des

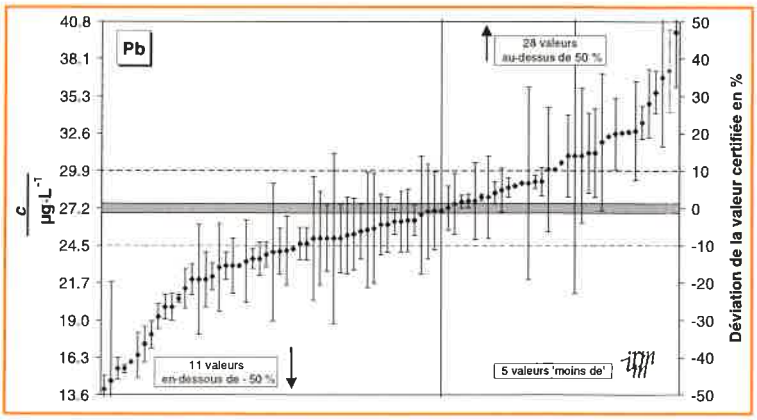


Figure 1 - IMEP-16 : concentration en plomb dans le vin, résultats de tous les participants (d'après [6]).
La bande centrale grisée correspond à la valeur de référence certifiée (27,18 ± 0,33 µg.L^{-1}).

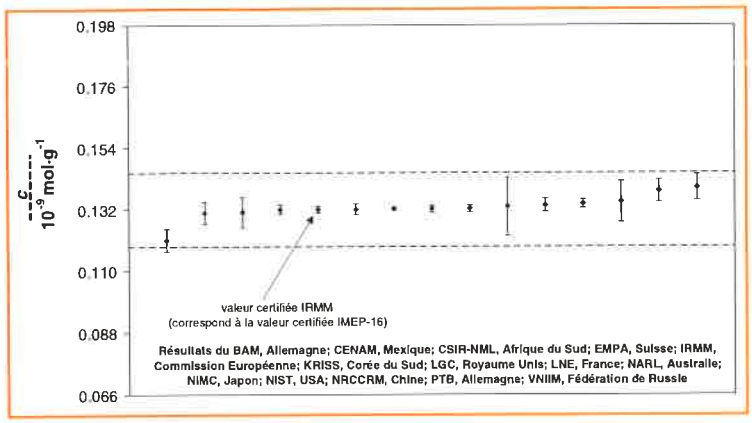


Figure 2 - CCQM-P12 : concentration en plomb dans le vin, résultats de tous les participants (d'après [6]).
Les lignes horizontales en pointillés correspondent à ± 10 % autour de la valeur certifiée de IMEP-16.

participants, l'incertitude sur le résultat de la mesure est largement sous-estimée. En outre, les données complémentaires en relation avec cette étude [6-7] montrent que la qualité des résultats n'est corrélée ni à l'expérience déclarée des laboratoires pour ce genre de mesure, ni au type de méthode et/ou de technique analytique employées pour produire ces résultats. Les résultats de CCQM-P12 (*figure 2*) contrastent fortement avec ceux de IMEP-16 : bien que l'incertitude soit légèrement sous-estimée dans certains cas, tous sont largement dans le domaine ± 10 % autour de la valeur de l'IRMM. Cette dispersion nettement resserrée de résultats (obtenus de façon indépendante en plusieurs endroits du monde) résulte de processus de mesure correctement maîtrisés, aboutissant tous à l'établissement de la traçabilité de chaque valeur au SI et permettant quasi systématiquement l'estimation d'une incertitude combinée faible mais représentative. Il en découle un degré d'équivalence entre les résultats des INM de ± 10 % ou mieux.

Se posent maintenant les questions de comment ces valeurs ont été obtenues et de pourquoi elles méritent la dénomination de valeur de référence.

Réalisation de la valeur de référence traçable aux unités du SI de l'IRMM

Globalement, pour faire autorité, une valeur de référence nécessite que deux conditions soient remplies [12] :

- d'avoir été obtenue par application d'une « méthode primaire de mesure » dans le cadre d'une infrastructure permettant le recours à des protocoles analytiques et instrumentations « transparents » ainsi que l'évaluation de budgets d'incertitudes de mesures complets ;
- et que l'incertitude combinée finale obtenue soit beaucoup plus faible que, pour le secteur de mesure considéré, le domaine « critique » habituel correspondant au domaine d'incertitude moyenne atteignable par les meilleurs laboratoires.

La valeur de référence de IMEP-16 (également donc contribution de l'IRMM à CCQM-P12) remplit ces conditions. Elle résulte d'une mesure IDMS, reconnue par le CCQM comme pouvant être considérée comme « méthode primaire de mesure », soit « *une méthode assurant les plus hautes qualités métrologiques, dont le déroulement peut être entièrement décrit et compris, dont les incertitudes sont exprimées en unités SI [...]* » [4]. L'équation décrivant les calculs de dilution isotopique est claire (*tableau I*) et présente l'avantage d'être basée sur la mesure de rapports isotopiques [13], insensibles, du moins dans une certaine limite, à divers types de fluctuations (concentration ou dilution de l'échantillon, instabilités de la technique instrumentale, etc.). Par contre, une des principales difficultés avant l'étape instrumentale ultime, est la nécessité impérative d'obtenir, pour les isotopes de l'élément dont la concentration est mesurée, l'homogénéisation parfaite entre ceux du matériau ajouté et ceux présents dans l'échantillon à l'origine.

Tableau I - Principales équations décrivant le processus de mesure mis en œuvre pour la réalisation de la valeur de référence de IMEP-16 (également contribution de l'IRMM à CCQM-P12, d'après [6]).

Équations	
1- IDMS directe	$c_X = c_Y \cdot \frac{m_Y}{m_X} \cdot \left(\frac{R_Y - K_B \cdot R_B}{K_B \cdot R_B - K_X \cdot R_X}\right) \cdot \frac{\sum (K_i \cdot R_i)_X}{\sum (R_i)_Y}$
2- correction du blanc de procédure (contamination)	$c_{X_a_{blc}} = c_X - \frac{a_{blc}}{m_X}$
3- correction pour l'homogénéité entre les échantillons test produits (uniquement appliquée à la valeur utilisée comme référence pour IMEP-16)	$c_{X_\delta} = c_X \cdot \delta$
4- calcul du facteur de correction pour la discrimination en masse	$K = \frac{R_{MR_Cert}}{R_{MR_Mes}}$
5- calcul des rapports isotopiques à partir d'intensités mesurées	$R = \frac{I_\alpha}{I_\beta}$
6- correction de l'effet de temps mort sur les intensités mesurées	$I_{_tmrt} = \frac{I_{brut}}{(1 - I_{brut} \cdot \tau)}$
7- correction du bruit de fond instrumental sur les intensités mesurées	$I_{_bdf} = I_{brut} - I_{bdf}$
Liste des variables	**Liste des indices**
c concentration (mol•kg^{-1})	X échantillon X
R rapport isotopique	Y matériau de référence Y enrichi isotopiquement ajouté à l'échantillon
m masse (kg)	B mélange obtenu entre X et Y
K facteur de correction pour la discrimination en masse	α isotope α
a_{blc} quantité absolue de plomb dans le blanc de procédure (mol)	β isotope β
δ facteur de correction pour l'homogénéité de la concentration en plomb entre les échantillons	*MR_Cert/MR_Mes* valeur certifiée/mesurée du rapport isotopique du matériau de référence MR utilisé pour l'évaluation et la correction de l'effet de discrimination en masse
I nombre d'ions détectés dans le spectromètre de masse par unité de temps (ions•s^{-1})	*brut* intensités brutes avant correction
τ temps mort (s)	*tmrt* correction de l'effet de temps mort
	bdf correction du bruit de fond instrumental

Figure 3 - Évaluation critique de la performance d'un participant à un exercice IMEP par comparaison de son résultat avec la valeur certifiée de référence de cet exercice.

La production et la caractérisation (homogénéité et stabilité dans le temps et par rapport à des conditions changeantes de température et de pression) des échantillons tests d'IMEP-16 et de CCQM-P12, ainsi que le protocole analytique mis au point pour la certification de la concentration du plomb sont décrits en détail ailleurs [6]. En résumé, ce protocole consistait, pour 5 g d'échantillon de vin, en l'addition (pesée métrologique) d'une aliquote d'un matériau de référence enrichi en ^{206}Pb, suivi d'une attaque acide en bombes fermées sous micro-ondes, puis de l'étape ultime de mesure calibrée des rapports isotopiques par ICP-MS. La destruction des diverses composantes de la matrice de vin ayant le double avantage d'obtenir l'homogénéisation isotopique requise et de supprimer les principales sources d'interférence lors de la mesure ICP-MS. Les équations du *tableau I* montrent comment la teneur en plomb obtenue est reliée aux unités du SI par le biais de valeurs de grandeurs traçables à la mole, au kg et à la s. C'est aussi avec ces équations qu'ont pu être propagées ensemble les incertitudes standards individuelles, aboutissant à 1,2 % (k = 2) d'incertitude totale estimée. Une approche pas à pas permettant une incertitude combinée réaliste aussi faible ne peut pas être exigée des laboratoires du type de ceux participants à IMEP-16. Non seulement ces laboratoires ne disposent pas du temps et des moyens permettant la mise en œuvre d'une telle démarche mais de plus, vraisemblablement, leurs contraintes légales et commerciales ne requièrent pas un tel niveau de performance. L'exactitude des résultats par contre est requise et, par conséquent, une estimation valide de l'incertitude sur leurs résultats est nécessaire. En ce sens, la participation à un exercice comme IMEP-16 peut s'avérer particulièrement utile.

Savoir remettre en cause sa capacité de mesure

Comparer sa performance à la valeur de référence lors d'un exercice d'intercomparaison est l'occasion de se poser la question de la traçabilité de son résultat aux unités du SI, mais c'est surtout un bon moyen d'identifier, le cas échéant, certains problèmes inhérents à sa capacité de mesure (*figure 3*). Cette comparaison permet de prendre conscience de l'incertitude réelle du résultat de sa mesure. Reste à chercher comment « corriger le tir ».

En cas de décalage et de non-recouvrement avec l'incertitude de la valeur de référence, il faut d'abord envisager une éventuelle sous-estimation de l'incertitude sur le résultat reporté et en chercher la cause possible. Pour cela, les incertitudes standards associées à chacune des grandeurs individuelles et facteurs de corrections des équations utilisées pour décrire le processus de mesure sont passées en revue. Si cette évaluation critique se révèle infructueuse, il faut alors chercher du côté d'un défaut de description de la réalité de la mesure et/ou d'un biais influençant le résultat dans les équations du processus de mesure et, *a fortiori*, dans le budget d'incertitude final. Dans le cas où l'amélioration des équations s'avérerait impossible dans l'immédiat, il peut être envisagé d'appliquer temporairement un facteur de correction correspondant au décalage observé entre son résultat et la valeur de référence. Enfin, le dernier cas de figure envisageable est celui d'un résultat coïncidant avec la valeur de référence mais dont l'incertitude serait inférieure à celle de cette valeur de référence. Cela peut paraître paradoxal mais, en considérant l'extrême soin apporté à l'élaboration d'une faible mais réaliste incertitude sur la valeur de référence, le risque est grand pour que cette incertitude encore plus faible sur le résultat d'un participant soit sous-estimée et ne garantisse pas la fiabilité de ce résultat. En effet, suivant le ISO/GUM [9b], « *Le résultat d'un mesurage (après correction) peut, sans qu'on le sache, être très proche de la valeur du mesurande (et, en conséquence, avoir une erreur négligeable) même s'il possède une incertitude élevée. C'est pourquoi l'incertitude du résultat d'un mesurage ne doit pas être confondue avec l'erreur résiduelle inconnue* ». Dans ce cas, il est probablement utile de revoir à la hausse l'incertitude revendiquée pour le résultat de sa mesure.

Remerciements

Remerciements chaleureux au Pr De Bièvre, au Dr Taylor ainsi qu'aux autres collègues et collaborateurs de l'unité IM de l'IRMM pour l'ensemble de nos fructueuses discussions et collaborations au cours de ces dernières années, et dont cet article se fait l'écho.

Références

[1] http://www.bipm.fr/
[2] Kaarls R., Quinn T.J., *Metrologia*, **1997**, *34*, p. 1.
[3] Wielgosz R.I., *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, *374*, p. 767.
[4] Comité Consultatif pour la Quantité de Matière, *Rapport de la 1ère session*, BIPM éd., Pavillon de Breteuil, 92312 Sèvres Cedex, **1995**.
[5] http://www.irmm.jrc.be/
[6] Quétel C.R., Nelms S., Van Nevel L., Papadakis I., Taylor P.D.P., *J. Anal. At. Spectrom.*, **2001**, *16*, p. 1091.
[7] Van Nevel L., Quétel C.R., Norgaard J.V., Smeyers P., De Smet, Papadakis I., Taylor P.D.P., *IMEP-16 Pb in wine Report to Participants*, EUR 19898 EN.
[8] De Bièvre P., Kaarls R., Peiser H.S., Rasberry S.D., Reed W.P., *Accred. Qual. Assur.*, **1996**, *1*, p. 3.
[9] Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure, *International Organization for Standardization*, Genève, ISBN 92-67-20188-3, **1995**. Citations a) paragraphe 3.1.2 ; b) paragraphe 3.3.1.
[10] Kragten J., *Analyst*, **1994**, *119*, p. 2161.
[11] *La lettre de l'Office International de la Vigne et du Vin*, *144*, **2002**.
[12] De Bièvre P., Taylor P.D.P., *Metrologia*, **1997**, *34*, p. 67.
[13] De Bièvre P., Trace element analysis in biological specimens, *Isotope Dilution Mass Spectrometry (IDMS)*, R.F.M. Herber, M. Stoeppler (eds), Elsevier, Amsterdam, **1994**.

Christophe R. Quétel
est chercheur à l'Institut des Matériaux et des Mesures de Référence du CCR*.

* Commission européenne, Centre Commun de Recherche (CCR), Institut des Matériaux et des Mesures de Référence (IRMM), Unité de Mesures Isotopiques, Retieseweg, B-2440 Geel, Belgique.
Tél. : +32-14-571-658. Fax : +32-14-571-863.
E-mail : Christophe.QUETEL@cec.eu.int

RMN et analyses isotopiques

Serge Akoka et Gérald Remaud

Summary **NMR and isotopic analyses**
At the beginning of the 80's, the direct non-destructive determination of isotope abundance was shown to be possible by using NMR. This method, patented as SNIF-NMR™ (site-specific natural-isotope fractionation by nuclear magnetic resonance), exploits the NMR spectrum of a heavy isotope of the element which the isotopic abundance must be measured. The most popular application was for detecting chaptalization of wines by ^{2}H-NMR. However, the method has been applied in many other fields, notably the authentication of the natural origin of flavour compounds or the study of biosynthetic mechanisms. In this paper, we review the basic principles and the experimental constraints. A typical application, the determination of the origin of vanillin by ^{2}H-NMR, is also presented. Finally, the extension of SNIF-NMR to other nuclei (^{13}C, ^{15}N or ^{17}O) is described as the potential improvements to the method offered by recent NMR developments like multipulse experiments, cryoprobes™ and the analysis of chiral compounds in chiral liquid crystals.

Mots-clés **RMN, isotopomères, ^{2}H.**
Key-words **NMR, isotopomers, ^{2}H.**

Les rapports isotopiques ($R = \frac{\text{Lourd}}{\text{Léger}}$) peuvent être déterminés avec une grande précision par spectrométrie de masse de rapports isotopiques (SMRI). Toutefois, cette technique suppose une transformation préalable de l'échantillon (en H_2 pour la mesure du rapport $^{2}H/^{1}H$ ou en CO_2 pour la mesure du rapport $^{13}C/^{12}C$ par exemple). La teneur isotopique mesurée est donc une valeur moyenne sur toute la molécule étudiée. Les rapports isotopiques spécifiques de certains sites peuvent être obtenus, mais seulement après une dégradation chimique de l'échantillon permettant d'isoler les fragments moléculaires intéressants. Au début des années 80, la mesure non destructive des abondances isotopiques ($A = \frac{\text{Lourd}}{\text{Léger+Lourd}} = \frac{R}{R+1}$) spécifiques a été rendue possible par l'utilisation de la RMN [1-2]. Cette méthode, brevetée sous le nom de SNIF-NMR™ (« site-specifique natural-isotope fractionation by nuclear magnetic resonance », « trade mark » d'Eurofins, Nantes, France), utilise le spectre RMN d'un isotope lourd de l'élément dont on veut mesurer la distribution isotopique à travers la molécule. La différence de déplacements chimiques entre deux groupements permet de déterminer sélectivement les teneurs isotopiques sans traitement chimique, ce qui limite les risques de fractionnement isotopique parasite. Pour des raisons techniques, la méthode a été initialement utilisée pour l'hydrogène et cet élément est encore utilisé aujourd'hui dans la quasi-totalité des applications. Toutefois, le carbone, l'oxygène et l'azote ont également un isotope lourd détectable par RMN et les abondances isotopiques correspondantes peuvent donc être mesurées par RMN.

L'application la plus populaire de cette méthode est sans doute la mesure du degré de chaptalisation d'un vin. La répartition du deutérium sur les différents sites de l'éthanol est en effet différente entre un alcool provenant de la fermentation de sucre de raisin et un alcool provenant d'un sucre de betterave ou de canne. Il est ainsi possible, en utilisant la méthode SNIF-NMR, de doser l'éthanol de betterave dans l'éthanol de vin ; ce qu'aucune autre méthode analytique ne permet. Mais bien évidemment, la méthode a connu de nombreuses autres applications [3-4], tant appliquées (authentification de l'origine des produits, [5-7]) que fondamentales (détermination de mécanismes de biosynthèse par exemple [8-10]).

L'idée

Un composé, même chimiquement pur, est constitué d'un mélange de molécules qui ne diffèrent les unes des autres que par leur composition isotopique (des isotopomères). Dans le cas des éléments les plus répandus dans les molécules organiques (H, C, N, O), les abondances isotopiques naturelles moyennes des isotopes lourds sont faibles (*tableau I*). On peut donc considérer, avec une bonne approximation, que seuls les isotopomères comportant un seul isotope lourd sont visibles par RMN. A titre d'exemple, la *figure 1* présente tous les isotopomères de la molécule de glycine comportant un seul isotope lourd (l'oxygène-18 n'a pas été pris en compte puisqu'il ne produit pas de signal RMN).

La surface (S_i) sous une raie d'un spectre RMN est directement proportionnelle au nombre N de noyaux qui produisent cette raie. N est lui-même proportionnel à la concentration (C_i) de l'isotopomère comportant le noyau

Tableau I - Caractéristiques des principaux noyaux utilisables pour la RMN isotopique.

Élément	Noyau utilisé pour la RMN isotopique	Abondance isotopique moyenne (%)	Sensibilité relative par rapport au proton
hydrogène	^{2}H	0,016	$9{,}6.10^{-3}$
carbone	^{13}C	1,111	$1{,}6.10^{-2}$
azote	^{15}N	0,366	$1{,}0.10^{-3}$
oxygène	^{17}O	0,040	$2{,}9.10^{-3}$

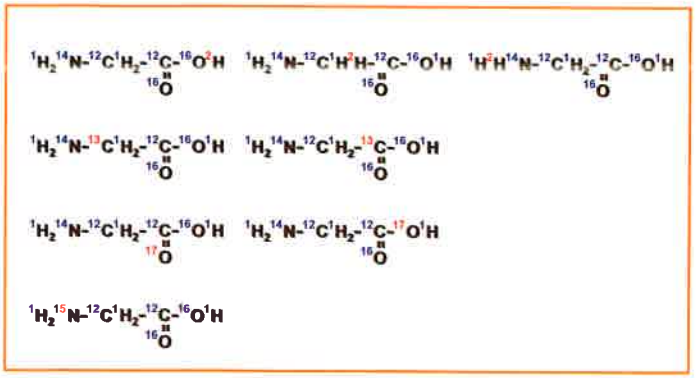


Figure 1 - Isotopomères de la glycine comportant un isotope lourd, stable et détectable en RMN.

étudié à la position i. On peut donc écrire :

$$S_i = k.P_i.A_i.C \qquad (1)$$

où P_i est le nombre de noyaux équivalents pour le site i, A_i est l'abondance isotopique spécifique de ce site et C la concentration de la molécule étudiée. Tous les isotopomères qui présentent des déplacements chimiques différents peuvent donc être quantifiés séparément à partir du spectre RMN de l'isotope lourd correspondant (par exemple par RMN-^{2}H).

Le fractionnement isotopique

Les différents isotopomères d'une même molécule n'ont pas exactement les mêmes propriétés chimiques. Une liaison C-^{2}H, par exemple, n'a pas les mêmes caractéristiques qu'une liaison C-^{1}H [11]. La substitution isotopique modifie les propriétés de la liaison liées aux masses atomiques ; on peut donc considérer qu'elle affecte essentiellement les fréquences (et donc les énergies) de vibration. Lors d'une réaction chimique, les énergies de vibrations changent puisque des liaisons sont rompues et d'autres créées. La constante de vitesse n'est donc pas indépendante de la composition isotopique. Lorsque la réaction n'est pas totale, cela conduit à une modification de la composition isotopique des produits et des substrats. La distribution des isotopes lourds dans une molécule est donc le reflet de son histoire et peut être utilisée pour établir une filiation.

Détermination des abondances isotopiques spécifiques

En pratique, la constante k de l'équation (1) dépend de nombreux paramètres. Certains peuvent être mesurés avec une grande précision, mais d'autres varient de manière significative dans le temps et entre deux échantillons. C'est la raison pour laquelle les mesures quantitatives sont toujours des mesures relatives.

Lorsque l'abondance isotopique moyenne <A>, sur l'ensemble des isotopomères, peut être mesurée (par exemple par SMRI), on peut écrire :

$$S = \sum_i S_i = K \cdot \langle A \rangle \cdot \sum_i P_i \cdot C \qquad (2)$$

et en comparant les équations (1) et (2) :

$$A_i = \langle A \rangle \cdot \frac{f_i}{F_i} \qquad (3)$$

avec $f_i = \frac{S_i}{S}$, fraction molaire de l'isotopomère comportant le noyau étudié à la position i et $F_i = \frac{P_i}{P}$, population relative statistique du site i.

L'équation (3) illustre le fait que les méthodes SNIF-NMR et SMRI ne sont pas concurrentes mais plutôt complémentaires en termes de détermination des abondances isotopiques.

Lorsqu'il est possible d'introduire dans l'échantillon un composé de référence (dont l'abondance isotopique A_{ref} et la concentration C_{ref} sont parfaitement connues), la surface sous une raie provenant de ce composé vérifie :

$$S_{ref} = k.A_{ref}.P_{ref}.C_{ref} \qquad (4)$$

Les abondances isotopiques spécifiques peuvent alors être calculées à partir de l'équation :

$$A_i = A_{ref} \cdot \frac{S_i}{S_{ref}} \cdot \frac{P_{ref}}{P_i} \cdot \frac{C_{ref}}{C} \qquad (5)$$

Le composé de référence doit vérifier un certain nombre de conditions (co-solubilité, stabilité chimique, P_{ref} élevé, déplacements chimiques différents de ceux de l'échantillon...). De plus, son abondance isotopique et sa pureté doivent être parfaitement connues. Dans le cas de la RMN-^{2}H, le composé de référence universellement retenu est la tétraméthylurée (TMU). C'est la référence officielle pour l'analyse de la chaptalisation. Des échantillons calibrés à partir d'une procédure européenne [12] sur l'échelle V-SMOW [13] sont commercialement disponibles.

Pour utiliser l'équation (5), il est indispensable de connaître avec une bonne précision les concentrations C et C_{ref}, ou plus exactement leur rapport. Cela peut être obtenu par mesure des masses des composés utilisées lors de la préparation de l'échantillon, mais il faut alors connaître les puretés. Il est souvent plus simple et aussi plus précis d'effectuer un dosage sur l'échantillon. Le rapport des concentrations peut par exemple être mesuré très simplement par RMN du proton [14]. Dans ce cas, le dosage est réalisé sur le même échantillon et quasiment au même moment que la mesure isotopique, ce qui réduit au minimum l'impact de toute évolution physico-chimique.

Les exigences méthodologiques

Les variations d'abondance isotopique entre deux sites d'une même molécule, ou lors d'un processus de fractionnement, ne sont parfois que de quelques % (voire quelques ‰). La mesure doit donc être réalisée avec une précision bien supérieure à celle obtenue dans les conditions d'acquisition d'un spectre de routine. Cela implique une optimisation rigoureuse de la préparation de l'échantillon (solvant, concentrations), des paramètres d'acquisition (temps de répétition, découplage, température) et de traitement des données. L'objectif est d'obtenir une distorsion minimale du spectre avec un rapport signal sur bruit élevé. Le niveau de bruit est en effet bien souvent le facteur qui limite le plus la précision [4, 15]. Par ailleurs, un contrôle qualité régulier du spectromètre est indispensable pour garantir des performances stables dans le temps et donc de bonnes répétabilité et reproductibilité des mesures.

Des difficultés qui dépendent du noyau

Tous les noyaux ne présentent pas les mêmes difficultés. Jusqu'à présent, la quasi-totalité des résultats obtenus par la méthode SNIF-NMR l'ont été à partir de l'abondance

Authentification de l'origine de la vanilline

L'arôme vanille naturel est extrait des gousses de vanille (*vanilla planifolia*). Il y a un écart de prix très important entre l'arôme naturel et sa reconstitution synthétique à base de vanilline de synthèse à partir de gaïacol ou de lignine de bois. De ce fait, une pratique frauduleuse consistant à substituer tout ou partie de la vanilline issue de gousse par celle de synthèse devient très lucrative. Dans ce contexte, plusieurs approches ont été développées pour caractériser l'authenticité de la vanilline contenue dans un extrait commercial. Les méthodes basées sur des analyses compositionnelles (rapports molaires entre les principaux ingrédients de l'arôme, en particulier vanilline/para-hydroxybenzaldéhyde (pHB) et vanilline/acide vanillique) ont très rapidement montré leur limite et ont été supplantées, dans les années 70, par les analyses isotopiques par SMRI. L'assimilation du CO_2 et de H_2O de la vanille au cours de sa croissance est telle qu'elle entraîne un enrichissement en ^{13}C de tous les métabolites constituant la plante. Ainsi, la teneur en ^{13}C de la vanilline naturelle de gousse est nettement supérieure à celle de ses homologues synthétiques. Cependant, cette approche par SMRI a été contournée par la possibilité d'enrichir (par marquage sélectif) en ^{13}C les groupements CHO et/ou OCH_3 de la vanilline. L'apport de la RMN-^2H a été déterminant [5]. La capacité de la RMN à quantifier les espèces monodeutériées de la vanilline conduit à une forte discrimination entre les différentes origines. En utilisant les 4 D/H obtenus par RMN-^2H (seuls 4 sites sont résolus, OH n'étant pas pris en compte pour des raisons d'échange avec le milieu) dans une analyse factorielle, les 3 groupes principaux (gousse, gaïacol et lignine) sont nettement séparés.
Pendant plusieurs années, la méthode SNIF-NMR a été appliquée en routine à l'étude de l'authenticité de l'arôme vanille. Puis des indices montrant des tentatives « d'ajustement » en deutérium de certains sites ont été mis en évidence. Par exemple, certains échantillons qui avaient un profil isotopique D/H « normal » présentaient, en RMN-^2H, un léger épaulement à droite du pic correspondant à l'espèce deutériée du site OCH_3 [5]. Aucune impureté (par CLHP, CPG ou RMN-^1H) ne pouvait rendre compte de ce fait. Sa détection exclusive par RMN-^2H implique que la raie parasite ne pouvait provenir que d'un produit contenant du deutérium. En fait, une molécule de vanilline ayant un site OCD_3 présente un spectre RMN-^2H légèrement différent de l'isotopomère constitué par le groupement OCH_2D (le décalage en fréquence dû à des substitutions isotopiques (effet de blindage) est un phénomène bien connu en RMN [21]). Un ajustement de la teneur en deutérium du site méthoxy par la synthèse de la vanilline impliquant l'emploi d'agent méthylant de type RCD_3 (ICD_3, par exemple) a donc été frauduleusement réalisé.
L'analyse RMN-^2H s'est alors déplacée vers un métabolite secondaire de l'arôme vanille : le para-hydroxybenzaldéhyde (pHB). Le spectre RMN-^2H du pHB présente une résolution adéquate des pics pour son exploitation en termes de discrimination d'origine [5]. Cependant, la principale difficulté de cette approche réside dans l'extraction et la purification du pHB. En effet, il est présent dans des proportions de 10 à 20 fois moins importantes que la vanilline. Obtenir plusieurs centaines de mg de pHB pur représente un véritable challenge en chimie isotopique. Il est nécessaire de garder à l'esprit que le but n'est pas uniquement l'obtention de la molécule pure, mais de la purifier à un degré élevé tout en préservant l'intégrité isotopique. Pour ne pas séparer artificiellement les molécules lourdes des molécules légères, les paramètres cinétiques et thermodynamiques doivent être maîtrisés à chaque étape liée à la purification (extraction, purification sur colonne chromatographique, recristallisation...). Une analyse factorielle discriminante (AFD) des différentes origines du pHB montre le pouvoir discriminant de la RMN-^2H [5]. La *figure 2* présente les profils ^2H de la vanilline et du pHB issus de gousse de vanille.
Depuis quelques années, la situation s'est encore compliquée par l'introduction sur le marché d'une vanilline provenant de la biosynthèse de l'acide férulique. En effet, lorsque cet acide est issu de produit végétaux (comme la betterave), le produit obtenu peut alors prétendre au statut naturel.

isotopique du deutérium. Ce noyau présente en effet un certain nombre d'avantages qui sont moins marqués ou inexistants pour ^{13}C, ^{15}N ou ^{17}O.
Tout d'abord, la gamme des déviations isotopiques naturelles est beaucoup plus large pour le deutérium [4]. L'abondance isotopique peut varier de plusieurs dizaines de % entre deux sites d'une même molécule alors que les déviations isotopiques sont au maximum de quelques ‰ pour les autres noyaux. De ce fait, il y a un ordre de grandeur entre la précision minimale nécessaire en RMN du deutérium et celle imposée par les isotopes lourds du carbone, de l'azote ou de l'oxygène. Il n'y a en fait que quelques années que les qualités technologiques des spectromètres RMN permettent d'obtenir une telle précision de manière répétable.
Par ailleurs, les caractéristiques RMN-^2H (essentiellement au niveau de sa relaxation) font que les paramètres d'acquisition sont beaucoup moins critiques que pour le carbone 13 ou l'azote 15 [3]. Quant à l'oxygène 17, il produit des raies très larges qui rendent très coûteuse en temps l'obtention du rapport signal sur bruit nécessaire.
Malgré ces difficultés, il faut signaler que des résultats ont été obtenus en utilisant la RMN-^{13}C dès 1991 [16] et les progrès de l'appareillage réalisés depuis ont permis de démontrer la cohérence des mesures de SNIF-NMR et de SMRI pour ce noyau dans le cas d'une petite molécule comme le glycérol [17].

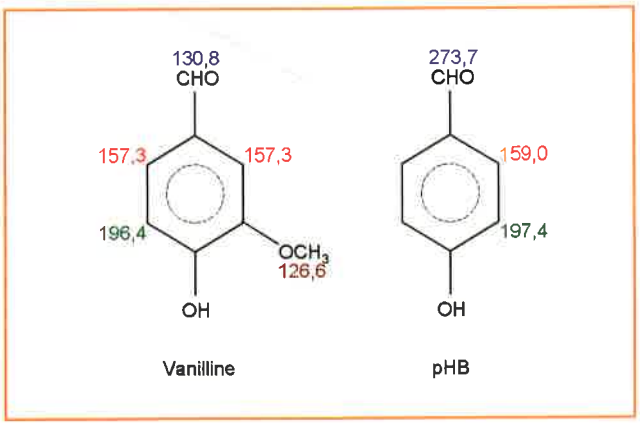


Figure 2 - Répartition du deutérium dans les molécules de vanilline et de pHB extraites de gousses de vanille.
Abondance isotopiques mesurées par RMN-^2H et exprimées en ppm.

Perspectives

Jusqu'à présent, la technique SNIF-NMR n'a été employée essentiellement que sur le noyau ^2H. De plus, la plupart des études ont été menées sur des molécules purifiées, de faible taille (nombre de carbone < 15) et sur des quantités relativement élevées (> 500 mg). Grâce à ces travaux, une meilleure compréhension de la distribution isotopique naturelle a été obtenue. Des améliorations notables peuvent toutefois être attendues au cours des prochaines années.
Les limites en sensibilité vont être repoussées grâce à la mise en œuvre des technologies les plus récentes. L'utilisation des méthodes RMN multi-impulsionnelles permet à la fois une augmentation du signal détecté et un

gain en sensibilité. Ces méthodes, souvent considérées comme non quantitatives jusqu'à un passé récent, offrent aujourd'hui la robustesse indispensable à la RMN isotopique [18]. D'autre part, l'arrivée sur le marché des cryosondes [19] permet, toutes choses égales, la réduction d'un facteur 4 du niveau de bruit.

Il est donc raisonnable d'envisager à court terme l'utilisation en routine de la RMN isotopique de ^{13}C, ^{15}N ou ^{17}O. Grâce à ces avancées, il sera également possible d'étudier, dans certains cas, les molécules en mélange dans leur matrice. La RMN servira alors à doser les constituants du mélange (comme par CLHP ou CPG), ainsi que les isotopomères de chaque molécule. Enfin, des travaux expérimentaux récents sembleraient montrer que l'analyse du fractionnement isotopique menée sur des molécules chirales ou prochirales soit envisageable à l'aide de la RMN-^{2}H en abondance naturelle dans une phase anisotrope chirale (utilisation de cristaux liquides chiraux) [20].

Références

[1] Martin G.J., Martin M.L., *Tetrahedron Lett.*, **1981**, *22(36)*, p. 3525.
[2] Grant D.M., Groasmun W.R., Dalling D.K., Wehrli F.W., Wehrli S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1982**, *104*, p. 4492.
[3] Martin M.L., Martin G.J., *NMR Basic Principles and Progress*, H.F. Linkens, J.F. Johnson (eds), Springer-Verlag, Berlin, **1990**.
[4] Martin G.J., Martin M.L., *Ann. Rep. NMR Spect.*, **1995**, *31*, p. 81.
[5] Remaud G., Martin Y.-L., Martin G.G., Martin G.J., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, p. 859.
[6] Remaud G., Debon A.A., Martin Y.-L., Martin G.G., Martin G.J., *J. Agric. Food Chem.*, **1997**, *45*, p. 4042.
[7] Gonzalez J., Jamin E., Remaud G., Martin Y.-L., Martin G.G., Martin M.L., *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, *46*, p. 2200.
[8] Zhang B.-L., Buddrus S., Trierweiler M., Martin G.J., *J. Agric. Food Chem.*, **1998**, *46*, p. 1374.
[9] Billault I., Guiet S., Mabon F., Robins R.J., *ChemBioChem*, **2001**, *2*, p. 425.
[10] Markai S., Marchand P.A., Mabon F., Baguet E., Billault I., Robins R.J., *ChemBioChem*, **2002**, *3*, p. 212.
[11] Wada E., Ando T., *Kumazawa in stable isotopes in the biosphere*, E. Wada, T. Yoneyama, M. Minagawa, T. Ando, B.D. Fry (eds), **1995**, *7-4*.
[12] Martin G.J., Trierweiler M., Bureau communautaire de références Information, **1992**, EUR 14395 EN.
[13] Craig H., *Science*, **1961**, *133*, p. 1833.
[14] Fauhl C., Wittkowski R., *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **1996**, *203(6)*, p. 541.
[15] Martin G.J., Naulet N., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1988**, *332*, p. 648.
[16] Caer V., Trierweiler M., Martin G.J., Martin M.L., *Anal. Chem.*, **1991**, *63*, p. 2306.
[17] Zhang B., Trieweiler M., Jouitteau C., Martin G.J., *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, p. 2301.
[18] Karabulut N., thèse de doctorat de l'université de Nantes, **2002**.
[19] Serber Z., Richter C., Dötsh V., *ChemBioChem*, **2001**, *2*, p. 247.
[20] Sarfati M., Lesot P., Merlet D., Courtieu J., *Chem Commun.*, **2000**, p. 2069.
[21] Martin M.L., Martin G.J., *Manuel de résonance magnétique*, Azoulay, Paris, **1971**.

S. Akoka

G. Remaud

Serge Akoka
est professeur à l'université de Nantes*.

Gérald Remaud
est consultant**.

* LAIEM, UMR 6006 CNRS-Université de Nantes, Faculté des sciences de Nantes, 2 rue de la Houssinière, BP 92208, 44322 Nantes Cedex 3.
E-mail : serge.akoka@chimbio.univ-nantes.fr
** E-mail : pharmacie.remaud@cario.fr

Utilisation réglementaire des analyses isotopiques des aliments

Dix ans d'expérience européenne

Giovanni Calderone, Claude Guillou et Norbert Naulet

Summary **Official methods based on stable isotope techniques for analysis of food. Ten years' of European experience**
The extensive studies on plant metabolism and natural fractionation of stable isotopes enabled access to an extremely useful tool in the fight against fraud in the food products domain. Several isotopic analyses are now official or standard methods in Europe and North America for testing the authenticity of food products. These methods are based on the measurement of stable isotope contents (^{2}H, ^{13}C, ^{18}O, ^{15}N, etc.) of a product or of a specific component such as an ingredient or a target molecule of the product. The determinations, carried out using NMR (nuclear magnetic resonance) and/or IRMS (isotope ratio mass spectrometry), provide information on the botanical and geographical origin which are often considered important characteristics of many food products either by the consumer or by European regulations.

Mots-clés **Isotopes stables, RMN, SMRI, authenticité, règlements européens.**
Key-words **Stable isotopes, SNIF-NMR, IRMS techniques, authenticity, European regulations.**

Actuellement, une multitude de produits ou de marchandises peuvent être l'objet de falsification, adultération ou contrefaçon. Ces pratiques frauduleuses ou tromperie des consommateurs sont également nuisibles économiquement pour les producteurs ou les fabricants honnêtes. Il est donc de plus en plus nécessaire de développer des méthodes de contrôle pour lutter contre ces pratiques.
Ces dernières années, la Communauté européenne s'est engagée dans cette voie, en particulier en ce qui concerne le contrôle de l'authenticité des produits alimentaires, tant pour protéger l'économie de l'Union que le consommateur.
De nombreuses méthodes de contrôle basées sur la détermination des teneurs en isotopes stables ont ainsi vu le jour. Ces méthodes utilisent principalement deux techniques analytiques :
1- La spectrométrie de masse de rapports isotopiques (SMRI), qui permet la mesure des teneurs moyennes en isotopes stables d'un composé organique choisi comme cible. Ainsi, la mesure des déviations isotopiques des isotopes lourds des cinq éléments majeurs de la matière organique (H, C, N, O, S) est aisément réalisée à l'aide de spectromètres dédiés à ces applications. Les développements, récents pour certains, de couplages avec un analyseur élémentaire ou avec un chromatographe en phase gazeuse permettent de réaliser automatiquement la génération des gaz utilisables en SMRI (H_2, CO_2, N_2, CO et SO_2) et la mesure de leurs déviations isotopiques.
2- La RMN quantitative du deutérium, RMN-FINS, développée au début des années 80 [1], permet la mesure des teneurs spécifiques site par site dans une molécule. La répartition non statistique observée est due aux fractionnements isotopiques qui ont régi la genèse de cette molécule et/ou les transformations qu'elle a pu subir ultérieurement.

Définition de δ

Les valeurs de $\delta^{13}C$ sont calculées avec la formule suivante :

$$\delta = \left(\frac{R_{échantillon}}{R_{standard}} - 1\right)*1000$$

où $R_{échantillon}$ est le rapport isotopique mesuré pour l'échantillon et $R_{standard}$, le rapport isotopique mesuré pour le standard, calibré contre le V-PDB.

Fractionnement isotopique naturel

Plusieurs causes sont à l'origine de la variabilité naturelle des abondances isotopiques. L'exemple du carbone est intéressant car le CO_2 atmosphérique est la source principale de carbone utilisé par les plantes lors de la photosynthèse. Ce CO_2 est isotopiquement homogène dans l'atmosphère terrestre, mais il peut être incorporé de deux manières différentes par les plantes.
Sous l'action de la ribulose-1,5-diphosphatecarboxylase (RuBP) à la lumière, le CO_2 se combine au ribulose-1,5-diphosphate pour donner naissance à deux molécules d'acide phosphoglycérique (premier produit stable synthétisé). Ce composé à trois atomes de carbone a donné son nom à ce mécanisme : C3. Ce cycle est aussi appelé « cycle de Calvin et Bassham » [2].
Pour le mécanisme C4 – appelé « cycle de Hatch et Slack » [3] –, c'est le rôle de la phosphoénolcarboxylase qui est prépondérant. La fixation primaire du CO_2 conduit à l'acide oxaloacétique qui est immédiatement converti en acides malique et aspartique. Ces acides (à quatre atomes de carbone) sont ensuite décarboxylés et le CO_2 libéré est repris par la RuBP.
Pour les plantes CAM (« crassulacean acid metabolism », dont le cycle fut mis en évidence par Whelan, Sackett et

Tableau I - Exemples des plantes les plus communes des trois groupes décrits.
Plus de 95 % des plantes appartiennent au groupe des plantes C3 ; moins d'1 % sont des plantes C4.

Trois métabolismes différents		
plantes C3	**plantes C4**	**plantes CAM**
Betterave, pomme de terre, riz, orge, blé, soja, tournesol, olive, seigle, haricot, orange, raisin, arachide	Canne à sucre, sorgho, maïs, millet	Ananas, vanille, agave, cactus

Benedict [4]), les deux enzymes précédentes fonctionnent alternativement jour et nuit.
Le fractionnement isotopique provoqué par ces deux enzymes étant nettement différent, les gammes de déviation isotopique (δ, voir *encadré*) des plantes C3 et C4 sont parfaitement distinctes. La seule mesure du $\delta^{13}C$ d'un produit végétal permet de savoir si la plante dont il est issu est de type C3 ou C4. Des exemples de plantes de ces trois groupes sont donnés dans le *tableau I*.
Pour l'eau, seule source d'hydrogène pour la photosynthèse, les teneurs en isotopes lourds (^{2}H et ^{18}O) dépendent de sa situation géographique d'origine.
L'évapotranspiration des plantes est également un facteur de fractionnement isotopique. Ainsi, une plante « aérienne » comme la vigne présente une plus forte évapotranspiration que la betterave à sucre qui est une plante souterraine. Ceci se traduit par un plus fort enrichissement en deutérium dans les sucres photosynthétisés par la vigne que dans ceux issus de la betterave, et est mis à profit par la méthode RMN-FINS qui mesure l'enrichissement site par site de l'alcool de fermentation (*figure 1*).

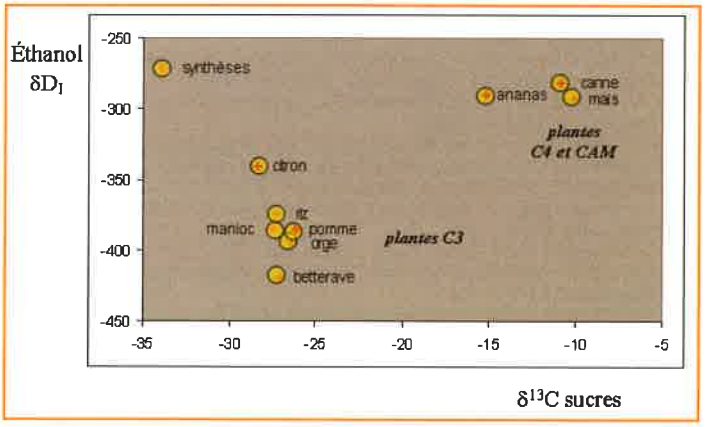


Figure 1 - La représentation bidimensionnelle de $\delta^{13}C$ des sucres contre le $\delta^{2}H$ des éthanols dérivés de leur fermentation met en évidence la relation sur la distribution isotopique.
Élaboration d'après un original de Martin *et al.* [14].

Règlements au sein de la CE

Les premiers règlements européens faisant appel aux techniques isotopiques concernaient surtout le contrôle d'origine et d'authenticité des vins.
Dès 1990, l'OIV (l'Office International de la Vigne et du Vin, qui a son siège à Paris) et l'Union européenne ont adopté la méthode ^{2}H-RMN-FINS pour l'analyse du vin comme méthode officielle afin de s'attaquer au problème de la chaptalisation (ajout de sucre au moût de raisin) [5-6].
Le principe de cette analyse est la détermination par RMN des rapports isotopiques spécifiques D/H dans la molécule

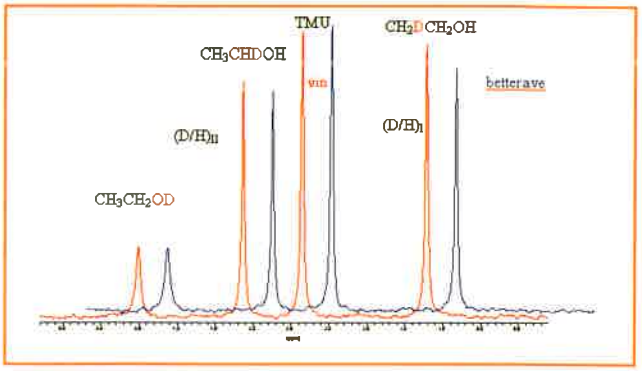


Figure 2 - Méthode RMN-FINS, spectres d'éthanol de vin et d'éthanol issu de sucre de betterave.

d'éthanol. La proportion des isotopomères monodeutérés CH_2**D**-CH_2-OH et CH_3-CH**D**-OH dépend, entre autre, de l'origine du sucre fermenté. On peut ainsi distinguer aisément des éthanols issus de sucre de canne, de betterave ou de moût de raisin, comme le montre la *figure 2*.
Cette méthode très performante ne permettait cependant pas de contrôler efficacement une autre technique d'adultération : le mouillage. L'origine géographique d'un vin se répercutant sur la teneur en ^{18}O de son eau, la CE adopte en 1997 la méthode utilisant la détermination du rapport isotopique $^{18}O/^{16}O$ de l'eau du vin par SMRI [7] pour ce contrôle. Cette analyse permet aussi de détecter une fausse déclaration d'origine.
Ces deux exemples montrent tout l'intérêt de l'utilisation de plusieurs types d'analyse isotopique pour obtenir des informations complémentaires et indépendantes précieuses pour un contrôle très strict de l'authenticité d'un produit. Ainsi en 2001, l'OIV, via une autre résolution [8], a aussi adopté la mesure du rapport $^{13}C/^{12}C$ par SMRI sur l'éthanol issu de la distillation d'un vin. La CE a très récemment (le 10 mars 2003) ajouté cette analyse aux méthodes officielles existantes [9].
En 1993, la Commission européenne a créé un bureau spécifique, le BEVABS (Bureau Européen des Vins, Alcools et Boissons Spiritueuses), pour fournir un support technique et scientifique aux DGs (directions générales) dans le domaine des vins et des boissons alcoolisées. Le BEVABS – dont les laboratoires sont hébergés au Centre Communautaire de Recherches d'Ispra en Italie dans l'Institute for Health and Consumer Protection – a aussi le rôle institutionnel de constituer et maintenir une banque de données, la « Wine Data Bank ». Les services des douanes des pays membres de la CE envoient chaque année des centaines de vins, certifiés authentiques, pour continuer à enrichir cette banque. C'est, bien sûr, par comparaison des teneurs isotopiques d'un vin à authentifier avec les résultats collectés dans une telle banque que l'on peut l'incriminer ou non d'être suspect.
Depuis, de nombreuses autres méthodes officielles sont venues s'y ajouter. En effet, la fraude sur les produits alimentaires (adultération, faux étiquetage, contrefaçon, etc.) est devenue un réel problème économique pour l'industrie et pour le consommateur. Il faut donc des méthodologies analytiques qui servent à garantir l'authenticité des produits et l'information donnée aux consommateurs.
Citons par exemple l'action du CEN/TC 174 (Comité Européen de Normalisation – Technical Commission 174 – la plupart des pays européens adhèrent à ses standards

Tableau II - Ensemble des méthodes officielles et des projets en cours.

Méthodes standard d'analyse (RMN et SMRI) $^{2}H/^{1}H$, $^{13}C/^{12}C$, $^{18}O/^{16}O$, $^{15}N/^{14}N$, $^{34}S/^{32}S$		
Produits	**Applications**	**Méthodes officielles ou objets d'étude**
Vins	Chaptalisation, origine géographique, mouillage	UE n° 2676/90, n° 822/97, n° 440/2003, OIV rés. ENO 2/96 et ENO 17/2001, Wine-DB, GLYCEROL
Alcools	Origine botanique, éthanol	OIV, BEVABS
Boissons spiritueuses	Origine botanique	OIV, BEVABS
Sucres	Origine botanique	SUGAR ^{18}O
Miels	Ajout de sucres	AOAC method 991.41
Arômes et parfums	Origine botanique, anéthol, vanilline	GCC-IRMS
Produits laitiers-fromages	Origine géographique	MILK
Jus de fruit	Ajout de sucres, dilution	CEN/TC174 n 108, 109, 110, AOAC met. 995.17, SUGAR ^{18}O
Huiles et graisses	Origine	MEDEO
Poissons	Origine géographique, sauvage/élevage	COFAWS
Vinaigres	Origine botanique	OIV

techniques) qui, en 1996, a adopté trois méthodes standards par SMRI pour dépister d'éventuels édulcorations et mouillages de jus de fruits [10-12]. L'AOAC (Association of Analytical Communities) a adopté les mesures d'isotopes stables pour détecter l'ajout d'eau et de sucres aux jus de fruits et de sucres dans les miels.

Au niveau national, en France, l'arrêté du 19 février 2001 [13] formalise l'utilisation des mesures de $^{13}C/^{12}C$ par CG-C-SMRI (chromatographie en phase gazeuse-combustion-spectrométrie de masse de rapports isotopiques) pour confirmer l'origine botanique ou synthétique de quelques arômes et parfums.

Perspectives

De la traçabilité du poisson au faux étiquetage, de l'adultération des huiles à la détection de glycérol ajouté dans les vins, en passant par les produits de l'agriculture biologique, le champ d'application de ces techniques est très vaste. C'est la raison pour laquelle de nombreux laboratoires européens, privés et institutionnels, travaillent en coopération pour faire face à ces demandes avec comme objectif l'élaboration de nouvelles méthodes officielles. Les nouveaux projets ont parfois des noms évocateurs (voir *tableau II*) :

- GLYCEROL : le glycérol, une sonde supplémentaire pour tester l'authenticité d'un vin ;
- COFAWS : Confirmation of the Origin of Farmed and Wild Salmon and other fish ;
- MEDEO : MEthods for the DEtection of adulteration of Olive oil with hazelnut oil.

Actuellement, le BEVABS participe à ces projets et mène également en autonomie des études spécifiques à la demande des DGs pour appliquer l'acquis des techniques isotopiques à une multitude de problèmes, et pour en tester les nouvelles applications.

Citons aussi un projet en cours qui vise à élaborer et certifier des matériaux de référence utilisables tant en CG-C-SMRI qu'en AE-SMRI (analyse élémentaire-spectrométrie de masse de rapports isotopiques). Lors des mesures, des produits de référence bien connus, testés et fiables sont toujours nécessaires. Cela est encore plus urgent quand il s'agit d'un sujet sensible, celui des sophistications et des fraudes, réglé par la CE dans des règlements qui vont conditionner les pays membres dont le nombre est destiné à augmenter bientôt.

Références

[1] Martin G.J., Martin M.L., Brevet CEE 81-22710, USA 85-4550082, **1981**.
[2] Calvin A.M., Bassham J.A., *The photosyntesis of carbon compounds*, Benjamin, New York, **1962**.
[3] Hatch M.D., Slack C.R., *C.R. An. Rev. Plant Physiol.*, **1962**, *21*, p. 141.
[4] Whelan T., Sackett W.M., Benedict C.R., *Plant Physiol.*, **1973**, *51*, p. 1051.
[5] OIV, *Méthodes internationales d'analyse des vins*, **1990**.
[6] E.C. Regulation n° 2676/90, *Official Journal of the European Communities*, **1990**, n° L 272, vol. *33*, p. 64.
[7] E.C. Regulation n° 822/97 amending E.C. Regulation n° 2676/90, *Official Journal of the European Communities*, **1997**, n° L117/10.
[8] OIV, Résolution OENO/SCMA/00/177, Détermination du rapport isotopique de l'éthanol, **2001**.
[9] E.C. Regulation n° 440/2003 amending E.E.C. Regulation n° 2676/90 determining *Communauty methods for the analysis of wines*.
[10] *Determination of the stable carbon isotope ratio ($^{13}C/^{12}C$) of sugars from fruit juices - Method using Isotope Ratio Mass Spectrometry*, 29 Feb. **1996**, CEN/TC174 n° 108.
[11] *Determination of the stable oxygen isotope ratio ($^{18}O/^{16}O$) of water from fruit juices - Method using Isotope Ratio Mass Spectrometry*, 29 Feb. **1996**, CEN/TC174 n° 109.
[12] *Determination of the stable hydrogen isotope ratio ($^{2}H/^{1}H$) of water from fruit juices - Method using Isotope Ratio Mass Spectrometry*, 29 Feb. **1996**, CEN/TC174 n° 110.
[13] Arrêté du 19 février 2001, *Journal officiel*, 7 mars **2001**, n° 56, p. 3538.
[14] Martin G.J. *et al.*, *J. Sci. Food Agric.*, **1991**, *56*, p. 419.

G. Calderone

N. Naulet

C. Guillou

Giovanni Calderone
est doctorant en sciences agroalimentaires à l'université de Nantes et boursier auprès du CCR-Ispra[1].

Claude Guillou
est responsable du laboratoire du BEVABS[2].

Norbert Naulet
est professeur à l'université de Nantes[3].

[1] BEVABS-TP740, via Fermi 2, 21020 Ispra, Italie.
Tél. : +39 (332) 78 5668. Fax : +39 (332) 78 9303.
E-mail : giovanni.calderone@jrc.it
[2] BEVABS-TP740, via Fermi 2, 21020 Ispra, Italie.
Tél. : +39 (332) 78 5678. Fax : +39 (332) 78 9303.
E-mail : claude.guillou@jrc.it
[3] Laboratoire d'analyse isotopique et électrochimique de métabolismes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes Cedex 3.
Tél. : 02 51 12 57 08. Fax : 02 51 12 57 12.
E-mail : Norbert.Naulet@chimbio.univ-nantes.fr

Reflétant 25 ans d'expérience en Spectrométrie de Masse

GV Instruments

Du nouveau dans le domaine de la Spectrométrie de Masse: GV Instruments

Extraits du communiqué de presse:

*"Thursday 27 March, 2003 - **GV Instruments** (Manchester, UK) is pleased to announce an agreement with the **Micromass MS Technologies** division of Waters Corporation (Milford, Mass., USA) to purchase its Inorganic Mass Spectrometry business. The sale includes the **IsoProbe, IsoPrime** and **Platform ICP** product lines and associated accessories.*

Simultaneously, GVI will also acquire two other UK based mass spectrometry companies:
*-**Analytical Precision Limited** which is a manufacturer of instruments for stable isotope ratio analysis particularly in the medical field.*

*-**HtX Limited** which has recently developed a range of innovative mass spectrometers for noble gas analysis"*

Commentaires du Directeur Général de GV Instruments Dr Tony Williams:

"This exciting new venture follows the highly successful VG practice of spinning out products with technology clearly addressing focused, yet very different, markets from the parent company. We have a great team of scientists and engineers on board and we look forward to addressing the needs of our customers in the future."

GV Instruments continue d'employer le personnel venant de la division inorganique de Micromass pour créer une société d'environs 65 personnes basée sur un nouveau site spécialement aménagé pour la R&D près de l'aéroport de Manchester au Royaume Uni. Il y a aussi deux centres pour la vente et le service, l'un basé aux Etats-Unis à Hudson (New Hampshire) et l'autre en France à Lyon.

Contacts:

UK/International:
GVInstruments
Crewe Rd, Wythenshawe
Manchester M23 9BE
United Kingdom
Tel: +44 (0)161 902 2100
FAX: +44 (0)161 9022 2198

Europe:
GVInstruments
16, rue des Brosses
69623 Villeurbanne cedex
France
Tél: +33 (0)4 72 14 89 00
Fax: +33 (0)4 72 14 89 09

North America:
GVInstruments Inc.
6, Wentworth Dr
Hudson NH 03051
USA
Tél: +33 (0)4 72 14 89 00
Fax: +33 (0)4 72 14 89 09

www.gvinstruments.co.uk

L'eau et la Vie

Exposition Permanente

Dans le cadre de ses activités de recherche, l'Institut de l'Eau Nestlé a créé et ouvert une exposition permanente L'Eau et la Vie, installée dans le cadre prestigieux des anciens Thermes Garnier construits en 1884 à Vittel. Cette exposition qui n'a pas d'équivalent permet à un large public de découvrir de nombreux aspects scientifiques, techniques et industriels sur l'eau que nous consommons.
Elle est ouverte tous les jours sauf le mardi et d'avril à septembre. Pour les groupes, la visite peut se faire toute l'année sur réservation.
Renseignement et réservation : Tél :+33 (0)3 29087729

Les autres activités de recherches peuvent être consultées sur le site Internet :
http ://www.institut-eau.com

Galerie de la Physiologie & de la Santé. Exposition l'Eau et la Vie à Vittel

« L'eau vive » d'Yvonne Clergerie

Contribution des analyses isotopiques à la lutte contre les trafics de drogue

Fabien Palhol

Summary **Contribution of isotopic analyses to the fight against drug trafficking**
The fight against drug trafficking is becoming one the first priorities of many governments. In order to struggle against this traffic, forensic chemists ought to increase the amount of information which can be used by the investigation departments. Thus, the ability of grouping seizures made at different times and locations is one of the most important information which can be ended up in a best knowledge of clandestine laboratories and distribution networks. A new promising method consists in isotopic ratios measurements. As shown in the present paper, the use of isotopic techniques for natural or synthetic illicit drugs brings very useful information, such as geographical origin or used synthetic pathways. The study of isotopic compositions may become one of the most important analyses for drugs, as it is the case for the authentication of many natural products (vanillin, wine...).

Mots-clés **Analyses isotopiques, drogues naturelles, drogues de synthèse, trafics.**
Key-words **Isotopic analyses, natural drugs, synthetic drugs, traffic.**

Depuis la démonstration expérimentale de l'existence des isotopes en 1912 par J.J. Thomson, les applications utilisant certains d'entre eux – les isotopes stables – n'ont cessé de se multiplier dans des domaines aussi variés que la géologie, la médecine, la biologie, et bien sûr la chimie.
Les progrès réalisés lors des vingt dernières années sur les techniques analytiques telles que la SMRI et la RMN-FINS, ainsi que les techniques développées pour l'authentification des produits d'origine naturelle (arômes, huiles essentielles...), ont ouvert de nouvelles perspectives pour la lutte contre les trafics de drogue. Dans ce domaine en effet, une lutte efficace passe par une meilleure connaissance des zones de culture ou de production des différents produits stupéfiants, et aussi par la recherche de liens entre différentes affaires afin d'obtenir le plus d'informations possibles sur les réseaux de distribution.
Les drogues peuvent être séparées en deux groupes en fonction de leur origine : d'une part celles d'origine naturelle ou d'hémisynthèse telles que le cannabis, l'héroïne ou la cocaïne, et d'autre part celles de synthèse parmi lesquelles on retrouve les dérivés de l'amphétamine, les tryptamines... (*figure 1*).

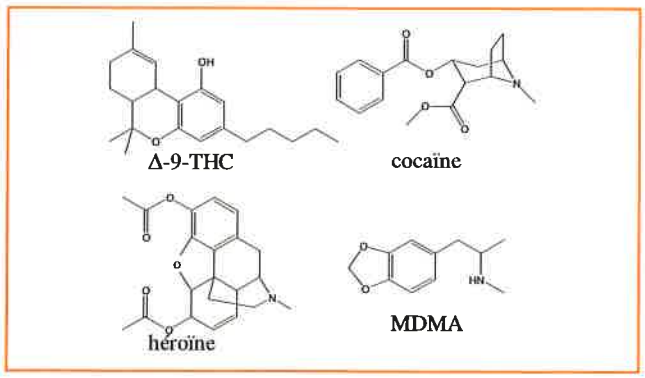


Figure 1 - Formules chimiques des principales drogues consommées en France.

Si les techniques utilisées pour l'analyse des rapports isotopiques de ces produits sont les mêmes, le type de résultat obtenu diffère selon le groupe. Pour les drogues d'origine naturelle, ces rapports isotopiques sont liés au métabolisme de la plante dont ils sont issus et aux conditions climatiques. Dans le cas des drogues de synthèse, les rapports isotopiques dépendront cette fois des précurseurs chimiques et de la méthode de synthèse utilisés. En effet, chaque étape des synthèses va engendrer un fractionnement isotopique, signe qu'elle favorise soit l'isotope lourd, soit l'isotope léger de l'élément mis en jeu lors de la réaction.

Les drogues d'origine naturelle

Le cannabis

C'est la drogue la plus consommée en Europe. En France, 14 % des jeunes scolarisés de 15 à 19 ans et 15 % des jeunes de 18 à 25 ans en consomment au moins une fois par mois. Il peut être préparé avec les feuilles, les tiges ou les sommités florales de plusieurs espèces de chanvre. Quel que soit le mode de préparation (marijuana, haschich...), plusieurs cannabinoïdes sont présents dans le cannabis. Le principal responsable des effets psychoactifs est le delta-9-tétrahydrocannabinol (Δ-9-THC), inscrit sur la liste des stupéfiants.

Figure 2 - Feuilles et sommités florales de chanvre indien.

La première étude portant sur les rapports isotopiques de drogues a été menée à la fin des années 1970 sur le cannabis, dans le but de caractériser le plus précisément

possible les échantillons saisis [1]. Les rapports isotopiques mesurés sur la plante reflètent en effet les différentes conditions environnementales telles que l'humidité, la température, la luminosité ou encore la composition isotopique du CO_2 de l'air ambiant.
Dans le cas du cannabis, les analyses ont été effectuées sur la totalité des feuilles telles qu'elles ont été saisies. Jusqu'à présent, seuls les rapports $^{13}C/^{12}C$ et $^{15}N/^{14}N$ ont été étudiés [1-2]. L'étude préalable de plants de cannabis en milieu contrôlé sert à déterminer des critères permettant ensuite d'expliquer les différences observées entre les échantillons saisis. Ainsi, il existe une relation directe entre l'humidité et la valeur de $\delta^{13}C$ des feuilles. Une bonne disponibilité de l'eau entraîne des valeurs plus négatives d'environ 5 ‰ par rapport aux plantes ayant poussé en milieu plus sec. Par ailleurs, on constate que les plants de cannabis cultivés en intérieur sont plus appauvris en ^{13}C que ceux qui ont poussé à l'air libre. Cette différence, pouvant aller de 5 à 10 ‰, est due aux nombreux recyclages du CO_2 ambiant lors des cultures en intérieur.
Toutes ces constatations permettent ensuite de distinguer plusieurs groupes dans les échantillons saisis. Ceux-ci ont des valeurs de $\delta^{13}C$ généralement comprises entre - 36 et - 24 ‰, correspondant aux combinaisons des deux facteurs importants, l'humidité et les conditions de culture.
Les valeurs de $\delta^{15}N$ sont plus faciles à interpréter dans le cas du cannabis puisque la principale influence correspond au type d'engrais utilisé. Les valeurs obtenues sont comprises entre - 1 à + 16 ‰ et sont associées, pour les valeurs de - 1 à 4 ‰, aux engrais de synthèse fabriqués à partir de l'azote atmosphérique (dont la valeur fixe et homogène sert de référence à 0 ‰), et pour les valeurs allant de 11 à 16 ‰, aux différents types d'engrais organiques.
L'association des mesures de $\delta^{13}C$ et de $\delta^{15}N$ pour un échantillon de cannabis saisi ne permet malheureusement pas d'obtenir d'information sur les zones géographiques de culture. Toutefois, l'analyse isotopique permet de distinguer les échantillons issus de cultures intensives. Pour ces cas bien précis, les informations recueillies lors des différentes saisies peuvent être recoupées et permettre ainsi une meilleure connaissance des réseaux de distribution les plus importants.

L'héroïne

Figure 3 - Échantillons d'héroïne de différentes puretés.

L'héroïne ou diacétylmorphine est une drogue semi-synthétique obtenue par acétylation de la morphine, l'un des alcaloïdes de l'opium, lui-même extrait du pavot. Les échantillons tels qu'ils sont saisis par les services douaniers ou policiers correspondent généralement à des mélanges très complexes comprenant, en plus de l'héroïne, un grand nombre d'autres alcaloïdes (noscapine, papavérine, codéine...), d'adultérants (caféine, paracétamol) et d'excipients (mannitol, lactose, saccharose...). Les progrès réalisés depuis le milieu des années 1980 dans le domaine de la SMRI, et notamment l'apparition du couplage avec un chromatographe en phase gazeuse (CPG-C-SMRI), ont permis l'analyse des rapports $^{13}C/^{12}C$ et $^{15}N/^{14}N$ de l'héroïne sans avoir recours à une extraction trop poussée pouvant entraîner un fractionnement isotopique.
Dès 1991, une première étude permet de constater des différences dans les rapports isotopiques $^{13}C/^{12}C$ de plusieurs échantillons provenant de Turquie, d'Inde, du Pakistan et de Thaïlande [3]. Si ces écarts peuvent être expliqués en partie par les origines géographiques différentes, une étude menée par le laboratoire de la Police scientifique de Lyon a également prouvé qu'ils sont liés à l'anhydride acétique utilisé pour l'acétylation [4-5]. Comme pour le cannabis, une origine géographique ne peut être attribuée avec certitude. Par contre, lorsque le rapport $^{13}C/^{12}C$ est associé au rapport $^{15}N/^{14}N$, nous obtenons un outil très précis destiné à la comparaison des échantillons saisis en différents endroits, qu'ils aient été « coupés » ou non entre temps. La constitution d'une base de données reprenant à la fois des échantillons d'origine connue et l'ensemble des échantillons saisis est la prochaine étape à atteindre pour obtenir une origine géographique fiable ainsi qu'un lien avec le réseau de distribution possible.
L'analyse du rapport D/H par RMN-FINS permet aussi d'obtenir des informations intéressantes [6]. Cependant, la taille de la molécule et la diversité des procédés d'élaboration de l'héroïne nécessitent tout de même d'y ajouter les résultats obtenus par d'autres techniques analytiques (SMRI, comparaison des profils chromatographiques des impuretés par CPG...).

La cocaïne

Figure 4 - Feuilles de cocaïer et cocaïne.

La cocaïne est un alcaloïde naturel extrait des feuilles de cocaïer. La culture de coca est principalement localisée en Bolivie, en Colombie, au Pérou et en Équateur. Parmi les drogues dites « dures », la cocaïne est la plus répandue en Europe et dans le monde. Ceci fait de la détermination précise des zones de culture un enjeu majeur dans le cadre de la lutte contre les trafiquants, par exemple dans le cadre des campagnes de destruction des cultures de cocaïer menées conjointement par les différents pays d'Amérique du Sud et les États-Unis.
Encore une fois, la signature isotopique de la cocaïne se révèle être l'élément déterminant pour un tel but. En 2000, une équipe américaine [7] a mis au point une méthode basée sur l'utilisation du couplage CPG-C-SMRI. Les résultats obtenus donnent pour la cocaïne des valeurs de $\delta^{13}C$ variant de - 33 à - 25 ‰, typiques des plantes de métabolisme C3 (cycle de Calvin), et des valeurs de $\delta^{15}N$ allant de 0 à 13 ‰. L'association de ces résultats permet alors de déterminer le pays d'origine des échantillons saisis. L'approche particulière menée lors de cette étude a par ailleurs permis d'obtenir des résultats encore plus intéressants. En combinant les valeurs isotopiques aux teneurs des échantillons en truxillines et en triméthoxycocaïnes, des alcaloïdes présents à l'état de trace, il est en effet possible d'identifier les vallées ou régions de culture dans plus de 95 % des cas.
Cette approche particulièrement précise nécessite naturellement de disposer de feuilles de coca prélevées sur quelques sites particuliers afin de déterminer les ratios truxillines/triméthoxycocaïnes. L'extrapolation à l'ensemble

des régions possibles pour la culture de coca permet d'obtenir une cartographie complète des ratios attendus. Par ailleurs, comme toutes ces valeurs dépendent des conditions climatiques, il est nécessaire de réétalonner cette carte chaque année. L'automatisation de toutes les techniques analytiques mises en œuvre permet de suivre en temps réel l'évolution des zones de culture et de lutter de plus en plus efficacement contre ce trafic. Cette méthode n'est toutefois pas applicable en l'état pour les autres drogues naturelles pour lesquelles la trop grande dispersion des zones de culture ne permet pas pour le moment la collecte d'échantillons témoins en nombre suffisant.

Les drogues de synthèse

L'ecstasy

Figure 5 - Exemples de comprimés d'ecstasy.

Le terme ecstasy désigne à l'origine les comprimés contenant une molécule particulière, la 3,4-méthylènedioxyméthamphétamine ou MDMA. Synthétisée pour la première fois en 1912, elle n'est utilisée dans un but récréatif qu'à partir de 1980 aux États-Unis. La consommation d'ecstasy n'apparaît en France qu'au début des années 1990 et se révèle depuis en progression, même si elle ne semble concerner qu'un public de jeunes adultes dans un contexte plutôt festif (rave-parties, discothèques...).

Contrairement aux analyses isotopiques des drogues naturelles ou semi-synthétiques décrites précédemment, les analyses isotopiques d'une drogue de synthèse telle que la MDMA ne peuvent avoir pour objectif la détermination d'une origine géographique. Les informations qui seront recherchées doivent permettre de séparer les échantillons saisis en plusieurs lots correspondant aux différentes méthodes de synthèse utilisées par les laboratoires clandestins, et éventuellement de déterminer l'origine commerciale des précurseurs employés. Une première étude, publiée en 1995 [8], fait état de la difficulté à différencier plusieurs échantillons en utilisant les valeurs de $\delta^{13}C$, celles-ci étant toujours comprises entre - 27 et - 29 ‰ pour les seize comprimés analysés. L'étude des valeurs de $\delta^{15}N$ de six de ces comprimés montre toutefois une dispersion beaucoup plus importante avec des résultats compris entre - 18 et 7 ‰.

Suite aux nombreux progrès réalisés depuis en CPG-C-SMRI, notamment pour l'analyse du rapport $^{15}N/^{14}N$, le laboratoire des Douanes de Paris a entrepris entre 2000 et 2002 une étude plus approfondie de la MDMA par CPG-C-SMRI [9] (*figure 6*). Les travaux ont débuté par le suivi de plusieurs voies de synthèse parmi les plus utilisées par les laboratoires clandestins, ce qui a permis d'une part de confirmer le peu d'intérêt de l'analyse du rapport $^{13}C/^{12}C$, qui ne reflète que l'origine naturelle des précurseurs tels que le safrole ou le pipéronal, et d'autre part de mettre en évidence un fractionnement isotopique spécifique dans le rapport $^{15}N/^{14}N$ pour chacune de ces méthodes. Ainsi, les réactions de Leuckart induisent un fractionnement isotopique de l'ordre de 2 ‰ tendant vers un appauvrissement de la MDMA en ^{15}N. A l'inverse, une des aminations réductrices étudiées engendre un fractionnement isotopique de 13 à 14 ‰ tendant cette fois vers un enrichissement en ^{15}N. Ces différents résultats, combinés avec ceux obtenus par l'analyse des différents précurseurs azotés de la MDMA disponibles dans le commerce, permettent de définir plusieurs zones de valeurs de $\delta^{15}N$ attribuables chacune à une méthode de synthèse différente. La grande dispersion des $\delta^{15}N$ pour les comprimés saisis (entre - 18 et + 19 ‰) permet également une comparaison précise de tous les échantillons issus d'un même type de synthèse et de repérer ceux qui ont été synthétisés dans un même laboratoire clandestin [10]. Ces données et celles, complémentaires, provenant de l'analyse des impuretés de la MDMA servent à alimenter une base de données sur l'ecstasy. Les informations recueillies sur le terrain par les

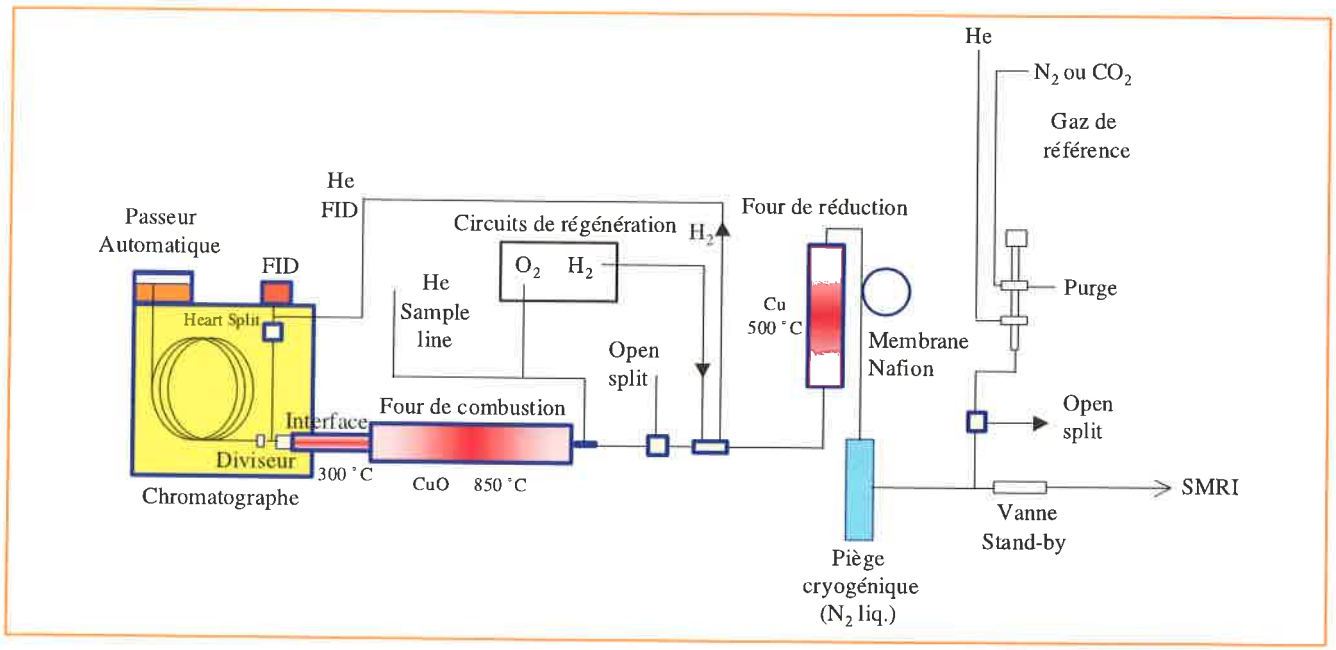


Figure 6 - Schéma du couplage CPG-C-SMRI pour l'analyse des rapports $^{13}C/^{12}C$ et $^{15}N/^{14}N$.

services d'enquête, complétées par cette base, améliorent ainsi notre connaissance des différents sites de production et des réseaux de transport et de distribution à travers l'Europe.

Conclusion

Le but de cette rapide présentation des travaux réalisés dans le domaine des stupéfiants était de montrer l'importance que prennent actuellement les techniques isotopiques, et notamment le couplage CPG-C-SMRI, dans la lutte contre les trafics de drogue. Que ce soit pour la détermination de l'origine géographique des zones de culture, pour la comparaison des différents échantillons saisis ou encore pour l'attribution d'une méthode de synthèse, l'étude de la signature isotopique des différents types de drogues permet aujourd'hui d'augmenter considérablement la quantité d'informations disponibles sur les produits stupéfiants et offre aux différents services judiciaires la possibilité d'élaborer de nouvelles stratégies de lutte contre les trafics, tant au niveau national qu'au niveau international. Dans ce contexte, on peut s'attendre dans les années à venir à ce que l'utilisation des techniques isotopiques se généralise de plus en plus dans les laboratoires concernés par ces problèmes.

Références

[1] Liu J.H., Lin W.-F., Fitzgerald M.P., Saxena S.C., Shieh Y.N., *Journal of Forensic Sciences*, **1979**, *24*, p. 814.
[2] Denton T.M., Schmidt S., Critchley C., Stewart G.R., *Aust. J. Plant Physiol.*, **2001**, *28*, p. 1005.
[3] Desage M., Guilluy R., Chaudron H., Girard J., Cherpin H., Jumeau J., Brazier J.L., *Analytica Chimica Acta*, **1991**, *247*, p. 249.
[4] Besacier F., Guilluy R., Brazier J.L., Chaudron-Thozet H., Girard J., Lamotte A., *Journal of Forensic Sciences*, **1997**, *42(3)*, p. 429.
[5] Besacier F., Chaudron-Thozet H., *Forensic Science Review*, **1999**, *11(2)*, p. 106.
[6] Hays P.A., Remaud G., Jamin E., Martin Y.-L., *Journal of Forensic Sciences*, **2000**, *45(3)*, p. 552.
[7] Ehleringer J.R., Casale J.F., Lott M.J., Ford V.L., *Nature*, **2000**, *408*, p. 311.
[8] Mas F., Beemsterboer B., Veltkamp A.C., Verweij A.M.A., *Forensic Science International*, **1995**, *71*, p. 225.
[9] Palhol F., thèse de doctorat, université de Nantes, **2002**.
[10] Palhol F., Lamoureux C., Naulet N., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2003**, *sous presse*.

A propos de l'ecstasy

Les drogues de synthèse, du fait de leur prise par voie orale, sont souvent considérées (à tort) comme étant moins nocives et plus maîtrisables que l'héroïne ou la cocaïne. En France, c'est l'ecstasy qui est la plus utilisée, avec une consommation estimée à 50 millions de comprimés chaque année (*figure 5*). La MDMA, le principe actif contenu dans les comprimés d'ecstasy, est un dérivé de l'amphétamine, classé dans la famille des phényléthylamines entactogènes (qui facilitent les contacts). La prise se caractérise notamment par un effet dit de « speed » avec euphorie, excitation, augmentation de l'élocution, désir d'activité motrice, diminution du besoin de sommeil, ainsi qu'une augmentation du désir de communiquer et une sensation de bien-être et de confiance en soi. Ces effets, recherchés par les consommateurs, précèdent un état d'épuisement et de dépression qui dure environ huit heures. Les réactions psychiques peuvent aller jusqu'à une crise d'angoisse, voire une attaque de panique avec réactions violentes. Cette phase dépressive peut durer plusieurs semaines chez les sujets sensibles à la MDMA ou psychiquement fragilisés.

Les dérivés de l'amphétamine étant de puissants stimulants du système adrénergique, leur utilisation non contrôlée peut entraîner de graves effets toxiques. L'hyperthermie constitue le risque majeur induit par la prise d'ecstasy. Celle-ci est souvent favorisée par les lieux clos surchauffés, une dépense physique importante et une déshydratation, ce qui fait des « raves » un contexte dangereux pour ce type de consommation. L'hyperthermie peut conduire à des hépatites graves, alors que dans le même temps, la déshydratation peut engendrer des troubles rénaux, éventuellement exacerbés par les substances associées à la MDMA, comme l'alcool ou les médicaments (aspirine ou antidépresseurs par exemple). Enfin, il ne semble pas exister de corrélation entre la concentration sanguine et la gravité des symptômes. Une intoxication mortelle a ainsi été rapportée pour une concentration sanguine de 0,42 mg/L, ce qui correspond à un demi-comprimé faiblement dosé…

La consommation d'ecstasy est particulièrement dangereuse pour les personnes qui souffrent de troubles du rythme cardiaque, d'asthme, d'épilepsie, de problèmes rénaux, de diabète ou de problèmes psychologiques.

• Pour en savoir plus sur les dangers des différentes drogues : www.drogues.gouv.fr

Fabien Palhol
a préparé sa thèse de doctorat au laboratoire des Douanes de Paris, en collaboration avec le LAIEM* de l'université de Nantes et l'a soutenue devant cette université. Il est actuellement en post-doctorat au Centre de Recherches Pétrographiques et Géochimiques (CRPG) de Vandœuvre-lès-Nancy.

* LAIEM, Université des Sciences et des Techniques de Nantes, 2 rue de la Houssinière, 44322 Nantes Cedex.
E-mail : fpalhol@wanadoo.fr

Les analyses isotopiques au laboratoire des Douanes

Catherine Lamoureux

Summary **Isotopic analyses in a French Customs laboratory**
The stable isotope content of a given product changes with the metabolic pathway and the environmental conditions prevalent during biosynthesis. These differences can be measured by isotopic techniques: NMR for deuterium, IRMS for ^{13}C and ^{18}O. French Customs laboratories have developed isotopic analyses to check for the chaptalisation of French wine production. These techniques are also useful for other purposes linked to the identification of the botanical origin: distinction between beet and cane sugars, checking of the labelling of alcoholic beverage (brandy, rum, whisky, bourbon, sake...), checking for adulteration in honey, maple syrup, fruit juices. To be efficient, isotopic analyses need to be compared with « authentic » products, and a limitation to these techniques is the adequate constitution of representative databases.

Mots-clés **Analyse des vins, analyses isotopiques, chaptalisation, origine botanique.**
Key-words **Wine analysis, isotopic analyses, chaptalisation, botanical origin.**

Les résultats des analyses isotopiques RMN et SMRI décrites dans l'article page 5 sont relatifs et leur interprétation nécessite la comparaison avec des données de référence représentatives. L'absence ou le nombre trop restreint de ces références limite souvent les possibilités d'exploitation des résultats pour la recherche de fraude.
Depuis plus de dix ans, le laboratoire des Douanes dispose des différentes techniques isotopiques (cf. *encadré*). Les applications décrites dans ce chapitre représentent quelques exemples de l'utilisation des isotopes stables à des fins de contrôle.

Détermination d'une origine botanique

Le *tableau I* rassemble, à titre indicatif, les teneurs isotopiques de quelques produits.
La distinction entre les deux principales familles de plantes C3 et C4 (voir article p. 5) est réalisée par mesure directe du $\delta^{13}C$ du composé. C'est le cas, par exemple, pour distinguer le sucre de canne du sucre de betterave ou pour savoir si un mélange de polyols a été obtenu à partir de maïs ou bien d'autres céréales ; en effet, ces produits ne sont pas soumis aux mêmes régimes d'aides à l'exportation par l'Union européenne.
En revanche, pour essayer de distinguer les différentes plantes C3, la détermination du paramètre (D/H)I de l'éthanol devient indispensable, ce qui rallonge un peu l'analyse. Ainsi, il est possible de vérifier qu'un whisky est bien réalisé à partir de céréales, un bourbon à partir de maïs, un rhum à partir de canne, un brandy à partir de raisin, un saké à partir de riz, et qu'une vodka pure pommes de terre mérite cette dénomination. De même, on peut vérifier après fermentation qu'une pâte sucrée déclarée sucre d'érable ou sucre de coco n'est pas en fait à base de sucre de betterave.

Tableau I - Teneurs isotopiques moyennes de différents produits.

	RMN	SMRI	
	(D/H)I (ppm)	$\delta^{13}C$ (/PDB) (‰)	$\delta^{18}O$ (/V-SMOW) (‰)
maïs - canne à sucre	110 / 112	-10 / -12	-
betterave	91 / 93	-26 / -28	-
raisin (France)	99 / 103	-25 / -28	-2 / +6
orange	103 / 105	-24 / -27	-
pomme fruit	97 / 101	-24 / -28	-
pomme de terre	93 / 100	-25 / -28	-
céréales (sauf le maïs)	96 / 100	-25 / -28	-
eau (France)	-	-	-12 / -4

Analyses isotopiques des vins

La réglementation [1] autorise, pour certaines régions et dans certaines limites, la chaptalisation des vins (addition de sucre au moût de raisin pendant la fermentation qui le transforme en vin). En revanche, elle interdit l'édulcoration (addition de sucre après fermentation) et le mouillage (dilution avec de l'eau). Les mesures des $\delta^{13}C$ et (D/H)I-(D/H)II sur l'éthanol quantitativement isolé par distillation, ainsi que celles du $\delta^{18}O$ de l'eau du vin sont donc systématiquement réalisées.
L'interprétation se fait par confrontation de ces résultats à ceux d'une sélection de données « authentiques » choisie dans la banque de données européenne des vins [2] en fonction du millésime et de l'origine géographique du vin contrôlé. La valeur $\delta^{18}O$ du vin permet alors de confirmer l'origine géographique déclarée ou de quantifier un éventuel mouillage. Les valeurs $\delta^{13}C$ et (D/H)I de l'éthanol caractérisent les sucres précurseurs, moût de raisin et éventuellement sucre exogène pour chaptaliser. Les calculs des taux de mouillage et de chaptalisation s'effectuent à partir des équations des bilans matière, respectivement pour ^{18}O et conjointement pour ^{2}H et ^{13}C.
Par exemple, le laboratoire a reçu un vin du Sud-Ouest de la France déclaré de l'année 1998, mais soupçonné d'être de l'année précédente et d'avoir été chaptalisé au-delà de la

Tableau II - Teneurs isotopiques d'un échantillon de vin et valeurs de références.
- Pour l'échantillon, la valeur indiquée est la valeur mesurée (à l'incertitude de mesure près, 0,3 ppm pour (D/H)I et 0,3 ‰ pour $\delta^{13}C$ et $\delta^{18}O$).
- Pour les références, la valeur indiquée est la moyenne des valeurs observées sur les vins « authentiques » retenus, avec entre parenthèses l'écart type de dispersion.

	Échantillon	Références 1997	Références 1998
(D/H)I (ppm)	102,4	101,4 (0,9)	100,3 (0,8)
$\delta^{13}C$ (/PDB) (‰)	-26,4	-27,8 (0,5)	-27,8 (1,0)
$\delta^{18}O$ (/V-SMOW) (‰)	+1,0	+2,0 (0,5)	-1,9 (0,2)

limite autorisée. Les valeurs isotopiques mesurées pour cet échantillon figurent dans le *tableau II*, ainsi que pour les millésimes 1997 et 1998, les teneurs moyennes (et écarts type de dispersion) calculées sur les vins de référence semblables à l'échantillon. Les résultats pour ces deux millésimes sont identiques pour ^{13}C, sensiblement différents pour ^{2}H et très nettement distincts pour ^{18}O, ce dernier écart reflétant des conditions climatiques totalement différentes ces deux années. Pour l'année 1997, le $\delta^{18}O$ du vin contrôlé se situant dans la fourchette des valeurs observées pour les vins authentiques de la région, et tous les $\delta^{18}O$ des vins de référence de 1998 étant inférieurs de près de 2 ‰ à celui de l'échantillon, il est permis de conclure que ce vin est du millésime 1997 et non pas de 1998 comme déclaré. Quant à la chaptalisation, une valeur $\delta^{13}C$ pour l'échantillon supérieure à la moyenne des références 1997, implique la présence d'alcool de canne. La quantification, effectuée à partir des $\delta^{13}C$ et (D/H)I des références 1997 et de l'échantillon, indique qu'environ 8 % de l'alcool n'est pas d'origine vinique mais provient de l'addition de sucre de canne, ce qui correspond, pour un vin de teneur en alcool 12,5 % vol., à une chaptalisation d'environ 1 % vol. pour une limite maximale autorisée dans la région en 1997 de 2 % vol. L'analyse isotopique peut dans certains cas résoudre des problèmes liés à la vérification du millésime ou de l'origine géographique. Cependant, ces deux renseignements deviennent indispensables pour une quantification fine de la chaptalisation. En leur absence, l'estimation reste possible mais beaucoup moins précise, la dispersion des valeurs de références étant plus importante.

Détermination de l'adultération de miel et sirop d'érable

Pour les miels et sirops d'érable, une fraude très répandue consiste à diluer le produit avec un sirop de glucose produit le plus souvent par hydrolyse du maïs.
Le mélange avec ce sucre C4 peut sembler simple à détecter, mais la diversité des origines botaniques possibles des miels (plantes sur lesquelles les abeilles ont butiné) rend la quantification directe peu précise. Afin d'affiner l'interprétation, la mesure du $\delta^{13}C$ des protéines présentes dans le miel est réalisée en parallèle à celle du $\delta^{13}C$ du miel tel quel ; ces protéines, issues des mêmes plantes que les sucres, doivent avoir des teneurs isotopiques très proches et se comportent en étalon interne naturel [3].
Dans le cas des miels monofloraux, il est possible de vérifier l'origine botanique en comparant les teneurs isotopiques obtenues après fermentation des sucres à des données de référence de miels « authentiques ».
La recherche d'adultération des sirops d'érable avec un sucre C3 ou bien un mélange de sucres C3 et C4 nécessite l'analyse de l'éthanol résultant de la fermentation des sucres.

Distinction entre différents procédés d'obtention de fruits séchés

Le problème concerne les fruits séchés telle la papaye. Ces fruits sont déshydratés par une méthode osmotique qui consiste à plonger des petits dés de fruit dans des sirops de plus en plus concentrés. Les importateurs déclaraient ces marchandises comme fruits simplement séchés et non comme fruits élaborés pour lesquels les taxes à payer sont

L'origine des laboratoires des Douanes et de l'introduction de l'analyse isotopique

Au sein du ministère de l'Économie, des Finances et de l'Industrie, la Direction Générale des Douanes et Droits Indirects exerce par le contrôle des marchandises en mouvement des missions fiscales, économiques et de sécurité. Au cœur de ce dispositif, les laboratoires, créés en 1875, apportent depuis plus d'un siècle leur concours au contrôle des marchandises en fournissant des résultats scientifiques d'investigation.
Les laboratoires reçoivent une moyenne de 60 000 échantillons par an pour lesquels 350 000 déterminations physico-chimiques sont réalisées. La grande variété des prélèvements reçus – produits agroalimentaires (matières premières et élaborées) et chimiques organiques et minéraux (fiouls, engrais, médicaments...), mais aussi techniques (chaussures, électronique...), sans oublier les substances prohibées tels les stupéfiants –, nécessite de disposer d'une large gamme de techniques analytiques aujourd'hui disponibles (chromatographies liquides et gazeuses ; spectrométries ultraviolet, infrarouge, de masse, de RMN, d'absorption et d'émission atomiques, de diffraction et de fluorescence de rayons X...).
Parmi les contrôles effectués, aucune méthode analytique fiable n'existant pour la recherche de chaptalisation (addition de sucre) des vins, un concours fut organisé, en 1979, par la DGI (Direction Générale des Impôts), en charge à l'époque des contrôles vitivinicoles. Le prix est décerné en 1981 au professeur Martin de l'université de Nantes pour la méthode RMN-FINS [5] qui permet de mesurer spécifiquement l'enrichissement isotopique des différents sites d'une molécule.
En 1987, cette méthode est adoptée par l'OIV (Office International de la Vigne et du Vin). Enfin en 1990, elle est officialisée au niveau européen par intégration au recueil des méthodes d'analyses communautaires concernant le secteur vitivinicole [6].
Depuis, les techniques se sont largement développées pour l'analyse des vins. En 1997, la mesure du ^{18}O de l'eau par SMRI a été officialisée au niveau communautaire [7], et dernièrement en 2003, celle du ^{13}C [8].
Parallèlement, afin d'assurer l'interprétation des résultats obtenus avec les vins, la constitution d'une banque de données européenne de vins « authentiques » a été réglementée [2]. Ainsi, depuis 1991, la France doit fournir chaque année des données concernant au moins 400 vins « authentiques » représentant l'ensemble de la production nationale.
Dans le cadre des contrôles vitivinicoles, le laboratoire des Douanes de Paris s'est progressivement équipé de différentes techniques isotopiques, RMN-^{2}H en 1990, puis SMRI de ^{13}C et de ^{18}O de l'eau, respectivement en 1994 et 1997.
Le couplage chromatographie gazeuse/SMRI a été installé en 1997. Il sert notamment à étudier les possibilités de « traçage » des drogues de synthèse [4].

plus élevées. La mesure des $\delta^{13}C$ des sucres et des pulpes a permis de montrer que les sucres contenus dans les papayes séchées résultaient de plantes C4, alors que le métabolisme de cette plante est C3 comme le confirme la valeur $\delta^{13}C$ des pulpes. Un tel traitement remplaçant les sucres du fruit ne peut donc être considéré comme un simple séchage.

Analyse isotopique des jus de fruit

La recherche d'authenticité des jus de fruit fait largement appel aux analyses isotopiques pour caractériser le produit (pur jus, nectar, à base de concentré), mettre en évidence divers ajouts (sucres, pulpes acides, autres jus de fruit meilleur marché). Cependant, ces différents produits étant fiscalement semblables, le laboratoire n'est que très peu amené à les contrôler.

Afin de maintenir un haut niveau de technicité dans le secteur des analyses isotopiques, le laboratoire des Douanes suit l'application de ces analyses à de nouveaux produits comme la détermination du $\delta^{13}C$ du gaz carbonique des vins mousseux pour vérifier la méthode d'obtention (prise de mousse par refermentation de sucres ou bien simple gazéification) ou la recherche d'authenticité des vinaigres et vanillines par RMN-^{2}H. Il participe également aux analyses collaboratives de mise au point de nouvelles techniques : mesure du $\delta^{18}O$ de la matière organique après pyrolyse, nouvelles applications de la technique de GC-C-SMRI aux extraits de vanille, au glycérol des vins, sans oublier les possibilités de traçage des drogues de synthèse [4].
L'intérêt de l'analyse isotopique pour un laboratoire de contrôle est incontestable, elle permet de mettre en évidence des pratiques frauduleuses indétectables avec les méthodes classiques. Elle reste cependant coûteuse en investissement, mais surtout en frais en fonctionnement. En effet, la préparation de l'échantillon reste souvent longue même si une automatisation est envisageable. Mais l'interprétation des résultats nécessitant de disposer de nombreuses références authentiques, c'est surtout la constitution de banques de données qui mobilise de nombreux moyens (pour les vins, cela représente près de trois mois de travail chaque année). Ainsi, c'est souvent la non-disponibilité de références suffisantes qui limite l'utilisation de ces techniques isotopiques dans les laboratoires officiels de contrôle.

Références

[1] Règlement CE n° 1493/99, *Journal Officiel de la Communauté européenne*, L179/1, 14/07/**1999**.
[2] Règlement CE n° 2729/00, *Journal Officiel de la Communauté européenne*, L316/16, 15/12/**2000**.
[3] *Méthode officielle AOAC 991.41*, **1995**, ch. *44*, p. 29.
[4] Palhol F., Contribution des analyses isotopiques à la lutte contre les trafics de drogue, *L'Act. Chim.*, **2003**, *8-9*, p. 27.
[5] Martin G., *Ann. Fals. Exp. Chim.*, **1982**, *85*, p. 249.
[6] Règlement CE n° 2676/90, *Journal Officiel de la Communauté européenne*, L272/33, 03/10/**1990**.
[7] Règlement CE n° 822/97, *Journal Officiel de la Communauté européenne*, L117/10, 07/05/**1997**.
[8] Règlement CE n° 440/03, *Journal Officiel de la Communauté européenne*, L66/15, 11/03/**2003**.

Catherine Lamoureux
est ingénieur chargée des méthodes isotopiques au laboratoire des Douanes de Paris*.

* Laboratoire des Douanes de Paris, 1 rue Gabriel Vicaire, 75141 Paris Cedex 03.
Tél. : 01 44 54 21 32. Fax : 01 42 77 46 92.
E-mail : catherine.lamoureux@douane.finances.gouv.fr

Complétez votre collection de L'Actualité Chimique

Les numéros de 2000, 2001 et 2002 sont accessibles, dans la limite des stocks disponibles, **au prix exceptionnel de** :

- **11 euros** (frais de port compris) pour les **numéros spéciaux**
  Vous trouverez le bon de commande pour ces numéros sur le site www.sfc.fr, rubrique L'Actualité Chimique ou dans le numéro de juin 2003.
- **9 euros** (frais de port compris) pour les **autres numéros**

Les sommaires des numéros « à rubriques » de 2001 et 2002 et de tous les numéros spéciaux sont accessibles via le site Internet. Les autres sommaires sont consultables dans la base de données.

Commande : Nadine Colliot, SFC, 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris
Tél. : 01 40 46 71 66. Fax : 01 40 46 71 61. E-mail : adhesion@sfc.fr
Offre valable jusqu'au 31 décembre 2003

Oxydation des glucides ingérés pendant l'exercice

Mesure par traçage au carbone 13

François Péronnet

Summary **Computation of exogenous carbohydrate oxidation during exercise using ^{13}C-labelling**
Oxidation of substrates ingested during exercise can be measured using ^{13}C-labelling from the production of expired $^{13}CO_2$. Exogenous carbohydrate oxidation increases with the power output and the amount ingested, and levels off at ~1g/min, providing ~15-30% of the energy yield. For similar amounts ingested, glucose is less oxidized than sucrose (or a mixture of glucose and fructose), but more than fructose or galactose (which have to be converted into glucose before being oxidized), more than medium chain fatty acids (long chain fatty acids are not readily available for oxidation), and also more than ethanol, even though ethanol oxidation increases from rest to exercise. In contrast, when ingested in similar amounts, lactate, alanine, and glycerol are oxidized almost as well as glucose, possibly directly by the muscle. In addition, while the carbon skeleton of alanine is decarboxylated, nitrogen (which can be tracked with ^{15}N) does not appear in urea, and may be preferentially incorporated into proteins. For similar amounts ingested, oxidation of glucose polymers and glucose are also similar. However, glucose polymers can be ingested in much larger quantities than glucose without gastrointestinal discomfort during exercise. When ^{13}C glucose is ingested, glucose release from the liver as well as the direct oxidation of muscle glycogen can be computed from ^{13}C enrichment of plasma glucose, providing a complete description of glucose flux in situations where more invasive methods cannot be used for technical or ethical reasons.

Mots-clés **Isotopes du carbone, isotopes de l'azote, métabolisme énergétique, sports d'endurance, nutrition.**
Key-words **Carbon isotopes, nitrogen isotopes, energy metabolism, endurance sports, nutrition.**

L'énergie nécessaire à la réalisation d'un exercice prolongé est libérée par l'oxydation d'un mélange de protéines, de lipides, de glycogène musculaire (qui fournit du glucose utilisé *in situ*), et de glucose circulant fourni par le foie, ou par les glucides ingérés [1] (*figure 1*). Les contributions respectives de l'oxydation de ces divers substrats à la fourniture de l'énergie varient selon la puissance et la durée de l'exercice, l'âge, le sexe, l'entraînement et certaines conditions environnementales ou nutritionnelles. Des méthodes ont donc été développées pour décrire les flux de ces substrats énergétiques. Parmi elles, le traçage au ^{13}C a notamment permis de décrire la contribution de l'oxydation du glucose exogène à la fourniture de l'énergie au cours de l'exercice prolongé [2]. Cette question a un intérêt théorique, car les glucides ingérés contribuent à la fourniture de l'énergie et modifient l'utilisation des substrats endogènes. Elle a aussi un intérêt pratique, car l'ingestion de glucides peut améliorer la performance (*encadré 1*). Un objectif pratique est donc de maximiser leur apport en minimisant les malaises gastro-intestinaux que cela peut occasionner, et en évitant d'interférer avec l'apport d'eau qui est également nécessaire.

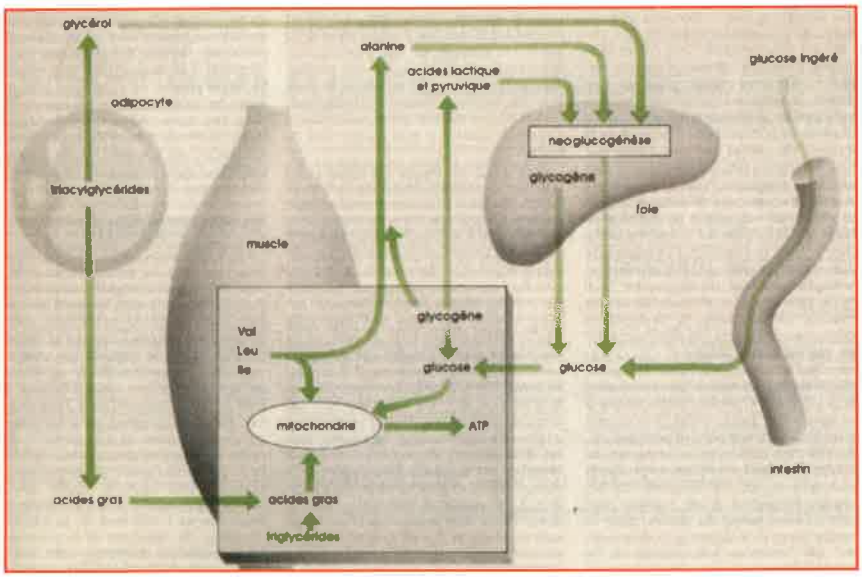


Figure 1 - Flux de substrats énergétiques à l'exercice prolongé [1].

La *figure 2* montre les résultats d'une étude effectuée sur tapis roulant, à une vitesse de 11,5 km/h (70 % de la puissance aérobie maximale) soutenue pendant deux heures, avec ingestion d'eau ou de 3,5 g/kg de poids corporel de U ^{13}C-glucose en solution dans l'eau (~ 2 g/min) [3]. Le ^{13}C-glucose ingéré oxydé fournit du $^{13}CO_2$ qui apparaît au niveau de la bouche (après ~ 20 min en raison de sa

Encadré 1 - Ingestion de glucides et performance en endurance

De nombreuses observations montrent que l'ingestion de glucides améliore la performance en endurance. Dans une étude récente [21], donnée ici en exemple, huit cyclistes de bon niveau ont effectué sur ergocycle une course simulée de 100 km en ingérant, soit un placebo, soit du glucose (15 g/15 min dans 250 mL d'eau). Le temps nécessaire pour réaliser l'exercice a diminué de façon statistiquement significative de 178 ± 11 min avec le placebo, à 166 ± 7 min avec le glucose. Lors d'un troisième test, l'ajout d'environ 120 g de lipides (triacylglycérols à chaîne moyenne) à la solution de glucose n'a pas conduit à une meilleure amélioration de la performance (169 ± 7 min).

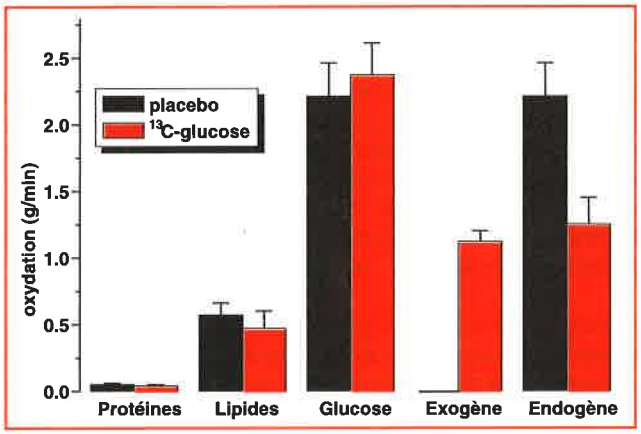


Figure 2 - Oxydation des principaux substrats énergétiques au cours d'un exercice de course sur tapis roulant à 11,5 km/h [3].

dilution dans le pool de bicarbonate de l'organisme), et dont la production est calculée à partir de la production de CO_2 (VCO_2) et du rapport $^{13}C/^{12}C$ du CO_2 expiré (*figure 3*). Connaissant la quantité de ^{13}C ingérée sous forme de glucose, la quantité de glucose exogène oxydée est calculée par une simple règle de trois [4]. L'oxydation du glucose total, des lipides et des protéines est calculée, par ailleurs, par calorimétrie indirecte respiratoire, à partir de l'urée excrétée dans l'urine et la sueur (~ 2,9 g de protéines oxydées/g d'urée) et de la consommation d'oxygène (VO_2) et du VCO_2 corrigées pour l'oxydation des protéines (1,01 et 0,84 L d'O_2 et de CO_2/g de protéines). Les quantités de glucose (x) et de lipides (y) oxydées, en g, sont calculées en résolvant le système d'équations :

$0{,}75\ x + 2\ y = VO_2$ corrigé (L)

$0{,}75\ x + 1{,}4\ y = VCO_2$ corrigé (L)

où les coefficients (en g/L) sont les volumes d'O_2 et de CO_2 associés à l'oxydation du glucose et des lipides.

Au cours des 40 dernières minutes de l'exercice, sans ingestion de glucose (*figure 2*), l'oxydation des protéines, du glucose total et des lipides fournissent respectivement 5, 37 et 58 % de l'énergie. L'ingestion du glucose ne modifie pas l'utilisation des protéines. Par contre, elle réduit celle des lipides et augmente celle du glucose total, en raison d'une oxydation importante du glucose exogène (30 % de l'énergie) qui compense la réduction marquée de l'oxydation du glucose endogène (34 % de l'énergie, contre 58 % sans ingestion de glucose). Cette réduction de l'utilisation du glucose endogène correspond surtout à une réduction de la libération de glucose par le foie avec peu ou pas de modification de l'utilisation du glucose fourni par le glycogène musculaire [5-6].

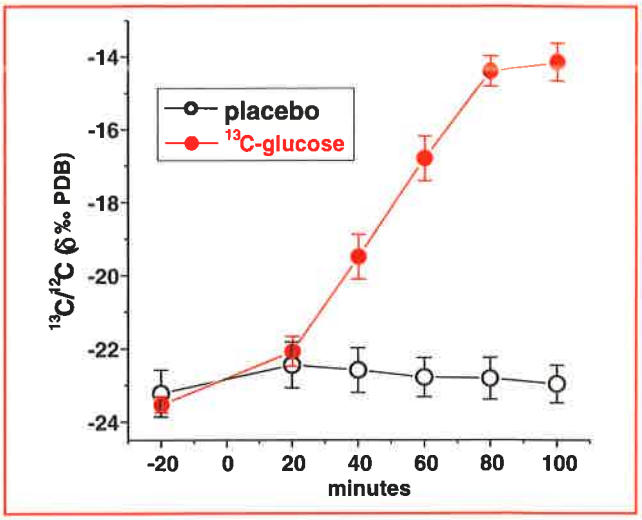


Figure 3 - Variation du rapport $^{13}C/^{12}C$ du CO_2 expiré au cours d'un exercice sans ingestion et avec ingestion de ^{13}C-glucose (1,5 g/kg de poids corporel ; $^{13}C/^{12}C$ = 17,4 δ ‰ PDB).

Le rapport $^{13}C/^{12}C$ est exprimé en delta pour mille par rapport au standard PDB ($^{13}C/^{12}C$ = 1,1237). La légère augmentation du rapport $^{13}C/^{12}C$ du CO_2 expiré en réponse à l'exercice sans ingestion de substrat marqué est due à ce que les réserves de glycogène, dont l'oxydation augmente, sont légèrement plus riches en ^{13}C que les réserves de lipides.

Une portion substantielle de l'énergie au cours d'un exercice prolongé est donc fournie par l'oxydation du glucose ingéré avant ou pendant l'exercice. L'oxydation du glucose exogène et sa contribution à la fourniture de l'énergie augmentent avec la quantité ingérée. Pour des apports inférieurs à ~ 1 g/min, la fraction oxydée varie de 50 à 100 %. Lorsque qu'ils augmentent jusqu'à 3 g/min, l'oxydation atteint un plateau un peu supérieur à 1 g/min et la contribution de l'oxydation du glucose exogène à la fourniture de l'énergie peut atteindre ~ 30 % [2].

L'ingestion de quantités importantes de glucose est difficile, car il est très sucré et développe une forte pression osmotique, provoquant un transfert d'eau vers la lumière intestinale [7]. Ceci nuit aux ajustements circulatoires et peut provoquer des malaises gastro-intestinaux. En outre, on a longtemps cru que l'ingestion de glucose en stimulant la sécrétion d'insuline, qui inhibe la lipolyse, pouvait avoir des effets néfastes sur les ajustements métaboliques et la performance en endurance [8]. L'oxydation d'autres types de substrats énergétiques exogènes a donc aussi été étudiée.

Les seuls substrats qui présentent un avantage sur le glucose sont les polymères de glucose. A quantités ingérées égales, ils sont oxydés comme le glucose ; mais à densité calorique égale, ils développent des pressions osmotiques plus basses, et comme ils ont aussi un goût moins sucré, ils sont plus faciles à ingérer. Ils sont donc préférables pour apporter de grandes quantités d'énergie au cours d'un effort prolongé. Le taux d'oxydation des autres hexoses que le glucose est moindre que celui du glucose lui-même (environ - 20 % pour le fructose [9] et - 50 % pour le galactose [10]), car ils doivent être transformés en glucose par le foie avant d'être oxydés par le muscle. De plus, ni le fructose, qui peut provoquer des diarrhées si les quantités ingérées dépassent 50-70 g, ni le galactose, qui a un goût désagréable, ne peuvent être ingérés en quantités aussi grandes que les polymères de glucose. Les données sur les disaccharides sont limitées. Le maltose (glucose-glucose) semble être

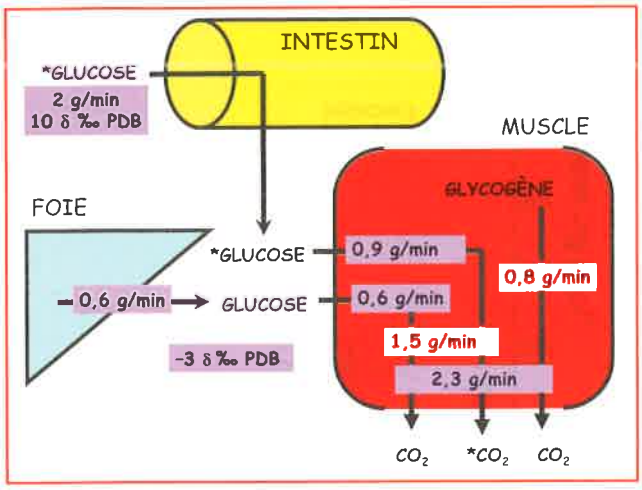


Figure 4 - Calcul des flux de glucose exogène et endogène lorsque du ^{13}C glucose est ingéré.

Dans cet exemple, le sujet ingère du glucose enrichi à 10 δ ‰ PDB (par rapport à un bruit de fond de - 23 δ ‰ PDB). L'oxydation du glucose total mesurée par calorimétrie indirecte respiratoire est de 2,3 g/min. L'oxydation du glucose exogène, mesurée par la production de $^{13}CO_2$, est de 0,9 g/min. L'enrichissement du glucose circulant (- 3 δ ‰ PDB) indique que 60 % du glucose circulant est d'origine exogène : (- 3 + 23)/(10 + 23) = 0,6. Le taux d'oxydation du glucose circulant est donc de 0,9/0,6 = 1,5 g/min, celui du glucose libéré par le foie est de 1,5 - 0,9 = 0,6 g/min ; quant à celui du glucose fourni par le glycogène du muscle, il est de 2,3 - 1,5 = 0,8 g/min.

oxydé comme le glucose. Le saccharose ou un mélange équimolaire de glucose et de fructose [11] sont un peu plus oxydés que le glucose mais ne peuvent pas être, non plus, administrés en aussi grandes quantités que les polymères de glucose, pour des raisons de goût, de pression osmotique et des malaises gastro-intestinaux que peut poser le fructose.

Nous avons aussi étudié l'ingestion de lactate [12], de glycérol [13] et d'alanine [14], qui sont des précurseurs du glucose dans le foie, mais pourraient aussi être oxydés directement par le muscle. A quantités égales, ils sont oxydés presque comme le glucose. Toutefois, les quantités qui peuvent être ingérées sont plus basses : le lactate développe une pression osmotique importante et il est mal toléré (dose maximale ~ 30 g) ; le glycérol s'accumule dans les milieux liquidiens et peut modifier le volume du liquide céphalorachidien en provoquant des céphalées ; l'alanine a un goût très désagréable. Par contre, alors que le squelette carboné de l'alanine est très décarboxylé, l'azote, marqué au ^{15}N, est peu excrété sous forme d'urée et serait donc préférentiellement incorporé aux protéines [14].

Finalement, nous avons aussi étudié l'oxydation d'éthanol [15] et d'acides gras à chaîne moyenne (acide octanoïque ingéré sous forme de trioctanoate) [16]. Le taux d'oxydation de l'éthanol augmente du repos à l'exercice, probablement parce que le foie exporte de l'acétate vers les muscles qui travaillent. Toutefois, son taux d'oxydation plafonne à des valeurs inférieures à celles atteintes pour le glucose. Les triacylglycérols à longue chaîne qui sont absorbés très lentement *via* la circulation lymphatique, ne sont pas disponibles pour l'oxydation, même s'ils sont ingérés plusieurs heures avant l'exercice. Quant aux triacylglycérols à chaîne moyenne, ils sont plus rapidement absorbés et sont oxydés au cours de l'exercice. A apport calorique égal, la contribution de leur oxydation à la fourniture de l'énergie est comparable à celle du glucose exogène. Toutefois, contrairement à l'ingestion de glucides, leur ingestion ne semble pas améliorer la performance (voir *encadré 1*).

L'enrichissement du glucose ingéré au cours de l'exercice permet aussi de distinguer les contributions respectives du glucose libéré par le foie et du glucose fourni *in situ* par le glycogène musculaire à partir de l'enrichissement en ^{13}C du glucose circulant (voir *figure 4*). Cette méthode a permis, par exemple, de décrire les modifications de l'utilisation du glucose chez des sujets ayant ingéré, les jours précédents l'exercice, un régime alimentaire riche ou pauvre en glucides afin de modifier la disponibilité des réserves de glycogène [17]. Comme on s'y attendait, après le régime pauvre en glucides, l'oxydation du glucose total est réduite, alors que celle des lipides est augmentée. Toutefois, ceci est surtout dû à une réduction de l'oxydation du glucose fourni par les réserves de glycogène musculaire, l'oxydation du glucose provenant du foie n'étant pas modifiée de façon significative (le foie compensant peut-être un déficit de ses réserves de glycogène par une néoglucogenèse accrue), et l'oxydation du glucose circulant et du glucose exogène étant légèrement augmentée.

Finalement, l'enrichissement en ^{13}C des glucides ingérés peut être utilisé pour étudier le devenir métabolique de l'amidon apporté par un repas ingéré, par exemple, après une période de repos ou un exercice [18] : absorption du glucose, oxydation, conversion éventuelle en lipides, mise en réserve sous forme de glycogène. Une difficulté méthodologique réside dans le marquage uniforme et homogène de l'amidon qui ne peut être obtenu qu'en faisant pousser la plante amylacée dans une atmosphère enrichie en $^{13}CO_2$. Cette technique a été utilisée par le Groupe de recherches appliquées en phytotechnologie du CEA de Cadarache (*figure 5*) pour enrichir du blé dur et du riz [19], dont nous avons pu ainsi étudier le métabolisme chez le sujet sain et diabétique [20].

Encadré 2 - Origines du calcul

Le calcul de l'oxydation du glucose ingéré à l'exercice par traçage au ^{13}C découle des travaux conduits autour de 1970, à Liège [22]. Inspirée peut-être par la variation de l'abondance du ^{13}C dans les végétaux qui est due à l'existence de plusieurs cycles photosynthétiques, l'équipe de Liège avait étudié les variations du rapport $^{13}C/^{12}C$ dans le CO_2 expiré par les animaux. Des observations préliminaires montrant une augmentation de l'abondance du ^{13}C du CO_2 expiré en passant de l'Homme au Chien, puis du Chien au Cochon, leur avaient fait suggérer que ces variations pourraient être liées à l'existence de différences dans le cycle de Krebs, selon les espèces, et que le rapport $^{13}C/^{12}C$ du CO_2 expiré pourrait être un marqueur de l'évolution. Des observations plus complètes ayant montré que ces variations reflétaient simplement celles du rapport $^{13}C/^{12}C$ dans l'alimentation des animaux étudiés, ces auteurs ont vérifié que l'excrétion de $^{13}CO_2$ augmentait chez l'Homme suite à l'ingestion de glucose de maïs, qui est naturellement enrichi en ^{13}C, et que l'oxydation du glucose exogène pouvait être calculée à partir du $V^{13}CO_2$. On utilise plutôt aujourd'hui du glucose (ou d'autres substrats) artificiellement enrichi en ^{13}C qui fournit un meilleur signal par rapport au bruit du fond du ^{13}C dans le CO_2 expiré.

Références

[1] Péronnet F., *La Recherche*, **1988**, *201*, p. 920.
[2] Jeukendrup A.E., Jentjens R., *Sports Med.*, **2000**, *29*, p. 407.
[3] Couture S., Massicotte D., Lavoie C., Hillaire-Marcel C., Péronnet F., *J. of Appl. Physiol.*, **2002**, *92*, p. 1255.

[4] Péronnet F., Massicotte D., Hillaire-Marcel C., Brisson G., *J. of Appl. Physiol.*, **1990**, *69*, p. 1047.
[5] Jeukendrup A.E., Wagenmakers A.J., Stegen J.H., Gijsen A.P., Brouns F., Saris W.H., *Am. J. Physiol.*, **1999**, 276, p. E672.
[6] Tsintzas K., Williams C., *Sports Med.*, **1998**, *25*, p. 7.
[7] Reher N., Wagenmakers A.J., Beckers E.J., Halliday D., Leiper J.B., Brouns F., Maughan R.J., Westerterp K., Saris W.H., *J. Appl. Physiol.*, **1992**, *72*, p. 468.
[8] Foster C., Costill D.L., Fink W.J., *Med. Sci. Sports*, **1979**, *11*, p. 1.
[9] Massicotte D., Péronnet F., Adopo E., Brisson G.R., Hillaire-Marcel C., *Int. J. Sports Med.*, **1994**, *15*, p. 177.
[10] Leijssen D.P., Saris W.H., Jeukendrup A.E., Wagenmakers A.J., *J. Appl. Physiol.*, **1995**, *79*, p. 720.
[11] Adopo E., Péronnet F., Massicotte D., Brisson G.R., Hillaire-Marcel C., *J. Appl. Physiol.*, **1994**, *76*, p. 1014.
[12] Péronnet F., Burelle Y., Massicotte D., Lavoie C., Hillaire-Marcel C., *J. Appl. Physiol.*, **1997**, *82*, p. 440.
[13] Burelle Y., Massicotte D., Lussier M., Lavoie C., Hillaire-Marcel C., Péronnet F., *J. Appl. Physiol.*, **2001**, *90*, p. 1685.
[14] Korach-André M., Burelle Y., Péronnet F., Massicotte D., Lavoie C., Hillaire-Marcel C., *J. Appl. Physiol.*, **2002**, *93*, p. 499.
[15] Massicotte D., Provencher S., Adopo E., Péronnet F., Brisson G., Hillaire-Marcel C., *J. Appl. Physiol.*, **1993**, *75*, p. 329.
[16] Massicotte D., Péronnet F., Brisson G.R., Hillaire-Marcel C., *J. Appl. Physiol.*, **1992**, *73*, p. 1334.
[17] Péronnet F., Rhéaume N., Lavoie C., Hillaire-Marcel C., Massicotte D., *J. Appl. Physiol.*, **1998**, *85*, p. 723.
[18] Folch N., Péronnet F., Massicotte D., Duclos M., Lavoie C., Hillaire-Marcel C., *Br. J. Nutr.*, **2001**, *85*, p. 671.
[19] Korach M., Péronnet F., Leverve X., Roth H., Péan M., Massicotte D., Hillaire-Marcel C., Novel V., 1st French meeting on stable isotopes (abstract), Nancy, déc. **2000**.
[20] Rabasa-Lhoret R., Burelle Y., Ducros F., Bourque J., Lavoie C., Massicotte D., Péronnet F., Chiasson J.-L., *Diabet. Med.*, **2001**, *18*, p. 739.
[21] Angus D.J., Hargreaves M., Dancey J., Febbraio M.A., *J. Appl. Physiol.*, **2000**, *88*, p. 113.
[22] Lefèbvre P.J., *Diabetologia*, **1985**, *28*, p. 255.

François Péronnet
est professeur titulaire au Département de kinésiologie à l'Université de Montréal*.

* CP 6128 Centre Ville, 2100 Bd Édouard Montpetit (7221), Montréal, PQ Canada H3C 3J7.
Tél. : +1 (514) 343 6737.
Fax : +1 (514) 343 2181.
E-mail : francois.peronnet@umontreal.ca

Figure 5 - Enrichissement de plantes amylacées en ^{13}C, en culture avec des solutions nutritives renouvelées, sans le support d'un sol (culture hydroponique) en atmosphère enrichie en $^{13}CO_2$ au CEA de Cadarache. Photos : CEA.

Reconstitutions des paléovégétations

Mesure de la composition en isotopes stables des végétaux

Chantal Descolas-Gros

Summary **Paleovegetation reconstructions: use of stable isotope ratios in plants**
The impact of climatic factors on plant repartition is well suited by their physiological types (C3 and C4 plants). $^{13}C/^{12}C$ ratio of organic carbon is a useful tool to characterize plant types even in fossil sediments. Resolution and accuracy of the data is improved if $^{13}C/^{12}C$ ratio is measured on plant molecules instead of bulk carbon. In such a case it is necessary to follow the molecular structure too. The example of pollen sporopollenin is developed.

Mots-clés $\delta^{13}C$, **plantes, sporopollénine, pollen.**
Key-words $\delta^{13}C$, **plants, sporopollenin, pollen.**

Les différents facteurs climatiques (température, teneur en gaz carbonique et en oxygène de l'atmosphère, précipitations et saisonnalité de la pluviosité) conditionnent la répartition des plantes sur les continents [1]. Les interactions entre la végétation et le climat sont particulièrement bien mises en évidence si l'on considère la répartition des plantes sur la base de leurs types de métabolisme photosynthétique (C3, C4). En effet, dans les milieux chauds et secs, on rencontre des espèces (dites plantes C4) dont l'anatomie, les adaptations morphologiques et les cycles métaboliques responsables de la fixation du CO_2 sont différents de ceux de la majorité des plantes tempérées (plantes C3). La proportion relative d'espèces C3 et d'espèces C4 au cours des temps géologiques est une donnée importante à connaître car largement définie par les facteurs climatiques. Il faut donc pouvoir identifier ces différentes catégories avec un maximum de précision dans le matériel fossile.

Les plantes C3 (*figure 1*) sont les plus anciennes et les plus répandues. Les arbres et les herbacées tempérées en font partie. Les plantes C4 (*figure 2*) sont mieux adaptées aux climats tropicaux que les plantes C3 et sont particulièrement bien représentées dans les savanes herbacées. Elles seraient apparues simultanément dans plusieurs familles de plantes et leur expansion aurait eu lieu entre 6 et 8 millions d'années avant notre ère, à une période où la teneur en gaz carbonique de l'atmosphère était plus faible qu'actuellement [2].

Pour reconstituer dans les formations végétales du passé (paléovégétations), la contribution respective des plantes C3 et C4, il faut s'appuyer sur les parties de la plante qui fossilisent et se retrouvent dans les sédiments anciens. Dans certaines formations, du fait des conditions de fossilisation, on peut retrouver des feuilles, et sur la base de critères anatomiques (anatomie de type Kranz), les plantes de type C4 peuvent être identifiées. Pour des études plus exhaustives, on utilise les diagrammes polliniques [3] élaborés à partir des déterminations basées sur les caractères morphologiques des grains de pollen. Ils ne permettent souvent que la différenciation entre genre ou famille. Ainsi, dans les grandes formations herbacées actuelles (notamment tropicales), composées de graminées, il est impossible de différencier au niveau morphologique les grains de pollen d'espèces différentes. A partir des diagrammes polliniques, nous n'aurons donc qu'une information partielle sur le couvert végétal à une époque donnée. Aussi, pour améliorer la précision des reconstitutions de paléovégétations, d'autres mesures sont parfois associées, comme l'étude des phytolithes (formations siliceuses, fréquentes chez les graminées notamment) [4]. Par ces méthodes, il est cependant difficile d'arriver à déterminer les espèces présentes et ainsi d'en déduire les types métaboliques. De plus, ceci n'est applicable que pour des périodes assez récentes où les espèces sont

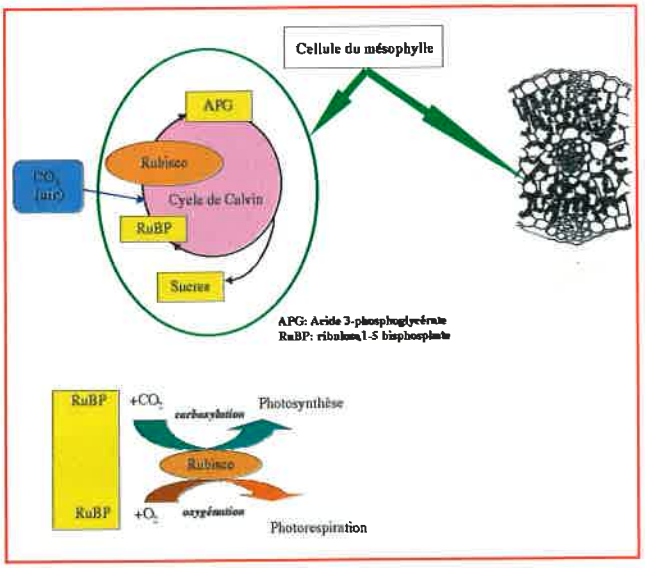


Figure 1 - **Les types physiologiques chez les végétaux : les plantes C3.**
Les plantes C3 fixent le CO_2, après diffusion de celui-ci dans les cellules des feuilles, par le cycle de Calvin [10].
Chez elles, le premier produit stable formé dans la suite de réactions qui transforment le CO_2 en sucres est un composé à trois atomes de carbone (3-phosphoglycérate), d'où l'appellation C3 donnée à ces plantes.
Une seule enzyme catalyse la première étape de carboxylation du cycle de Calvin : la ribulose,1-5 bisphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco). Elle se trouve dans les chloroplastes des cellules du mésophylle. Cette enzyme est bifonctionnelle et peut fonctionner comme oxygénase (photorespiration). Dans ce cas, le substrat est l'oxygène et non le CO_2.
Ce processus conduit à une perte de carbone organique pour les plantes et est très lié à la température ; ceci rend les plantes C3 moins efficaces lorsque les teneurs en CO_2 sont faibles et les températures élevées. Ces réactions se produisent dans un seul type de cellules des feuilles (cellules du mésophylle).

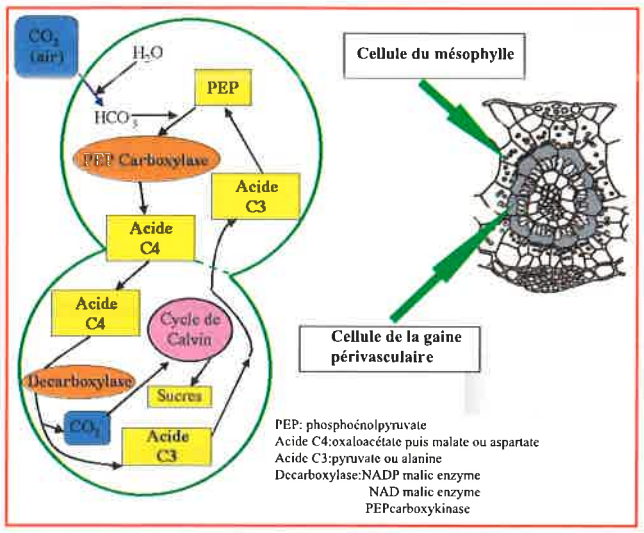


Figure 2 - **Les types physiologiques chez les végétaux : les plantes C4.**
Les plantes C4 [11] ont développé, en plus d'une structure foliaire avec deux types de cellules (anatomie de type Kranz), des mécanismes biochimiques de concentration du CO_2 qui suppriment la photorespiration.
La fixation du CO_2 atmosphérique (carboxylation) a lieu dans le cytoplasme des cellules du mésophylle sous forme d'ion HCO_3^-. L'enzyme de carboxylation est la phosphoénolpyruvate carboxylase (PEP carboxylase). Le premier produit stable formé est un acide organique à quatre atomes de carbone (oxaloacétate) ; d'où l'appelation C4 donnée à ces plantes. Après transport dans les cellules de la gaine périvasculaire, l'acide en C4 est décarboxylé, produisant du CO_2 dans le cytoplasme de ces cellules, qui est ensuite fixé par le cycle de Calvin.
La ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase est située dans les chloroplastes des cellules de la gaine périvasculaire. Les cellules de la gaine étant relativement peu perméables et l'étape initiale de fixation du carbone inorganique plus efficace que la fixation ultérieure du CO_2 par la Rubisco, le CO_2 est concentré dans les cellules de la gaine supprimant ainsi la photorespiration.
Il existe plusieurs sous-catégories de plantes C4 qui diffèrent par la nature de l'enzyme de décarboxylation de l'acide en C4.
Les autres plantes (non représentées sur la figure).
Il existe des plantes qui utilisent des cycles métaboliques différents, comme les CAM (« crassulacean acid metabolism ») et les intermédiaires C3-C4. Très intéressantes compte tenu des mécanismes physiologiques qu'elles ont développés et de leur rôle dans la compréhension d'un point de vue évolutif de la mise en place des plantes C4, elles ne représentent qu'un très petit nombre d'espèces et ont une contribution très faible dans la biomasse et la productivité végétale terrestre globale. Elles ne sont pas prises en compte actuellement dans les modèles reliant végétation et climat.

considérées comme identiques à celles qui sont rencontrées actuellement (quaternaire).
L'utilisation des isotopes stables du carbone est intéressante puisque sur la base de la mesure des rapports des deux isotopes stables (^{12}C et ^{13}C) du carbone organique végétal, on peut différencier les plantes C3 et C4 (*figure 3*) [5]. Dans les sédiments lacustres notamment, on a pu caractériser, grâce aux valeurs de $\delta^{13}C$ du carbone organique total, des changements de végétation C3-C4 et les relier à des modifications du climat. Cependant, certains artefacts peuvent exister lorsque l'on prend en compte la totalité de la matière organique. Par exemple, la contribution des algues ou des plantes aquatiques (phanérogames) dans le carbone organique conduit à des valeurs de $\delta^{13}C$ comprises entre celles des plantes C3 et C4. Dans les eaux douces, le $\delta^{13}C$ du carbone inorganique dissous est très variable (0 à - 16) et la forme sous laquelle il est assimilé (CO_2 ou HCO_3^-) contribue à l'hétérogénéité des signatures isotopiques rencontrées chez les plantes aquatiques. Dans ce cas, la caractérisation des changements de types physiologiques des végétaux continentaux terrestres inclus dans cette matière organique totale devient très difficile.

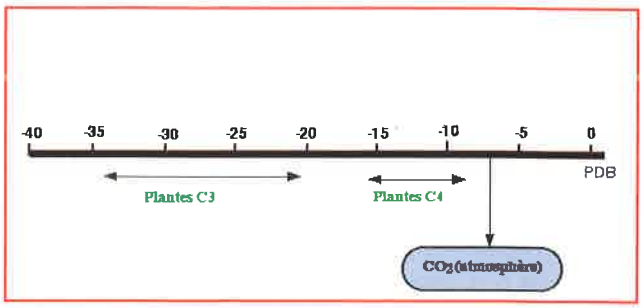


Figure 3 - **Les isotopes stables du carbone ($\delta^{13}C$) des plantes.**
Le $^{13}CO_2$ représente 1 % du CO_2 total de l'air, le reste est du $^{12}CO_2$. Les plantes sont généralement appauvries en ^{13}C relativement au CO_2. Ce fractionnement isotopique est dû aux processus de diffusion du CO_2 de l'extérieur vers l'intérieur des feuilles et aux réactions enzymatiques qui catalysent dans les plantes les carboxylations et les décarboxylations. Le fractionnement isotopique associé aux réactions de carboxylation par la ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase est plus élevé que celui par la phosphoénolpyruvate carboxylase. Cette différence est accentuée par le fait que les deux enzymes de carboxylation n'utilisent pas le même substrat : CO_2 gazeux pour la ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase et HCO_3^- pour la phosphoénolpyruvate carboxylase (plantes C4) [12], HCO_3^- étant plus riche en ^{13}C que le CO_2.
Sur la base des valeurs du rapport isotopique $^{13}C/^{12}C$ du carbone organique, il est donc possible de différencier les plantes C3 des plantes C4. Ces mesures sont effectuées sur un spectromètre de masse isotopique. Le matériel végétal est d'abord transformé en CO_2 et la mesure s'effectue par rapport à un standard de mesure (PDB : rostre de bélemnite du Crétacé).
$\delta^{13}C$ (‰) = $[(R_{échantillon} - R_{standard})/R_{standard}]\times10^3$
où R est la valeur du rapport $^{13}CO_2/^{12}CO_2$.

D'autre part, lors de la fossilisation, la composition de la matière organique des sédiments évolue et de nombreuses molécules ne sont pas conservées.
Des méthodes se sont donc développées qui permettent de mesurer les variations du $\delta^{13}C$ directement sur des molécules résistantes isolées du matériel végétal fossile.

Un exemple : la sporopollénine du pollen

Le pollen est très utilisé dans les reconstitutions de paléovégétations car la partie externe des grains, l'exine (*figure 4*), composée principalement de sporopollénine, est bien conservée dans les sédiments fossiles. En mesurant le $\delta^{13}C$ de la sporopollénine du pollen fossile, il sera donc possible d'identifier les espèces C3 ou C4 dans un sédiment ancien. C'est un outil intéressant pour améliorer la connaissance de la répartition de ces types physiologiques au cours des temps géologiques en relation avec les modifications du climat.
Ceci est particulièrement utile lorsque certaines familles de plantes comprenant des espèces C3 et C4 sont bien

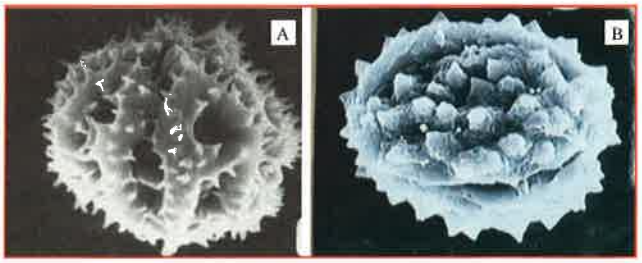


Figure 4 - **La structure de l'exine des grains de pollen.**
A : grain de pollen actuel de la famille des composées (photo G. Cambon).
B : grain de pollen fossile attribué à la même famille (époque tertiaire), Afrique du Sud (www.wits.ac.za).

représentées, mais que la morphologie pollinique ne permet pas de les différencier : c'est le cas par exemple pour la famille des graminées, des cyperacées, des chenopodiacées et des amaranthacées. C'est également un moyen d'avoir accès à des informations sur le type physiologique des plantes pour des périodes plus anciennes que le quaternaire, lorsque les espèces étaient différentes de celles qui sont rencontrées actuellement.

Ce type d'approche demande de connaître la variabilité des données de $\delta^{13}C$ depuis les feuilles jusqu'à la sporopollénine du pollen retrouvée dans les sédiments.

- Les valeurs de $\delta^{13}C$ mesurées sur des grains de pollen entier actuels montrent que les types physiologiques C3 et C4 sont aussi bien caractérisés qu'à partir du carbone organique des feuilles [6] : les valeurs observées sont comprises dans la gamme de variations des $\delta^{13}C$ des végétaux (*figure 3*).
- Les valeurs de $\delta^{13}C$ de la sporopollénine extraite à partir des grains de pollen sont plus négatives que celles du pollen entier (lorsque l'on extrait la sporopollénine à partir du pollen actuel). L'écart est plus ou moins important selon le traitement chimique utilisé. Nous avons observé des écarts de plusieurs ‰, variables selon les espèces. La variabilité associée au fractionnement dû à la synthèse et à la composition chimique de la molécule doit être différenciée de celle due aux artefacts des traitements chimiques. En parallèle avec l'étude de la variabilité des mesures isotopiques, l'étude de la variabilité de la structure chimique de la sporopollénine est indispensable.
- Le rôle des processus de diagenèse sur les $\delta^{13}C$ de la sporopollénine du pollen fossile devra être évalué et la structure de la sporopollénine fossile comparée à celle obtenue après traitement chimique du pollen actuel.

Cette étude est délicate car la structure de ce polymère est encore incomplètement connue et sa solubilisation demeure problématique ; nos essais, comme ceux de la littérature, montrent que les méthodes spectroscopiques en phase solide sont de ce fait les mieux adaptées à notre problématique [7].

Dans nos études, nous associons aux mesures de $\delta^{13}C$ celles de $\delta^{15}N$. L'interprétation des variabilités est plus complexe pour les isotopes stables de l'azote, mais c'est un moyen d'aborder les liens entre le cycle du carbone et celui d'azote chez les plantes actuelles et fossiles [8].

Ces développements méthodologiques ont pour but de permettre d'améliorer la qualité des données qui pourront ensuite être utilisées comme paramètres dans les modèles climatiques [9].

Remerciements

Je remercie Jaleh Ghashghaie pour sa relecture approfondie du manuscrit et ses remarques constructives.

Références

[1] Ehleringer J.R., Bowling D.R., Flanagan L.B., Fessenden J., Helliker B., Martinelli L.A., Ometto J.P., *Plant Biol.*, **2002**, *4*, p. 181.
[2] Cerling T.E., *C4 Plant Biology*, R.F. Sage, R.K. Monson (eds), Academic Press, **1999**, p. 445.
[3] McGlone M.S., Moar N.T., *Rev. Paleobot. Palynol.*, **1997**, *96*, p. 317.
[4] Scott L., *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeocology*, **2002**, *177*, p. 47.
[5] Griffiths H., *Stable isotopes in ecology and environmental science*, Oxford, Blackwell, **1998**.
[6] Descolas-Gros C., Calleja M., Cour P., Richard P., Perruchietti C., Jame P., *C.R.A.S. Paris, Sciences de la Terre et des planètes*, **2001**, *332*, p. 755.
[7] Wiermann R., Ahlers F. Schmitz-Thom I., *Biopolymers*, A. Steinbüchel, Wiley, **2001**, p. 210.
[8] Long S.P., *C4 Plant Biology*, R.F. Sage, R.K. Monson, Academic Press, **1999**, p. 215.
[9] Prentice I.C., Cramer W., Harrison S., Leemans R., Monserud R.A., Solomon A.M., *J. Biogeogr.*, **1992**, *19*, p. 117.
[10] Leegood R.C., Sharkey T.D., von Caemmerer S., *Photosynthesis: physiology and metabolism*, Kluwer Academic Publishers, **2000**.
[11] Hemming D.L., Switsur V.R., Waterhouse J.S., Heaton T.H.E., Carter A.H.C, *Tellus*, **1998**, *50B*, p. 25.
[12] Hatch M.D., Slack C.R., *Biochem. J.*, **1966**, *101*, p. 103.

Chantal Descolas-Gros
est chercheur CNRS à l'université de Montpellier II*.

* UMR 5554, Université de Montpellier II, case courrier 061, 34095 Montpellier Cedex 05.
Tél. : 04 67 14 49 39. Fax : 04 67 04 20 32.
E-mail : descolas@isem.univ-montp2.fr

À la rentrée d'octobre 2003 le CNAM propose

UN NOUVEAU DIPLÔME DE **PREMIER CYCLE TECHNIQUE** (DPCT) DE ***CHIMIE*** (BAC+2)

- ***Programmes rénovés, avec en particulier la CRÉATION des UV suivantes***
  - fondements structurels des industries chimiques et pharmaceutiques
  - initiation au génie chimique
  - outils informatiques appliqués à la chimie et à la biologie
  - bases scientifiques adaptées à la chimie et à la biologie
- ***Tronc commun large entre le DPCT de CHIMIE et le DPCT de BIOCHIMIE-BIOLOGIE*** pour favoriser les passerelles entre les deux disciplines

CONSERVATOIRE NATIONAL DES ARTS ET MÉTIERS

Informations : http://www.cnam.fr/ - valeur@cnam.fr ; bardez@cnam.fr

Le devenir de l'azote dans les litières forestières

Étude par marquage isotopique

Bernd Zeller, Étienne Dambrine et Laurent Caner

Summary **The fate of forest litter nitrogen: an isotopic labelling study**
The fate of the nitrogen annually deposited in litterfall has been studied by ^{15}N labelling of beech leaves and deposition of the labelled litter in various types of beech stands in Europe. We measured that between 1 and 3% of the nitrogen present in the litter is taken annually by beech (*Fagus sylvatica*) stands. Rates of N uptake from the litter are strongly related to stand growth rates. Litter degradation proceeds through a massive fungal attack which supplies N to the mesofauna in mull humus types. Litter N is continuously released from the litter, from the first month after deposition. Depending of the soil types and species, herbaceous species use various proportions of litter N for their own N supply.

Mots-clés **^{15}N, cycle d'azote, forêt, décomposition, minéralisation.**
Key-words **^{15}N, N-cycle, beech forest, decomposition, mineralisation.**

Chaque année, à l'automne pour les feuillages caduques, ou tout au long de l'année pour les feuillages sempervirents, les arbres perdent leurs feuilles. Cette chute annuelle de litière (~ 3 $t.ha^{-1}.an^{-1}$) apporte au sol environ 30 $kg.ha^{-1}.an^{-1}$ d'azote, ce qui en fait la source principale d'azote, avec les pluies et dépôts secs. En France, ces derniers apportent entre 10 et 30 $kg.ha^{-1}.an^{-1}$ d'azote ammoniacal (NH_4^+) et nitrique (NO_3^-) suivant le niveau de pollution atmosphérique. L'azote des litières se trouve pour une faible part sous forme soluble, acides aminés, acides nucléiques..., et en grande partie sous forme d'azote protéique plus ou moins associé à des tanins polyphénoliques.
Les plantes absorbent généralement l'azote dans le sol sous forme minérale (NH_4^+ ou NO_3^-), sauf certaines plantes des écosystèmes très acides des climats montagnards ou boréaux où l'azote minéral est très peu présent. Les plantes forestières préfèrent généralement la forme NH_4^+, mais certaines, dites nitrophiles, poussent dans les sols riches en nitrate et s'en accommodent [1]. La minéralisation des litières est donc indispensable pour que l'azote organique qu'elles contiennent soit progressivement libéré sous forme ammoniacale ou nitrique, et utilisé par les plantes forestières et en particulier les arbres. Traditionnellement, la morphologie des humus et sa composition élémentaire fournissent des indications sur la minéralisation de l'azote.

La libération d'azote par les litières est classiquement mesurée en suivant l'évolution dans le temps de la masse et de la teneur en azote d'une litière de masse initiale et de composition connue. Ramenée à la quantité d'azote initiale, on en déduit la valeur du coefficient de minéralisation annuelle de l'azote. Cependant, cette méthode ne permet pas de savoir ce que devient l'azote des litières, car il se mélange avec l'azote du sol. Les méthodes plus récentes et complémentaires utilisent :
- soit les variations isotopiques naturelles de l'azote entre les différents constituants de l'écosystème [3]. En effet, un

L'**humus** est la couche supérieure du sol, constitué essentiellement de matière organique provenant de la décomposition des litières. On distingue morphologiquement deux grands types d'humus, dont la signification écologique et fonctionnelle a été l'objet de travaux très anciens et très approfondis.
Les humus de type mull s'observent sur des sols peu acides, sous des climats tempérés. Ils se caractérisent par la fonte rapide des feuilles mortes à la surface du sol, sous les actions conjuguées de champignons d'une classe particulière (la pourriture blanche) et des vers de terre qui entraînent les fragments organiques dans leurs galeries [2]. L'azote des litières est rapidement minéralisé puis réabsorbé par l'arbre pour aider à la formation de la nouvelle masse foliaire.
Inversement, les humus de type moder (ou mor) s'observent sur des sols très acides, sous climat froid et plutôt sous forêt de résineux. Dans ces humus, la litière s'accumule sous forme des couches L (litière peu décomposée), F (litière fragmentée) et H (accumulation de boulettes fécales organiques de la microfaune), de sorte que l'azote contenu dans les litières n'est que très lentement remis à la disposition des arbres. Ces observations ont été classiquement confirmées par la faible croissance et l'insuffisante nutrition azotée des arbres croissant sur des tels humus.

Les isotopes de l'azote

L'azote de l'air et de la matière organique en général (plantes et animaux) est formé essentiellement de l'isotope ^{14}N, mais contient 0,3663 % de ^{15}N.
Le rapport isotopique $R = {}^{15}N/{}^{14}N$ d'un corps est mesuré par rapport à celui d'un témoin, en l'occurrence l'air, dont le rapport est stable et conventionnellement fixé à 0. R est mesuré avec un spectromètre de masse (SMRI) avec une précision de ± 0,2 ‰.

$$\delta^{15}N(‰) = \frac{R_{échantillon} - R_{standard}}{R_{standard}} \times 1000$$

avec $R_{échantillon}$, rapport isotopique de l'échantillon et $R_{standard}$, rapport isotopique de l'air.

certain nombre de réactions se produisant dans le milieu naturel conduisent à des fractionnements isotopiques ; ces variations sont significatives et signent ces transformations. Les principales réactions naturelles qui fractionnent les isotopes de l'azote sont la volatilisation d'azote ammoniacal, la transformation d'azote ammoniacal en nitrate (nitrification), la réduction suivie de la volatilisation d'azote nitrique (dénitrification). Toutes ces réactions entraînent un enrichissement relatif en ^{14}N du produit et inversement une augmentation de la proportion de ^{15}N dans le substrat résiduel. L'absorption d'azote par les plantes forestières ne détermine généralement pas de fractionnement, mais se traduit par un enrichissement en ^{15}N des champignons mycorhiziens (qui vivent en symbiose sur les racines des plantes). Par ailleurs, on observe une augmentation de $\delta^{15}N$ le long des chaînes trophiques, des producteurs primaires (végétaux) aux superprédateurs (carnassiers) [5].

- soit une litière fortement enrichie artificiellement en ^{15}N [4].

En pulvérisant un placeau de jeunes hêtres avec de l'azote 15, nous avons enrichi artificiellement les arbres, de sorte que les litières soient enrichies en ^{15}N. La composition de ces litières, en dehors de leur proportion élevée de ^{15}N, ne se distingue pas de litières normales [4]. Récoltées à l'automne, séchées et homogénéisées, ces litières sont déposées à la place des litières naturelles dans différents écosystèmes forestiers, pour suivre, grâce aux variations de leur composition isotopique, le devenir de l'azote qu'elles contiennent dans les sols et la végétation forestière. Dans le protocole d'étude classiquement utilisé, les litières sont disposées à la surface du sol sur un cercle dont le centre est occupé par le tronc de l'arbre et dont la surface couvre l'essentiel de la zone prospectée par les racines de l'arbre (*figure 1*). Plusieurs arbres d'âges et de dimensions représentatives des peuplements ont été ainsi équipés, dans différents écosystèmes forestiers, sur sols acides et calcaires. Les mesures effectuées concernent l'évolution de la masse des litières, les teneurs et les rapports isotopiques de l'azote des litières, des humus, des horizons de sol, de la faune et de la microflore des sols, ainsi que des différents organes des arbres et des espèces herbacées de sous-bois (ex. : *Gallium odoratum*). Les mesures sont effectuées parallèlement sur des cercles témoins, non marqués, pour tenir compte des fractionnements naturels.

Figure 1 - A l'automne, dépôt de la litière marquée ^{15}N au sol, maintenue à l'aide d'un filet autour d'un arbre (*photo B. Zeller*).

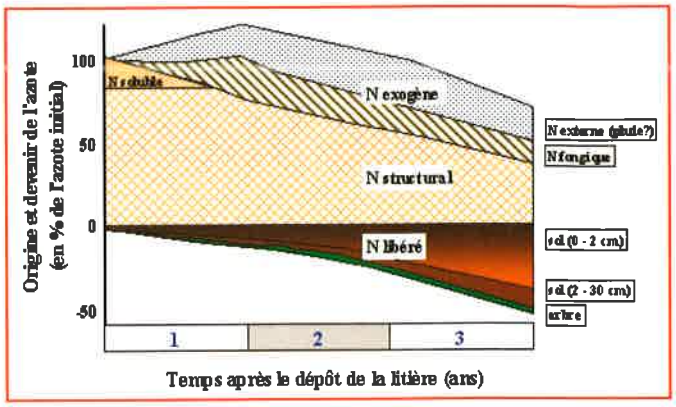


Figure 2 - Schéma de la dynamique de l'azote dans une litière de hêtre pendant sa décomposition et sa minéralisation sur un sol brun acide avec un humus du type moder. N structural est l'azote organique non soluble d'une feuille (en grande partie des protéines).

Elles suggèrent les résultats suivants [6-8] :

1- Pendant les deux premières années qui suivent la chute de la litière, ***les litières absorbent et libèrent de l'azote simultanément*** (*figure 2*).

Au total les litières perdent leur azote constitutif, à un taux proche de celui de la perte de poids, et gagnent de l'azote externe apporté par le milieu, principalement les filaments mycéliens (champignons), mais aussi par les pluies. Une très faible part (< 1 ‰) de l'azote perdu par les litières est minéralisé dans l'année. L'azote minéral des sols ne provient pas, ou pour une très faible proportion, des litières. Sur les humus de type mull, la perte d'azote constitutif des litières est plus rapide dès la première année. Le gain d'azote externe est plus fort dans les humus de type moder. Ceci confirme la plus forte capacité d'extraction d'azote de la microflore des mulls (pourritures blanches), par rapport aux moders.

2- *L'azote des litières s'accumule préférentiellement dans l'humus* (*figure 2*).

Dans les humus de type mull, la microfaune (collemboles) qui profite le plus directement de l'azote des litières (celle qui montre le plus fort marquage isotopique) et concourt donc à sa transformation n'est, curieusement, pas celle qui fragmente et déchiquette la litière, mais celle qui consomme les boulettes fécales des précédents ou des filaments mycéliens. L'incorporation de litière par les vers de terre est notable surtout dans les premiers cm de sol. L'enfouissement de la litière sous les turricules de terre minérale est sans doute plus important que la descente de fragments dans les galeries des vers, consécutive à leur consommation directe. Dans les humus de type moder, la microfaune (enchytréides) qui profite le plus de l'azote des litières utilise préférentiellement les formes solubles. L'activité des vers de terre est très faible, de sorte que les débris de litière ne sont enfouis que sous les chutes de litière postérieures.

3- *En fonction des sites et des individus, l'arbre prélève annuellement entre 0,2 et 1,1 % de l'azote des litières* (*tableau I*).

Pour un arbre et un site donnés, cette proportion varie peu au cours des cinq premières années. Dès la première saison de végétation, on observe un enrichissement en ^{15}N issu des litières marquées, dans les racines, le tronc et les feuilles des arbres, même adultes. Plus la croissance du peuplement est élevée, plus il semble prélever d'azote dans la litière, et ceci

Tableau I - Répartition du ^{15}N apporté par la litière marquée dans la litière en décomposition, le sol et l'arbre, trois ans après le dépôt de la litière (en % de ^{15}N apporté).
Les sites se trouvent en France (Aubure), Allemagne (Ebrach) et Italie (Collelongo).

	Aubure	Ebrach	Collelongo
humus	moder	moder	mull
^{15}N-litière	35,4	32,0	40,6
Sol (0 - 2 cm)	37,9	37,2	26,5
Sol (2 - 10 cm)	8,6	15,2	18,1
Sol (10 - 30 cm)	5,3	2,5	5,4
Biomasse racines	0,7	0,7	0,2
Biomasse aérienne	1,1	1,9	0,1
Feuilles (3 ans)	0,2	0,8	0,4
Total	**89,2**	**90,3**	**91,3**

indépendamment de la forme de l'humus. Cette relation tend à suggérer (i) que la morphologie de l'humus n'est pas le seul paramètre explicatif de la nutrition azotée des peuplements et (ii) que l'arbre, peut-être à travers l'activité de ses symbiotes mycorhiziens, draine l'azote issu des litières.

4- *Certaines espèces herbacées s'alimentent à partir de la litière en décomposition, d'autres non*.

Parmi les espèces de sous-bois qui absorbent en plus forte proportion l'azote issu des litières, on trouve le lamier jaune (*Lamiastrum galeobdolon*) et l'aspérule odorante (*Gallium odoratum*). Ces espèces à croissance rapide sont caractéristiques de milieux riches en azote minéral. Inversement, les jeunes semis d'arbre s'alimentent très peu à partir des litières. Leurs systèmes radiculaires croissent d'abord en direction de la profondeur pour assurer leurs besoins en eau, et leurs besoins nutritifs sont faibles. La proportion d'azote extrait de la litière marquée est fortement corrélée à l'abondance isotopique naturelle des plantes, ce qui signifie que le rapport isotopique naturel de l'azote des plantes de sous-bois est un bon indicateur de leur aptitude à utiliser l'azote des litières.

D'autres études, dont certaines sont en cours, devraient nous renseigner sur le rôle de la biodiversité fongique et bactérienne, et nous permettre de modéliser l'ensemble de ces transformations.

Glossaire

Collemboles : petits insectes inférieurs, sans ailes ni métamorphoses, qui pullulent dans le sol végétal.
Enchytréides : petits insectes qui jouent un rôle primordial dans la décomposition des litières forestières.
Moder : type d'humus formé en milieu aéré et en sol nettement acide (pH de 4 à 5). Le moder se forme en climat local froid et ombragé, dans un milieu pauvre en calcium et en fer, sous une végétation qui donne une litière riche en lignine et pauvre en azote.
Mor : type d'humus où la matière organique se décompose difficilement par suite de conditions climatiques et physico-chimiques défavorables.
Mull : type d'humus formé en milieu aéré. Le mull forestier se forme en milieu légèrement acide (pH de 5 à 6) et est caractéristique de la forêt climatique feuillue.

Références

[1] Marschner H., *Mineral nutrition of higher plants*, 2nd ed., Academic Press, London, **1995**.
[2] Toutain F., *Revue forestière française*, **1981**, *6*, p. 449.
[3] Mariotti A., thèse de doctorat d'état es sciences naturelles, université P. & M. Curie, Paris 6, **1982**.
[4] Zeller B., Colin-Belgrand M., Dambrine E., Martin F., *Ann. Sci. For.*, **1998**, *55*, p. 375.
[5] Ponsard S., Arditi R., *Ecology*, **2000**, *81*, p. 852.
[6] Zeller B., Colin Belgrand M., Dambrine E., Martin F., Bottner P., *Oecologia*, **2000**, *123*, p. 550.
[7] Zeller B., Colin Belgrand M., Dambrine E., Martin F., *Tree Physiology*, **2001**, *21*, p. 153.
[8] Caner L., Zeller B., Dambrine E., Ponge J.-F., *Oecologia*, **2003** (soumis).

B. Zeller

E. Dambrine

L. Caner

Bernd Zeller
est ingénieur de recherche à l'unité Biogéochimie des écosystèmes forestiers de l'INRA de Nancy[1].

Étienne Dambrine
est directeur de recherche dans cette même unité[2].

Laurent Caner
est maître de conférence à l'université de Poitiers[3].

[1] Unité Biogéochimie des écosystèmes forestiers, INRA, 54280 Seichamps.
Tél. : 03 83 39 40 77. Fax : 03 83 39 40 69.
E-mail : zeller@nancy.inra.fr
[2] Tél. : 03 83 39 40 71. Fax : 03 83 39 40 69.
E-mail : dambrine@nancy.inra.fr
[3] Laboratoire HydrASA, UMR CNRS 6532, Bâtiment des Sciences naturelles, 40 avenue du Recteur Pineau, 86022 Poitiers Cedex.
Tél. : 05 49 45 36 70. Fax : 05 49 45 42 41.
E-mail : laurent.caner@hydrasa.univ-poitiers.fr

Les nouveaux isotopes dans les sciences de l'eau

Wolfram Kloppmann

Summary **New isotopes in water sciences**
Since the early 60's, isotopes have been introduced as valuable tools for the understanding of the global water cycle. They allow to trace back surface water and groundwater flow as well as the different mechanisms of water-rock-gas interactions. Human impact on water quality is steadily increasing and, here again, isotopes can give precious hints. The present paper sketches briefly the history of isotope techniques in the field of water sciences and gives an overview of emerging tools and their potential.

Mots-clés **Isotopes, eau, hydrogéochimie, spectrométrie de masse, bore.**
Key-words **Isotopes, water, hydrogeochemistry, mass spectrometry, boron.**

Ce sont souvent les avancées spectaculaires des techniques analytiques qui ouvrent la voie à une toute nouvelle perception de notre environnement. C'est ainsi que l'hydrologie isotopique trouve un nouvel essor grâce à l'apparition progressive de nouveaux types de spectromètres de masse[1] dans les laboratoires. Le champ est désormais libre à des expérimentations souvent fructueuses portant sur la composition isotopique d'éléments jusqu'alors inaccessibles aux chercheurs. Le tableau de Mendeleïev des hydrogéochimistes prend définitivement une troisième dimension : celle des isotopes (*figure 1*). Cet article fournit un instantané de l'évolution rapide des techniques isotopiques dans les sciences de l'eau. Nous partirons des traceurs « classiques » et de leurs applications pour esquisser les perspectives de recherche que promettent les outils émergents.

Qu'entendons-nous par le terme de « nouveaux isotopes » ? Procédons par élimination. Dans leur ouvrage de référence qui date de 1986, le *Handbook of Environmental Isotope Hydrology* [1], Fritz et Fontes énumèrent les outils isotopiques fréquemment utilisés[2] à l'époque dans le domaine de l'eau :

« *Most environmental studies have focused on light elements and their isotopes: hydrogen (^{1}H, ^{2}H, ^{3}H), carbon (^{12}C, ^{13}C, ^{14}C), nitrogen (^{14}N, ^{15}N), oxygen (^{16}O, ^{18}O), and sulphur (^{32}S, ^{34}S). These are the most important elements in biologic systems and also participate in most geochemical reactions* ».

Les auteurs résument quarante ans de recherche en hydrologie isotopique et on peut donc, avec bonne conscience, appeler ces isotopes les « classiques » (*figure 1*). Onze ans plus tard, un nouvel ouvrage à vocation isotopique, *Environmental Isotopes in Hydrogeology* par Clark et Fritz [2], dresse la liste suivante d'« isotopes environnementaux »[3] appliqués aux eaux souterraines : les stables ^{2}H, ^{3}He, ^{6}Li, ^{11}B, ^{13}C, ^{15}N, ^{18}O, ^{34}S, ^{37}Cl, ^{81}Br, ^{87}Sr, et les isotopes radioactifs ^{3}H, ^{14}C, ^{36}Cl, ^{39}Ar, ^{81}Kr, ^{85}Kr, ^{129}I, ^{222}Rn, ^{226}Ra, ^{230}Th, ^{234}U, ^{238}U. Par rapport aux isotopes classiques, le nombre d'outils a donc triplé en une dizaine d'années.

Comment expliquer cet engouement des hydrogéologues et hydrochimistes pour les méthodes isotopiques ? Que nous disent les isotopes dans l'eau ?

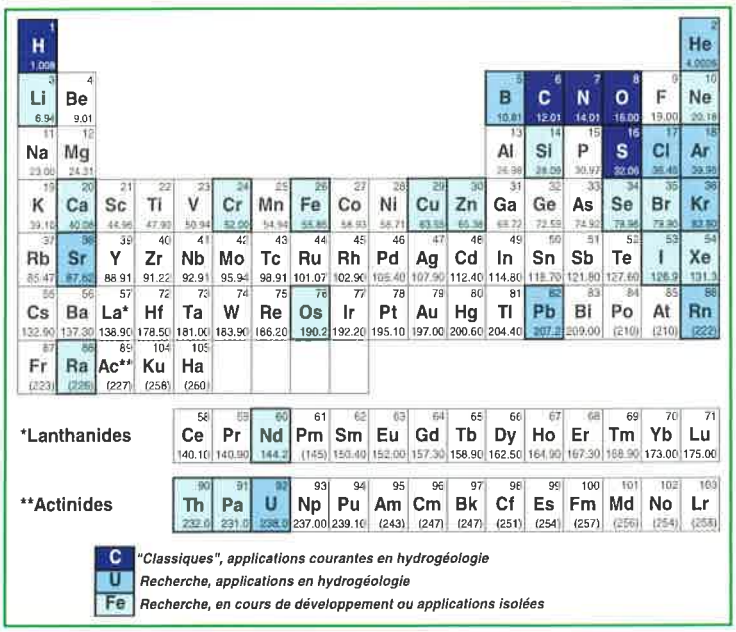


Figure 1 - **Isotopes utilisés dans le domaine de l'eau.**
Compte tenu de l'évolution rapide des techniques analytiques, en particulier du ICP-MS-MC, il ne s'agit que d'un état transitoire...

Rappel des concepts de l'hydrogéochimie isotopique

On ne compte plus le nombre d'articles et de cas d'études publiés depuis les années 50 qui montrent l'utilité des isotopes environnementaux dans l'étude de l'hydrosphère. Le point commun à toutes ces applications sont les notions de **source** et d'**histoire** : l'eau souterraine a une source, une origine, elle est tombée un jour sous forme de pluie ou de neige, elle a ensuite ruisselé en surface pour s'infiltrer quelque part et alimenter la nappe. Le long de son parcours en surface, puis souterrain, elle subit des changements multiples : une partie de l'eau peut s'évaporer, l'eau peut interagir avec les roches et les gaz du sous-sol. C'est dans cette mesure que l'on peut parler d'histoire. Et ce sont les molécules d'eau elles-mêmes qui gardent, dans leur composition isotopique, la mémoire de leurs sources et de leurs transformations.

L'eau conserve donc dans ses **isotopes stables** (^{18}O, ^{16}O, ^{1}H et ^{2}H) la signature de son origine : à quelle époque, sous quel climat, à quelle altitude s'est infiltrée l'eau qu'on extrait aujourd'hui d'une nappe ? Mais cette signature peut changer de façon caractéristique au cours de la « vie » d'une eau souterraine. On retrouve ainsi, inscrits dans sa composition isotopique, des indices d'une évaporation ou des interactions avec les roches ou des gaz avec lesquels l'eau est entrée en contact au sein de la croûte terrestre. Ceux-ci sont, pour l'hydrogéologue, des informations précieuses sur le cycle de l'eau en général ou sur une ressource en eau particulière (voir *encadré*).

Mais les techniques isotopiques ne s'arrêtent pas aux éléments constitutifs de l'eau, elles permettent aussi un regard très précis sur les **espèces dissoutes** dans une eau naturelle. Prenons le cas des sulfates : ils ont une source, qui peut être minérale, atmosphérique ou bien anthropique. Mais ils ont aussi une histoire : une fois arrivés dans la nappe, les sulfates peuvent évoluer, par exemple sous l'influence d'une réduction microbienne, ce qui aura pour conséquence de changer leur composition isotopique. A bien d'autres questions posées au quotidien par la gestion des eaux, les isotopes stables des éléments dissous comme l'azote, le bore, le strontium, le carbone et le soufre, peuvent apporter des éléments de réponses : d'où proviennent les nitrates qui contaminent une nappe, quelles sont les causes de la salinisation progressive d'une eau devenue imbuvable, avec quelles roches l'eau est-elle entrée en contact lors de son cheminement souterrain ?

Qui dit « isotopes stables » sous-entend l'existence d'isotopes instables, les **isotopes radioactifs**. Ce sont eux qui permettent d'accéder, souvent au prix de modèles complexes, à « l'âge » des eaux souterraines. Huit ans après l'article de référence d'Arnold et Libby, publié en 1949, qui portait sur l'utilisation du radiocarbone pour dater des objets archéologiques [3], l'idée d'une application de cette méthode afin de dater des eaux souterraines émerge [4]. Depuis, d'autres radio-isotopes ont été utilisés dans le même but : estimer le temps que l'eau a passé dans le sol. Le tritium, l'argon 39, le krypton 85 et d'autres couvrent chacun un laps de temps spécifique (*figure 2*). De nombreuses études ont pu mettre en évidence des eaux dites « fossiles » dans des nappes captives et profondes : elles portent parfois les traces du climat froid de la dernière glaciation (voir *encadré*). Des eaux dont l'âge excède parfois les 100 000 ans se trouvent encore dans les couches profondes de grands bassins sédimentaires comme dans le Grand Bassin Artésien en Australie [5].

Isotopes légers

Aux isotopes légers « classiques » (H, O, C, S, N) se sont ajoutés au fil des années l'ensemble des gaz nobles (y compris les isotopes lourds de krypton, xénon et radon), les isotopes radioactifs puis stables du chlore [6], le bore, le lithium [7]. L'exemple de l'isotope radioactif de la silice, ^{32}Si, montre que le développement d'un nouvel outil n'est pas toujours couronné de succès, même si le temps de demi-vie, estimé à environ 140 ans [8] confère un intérêt particulier à cet isotope dans le contexte de la datation des eaux. Il serait un candidat idéal pour combler la lacune entre le tritium (demi-vie de 12,3 ans) et le ^{14}C (5 730 ans) qui sont très fréquemment utilisés pour dater des eaux souterraines respectivement très jeunes et anciennes (*figure 2*). Outre l'échantillonnage et l'analyse, lourds et coûteux, le défaut majeur de la méthode réside dans l'estimation de l'activité initiale : la

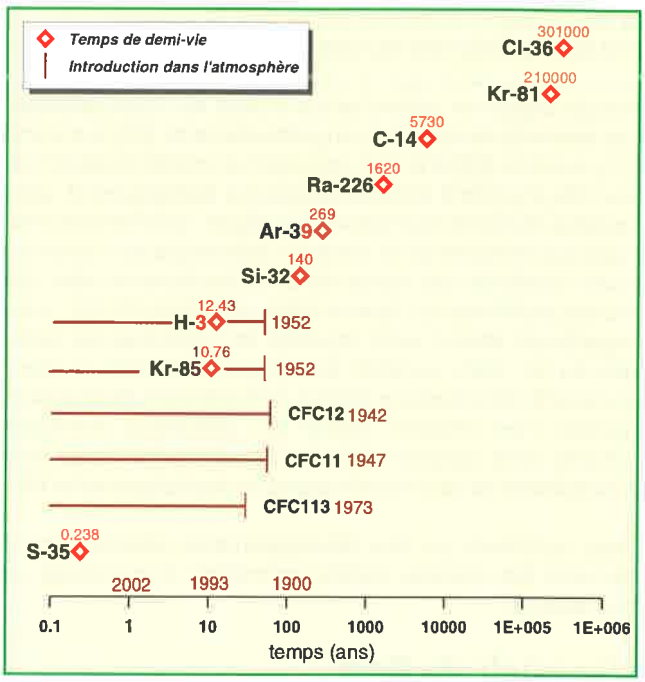


Figure 2 - Temps de demi-vie de quelques radio-isotopes utilisés pour estimer le temps de résidence de l'eau dans les nappes.
Seuls ^{14}C, tritium et, moins fréquemment ^{85}Kr, sont utilisés en routine. Les autres isotopes (^{39}Ar, ^{32}Si, ^{226}Ra, ^{81}Kr, ^{36}Cl) requièrent soit un échantillonnage, soit des interventions analytiques lourdes. Certains isotopes ne se sont pas avérés des outils de datation fiables (^{32}Si), d'autres ne sont que des outils potentiels (^{35}S). Sur le même diagramme sont reportées les dates de la première introduction dans l'atmosphère de certaines substances (les chlorofluorocarbones CFC) et certains isotopes. Les isotopes radioactifs du krypton et de l'hydrogène (^{85}Kr et tritium) ont été introduits par les essais thermonucléaires des années 50 et 60. Émis par des centrales nucléaires, le ^{85}Kr continue à croître dans l'atmosphère. CFCs et les deux traceurs isotopiques sont d'excellents marqueurs d'une eau très récente dans le sous-sol, ce qui nous permet de suivre leur pénétration dans les nappes.

sorption sur les argiles, les hydroxydes de fer et les substances humiques peuvent entraîner des pertes en ^{32}Si considérables, même en milieu carbonaté [8]. La ^{32}Si n'a pu être utilisée qu'en complément d'autres méthodes de datation et de façon semi-quantitative [9]. Actuellement, quelques premiers éléments de la systématique des isotopes stables de la silice (^{28}Si, ^{30}Si) dans les eaux naturelles sont disponibles [10]. Des applications intéressantes dans les domaines des interactions eau-roche, dans celui de l'érosion ainsi que dans celui du cycle biologique de la silice se dessinent.

Isotopes lourds

Utilisés dans un premier temps par les géochimistes de la croûte et du manteau, les isotopes lourds, tels que le strontium, le plomb, les séries de l'uranium et plus récemment le radium et le néodyme, ont trouvé des applications dans l'hydrogéologie (voir [11] et [12] pour une synthèse actuelle sur les isotopes lourds). Quand les géochimistes découvrent un nouvel outil, ils semblent souvent respecter la même logique : de nouveaux isotopes sont d'abord étudiés dans les roches d'origine profonde. On s'intéresse ensuite à l'eau de mer et aux grands fleuves, ce qui permet de répondre à des questions de flux de masse entre continents et océans. Ce n'est qu'à la fin qu'apparaissent les applications portant sur les eaux souterraines et sur les problèmes hydrogéologiques. Le cycle hydrologique est, en quelque sorte, respecté... Parmi les isotopes lourds, le sélénium [13] ainsi que les bromures [14], les iodures [15], le radium [16], le plomb,

le néodyme [17], le thorium [18] et peut-être bientôt l'osmium [19] font actuellement leur entrée dans le domaine des eaux souterraines, alors que le strontium et l'uranium ont déjà franchi depuis un certain temps le seuil de l'hydrogéologie. Les éléments de transition, en particulier le fer [20], le chrome [21], le cuivre [22] et le zinc, suscitent un intérêt croissant par leur rôle important dans les processus biologiques et, pour certains, du fait de leur toxicité. Au départ, on s'est ainsi intéressé aux isotopes du fer comme « biomarqueurs » qui pourraient conserver des traces de la vie bactérienne dans des roches anciennes sur Terre et même sur Mars [23-24] : si les organismes étaient seuls capables de fractionner les isotopes du fer, toute variation isotopique serait alors le signe d'une activité biologique. Depuis, le fondement de ce raisonnement s'est effondré. Même des processus chimiques naturels sans aucune médiation de microorganismes sont susceptibles de faire varier la signature isotopique du fer [20].

Deux synthèses sur des développements récents dans le domaine des isotopes stables permettent d'approfondir ce bref aperçu.

L'exemple du Bore

La mise au point d'une nouvelle systématique isotopique est une tâche de longue haleine. L'exemple du bore va illustrer la carrière isotopique d'un élément stable (*figure 3*). Après les premières tentatives analytiques encore entachées d'erreurs importantes dans les années 40 et 60, ce sont les travaux de Spivac et Edmond [25] qui vont, en 1986, ouvrir en grand la porte de l'analyse isotopique du B par spectrométrie de masse à thermo-ionisation en mode positif. Les premiers travaux fiables sur la composition isotopique des roches cristallines, de l'océan et des minéraux évaporitiques paraissent à cette époque.

Le bore est un élément léger et le contraste de masse entre ^{11}B et ^{10}B est significatif. Les isotopes du bore sont donc soumis à de forts fractionnements, ce qui entraîne des variations importantes de plus de 100 ‰ dans la nature (la gamme actuelle comprend des valeurs entre - 30 ‰ et + 75 ‰ *vs.* NBS951). Ces contrastes font du bore un traceur particulièrement intéressant, d'autant plus que cet élément est omniprésent dans l'hydrosphère et souvent fortement lié à la salinité des eaux. Cependant, l'utilisation de ce traceur nécessite une bonne connaissance de la signature isotopique des sources du bore, océans, roches, précipitations ou encore polluants. Il est aussi nécessaire de décrire et de prévoir les transformations que cet élément peut subir. Certaines réactions, comme l'adsorption sur des argiles, sont « fractionnantes », c'est-à-dire qu'elles changent la signature isotopique du bore dissous et peuvent ainsi brouiller la piste de ses sources.

En conséquence, la deuxième étape importante dans le développement de la systématique du B était l'étude des processus de fractionnement. Nous disposons maintenant de connaissances sur le fractionnement isotopique lors de l'adsorption-désorption sur des argiles, lors de l'évaporation de l'eau de mer et lors de la coprécipitation avec les carbonates... Nous connaissons également la signature isotopique d'une large variété de sources potentielles du B dans les nappes : il provient soit de la pollution anthropique, soit de l'eau de mer, soit de certaines roches, magmatiques ou sédimentaires.

C'est la thèse d'Avner Vengosh qui a ouvert en 1990 une décennie fructueuse d'études sur le bore dans l'hydrosphère continentale [26]. Partant d'études de saumures sédimentaires [27-28], le champ d'application s'est élargi aux saumures dans le socle [29] et enfin aux ressources en eaux potables. L'origine du bore dans les nappes, surtout dans celles du pourtour méditerranéen, fait actuellement l'objet d'un projet de recherche européen, intitulé BOREMED[4] : les ressources méditerranéennes en

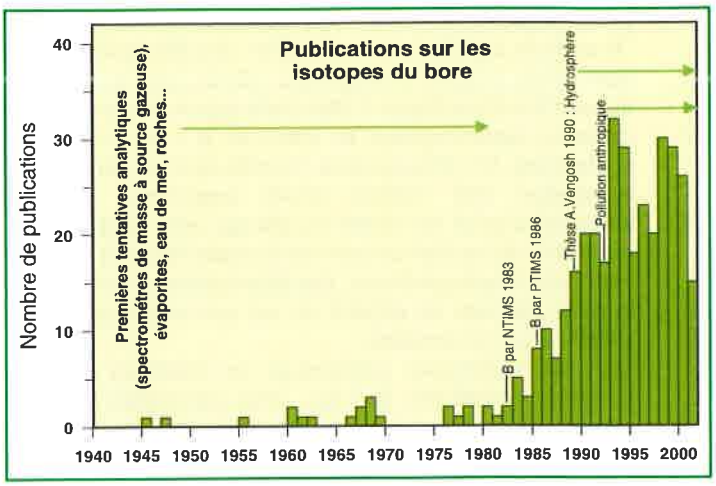


Figure 3 - Évolution du nombre de publications sur les isotopes du bore dans l'environnement terrestre.
Les premières mesures par spectromètre de masse à source gazeuse étaient peu fiables et entachées d'erreurs importantes. L'introduction du TIMS (spectrométrie de masse par thermo-ionisation), d'abord en mode négatif (NTIMS) en 1983 [34] et ensuite en mode positif (PTIMS) en 1986 [25], a initié l'âge d'or des isotopes du bore. Les premières études du bore dans les eaux continentales datent des années 90 après la thèse pionnière d'Avner Vengosh [26]. L'outil du bore est de plus en plus utilisé pour détecter des pollutions d'origine anthropique.

La nappe rhénane

C'est en combinant plusieurs outils isotopiques que nous pouvons restreindre nos hypothèses sur les écoulements dans une nappe. Prenons l'exemple de l'une des plus importantes nappes alluviales d'Europe, la nappe rhénane, qui s'étend sur trois pays, la Suisse, l'Allemagne et la France [33]. Les isotopes stables de l'eau, ^{18}O et ^{2}H, différencient bien plusieurs origines pour l'eau de cette nappe : les eaux des pluies de la région qui alimentent les rivières et s'infiltrent ensuite dans la nappe sont riches en ^{18}O (domaine B sur *figure 4*). Le Rhin contribue, lui-aussi, à l'alimentation de la nappe dans certains secteurs de son lit. Ses eaux sont appauvries en ^{18}O (domaine A), ce qui est cohérent avec l'altitude élevée de son bassin versant. Ceci fournit un excellent marqueur de son influence sur la nappe. Mais certaines eaux profondes sont également appauvries en ^{18}O alors quelles sont loin de l'influence du Rhin. Les faibles activités ^{14}C de ces eaux nous donnent l'explication : il s'agit ici d'eau « fossiles », vieilles de plus de 10 000 ans, rechargées lors de la dernière glaciation et conservées dans les couches profondes de la nappe. Les mouvements de l'eau y sont donc extrêmement lents (domaine D). On rencontre également des eaux intermédiaires (domaines C et D) qui sont soit des mélanges entre ces « pôles » de recharge, soit des eaux qui ont interagi avec des calcaires.

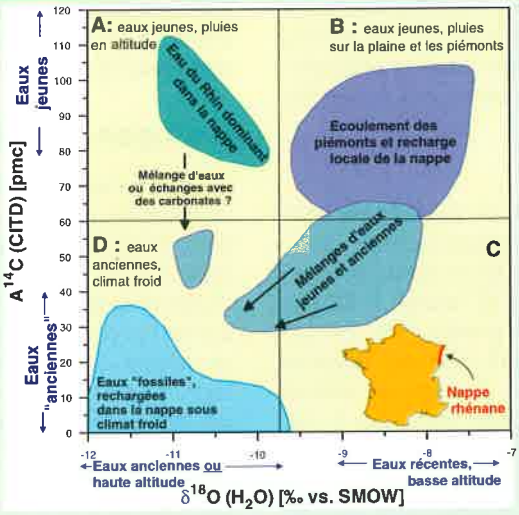


Figure 4 - Représentation schématique des activités ^{14}C et valeurs $\delta^{18}O$ mesurées sur les eaux souterraines de la nappe rhénane en France et en Allemagne [33].

eau potable sont souvent sérieusement affectées par la salinisation et, de surcroît, par des concentrations en bore élevées. L'utilisation des isotopes du bore a pu démontrer que dans de nombreux cas, cette contamination est d'origine naturelle.
Le nombre total d'études sur le bore dans les eaux reste malgré tout très restreint et des lacunes persistent sur la composition isotopique des grandes parties du cycle hydrologique : peu de données existent aussi bien sur les pluies que sur les eaux douces, à l'exception des grandes rivières où le bore est utilisé comme traceur de l'érosion.

Conclusion et perspectives

Le bore se prête ainsi à des études portant sur l'origine de la salinité dans les eaux, sur les interactions eau-roche et sur l'impact anthropique. L'utilisation d'un seul traceur isotopique ne donne souvent pas de réponse univoque à la question posée. D'autres traceurs s'appliquant aux mêmes domaines, la combinaison de plusieurs isotopes permet de restreindre le nombre d'hypothèses concernant le fonctionnement du système naturel que l'on veut étudier. Le concept de la « boîte à outils » multi-isotopique a été utilisé avec succès dans des cas très variés que sont la salinisation des aquifères côtiers, les conditions d'écoulement dans les nappes, les sites d'enfouissement des déchets radioactifs, les champs géothermaux et l'origine des pollutions diffuses (nitrates).
De surcroît, les « nouveaux outils » dans le domaine de l'hydrogéologie isotopique ne sont pas nécessairement associés à de « nouveaux isotopes ». Ainsi, l'analyse du ^{14}C par AMS (spectrométrie de masse par accélérateur) a ouvert la voie à l'application d'un isotope « classique », le radiocarbone, sur un objet nouveau, le carbone organique dissous dans l'eau [30]. Ceci nous fournit un nouvel outil pour l'estimation de « l'âge de l'eau ». Grâce à d'autres avancées analytiques, la composition isotopique (C, H, Cl et N) de certains composants organiques devient accessible [31-32]. Le concept du « fingerprinting » isotopique (empreintes digitales isotopiques des polluants) ouvre des chemins nouveaux dans la détection et le suivi des pollutions des nappes.

Remerciements

Cette synthèse a pu être effectuée grâce à la contribution de la Direction de la Recherche du BRGM et de la Commission Européenne dans le cadre du projet 5e PCRD Boremed (contrat EVKI-CT-2000-00046). Elle a bénéficié des commentaires et suggestions de deux relecteurs anonymes. La base de données bibliographiques sur le bore a été constituée par Mlle Juliette Lamy.

Notes

[1]Après les spectromètres de masse à thermo-ionisation (TIMS), déjà bien ancrés dans le domaine de l'eau, ce sont maintenant les ICP-MS multicollecteur qui arrivent peu à peu, instruments d'une précision et d'une souplesse d'utilisation inégalées. La plupart des nouveaux systématiques isotopiques sont développés par l'un des deux systèmes, TIMS ou ICP-MS multicollecteur.
[2]D'autres isotopes « émergents » ceux du strontium, de l'uranium, du chlore..., sont déjà mentionnés comme outils potentiels par Fritz et Fontes [1].
[3]Les **isotopes environnementaux** sont naturellement présents dans l'environnement par opposition aux **traceurs isotopiques artificiels** qu'on introduit dans un système afin d'étudier son comportement : on peut ainsi marquer au ^{14}C certains polluants organiques, phytosanitaires et autres, pour suivre leurs migrations dans le sol. Les hydrologues, eux, ont recours à des tests de traçage en injectant dans les aquifères des eaux enrichies en deutérium (le tritium radioactif étant passé de mode...), ou marquées par une grande variété de colorants et substances chimiques. Ils parviennent ainsi à déterminer le fonctionnement hydraulique d'un aquifère.
[4]Site de BOREMED : http://boremed.brgm.fr

Références

[1] Fritz P., Fontes J.C., *Handbook of Environmental Isotope Chemistry, 1, The Terrestrial Environment, A*, Elsevier, **1986**.
[2] Clark I., Fritz P., *Environmental Isotopes in Hydrogeology*, Lewis, **1997**.
[3] Arnold J.R., Libby W.F., *Science*, **1949**, *110*, p. 678.
[4] Münnich K.O., *Naturwissenschaften*, **1957**, *46*, p. 10.
[5] Collon P., Kutschera W., Loosli H.H., Lehmann B.E., Purtschert R., Love A., Sampson L., Anthony D., Cole. D., Davids B., Morrissey D.J., Sherrill B.M., Steiner M., Pardo R.C., Paul M., *Earth and Planetary Science Letters*, **2000**, *182*, p. 103.
[6] Coleman M., Eggenkamp H., Aranyossy J.-F., *Journal of Conference Abstracts*, **2000**, *5(2)*, p. 313.
[7] Bottomley D.R., Gregoire D.C., Raven K.G., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1999**, *58*, p. 1483.
[8] Morgenstern U., Gellermann R., Hebert D., Börner I., Stolz W., Vaikmäe R., Rajamäe R., Putnik H., *Chemical Geology*, **1995**, *120*, p. 127.
[9] Froehlich K., Franke T., Gellermann R., Hebert D., Jordan H., *Isotope techniques in water resources development*, Proc. Int. Symp., **1987**, p. 149.
[10] De La Rocha C., Brzezinski M.A., DeNiro M.J., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **2000**, *64*, p. 2467.
[11] Johnson T., Is there life after 34? Prospects for the « heavy stable isotopes », *Applied Isotope Geochemistry IV*, Pacific Grove, California, 25-29 juin **2001**.
[12] Coplen T.B., Bohlke J.K., De Bievre P., Ding T., Holden N.E., Hopple J.A., Krouse H.R., Lamberty A., Peiser H.S., Revesz K., Rieder S.E., Rosman K.J.R., Roth E., Taylor P.D.P., Vocke Jr R.D., Xiao Y.K., *Pure Appl. Chem.*, **2002**, *74(10)*, p. 1987.
[13] Herbel M.J., Johnson T.M., Tanji K.K., Gao S., Bullen T.D., *J. Environ. Qual.*, **2002**, *31*, p. 1146.
[14] Eggenkamp H.G.M., Coleman M.L., *Chemical Geology*, **2000**, *(167)3-4*, p. 393.
[15] Rao U., Fehn U., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1999**, *63*, p. 1927.
[16] Sturchio N.C., Banner J.L., Binz C.M., Heraty L.B., Musgrove M., *Appl. Geochem.*, **2001**, *16*, p. 109.
[17] Négrel P., Guerrot C., Cocherie A., Azaroual M., Brach M., Fouillac C., *Appl. Geochem.*, **2000**, *15*, p. 1345.
[18] Hillaire-Marcel C., Ghaleb B., Simonetti A., Griepy C., Goldschmidt Conference Oxford (UK), *Journal of Conference Abstracts*, **2000**, *5(2)*, p. 515.
[19] Sharma M., Wasserburg G.J., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1997**, *61*, p. 5411.
[20] Bullen T.D., White A.F., Childs C.W., Vivit D.V., Schulz M.S., *Geology*, **2001**, *29(8)*, p. 699.
[21] Ellis A.S., Johnson T.M., Bullen T.D., *Science*, **2002**, *295*, p. 2060.
[22] Dunlap C.E., Williams R., Flegal A.R., *Applied Isotope Geochemistry IV*, Pacific Grove (CA), *Program and abstracts*, **2001**, p. 65.
[23] Beard B.L., Johnson C.M., Cox L., Sun H., Nealson K., Aguilar C., *Science*, **1999**, *285*, p. 1889.
[24] Mandernack K.W., Bazylinski D.A., Shanks W.C. III, Bullen T.D., *Science*, **1999**, *285*, p. 1892.
[25] Spivack A.J., Edmond J.M., *Anal. Chem.*, **1986**, *58*, p. 31.
[26] Vengosh A., PhD Thesis (Australian National University, Canberra), **1990**.
[27] Vengosh A., Starisnky A., Kolodny Y., Chivas A.R., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1991**, *55*, p. 1689.
[28] Kloppmann W., Négrel P., Casanova J., Klinge H., Schelkes K., Guerrot C., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **2001**, *65*, p. 4087.
[29] Casanova J., Négrel P., Kloppmann W., Aranyossy J.-F., *Geofluids*, **2001**, *1*, p. 91.
[30] Wassenaar L.I., Aravena R., Hendry J.M., Fritz P., *Water Resources Res.*, **1991**, *27*, p. 1975.
[31] Hunkeler D., Aravena R., *Environ. Sci. Technol.*, **2000**, *13*, p. 2839.
[32] Jendrzejewski N., Eggenkamp H.G.M., Coleman M.L., *Appl. Geochem.*, **2001**, *16*, p. 1021.
[33] Bauer M., Elsass P., Kloppmann W., Wirsing G., Eichinger L., *International Journal of Earth Sciences*, **2003** (soumis).
[34] Zeininger H., Heumann K.G., *J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **1983**, *48*, p. 377.

Wolfram Kloppmann
est hydrogéochimiste au BRGM*.

* BRGM, Service Eau, BP 6009, 45060 Orléans.
E-mail : w.kloppmann@brgm.fr

Mélange des eaux de la nappe phréatique et de la rivière

Luc Lambs

Summary **Study of mixed water between ground and river**
Riparian woodlands depend on local hydrological resources and have to adapt to rapid changes in water levels and soil moisture conditions. This leads us to use stable oxygen isotope (^{18}O) and conductivity to trace the distribution and the origin of water. The two main water sources are the river water, coming from upstream rainfall, and the ground water, generally reflecting the mean local rainfall, which can be mixed in the river channel gravel bar. In case of rivers confluence, this model is more complicated due to the presence of a third source of water. Several cases will be presented, from a study realised in the South-West of France downstream of Toulouse and at the confluence of the Garonne and the Ariège rivers.

Mots-clés **Isotopes stables, oxygène 18, confluence.**
Key-words **Stable isotopes, oxygen 18, river confluence.**

Les rivières ne sont pas seulement le point terminal de l'écoulement des eaux de nappes et le début des systèmes d'eau de surface, mais elles sont aussi les composantes majeures pour l'écologie des forêts riveraines [1]. Dans ces systèmes dynamiques, les arbres sont la mémoire des événements du passé. Le développement et la modification des forêts riveraines reflètent souvent l'évolution des évènements hydrologiques [2]. La plaine alluviale est en fait un point complexe d'interaction entre le système de la rivière et celui de la nappe phréatique [3]. Cette zone de mélange entre l'eau de rivière et l'eau de nappe est appelée la *zone hyporhéique* et est située dans les sédiments autour du chenal de la rivière [4]. Cette zone peut être définie comme les parties saturées interstitielles sous le lit de la rivière et dans les bancs de la rivière, et où une proportion d'eau de nappe s'est infiltrée.

Les isotopes stables, comme ^{18}O ou ^{2}H, sont des outils qui permettent de connaître et suivre l'origine de l'eau : le traçage naturel intrinsèque. Les deux sources principales d'eau, l'eau de rivière et l'eau de nappe, ont souvent des signatures isotopiques différentes. L'eau de rivière provient des précipitations recueillies plus en amont sur le bassin, et sont donc plus appauvries en isotope lourd, en raison de l'effet continental et de l'altitude. L'eau de nappe provient des précipitations locales dont les fluctuations saisonnières, dues notamment aux variations de températures, sont moyennées par l'étendue et la lente vitesse d'écoulement de cette eau. Ces deux sources d'eaux se mélangent dans la zone hyporhéique et au-delà. Pour donner une idée de la répartition horizontale, on peut citer deux cas extrêmes. Pendant les basses eaux de la rivière, l'eau de nappe peut arriver quasiment pure jusque dans le lit mineur de la rivière, alors que pendant les grandes crues, la rivière peut aller loin à l'intérieur des terres et se mélanger à l'eau de nappe locale. Cette zone de mélange est en continuel changement et dépend principalement du niveau de la rivière, de la géométrie et de la composition granulométrie des berges.

Ces eaux de la partie saturée vont ensuite migrer dans la partie insaturée des alluvions et de là être accessibles aux racines des arbres. Cette migration de l'eau engendrée par l'évaporation du sol et de l'évapotranspiration de la végétation, produit un gradient isotopique vertical. Comme il n'y a pas de fractionnement isotopique lors du passage de l'eau du sol dans les racines [5], on peut connaître l'horizon racinaire actif.

Mélange des eaux en milieu alluvial – gradient horizontal

La vallée de la Garonne autour de Toulouse est la partie la plus sèche avec des précipitations annuelles moyennes allant de 600 à 700 mm, alors que l'évapotranspiration peut atteindre 850 à 900 mm. Le piémont des Pyrénées, ainsi que les montagnes elles-mêmes, sont beaucoup plus arrosés et l'eau d'altitude qui en provient est principalement véhiculée par la Garonne. La valeur isotopique moyenne, $\delta^{18}O$, de la Garonne se situe autour - 9 ‰, soit beaucoup plus appauvrie en isotope lourd que la nappe phréatique ayant

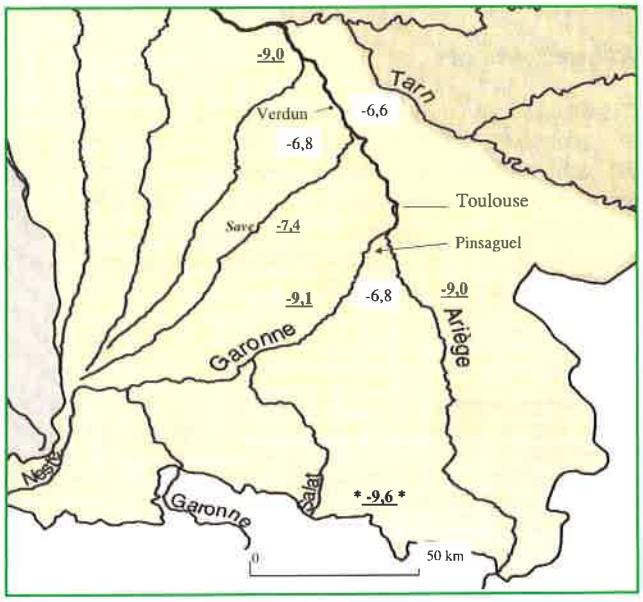


Figure 1 - Valeurs isotopiques ^{18}O des eaux autour de Toulouse (en fond blanc : eau de nappe).

une valeur moyenne de - 6,6 ‰ (voir *figures 1* et *2*). Cette différence de plus de deux unités est suffisante pour discriminer tout au long de l'année l'origine de ces deux eaux. Au niveau des variations, la Garonne, pendant les fontes de neige, peut présenter des valeurs encore plus négatives (jusqu'à - 9,6 ‰) alors qu'au contraire, durant les fortes précipitations de plus basses altitudes, cette valeur peut remonter jusqu'à - 8,2 ‰. La valeur de l'eau de nappe est plus stable au cours de la saison (- 6,63 +/- 0,25 ‰), vu l'effet tampon obtenu (i) par la largeur de la plaine sur la variabilité spatiale des pluies locales, et (ii) par la lenteur de l'écoulement qui permet de faire diminuer les variations saisonnières. En hiver, les valeurs isotopiques de la pluie sont plus négatives ; et ces valeurs sont moins négatives en été, ou moins fractionnées vu les températures plus élevées. Notez qu'effectivement les valeurs isotopiques de la pluie et de la nappe se chevauchent, mais on peut alors les différencier par la conductivité.

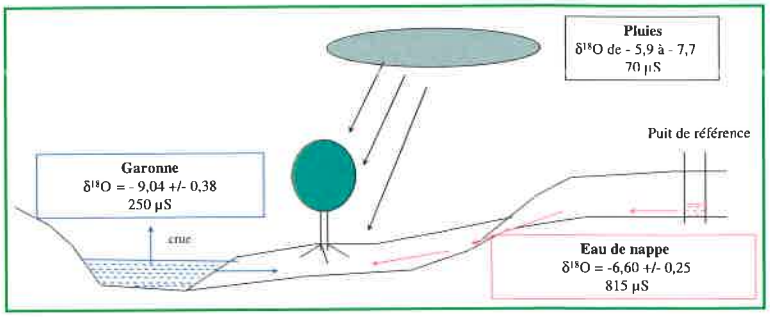


Figure 2 - Origine de l'eau en milieu alluvial pour la végétation riveraine.
Valeurs typiques pour ^{18}O et la conductivité en aval de Toulouse, le long de la Garonne.

Absorption par les plantes – gradient vertical

L'eau de rivière et de nappe se mélangent donc le long des berges dans cette zone hyporhéique dont la largeur peut varier de quelques dizaines de centimètres à plusieurs centaines de mètres. Cette zone peut aussi exister sous la rivière s'il y a suffisamment de gravier, on parle alors de sous-écoulement. Ce qu'il faut retenir, c'est que cette zone de mélange est dynamique et le pourcentage des deux eaux prélevées dans un piézomètre dépend de beaucoup de paramètres hydrologiques. Cette eau de la zone saturée, dont le niveau fluctue régulièrement, va humidifier la zone non saturée du sol. La perte en eau du niveau de la surface due à l'évaporation, et un peu plus en profondeur par l'évapotranspiration des plantes, génère un gradient isotopique vertical. La *figure 3* schématise une série de dispositifs expérimentaux qui permet de mesurer l'origine de l'eau (piézomètre) au pied d'un arbre en milieu alluvial, ainsi que l'activité de ses racines. Les tensiomètres permettent de prélever de l'eau du sol dans la partie non saturée et montrent le fractionnement isotopique vertical. A partir de carottes de bois d'aubier prélevées dans les racines et dans le tronc, on peut extraire la sève et connaître l'eau qui y circule. Sur la racine profonde, la valeur isotopique de - 8,8 ‰ est effectivement proche de l'eau de la nappe à - 9,0 ‰ ; mais à cette période, ce sont les racines de surfaces (- 8,0 ‰) qui alimentent l'arbre vu la concordance avec la sève du tronc à - 8,0 ‰.

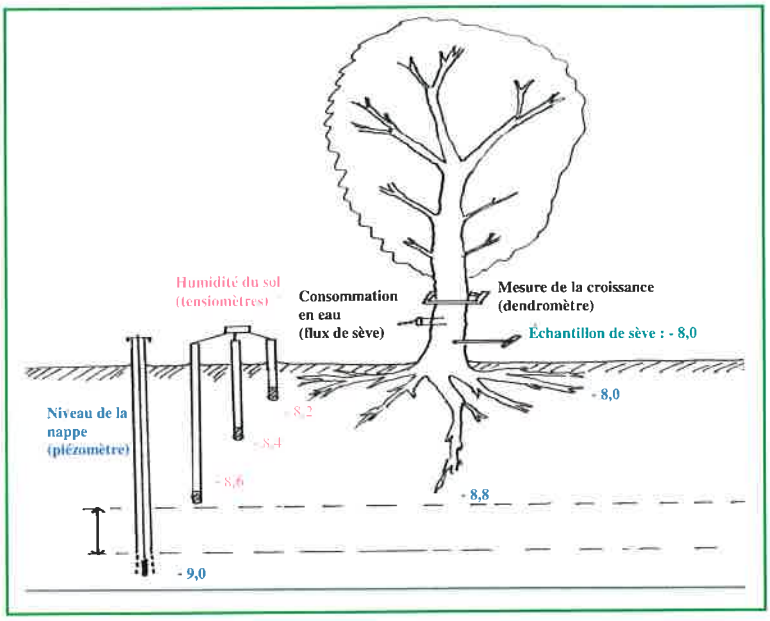


Figure 3 - Équipements autour de l'arbre étudié.
Étude de l'absorption de l'eau de la nappe alluviale jusqu'à la sève d'après l'oxygène 18.

Cas particulier des confluences

Pour le calcul du mélange des eaux à partir des valeurs isotopiques, le cas de deux sources d'eau est l'idéal. Nous avons vu que l'eau de pluie engendre l'eau de nappe et que des petites variations locales peuvent exister. De même, nous avons voulu connaître les variations de la nappe le long de la Garonne sur plusieurs dizaines de kilomètres et là aussi, il y a peu de différence. Si l'on compare la nappe entre la rive gauche (terrasse plus haute) et la rive droite (terrasse plus basse), la différence des moyennes sur plusieurs mois est également faible (- 6,8 et - 6,6 ‰ respectivement). Par contre, dans le cas de confluence entre rivières, une troisième origine d'eau est possible. La *figure 4* reporte les valeurs isotopiques (^{18}O ou ^{2}H) obtenues en fin d'été 2001 pendant les basses eaux de la Garonne. Les prélèvements ont été réalisés en amont de Toulouse à la confluence entre la Garonne et l'Ariège (village de Pinsaguel), à Toulouse même et en aval de Toulouse (village de Verdun).

Les caractéristiques isotopiques de l'Ariège et de la Garonne sont assez proches (- 9 et - 8,7 ‰ respectivement), vu leurs origines montagnardes. On peut noter la faible différence entre l'eau de la Garonne prélevé à Pinsaguel (- 8,7 ‰) et à Verdun (- 8,5 ‰). Par contre, l'eau prélevée à l'entrée de Toulouse sur la rive droite reste proche des valeurs de l'Ariège (- 9 ‰), les eaux pouvant mettre plusieurs kilomètres pour bien se mélanger.

D'un autre côté, les caractéristiques des eaux de nappe de Pinsaguel sont proches de celles de Verdun, ce qui montre l'homogénéité moyenne des eaux de pluie pour ce secteur (environ 70 km de long). Les points notés échantillons (en vert sur la *figure 4*) correspondent aux prélèvements effectués au point de confluence de la Garonne et de l'Ariège, respectivement à la pointe de la confluence en surface (1), idem en profondeur (2) et côté Garonne (3). Si le point 1 correspond assez bien à l'équilibre entre l'Ariège et la Garonne, le point 2 en profondeur montre une plus forte proportion en eau de la Garonne. Quant au point 3, il a été

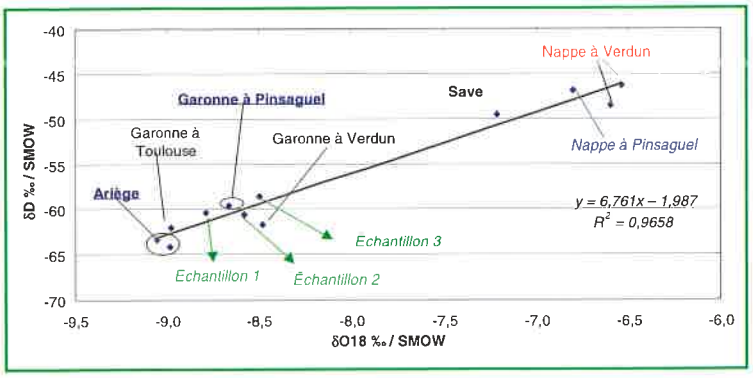


Figure 4 - Relation entre les valeurs $\delta^{18}O$ et $\delta^{2}H$ le long de la Garonne.
Les deux ellipses correspondent aux deux affluents de la confluence, les échantillons de mélange sont en vert.

prélevé proche d'une sortie de nappe. La Save est un affluent mineur alimenté par les coteaux du Gers avec une valeur isotopique intermédiaire entre la Garonne et la nappe phréatique.

Conclusion

L'étude du mélange des eaux entre la nappe phréatique et l'eau de rivière nous permet de mieux comprendre le devenir de l'eau dans les berges alluviales. Ces corridors sont des espaces uniques pour la diversité de la végétation et pour l'influence de cette végétation sur la qualité des eaux. Dans le cas de mélange de seulement deux eaux d'origines différentes, le calcul du mélange est assez aisé. Pour les zones de confluence, où deux types de rivières peuvent se mélanger, les prélèvements doivent être effectués lorsque les différences isotopiques sont les plus fortes.

Références

[1] Woessner W.W., *Ground Water*, **2000**, *38*, p. 423.
[2] Tabacchi E., Lambs L., Guilloy H., Planty-Tabacchi A.M., Muller E., Decamps H., *Hydrological Processes*, **2000**, *14*, p. 2959.
[3] Lambs L., *Chemical Geology*, **2000**, *164*, p. 161.
[4] White D.S., *J. N. Am. Bentol. Soc.*, **1993**, *12*, p. 61.
[5] Ehleringer J.R., Dawson T.E., *Plant Cell Env.*, **1992**, *15*, p. 1073.

Luc Lambs
est chercheur CNRS au Laboratoire Dynamique de la Biodiversité de Toulouse*.

* Ladybio, UMR 5172 CNRS-Université Toulouse III, 29 rue Jeanne Marvig, 31055 Toulouse Cedex 04.
Tél. : 05 62 26 99 82. Fax : 05 62 26 99 99.
E-mail : lambs@ecolog.cnrs.fr
http://www.ladybio.ups-tlse.fr

Devenez Hygiéniste du travail et de l'environnement

L'Institut d'Hygiène Industrielle et de l'Environnement (IHIE) du Cnam vous propose une formation multidisciplinaire validée par un diplôme (niveau Bac+5) du Conservatoire national des arts et métiers (Cnam).

C'est une **formation professionnalisante** comprenant :
- Des enseignements théoriques et pratiques organisés en 5 modules capitalisables totalisant 663 heures et assurés par des enseignants universitaires et professionnels, et
- Une mission en entreprise (stage pratique) de 700 heures assurant une expérience professionnelle.

Niveau requis pour accéder à la formation Hyten de l'IHIE :
- Bac + 4 scientifique ou technique minimum, ou
- Bac + 2 scientifique et validation des acquis professionnels.

Renseignements et inscriptions :

Cnam - Ihie Nord
Avenue des Facultés
80025 AMIENS cedex 01
Tél. 03 22 33 65 68
dossanto@cnam.fr

Cnam – Ihie Ouest
122 rue de Frémur
BP 240
49002 ANGERS cedex 01
Tél. 02 41 66 10 60
Ihie@cnam-paysdelaloire.fr

Cnam – Ihie Rhône Alpes
181 av. J. Jaurès
BP 7058
69348 LYON cedex 07
Tél. 04 78 61 95 62
Catherine.ygnace@cnam.fr

Cnam – Ihie Paca
360 Chemin Madrague
Ville, Pl.des Abattoirs, 13344
Marseille Cdx 15
Tél. 08 07 68 41 29
cosserat@cnam.fr

Cnam - Ihie Paris
292 rue St-Martin
75141 PARIS Cedex 141
Tél. 01 53 01 80 62
Ihie@cnam.fr
http://www.cnam.fr/instituts/ Ihie

CONSERVATOIRE NATIONAL DES ARTS ET MÉTIERS
I.H.I.E.

Datation des événements magmatiques ou métamorphiques

Alain Cocherie

Summary **Dating of magmatic and metamorphic events**
On one hand, conventional isotopic instruments (TIMS or gas source mass spectrometer) become more and more powerful allowing to date geological events with an increasing precision, below 1 Ma. On the other hand, the high resolution ion microprobes allow to reduce the size of the studied mineralogical domains down to 20 µm. A rapid overview of methods is proposed as well as a recent application of the related isotope techniques.

Mots-clés **Géochronologie, système isotopique, spectrométrie de masse, microsonde ionique.**
Key-words **Geochronology, isotope system, mass spectrometry, ion microprobe.**

Nous nous intéresserons ici aux méthodes de détermination d'âges absolus sur minéraux ou roches totales nécessitant le recours aux isotopes radiogéniques. L'insertion de cette contribution dans un numéro thématique consacré aux isotopes stables peut sembler paradoxale puisque la datation absolue d'un système géologique fait nécessairement appel aux isotopes naturels radioactifs. Toutefois, la radioactivité naturelle des systèmes étudiés en géochronologie est extrêmement faible, les périodes de désintégration étant très longues et les éléments radioactifs étant présents en faible concentration dans les minéraux. De plus, il ne s'agit pas ici de mesures de radioactivité. La mesure des âges passe par celle des rapports d'abondances isotopiques à l'aide de spectromètres de masse, à la manière de ce qui est fait pour les isotopes stables *stricto sensu* : spectromètres à thermo-ionisation (TIMS), à source gazeuse, à source plasma et secteur magnétique (MC-ICPMS) ou microsonde ionique (SIMS) de haute résolution.

Mais ne pouvant prétendre traiter toute la géochronologie en quelques pages, nous n'aborderons ni la datation des phénomènes géologiques récents (< 1 Ma), ni la chronologie relative des milieux sédimentaires, pas plus que les méthodes utilisées en paléontologie comme l'étude des fossiles. Un exemple de ce que peut apporter la datation *in situ* à l'aide de la SIMS sera développé.

Depuis que les principes de la tectonique des plaques sont établis, il apparaît fondamental de dater les grandes étapes des divers mouvements de ces plaques depuis leur création jusqu'à leur résorption. Les événements thermiques associés doivent donc être datés. Ils se traduisent de diverses façons : mise en place de roches plutoniques (granites...) ou de coulées de laves, métamorphisme accompagné de la recristallisation totale ou partielle de certains minéraux... Le principe général de la géochronologie est de mesurer le temps t écoulé depuis la solidification des minéraux et roches (fermeture des systèmes géologiques) jusqu'à l'instant présent. L'association d'un système isotopique avec une espèce minérale constitue un géochronomètre. La mesure de l'âge de réouverture partielle d'un système géologique (à partir de minéraux séparés, par exemple) peut aussi parfois conduire à la datation d'un événement métamorphique d'un grand intérêt.

L'âge t recherché sera significatif à certaines conditions :
1- Le système, isotopiquement homogène, doit être resté chimiquement clos, aussi bien du point de vue de l'isotope père que de l'isotope fils ;
2- Il faut tenir compte du nombre d'isotopes fils initialement présents dans le système ;
3- La constante radioactive doit être connue avec précision pour obtenir un chronomètre atomique absolu.

Moyens mis en œuvre pour mesurer les âges

Si l'on considère le système Rb-Sr (voir *encadré*), il en ressort que nous disposons d'un isotope père radioactif (^{87}Rb) et d'un isotope fils radiogénique (^{87}Sr). A ces derniers s'ajoutent souvent un ou plusieurs isotopes, non radioactifs et non radiogéniques, présents en quantité constante (^{84}Sr, ^{86}Sr, ^{88}Sr, dans notre exemple).

La mesure des rapports isotopiques entre les isotopes pères ou fils et l'un des isotopes de référence est souvent

Principes de la géochronologie : exemple du système Rb-Sr

A ce système correspond la réaction nucléaire suivante :

$$^{87}Rb \rightarrow {}^{87}Sr + \beta^-$$

A partir de l'équation générale de la radioactivité :

$$N_t = N_o\, e^{-\lambda t} \qquad (1)$$

on déduit l'équation d'âge :

$$t = 1/\lambda\, \mathrm{Log}(N_t'/N_t + 1) \qquad (2)$$

avec N_t, nombre d'isotopes pères présents actuellement (^{87}Rb) ;
N_o, nombre d'isotopes pères présents initialement ($^{87}Rb_o$) ;
N_t', nombre d'isotopes fils présents actuellement (^{87}Sr) ;
et λ, constante de désintégration radioactive ($1{,}42.10^{-11}.an^{-1}$).

Après désintégration radioactive, l'isotope fils (^{87}Sr) se trouve dans le site cristallographique de l'isotope père (^{87}Rb), chimiquement différent ; donc *a priori* ce site est souvent mal adapté. En outre, cette réaction nucléaire s'accompagne d'une libération d'énergie favorable à l'ouverture du site accepteur. Par conséquent, des phénomènes comme l'altération chimique ou la diffusion physique sont susceptibles d'entraîner des pertes des isotopes fils, c'est-à-dire que le système peut ne pas rester clos. Souvent, l'utilisation de diagrammes adaptés permet de contrôler le maintien à l'état fermé du système.

indispensable. Depuis les années 50, l'instrument le plus largement utilisé pour les mesures isotopiques est le TIMS (accélération par un champ électrique des ions émis thermiquement et séparations des divers isotopes en fonction de leur masse). Cette méthode suppose une purification chimique préalable de l'élément à analyser. Au début des années 80, il devient possible de détecter simultanément les courants d'ions séparés sur des collecteurs multiples, et donc de s'affranchir des instabilités inhérentes à l'émission, ce qui conduit à une très grande précision sur la mesure des rapports isotopiques. Ainsi, le rapport $^{87}Sr/^{86}Sr$ peut être mesuré avec une incertitude relative de 0,002 %.
Parallèlement, le développement des SIMS (microsondes ioniques) de haute résolution permet maintenant la détermination des rapports isotopiques ponctuellement, sans purification préalable, l'échelle d'investigation étant progressivement ramenée de 30 à 15 µm. Récemment, une alternative possible à l'utilisation des microsondes ioniques, investissement très lourd, apparaît avec le couplage d'un système d'ablation laser à un spectromètre de masse à ionisation par plasma induit (MC-ICP-MS). Pour les méthodes spécifiques K-Ar et ^{39}Ar-^{40}Ar, se rapportant à des gaz, un spectromètre de masse à source gazeuse est indispensable.
Enfin, à partir des années 90, grâce à l'amélioration des performances des microsondes électroniques, une géochronologie « chimique », c'est-à-dire non isotopique, est devenue réalisable sur monazite puisque la quantité de l'isotope fils présent initialement dans le minéral étudié est totalement négligeable devant son abondance actuelle suite à la désintégration des isotopes pères (^{232}Th, ^{235}U et ^{238}U), et que le ^{232}Th est un constituant stœchiométrique, par conséquent abondant dans ce minéral. Cette méthode non isotopique ne sera pas traitée ici (voir [1-2]).

Les diverses méthodes

Schématiquement, on peut distinguer trois types de méthodes qui sont développées dans des ouvrages de références [3-4].

Méthodes potassium-argon : K-Ar, Ar-Ar

Ces systèmes isotopiques permettent de dater certains types de roches totales et les minéraux séparés.

Méthode K-Ar

Le schéma de désintégration du ^{40}K est complexe : à 88,8 %, il donne du ^{40}Ca (β^-) ; à 11,2 %, il se désintègre en ^{40}Ar de trois façons différentes, mais essentiellement (11 %) par capture électronique avec émission γ lors du retour à l'état fondamental du ^{40}Ar excité. Accessoirement, il existe une capture électronique sans émission γ (0,16 %) et une réaction $^{40}K \rightarrow {}^{40}Ar + \beta^+$ très rare (0,001 %).
La formule du calcul de l'âge est :
$t = 1/(\lambda_K + \lambda_\beta)\ \mathrm{Log}[1 + (\lambda_K + \lambda_\beta)x(^{40}Ar/^{40}K)]$
avec $\lambda_K = 0{,}581.10^{-10}.an^{-1}$
et $\lambda_\beta = 4{,}962.10^{-10}.an^{-1}$.
On obtient le rapport $^{40}Ar/^{40}K$ en mesurant ^{40}Ar radiogénique par dilution isotopique et le potassium par une méthode physico-chimique (absorption atomique, par ex.), en utilisant sa teneur en ^{40}K dont la valeur, 0,0117 %, est constante dans la nature à des échantillons exceptionnels près.
La principale difficulté de la méthode est liée à l'existence d'Ar dans l'atmosphère (99 % d'^{40}Ar). Cependant, la constance du rapport $^{40}Ar/^{36}Ar$ dans l'air permet la correction de l'Ar atmosphérique. Deux cas de figures potentiels compliquent l'interprétation des âges obtenus :
1- Une perte d'Ar par diffusion sous l'action d'événements thermiques, même de courte durée et de faible intensité, est fréquente ;
2- Le piégeage initial d'Ar radiogénique, avant fermeture du chronomètre, en relation avec la circulation de fluides, peut entraîner le calcul d'âges trop anciens.
Dans la mesure où les températures de fermeture de certains minéraux sont connues et que ces minéraux sont des « pièges » efficaces vis-à-vis de l'Ar radiogénique, ils peuvent permettre de dater le dernier événement thermique ayant affecté un ensemble géologique donné. C'est le cas par exemple du feldspath potassique (150-200 °C), de la biotite (300-350 °C), de la muscovite et de la hornblende. En roches totales, les applications concernent des roches de refroidissement rapide (volcanites) et d'âge récent (entre 1 et 10 Ma) en raison des constantes de désintégration et de l'ouverture à relativement basse température des minéraux constitutifs. Des roches ayant une matrice vitrifiée seront écartées car le comportement de l'Ar dans les verres est très variable.

Méthode ^{39}Ar-^{40}Ar

C'est une variante de la méthode précédente pour la mesure du potassium. Par activation neutronique, on a la réaction suivante :

$$^{39}K + \text{neutron} \rightarrow {}^{39}Ar + \text{proton (n, p)}$$

On peut alors mesurer ^{39}Ar par spectrométrie au même titre que $^{40}Ar/^{36}Ar$. La teneur en ^{39}Ar est directement proportionnelle à ^{39}K, d'abondance 93,258 %, et donc à ^{40}K dans la roche. Ceci permet donc de déterminer en une seule mesure les teneurs en isotopes parents et fils par comparaison avec un échantillon de référence irradié simultanément. Cette facilité autorise le traitement par palier de température croissante de l'échantillon jusqu'à sa fusion. L'Ar radiogénique libéré aux basses températures est associé à des sites fragiles. A températures croissantes, les âges restent inchangés, l'Ar est extrait des sites rétentifs, les âges $^{40}Ar/^{36}Ar$ restent constants et sont les plus proches de l'âge réel recherché. L'allure des spectres d'âges obtenus est significative des événements perturbateurs ayant affecté le minéral.
Les deux méthodes, ^{39}Ar-^{40}Ar et K-Ar conventionnelle, coexistent selon les applications : schématiquement, on appliquera la méthode K-Ar conventionnelle aux roches et minéraux (micas, amphiboles) à histoire simple et donc plutôt assez jeunes (à partir de quelques Ma), tandis que la méthode ^{39}Ar-^{40}Ar sera réservée aux minéraux issus de roches à histoire plus complexe dans une gamme d'âges pouvant s'étendre de quelques Ma à 1 000 Ma.

Méthodes de type isochrone

L'archétype de ces méthodes est la méthode de datation Rb-Sr (voir *encadré*). Elles sont basées sur l'équation (2), modifiée et exprimée sous forme de rapport isotopique (^{86}Sr stable étant pris comme isotope de référence) :

$$(^{87}Sr/^{86}Sr)_{t,\ mes} = (^{87}Sr/^{86}Sr)_o + (^{87}Sr/^{86}Sr)(e^{\lambda t} - 1)$$

Si la constitution isotopique du Sr est initialement la même pour tous les échantillons analysés (roches et/ou minéraux), ils définissent une droite, ou isochrone, de pente ($e^{\lambda\tau}$ - 1), permettant de calculer l'âge t, tandis que l'ordonnée à

l'origine donne la constitution isotopique initiale de l'éléments fils.
Ces méthodes sont applicables aux roches totales comme aux minéraux séparés. Elles ont en commun le nécessaire usage d'un diagramme isochrone dont la pente donne l'âge recherché. Un minimum de cinq ou six analyses est indispensable pour définir la pente de la droite. L'âge calculé n'a de sens que si les divers échantillons ont cristallisé à partir d'un système magmatique unique et homogène isotopiquement. Dans le cas de datations sur roches totales, il est indispensable que ce liquide magmatique se soit différencié lors de la cristallisation, afin d'occasionner un étalement des points dans le diagramme isochrone, suite à la variation du rapport : élément père sur élément fils. Dans le cas des analyses sur minéraux séparés, cet étalement des points sera souvent très favorable, mais l'obtention d'un âge ne sera significative que si la fermeture des divers systèmes minéralogiques s'effectue simultanément pour chacun d'entre eux. On peut citer les méthodes suivantes :
- Rb-Sr : la période couverte s'étend de 10 Ma jusqu'à l'âge de la Terre (4 550 Ma) ;
- Sm-Nd : le comportement géochimique de ces deux terres rares est très similaire, ce qui implique un usage en géochronologie surtout réservé aux minéraux séparés qui seuls permettent un étalement des points analytiques ;
- Re-Os : une application intéressante concerne la datation de molybdénite, riche en Re et dépourvue de Os ;
- enfin, la méthode Lu-Hf.

Méthode U-Th-Pb sur minéraux séparés

On peut considérer que les trois chaînes de décroissance de ^{238}U, ^{235}U et ^{232}Th sont en équilibre séculaire pour des âges > 1 Ma. On raisonne à l'aide des réactions nucléaires simplifiées :
- $^{238}U \rightarrow {}^{206}Pb$ ($\lambda = 1{,}55125.10^{-10}.an^{-1}$)
- $^{235}U \rightarrow {}^{207}Pb$ ($\lambda = 9{,}8485.10^{-10}.an^{-1}$)
- et $^{232}Th \rightarrow {}^{206}Pb$ ($\lambda = 0{,}49475.10^{-10}.an^{-1}$)

L'association des deux premiers chronomètres est la plus précise et la plus utilisée pour obtenir des âges relativement anciens (> 10 Ma). Les minéraux retenus contiennent de l'U et du Th et sont, si possible, dépourvus de Pb initial. Les rapports fils/père ($^{206}Pb/^{238}U$ et $^{207}Pb/^{235}U$) sont corrigés grâce à la mesure du rapport isotopique $^{206}Pb/^{204}Pb$ où l'isotope ^{204}Pb, non radiogénique, est pris comme référence. Cette correction suppose la connaissance des rapports $^{206}Pb/^{204}Pb$ et $^{207}Pb/^{204}Pb$ dans le minéral à dater, lors de sa cristallisation. Ces rapports approchés, dits de « Pb commun », sont donnés par un modèle d'évolution isotopique du Pb dans la croûte terrestre [5]. Il est alors possible de reporter les analyses, corrigées du Pb initial, dans le diagramme Concordia [6] $^{206}Pb/^{238}U = f(^{207}Pb/^{235}U)$, cette courbe étant le lieu de tous les points pour lesquels l'âge $^{206}Pb/^{238}U$ est égal à l'âge $^{207}Pb/^{235}U$. Le minéral le plus utilisé est le zircon. C'est un minéral très réfractaire contenant très peu de Pb initial et relativement fréquent dans les roches. Dans ce diagramme, les minéraux à histoire simple se placent sur la Concordia pour donner directement l'âge de cristallisation du minéral. L'analyse peut s'écarter de la Concordia si elle est représentative d'un mélange de deux âges, comme dans le cas d'une réouverture partielle du système lors d'un métamorphisme. Une perte partielle de Pb radiogénique peut aussi intervenir dans le cas de minéraux altérés et/ou particulièrement riches en U. Dans ce dernier, une perte de Pb_{rad} par diffusion est souvent évoquée. On dira alors que l'analyse est discordante.
Deux techniques sont principalement utilisées pour obtenir des données exploitables dans le diagramme Concordia :
1- Après mise en solution d'un monominéral et ajout de traceurs isotopiques artificiels de Pb et U, les rapports isotopiques du Pb et de U sont mesurés sur TIMS et les teneurs en U et Pb sont déterminées à l'aide du même appareil par dilution isotopique : c'est la méthode conventionnelle [7].
2- Plus récemment, la mise au point d'une microsonde ionique de haute résolution ($M/\Delta M \sim 5\,000$) a permis de réaliser le même type de mesures *in situ* à l'échelle de 20 µm [8].
En routine, la première technique permet d'obtenir une incertitude absolue comprise entre 1 et 3 Ma et la seconde entre 3 et 5 Ma, quelle que soit la gamme d'âges concernés. Une étude récente [9] souligne la très grande précision qu'il est possible d'atteindre à l'aide de la méthode U-Pb conventionnelle : les zircons de différentes parties d'un même pluton granitique (Tuolumne, États-Unis) donnent des âges compris entre 92,6 ± 0,2 et 88,1 ± 0,2 Ma. L'auteur conclut que la durée de mise en place de ce granit est d'environ 5 Ma. Ceci met en évidence le peu de signification géologique de précisions < 1 Ma sachant que le remplissage en continu d'une chambre magmatique et la mise en place du pluton correspondant peuvent prendre plusieurs millions d'années. Une autre voie de développement de cette discipline est l'analyse de domaines minéralogiques sans cesse plus petits qu'il est possible d'obtenir avec les sondes ioniques (15 µm).

Exemple d'apport des datations U-Pb ponctuelles

L'histoire des minéraux réfractaires est souvent complexe : plusieurs événements peuvent être enregistrés par un même grain. En conséquence, l'analyse globale, y compris d'un grain unique, peut conduire à un âge précis mais sans signification géologique, car résultant d'un mélange d'âges. Par contre, après montage en section polie et abrasion de la surface jusqu'à l'équateur des cristaux (zircons dans notre exemple), l'étude préalable au microscope électronique à balayage donnant des images en cathodoluminescence (*figure 1a*) et au microscope optique en lumière transmise (*figure 1c*) permet d'éviter les grains ou les domaines mal cristallisés (perte de Pb radiogénique probable). Ensuite, l'analyse *in situ* à la microsonde ionique de domaines limités (< 20 µm) permet d'éviter les défauts cristallins, fractures et inclusions susceptibles de contenir du Pb initial indésirable et donc de travailler sur des

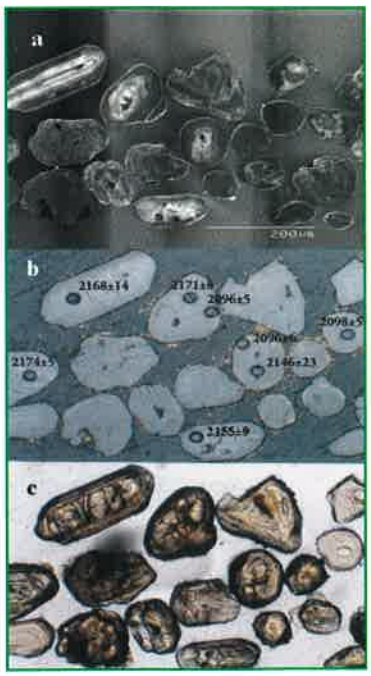


Figure 1 - (a) Image en cathodoluminescence, réalisée avant les analyses sur la Shrimp, pour un groupe de zircons représentatifs d'un gneiss migmatitique de Guyane ; (b) Image effectuée en lumière réfléchie, sur les mêmes zircons, après les analyses. On peut observer la trace des impacts (18-20 µm) laissée sur les grains par le faisceau d'ions primaires O_2^- ; (c) Photo correspondante en lumière transmise.

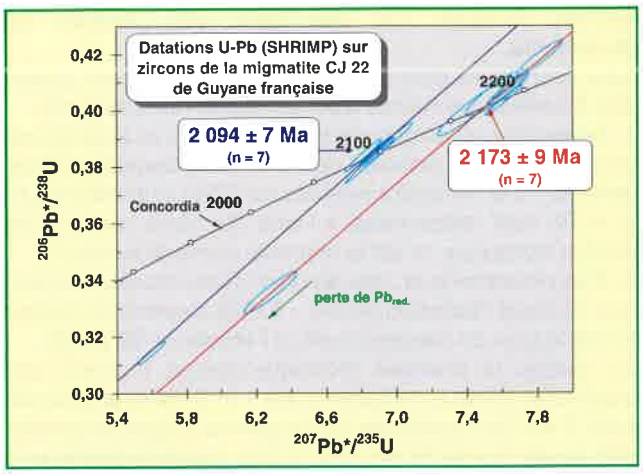


Figure 2 - Diagramme U-Pb Concordia pour les analyses ponctuelles effectuées sur les zircons du gneiss migmatitique de Guyane.
Pour faciliter la lecture du diagramme, les ellipses d'erreur sont portées à ± 1σ, mais les calculs sont effectués à ± 2σ.

domaines sains et homogènes qui conduisent à des analyses concordantes, faciles à interpréter (*figure 2*).
Un exemple est donné par les zircons extraits d'un gneiss migmatitique de Guyane française à la frontière du Brésil. On observe des zircons mal formés, aux contours difformes et d'aspect erratique en cathodoluminescence (*figure 1a*) : ces grains ne seront pas analysés. Ensuite, on distingue deux populations de grains : les uns sont allongés et relativement clairs en cathodoluminescence, tandis que les autres sont plus petits, ronds et très sombres. On remarque aussi des grains allongés entourés d'une surcroissance sombre. Sur les photos au microscope optique, réalisées en lumière réfléchie (*figure 1b*) et transmise (*figure 1c*) après les analyses, on distingue nettement la trace laissée par le faisceau d'ions primaires (18-20 µm) de la Shrimp II : SIMS de Canberra (Australie). Les âges ponctuels $^{207}Pb^*/^{206}Pb^*$, corrigés du Pb initial, y ont été reportés. On constate que les zircons allongés donnent des âges voisins de 2 170 Ma, tandis que les grains arrondis et les bords de certains grains allongés donnent des âges significativement plus jeunes à 2 100 Ma. Les deux âges intermédiaires à 2 155 et 2 146 Ma n'ont pas de signification géologique : ils correspondent à des mélanges d'âges. La totalité des autres analyses se distribue sur la Concordia en deux populations de points distinctes : l'une à 2 094 ± 7 Ma et l'autre à 2 173 ± 9 Ma (*figure 2*). Les incertitudes sont calculées à 95 % de confiance (2σ). Parallèlement, les monazites extraites de la même roche donnent un âge « chimique » unique U-Th-Pb (microsonde électronique) à 2 168 ± 2 Ma [10]. La datation ponctuelle des monazites et des zircons permet de reconstituer l'histoire de cette migmatite. Les premiers zircons allongés et la monazite ont cristallisé initialement et simultanément vers 2 170 Ma, datant ainsi la mise en place de la roche magmatique initiale (le protolithe). Environ 80 Ma plus tard, un événement métamorphique intense provoque la fusion partielle de ce protolithe et conduit au gneiss migmatitique (ou migmatite) actuellement observé. Certains zircons du protolithe ont résisté à cet événement tandis que de nouveaux zircons se sont formés à cette occasion ou ont crû sur les zircons préexistants servant de germe. L'intérêt de cette étude réside aussi en la mise en évidence du caractère très réfractaire de la monazite. En effet, la monazite donne non pas l'âge de la migmatisation comme le laissait penser la température de fermeture de ce minéral supposé moins réfractaire que le zircon, mais l'âge du protolithe. Cet exemple montre l'apport déterminant des datations ponctuelles permettant l'analyse de très petits domaines homogènes, de grande qualité cristallographique, y compris lorsque les minéraux disponibles sont rares, petits et hétérogènes du point de vue géochronologique.

Conclusion

A mesure que les moyens d'investigation permettent une géochronologie plus fine, la complexité des minéraux à dater apparaît plus grande. Ainsi, les deux méthodes les plus utilisées sont les méthodes U-Pb et Ar-Ar qui se prêtent bien à la datation monominérale ou même *in situ*. Elles sont complémentaires car elles s'adressent à des minéraux différents et peuvent dater des événements distincts ayant affecté un même ensemble géologique. Les méthodes isochrones peuvent aussi apporter un appui géochronologique complémentaire ainsi que des informations d'ordre géochimique dans la recherche de sources.

Remerciements

Je tiens à remercier C. Guerrot et O. Legendre avec qui j'ai eu des discussions fructueuses, ainsi que E. Soulié et E. Roth qui m'ont aidé à améliorer cette contribution.

Références

[1] Cocherie A., Legendre O., Peucat J.-J., Kouamelan A.N., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1998**, *62*, p. 2475.
[2] Cocherie A., Albarède F., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **2001**, *65*, p. 4509.
[3] Roth E., Poty B., *Méthodes de datation par les phénomènes nucléaires naturels, applications*, Masson, Paris, **1985**.
[4] Faure G., *Principles of isotope geology*, J. Wiley and sons, New York, **1986**.
[5] Stacey J.S., Kramers J.D., *Earth Planet. Sci. Lett.*, **1975**, *26*, p. 207.
[6] Wetherill G.W., *Trans. Amer. Geophys. Union.*, **1956**, *37*, p. 320.
[7] Krogh T., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1973**, *37*, p. 485.
[8] Compston W., Williams I.S., Clement S.W., Amer. Soc. Mass Spectro. 30th Conference, Honolulu, **1982**, 593.
[9] Coleman D.S., Geol. Soc. Amer., Annual Meeting, Denver, **2002**, 269.
[10] Cocherie A., Be E., Legendre O., Fanning C.M., Faure M., Rossi P., *Amer. Min.*, **2003** (soumis).

Alain Cocherie
est ingénieur-chercheur au BRGM*.

* BRGM, 3 avenue C. Guillemin, BP 6009, 45060 Orléans Cedex 2.
Tél. : 02 38 64 30 85. Fax : 02 38 64 37 11.
E-mail : a.cocherie@brgm.fr

Glossaire

Amphiboles : inosilicates.
Biotite : minéral de la famille des micas noirs (Fe, Mg...).
Cathodoluminescence : suite au bombardement par un faisceau d'électrons (microscope électronique à balayage), certains minéraux présentent une luminescence qui met en évidence notamment les structures de croissance cristalline.
Hornblende : amphibole calcique.
Migmatite : roche à la limite de la fusion totale comportant des parties fondues de composition granitique et d'autres restées à l'état solide (restite).
Micas : phyllosilicates.
Muscovite : minéral de la famille des micas blancs (Al...).
Pluton : massif formé de roches magmatiques, à texture grenue, ayant cristallisé lentement, plus ou moins profondément dans la croûte terrestre.
Protolithe : roche non métamorphique à partir de laquelle une roche s'est formée suite à un processus métamorphique.

Formation du système solaire et de l'Univers

Décryptage au moyen des outils de la cosmochimie isotopique

Étienne Deloule

Summary **Isotopes in cosmochemistry: a tool for decoding the formation of the solar system and the Universe.** The determination of the isotopic composition of various chemical elements in meteorites provides us many useful arguments in order to better understand the formation of the Earth and the solar system, as well as the evolution of the universe. On one hand, the use of radiochronometers has allowed us to determine the age of solar system formation, and to establish a detailed chronology of accretion, from condensation of the first grains to the planetary differentiation. On the other hand, the systematic study of the isotopic composition of the different chemical elements in meteorites provides key data, firstly to better understand the origin of the elements in the solar system and stellar nucleosynthetic processes, and secondly to describe the different processes which enabled or accompanied solar system accretion.

Mots-clés **Isotope, nucléosynthèse, météorite, cosmochimie, accrétion.**
Key-words **Isotope, nucleosynthesis, meteorite, cosmochemistry, accretion.**

La compréhension de l'origine de la Terre est intimement liée à celle de sa composition, actuelle ou passée, ce qui est l'objet de la géochimie, dont un des premiers objectifs a été de mesurer l'abondance des différents éléments. Une fois les premiers points acquis dans cette démarche, la question suivante a été de pouvoir comparer la composition de la Terre à celle du Soleil et des autres objets du système solaire. En posant ces questions, on entre dans les domaines de la cosmochimie et de la cosmologie, l'étude de la composition et de la formation de l'Univers. Comme pour la géochimie, l'étude des compositions isotopiques des éléments va fournir des informations supplémentaires à celles fournies par la description de leur abondance, et nous permettre d'aborder les processus de la nucléosynthèse et l'origine et la formation du système solaire avec beaucoup plus de détails.

L'âge du système solaire et la durée de l'accrétion des planètes

Un premier résultat obtenu grâce à l'étude isotopique des météorites fut la détermination par Clair Patterson en 1956 de l'âge de formation du système solaire à 4,55 Ga (10^9 ans), grâce à la mesure de la composition isotopique du plomb des météorites et de sédiments océaniques, considérés représentatifs de la valeur moyenne de la Terre [1]. Cet âge a ensuite été confirmé par de nombreuses mesures, avec le radiochronomètre Rb-Sr dans un premier temps. L'amélioration des techniques analytiques a permis plus récemment d'obtenir des âges U-Pb précis pour de nombreuses météorites, allant de 4,568 ± 0,003 Ga pour les inclusions réfractaires de la météorite carbonée Allende, à 4,552 ± 0,003 Ga pour les chondrites ordinaires (St Séverin). L'écart observé suggère donc une durée d'au moins 15 Ma (10^6 ans) pour la formation du système solaire, entre la condensation des premiers minéraux qui forment des inclusions réfractaires millimétriques et la formation des corps parents des météorites ordinaires (de taille kilométrique). L'étude des météorites a permis également de déterminer les rapports isotopiques et élémentaires initiaux de différents radiochronomètres (U-Th-Pb, Rb-Sr, Sm-Nd, Lu-Hf). La connaissance des compositions initiales permet de prédire leur évolution en fonction du temps, et donc de bâtir des modèles pour l'évolution des différents réservoirs terrestres.

De nombreuses radioactivités éteintes ont été observées dans les météorites. Il s'agit de radionucléides ayant des périodes de désintégration, suffisamment courtes pour avoir entièrement disparu depuis la formation du système solaire (*tableau I*). Leur présence lors de la formation des météorites est indiquée par la présence de leur produit de désintégration qui provoque des anomalies isotopiques des éléments fils.

La décroissance de ^{129}I (période 16 Ma) en ^{129}Xe produit un excès de ^{129}Xe par rapport aux autres isotopes du Xe. L'importance de l'excès de ^{129}Xe est à la fois proportionnelle au rapport I/Xe et à l'âge de la météorite, si l'on suppose que la composition isotopique de l'iode était distribuée de façon homogène dans le disque d'accrétion [2-3]. La dispersion des valeurs mesurées (*figure 1*) montre une durée de formation de 20 Ma en bon accord avec les âges U/Pb mesurés sur les mêmes météorites. Plusieurs autres isotopes du Xe (^{132}Xe, ^{134}Xe et ^{136}Xe) sont aussi produits par la fission du ^{244}Pu (période 82 Ma). Cette radioactivité éteinte est mise en évidence par des enrichissements en isotope lourd du Xe, et également par les traces de fissions observables dans les minéraux.

La mise en évidence de la **présence d'^{26}Al**, dont la période est 0,7 Ma, lors de la formation du système solaire par Lee *et al.* en 1976 [4] en observant les excès de ^{26}Mg (*figure 2*)

Tableau 1 - **les principales radioactivités éteintes.**
La 1ère colonne donne une liste d'isotopes radioactifs présents lors de la formation du système solaire qui ont maintenant disparu. La 2e colonne indique leur période en millions d'années (Ma), sauf pour le ^{7}Be (en jours), c'est-à-dire le temps nécessaire à la désintégration de la moitié des isotopes présents initialement. Les 3e et 4e colonnes indiquent le mode de décroissance et l'élément fils, la 5e, leur rapport d'abondance initiale par rapport à un isotope stable.

Radionuclide	Demie-vie (Ma)	Décroissance	Élément fils	Rapport d'abondance
^{146}Sm	103	α	^{142}Nd	$^{146}Sm/^{144}Sm \approx 0{,}005$
^{244}Pu	82	α, fission	Xe	$^{244}Pu/^{238}U \approx 0{,}005$
^{129}I	15,7	b	^{129}Xe	$^{129}I/^{127}I \approx 1.10^{-4}$
^{107}Pd	6,52	b	^{107}Ag	$^{107}Pd/^{108}Pd \approx 2.10^{-5}$
^{182}Hf	9	b	^{182}W	$^{182}Hf/^{180}Hf \approx 2.10^{-5}$
^{53}Mn	3,68	b	^{53}Cr	$^{53}Mn/^{55}Mn \approx 4.10^{-5}$
^{60}Fe	1.46	b	^{60}Ni	$^{60}Fe/^{56}Fe \approx 4.10^{-5}$
^{10}Be	1,5	b	^{10}B	$^{10}Be/^{9}Be \approx 9{,}5.10^{-4}$
^{26}Al	0,73	b	^{26}Mg	$^{26}Al/^{27}Al \approx 5.10^{-5}$
^{7}Be	53 jours	b	^{7}Li	

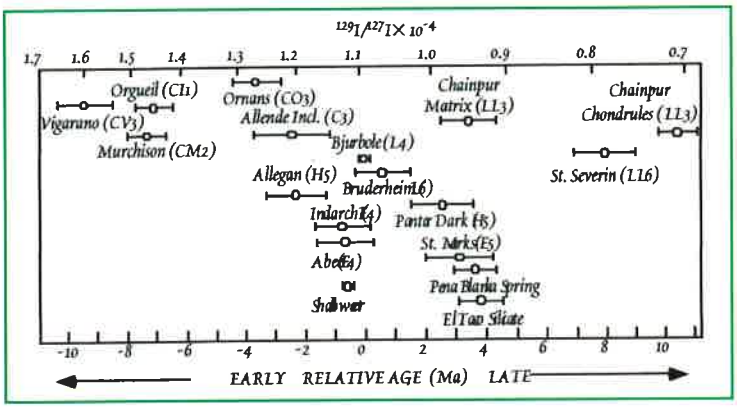


Figure 1 - **Ages I-Xe des météorites.**
La météorite de Bjurböle est utilisée comme référence d'âge, à cause de la bonne reproductibilité des mesures (d'après W. White (1997), données de Swindle et Posodek (1988)).

allait apporter de nouvelles contraintes sur la séquence de formation du système solaire, en impliquant un intervalle de temps court entre la production de l'^{26}Al dans une nova et l'accrétion du système solaire. L'abondance et la courte période de ^{26}Al en font une source de chaleur importante, capable de fondre les corps parents des météorites. L'observation d'une grande disparité du rapport $^{26}Al/^{27}Al$ entre les inclusions réfractaires et les chondres a alimenté un important débat sur sa répartition dans la nébuleuse protosolaire. Une distribution initiale hétérogène de ce rapport rendrait en effet impossible son utilisation comme radiochronomètre. En montrant la bonne corrélation entre les âges U-Pb et ^{26}Al mesurés simultanément sur différentes chondrites H4 et sur des inclusions réfractaires, Zinner et Gopel démontrent une distribution homogène pour au moins cette classe de météorites [5]. Un intérêt de ce chronomètre est la possibilité de mesurer les excès de ^{26}Mg *in situ* par microsonde ionique, donc individuellement sur des objets micrométriques tels que les inclusions réfractaires des météorites les plus primitives.

La mesure d'anomalies isotopiques résultant d'autres radioactivités éteintes de courte période telles que les décroissances du ^{53}Mn en ^{53}Cr [6] ou du ^{60}Fe en ^{60}Ni [7] ont également commencé à produire des datations plus ou moins en accord avec les autres systèmes. L'utilisation de radioactivités éteintes de plus longues périodes (^{146}Sm-^{142}Nd et ^{182}Hf-^{182}W) permet de mesurer la durée de formation des planètes. Ainsi, la formation de la Terre, ou au moins de 80 % de sa masse, et la différenciation de son noyau n'ont sans doute pas duré plus de 30 Ma [8-9]. Nous verrons plus loin que d'autres radioactivités fossiles ne s'interprètent pas en termes d'âge, mais en termes de production de leurs éléments pères lors de l'activité naissante du Soleil, ce qui incite à une grande prudence dans l'interprétation de ces résultats.

Les anomalies isotopiques : nucléosynthèse et processus nébulaire

L'étude systématique des éléments et de leurs isotopes tels qu'on les trouve sur nos planètes a permis aux physiciens de proposer des modèles de nucléosynthèse. Jusqu'au début des années 60, la composition isotopique du système solaire était considérée comme homogène, le gaz protosolaire étant fortement mélangé, et suffisamment chaud pour volatiliser tout solide préexistant. Cette hypothèse fut contredite en 1960 par John Reynolds qui démontra que la composition isotopique du xénon de la chondrite Richardson était différente de la composition terrestre [2]. En effet, la plupart des neuf isotopes du Xe se trouvaient à une abondance excessive par rapport à leur abondance terrestre, alors que seul le ^{129}Xe est produit par la radioactivité éteinte de ^{129}I (voir le spectre du xénon HL en *figure 3*). Si certaines anomalies résultent de radioactivités éteintes, les autres témoignent d'une hétérogénéité du nuage protosolaire dont les météorites ont gardé la trace. Dès lors commençait une chasse aux anomalies isotopiques, dans le but de retrouver les signatures des différents types d'étoiles qui ont fourni les éléments du système solaire.

Nucléosynthèse stellaire

L'étude des isotopes du xénon mit en évidence deux signatures isotopiques différentes, baptisées Xe HL et

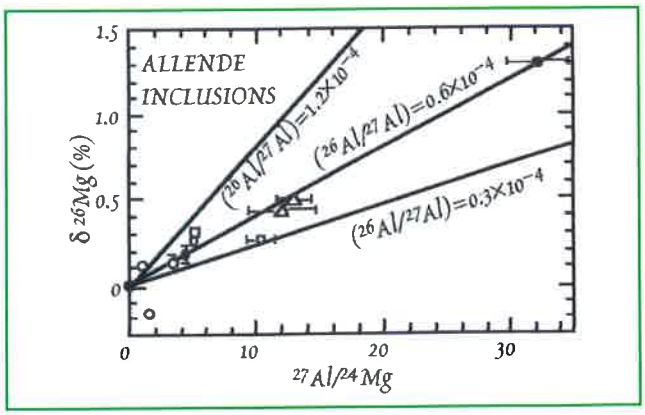


Figure 2 - **Diagramme Isochrone ^{26}Al des inclusions réfractaires d'Allende [4].**
Les différentes droites montrent les relations entre l'excès de ^{26}Mg et le rapport $^{24}Mg/^{27}Al$ pour différents rapports initiaux $^{26}Al/^{27}Al$. Les mesures suivantes montreront que la valeur initiale du rapport $^{26}Al/^{27}Al$ de ces CAI est de 5.10^{-5}.

Xe S (*figure 3*, [10]). La composition du Xe HL présente un enrichissement à la fois des isotopes lourds et légers, alors que celle du Xe S est appauvrie pour tous les isotopes, sauf ^{128}Xe et ^{130}Xe, et correspond à la composition théorique du Xe produit par une nucléosynthèse stellaire de type s.

Les rapports des trois isotopes du néon varient également beaucoup dans les météorites (*figure 4*). Jusqu'à la fin des années 60, ces variations furent attribuées à un mélange entre trois sources : les produits de spallation cosmogénique, riches en ^{21}Ne, le vent solaire riche en ^{22}Ne et le gaz planétaire, riche en ^{20}Ne. En 1969, Black et Pepin [11] mirent en évidence un quatrième pôle, baptisé Ne E, très enrichi en ^{22}Ne, extrait seulement à haute température (900-1 100 °C) de la matrice des chondrites carbonées.

La recherche des phases porteuses de ces anomalies isotopiques conduisit à isoler dans la matrice des météorites primitives des grains micrométriques, résistant à la dissolution dans HF-HCl et à l'oxydation de la matière organique [12], présents à des teneurs de l'ordre du ppm. La purification de cette phase résiduelle a mis en évidence des microdiamants (porteurs du Xe HL) [13], des grains de carbure de silicium [14-15] et de graphite [16] (porteurs du Xe S). Ces phases réfractaires ont préservé leur composition initiale durant l'accrétion du système solaire. Elles sont donc considérées comme des grains présolaires, synthétisés dans des étoiles avant la formation du système solaire. L'étude de leur composition isotopique, essentiellement réalisée par microsonde ionique, a mis en évidence des variations de compositions isotopiques de plusieurs ordres de grandeur de leurs éléments principaux, C, N et Si (*figure 5*). Les environnements stellaires capables de produire ces rapports isotopiques extrêmes sont assez bien identifiés par les physiciens [17].

La combustion de l'hydrogène par le cycle CNO, un cycle de réaction qui consomme de l'hydrogène pour produire de l'hélium par les réactions successives impliquant les différents isotopes de C, N et O dans les géantes rouges, produit ainsi des rapports ^{12}C/^{13}C bas et ^{14}N/^{15}N élevés.

La fusion du carbone dans les géantes rouges et de l'azote dans les novæ aboutit à des rapports ^{12}C/^{13}C et ^{14}N/^{15}N bas, alors que la fusion de l'He en ^{12}C dans les étoiles massives conduit à des rapports ^{12}C/^{13}C très élevés. Sur la *figure 5*, on observe quelques grains (notés X) en dehors de ces trois domaines. Leur étude plus poussée a mis en évidence des excès d'un facteur 2 de ^{49}Ti par rapport à ^{48}Ti

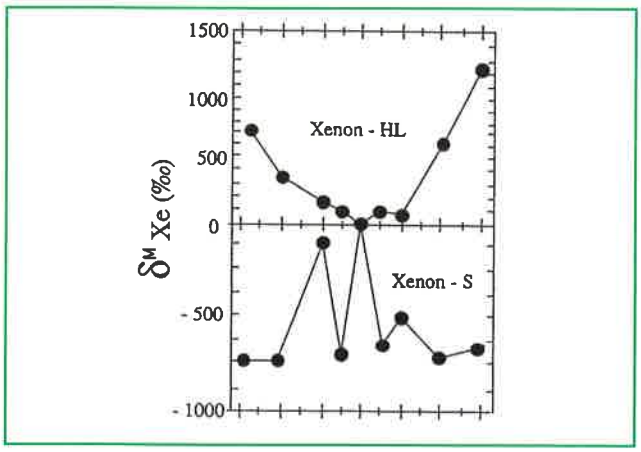


Figure 3 - **Compositions isotopiques du xénon** mesurées dans la phase carbonée des météorites, exprimées en écart à la composition terrestre (d'après [10]).

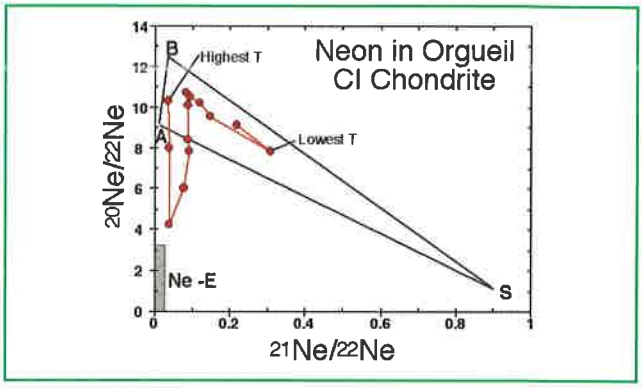


Figure 4 - **Composition isotopique du néon** extrait par paliers de température de la chondrite Orgueil.
Les compositions du Ne E, Ne A (solaire), Ne B (planétaire) et Ne S (produit par spallation) sont reportées (d'après [9]).

et d'un facteur 4 de ^{44}Ca par rapport à ^{40}Ca [18], résultant de la décroissance du ^{44}Ti et ^{49}V, dont les périodes sont respectivement 47 jours et 1 jour. L'origine la plus probable de ces éléments est l'explosion d'une supernova. Les compositions isotopiques du silicium des SiC se reportent sur une droite de pente 1,3 lorsque l'on représente ^{29}Si/^{28}Si en fonction de ^{30}Si/^{28}Si, alors qu'un fractionnement de masse isotopique normal produit un alignement sur une droite de pente 0,5. Cette observation implique la présence d'une source enrichie en ^{29}Si, non identifiée pour l'instant.

L'étude systématique de ces grains présolaires permet ainsi d'observer les produits des différentes voies de

Nucléosynthèse stellaire : type s et type r

Mis à part l'hydrogène et l'hélium produits lors du BigBang, l'ensemble des éléments chimiques sont produits dans les étoiles, lors de la nucléosynthèse stellaire. Les éléments jusqu'à la masse du fer sont produits par fusion nucléaire, leur stabilité augmentant avec leur masse. Au-delà de la masse du fer, la stabilité des éléments va en décroissant, empêchant leur production par fusion nucléaire. Les éléments lourds sont donc produits par capture neutronique. Placé dans un flux de neutrons, un noyau atomique capture des neutrons et produit des isotopes de masse croissante. Pour le cadmium, par exemple, de telles réactions s'enchaînent des isotopes ^{110}Cd à ^{114}Cd : ^{110}Cd (n,γ) ^{111}Cd (n,γ) ^{112}Cd (n,γ) ^{113}Cd (n,γ) ^{114}Cd.

Dans le cas d'un faible flux de neutrons, si un nouvel isotope produit est instable, il se désintégrera par radioactivité β^- en l'élément suivant de la table périodique avant de capturer un neutron additionnel. Ainsi, ^{115}Cd se désintègre avec une période de 54 heures en ^{115}In, à partir duquel sera ensuite produit ^{116}In (période 13 s) et ^{116}Sn (stable). Une telle séquence est appelée nucléosynthèse de type s (pour « slow »), pour laquelle la production des nouveaux isotopes est suffisamment lente pour ne produire que des isotopes stables.

La production de l'isotope stable ^{116}Cd ne peut résulter de ce type de nucléosynthèse. Il faut en effet des flux de neutrons très intenses pour produire les isotopes les plus riches en neutrons, en ajoutant des neutrons aux isotopes intermédiaires instables avant leur décroissance radioactive. Ces isotopes enrichis en neutrons produiront ensuite des isotopes stables lourds par décroissance β^-. Cette nucléosynthèse est dite de type r (pour « rapid »).

Il faut noter que certains isotopes sont produits par ces deux types de nucléosynthèses. Enfin, certains isotopes peu abondants, les plus légers de certains éléments, comme ^{112}Sn et ^{114}Sn, nécessitent un autre type de réaction pour produire des noyaux riches en protons (nucléosynthèse de type p, pour « proton »).

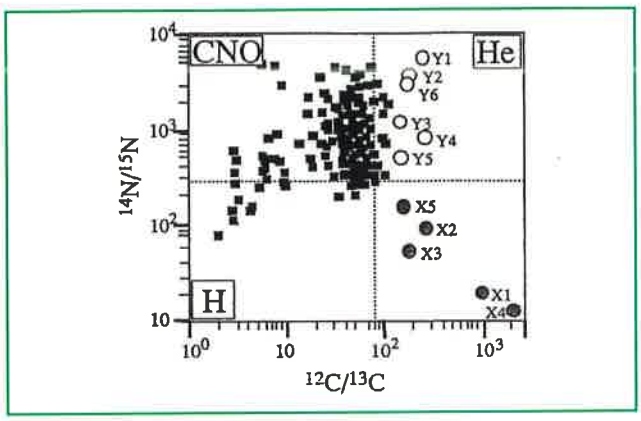


Figure 5 - **Composition isotopique de l'azote et du carbone mesurée dans des grains présolaires de carbure de silicium.** Les lignes en pointillé indiquent les compositions « normales » terrestres de ces deux éléments. Les lettres font référence au processus nucléosynthétique capable de produire les compositions observées (d'après [14]).

nucléosynthèse, et d'apporter des contraintes « de terrain » à la modélisation théorique des processus stellaires.
Parallèlement à ces découvertes réalisées sur des grains présolaires, l'étude des inclusions réfractaires, des inclusions riches en oxydes d'aluminium et de calcium (CAI pour « calcium aluminiun rich inclusion ») condensées à très hautes températures par un refroidissement rapide, a apporté une autre moisson de résultats sur la composition juvénile du nuage protosolaire, avec d'autres anomalies isotopiques. Certaines de ces anomalies, courantes dans ce type de matériel, consistent en un fractionnement isotopique du silicium et du magnésium associé à des cycles successifs (évaporation suivie de condensation) (*figure 6*). D'autres anomalies, moins fréquentes, baptisées « FUN », montrent des surabondances importantes (plusieurs pour mille) des isotopes les plus lourds des éléments proches du pic du fer (^{48}Ca, ^{50}Ti, ^{54}Cr, ^{64}Ni, ^{66}Zn), souvent associées à un déficit en isotope léger. Ces anomalies isotopiques sont interprétées comme la signature d'une nucléosynthèse de type r dans une supernova. Il faut noter d'ailleurs que ces inclusions réfractaires présentent les rapports $^{26}Al/^{27}Al$ les plus élevés observés jusqu'à présent, avec une valeur de 5.10^{-5} définissant ainsi le temps 0 pour ce radiochronomètre.

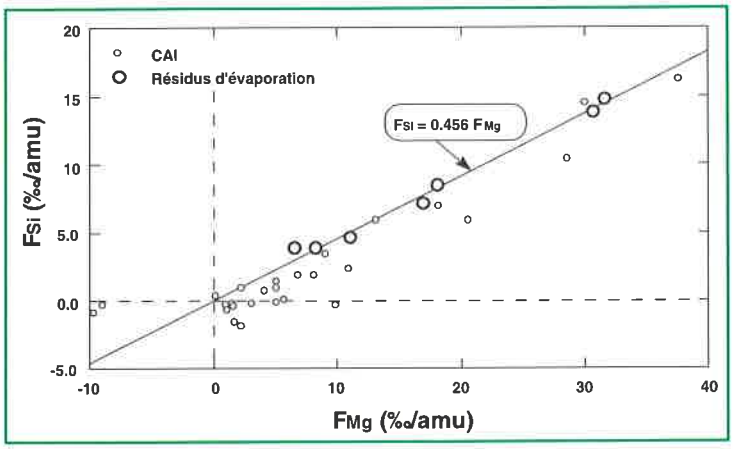


Figure 6 - **Fractionnement isotopique de Si et Mg** dans les résidus d'évaporation expérimentale, dans les CAI de la littérature (d'après [24]).

Processus nébulaire

Jusqu'en 1973, les variations de composition isotopique de l'oxygène dans les météorites ont été attribuées à des fractionnements isotopiques normaux, dépendant de la masse des isotopes. La mesure en 1973 par R. Clayton des trois isotopes de l'oxygène, dont ^{17}O qui ne représente que 0,037 % de O, a mis en évidence des variations de compositions indépendantes de la masse [19]. Sur un graphe représentant $\delta^{17}O$ en fonction de $\delta^{18}O$, un fractionnement dépendant de la masse produit une droite de pente ½, et les points représentatifs des échantillons terrestres s'alignent sur une telle droite. Les différentes classes de météorites s'alignent au contraire sur une droite de pente 1. La première interprétation a été un mélange entre de l'oxygène « normal » et de l'oxygène 16 presque pur, tel qu'il peut être produit par la fusion de l'hélium. Cette hypothèse est controversée depuis les expériences de Thiemens et Heidenreich [20] produisant un enrichissement égal en ^{17}O et ^{18}O lors de la production d'ozone par décharges à haute fréquence, donc un fractionnement indépendant de la masse. Il est intéressant de noter que ce fractionnement indépendant de la masse atteint des valeurs très élevées dans les CAI (jusqu'à 70 ‰), comparées à des valeurs de quelques ‰ à l'échelle globale d'une météorite. La distribution de cette anomalie parmi les objets primitifs du système solaire et son origine restent des sujets largement débattus.
La mise en évidence plus récente de la présence de ^{10}Be lors de la formation des chondres [21] et des CAI [22] a modifié de façon importante l'interprétation des anomalies isotopiques. Le ^{10}Be se transforme en ^{10}B avec une période de 1,5 Ma, et sa présence se traduit par un excès de ^{10}B qui atteint plusieurs centaines de ‰ (*figure 7*). La particularité de cette anomalie isotopique est que le Be n'est pas produit par une nucléosynthèse stellaire, mais par spallation dans le milieu interstellaire ou nébulaire. La présence de ^{10}Be dans les CAI et les chondres implique sa production à l'intérieur de la nébuleuse protosolaire, par interaction entre le rayonnement solaire précoce et le gaz nébulaire. D'autres éléments radioactifs de courte période, tels ^{26}Al ou ^{41}Ca, ont donc pu aussi être produits lors de la formation de la nébuleuse. L'importance qu'a pu prendre cette production est largement débattue. La production du ^{10}B dans le nuage protosolaire a été confirmée par la mise en évidence de ^{7}Be dans les mêmes CAI [23]. Le ^{7}Be décroît en ^{7}Li avec une période de 53 jours, ce qui exclut qu'il ait pu être produit en dehors du système solaire. De plus, la détermination du rapport de production de ces deux nuclides apporte des contraintes importantes sur les conditions qui prévalaient dans le système solaire primitif.

Chimie interstellaire

La composition isotopique de l'hydrogène, exprimée par le rapport D/H, montre des variations spectaculaires à l'intérieur du système solaire. La valeur initiale du Soleil ($D/H = 20.10^{-6}$), déduite de son rapport $^{3}He/^{4}He$ [25], est semblable à celle mesurée sur les planètes géantes. Par contre, la Terre a un rapport D/H proche de 150.10^{-6}, les comètes des valeurs autour de 300.10^{-6} et les météorites des valeurs allant de 100 à $1\,000.10^{-6}$. L'étude de la composition isotopique de l'hydrogène de l'eau dans les chondrites carbonées nous a permis de mettre en évidence la présence d'eau très enrichie en D à la fois dans la matrice [26] et dans les chondres [27]. Les enrichissements observés

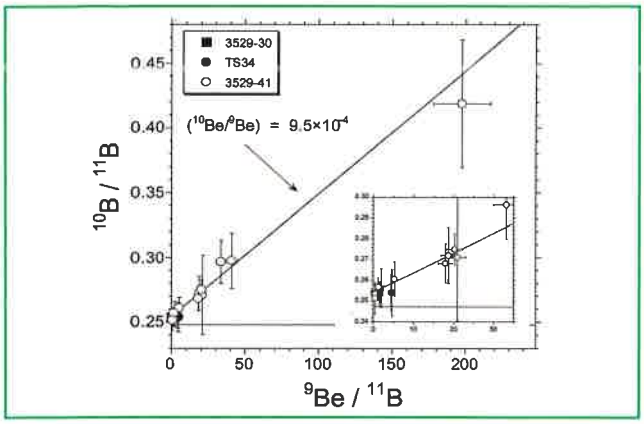


Figure 7 - **Composition isotopique du bore et rapport Be/B** mesurés dans les inclusions réfractaires (CAI) de la météorite Allende.
La corrélation linéaire entre les différents points démontre la décroissance *in situ* du ^{10}Be. La pente donne un rapport initial ^{10}Be/^{9}Be de 9,5.10^{-4}.

(+ 8 000 ‰) sont trop importants pour pouvoir résulter d'un processus nébulaire. Ils sont par contre représentatifs du fractionnement isotopique attendu lors de réactions ions-molécules dans le milieu interstellaire. La distribution des isotopes de l'hydrogène dans le système solaire représente ainsi un mélange entre de l'eau formée dans le milieu interstellaire et l'hydrogène solaire (*figure 8*). Les mesures effectuées sur les météorites suggèrent que 10 à 15 % de l'eau des planètes et des météorites est ainsi d'origine interstellaire, peut-être 50 % pour les comètes.

Conclusion

Les différents points présentés ci-dessus cherchent à illustrer quelques unes des principales découvertes réalisées grâce aux mesures des compositions isotopiques des éléments dans le domaine de la cosmochimie, tant sur les processus de formation du système solaire que sur l'origine des éléments qui le composent. Il est important de préciser que le développement de nouvelles méthodes analytiques, ou leur amélioration constante, permettent d'aborder maintenant des mesures impossibles il y a dix ans. On assiste ainsi au développement :
- de mesures de très haute précision grâce aux MC ICP MS (torches à plasma couplées à des spectromètres de masse à multicollection), qui permettent de rechercher de nouvelles anomalies isotopiques pour des éléments tels que Cu, Zn ou Mb, ou de mesurer plus précisément les composition isotopiques de Nd ou W, pour utiliser les radioactivités éteintes ^{146}Sm-^{142}Nd ou ^{182}Hf-^{182}W pour l'étude de la croissance et la différenciation des planètes ;
- de mesures à toutes petites échelles avec le développement d'une sonde ionique ayant une résolution spatiale de 50 nanomètres, permettant d'analyser individuellement les différents composants des poussières interplanétaires, ou les variations à très petites échelles dans les objets les plus primitifs.
Ces développements analytiques sont indispensables pour étudier en détail les différents processus qui ont gouverné l'accrétion du système solaire.

Références

[1] Patterson C., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1956**, *10*, p. 230.
[2] Reynolds J.H., *Phys. Rev. Lett.*, **1960**, *4*, p. 8.

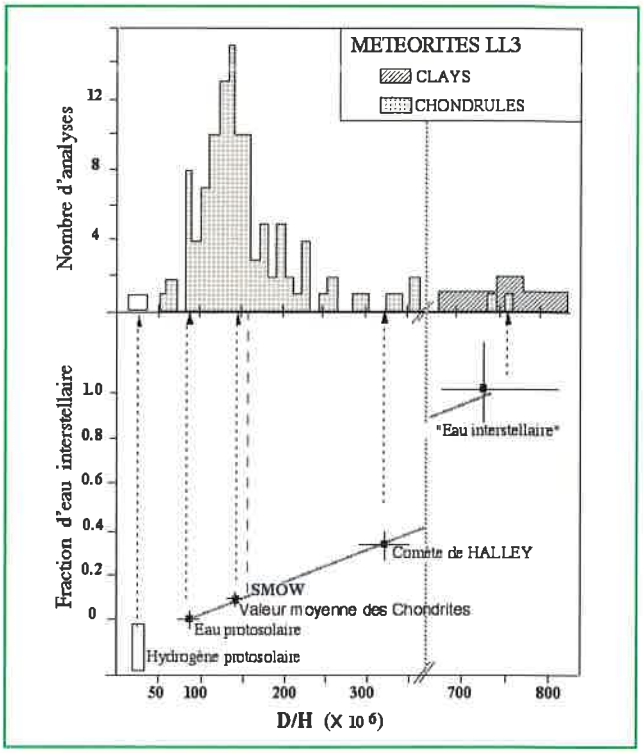


Figure 8 - **Distribution du rapport D/H dans les météorites ordinaires** (LL3), interprétée comme un mélange entre l'eau protosolaire et l'eau interstellaire.

[3] Posodek F.A., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1970**, *34*, p. 341.
[4] Lee T., Papanastasiou D.A., Wasseburg G.J., *Geophys. Res. Lett.*, **1976**, *3*, p. 41.
[5] Zinner E., Göpel C., *Meteoritics and Planetary Science*, **2002**, *37*, p. 1001.
[6] Birck J.L., Allègre C.J., *Nature*, **1988**, *331*, p. 579.
[7] Shukolyukov A., Lugmair G.W., *Science*, **1993**, *259*, p. 1138.
[8] Yin Q., Jacobsen S.B., Yamashita K., Blichert-Toffet J., Télouk P., Albarede F., *Nature*, 2002, *418*, p. 949.
[9] Kleine T., Munker C., Mezger K., Palme H., *Nature*, **2002**, *418*, p. 952.
[10] Reynolds J.H., Turner G.J., *Geophys. Res.*, **1964**, *69*, p. 3263.
[11] Black D.C., Pepin R.O., *Earth planet. Sci. Lett.*, **1969**, *6*, p. 365.
[12] Lewis R.S., Srinivasan B., Anders E., *Science*, **1975**, *190*, p. 1251.
[13] Lewis R.S., Tang M., Wacker J.E., Anders E., Steel E., *Nature*, **1987**, *326*, p. 160.
[14] Bernatowicz T., Fraundorf G., Ming T., Anders E., Wopenka B., Zinner E., Fraudorf P., *Nature*, **1987**, *330*, p. 728.
[15] Zinner E., Tang M., Anders E., *Nature*, **1987**, *330*, p. 730.
[16] Amari S., Anders F., Virag A., Zinner E., *Nature*, **1990**, *345*, p. 238.
[17] Amari S., Zinner E., Lewis R.S., *Lunar Planet. Sci., Conf. XXII*, **1991**, 19.
[18] Amari S., Hoppe P., Zinner E., Lewis R.S., *Astrophys. J.*, **1992**, *394*, p. L43.
[19] Clayton R.N., Grossman L., Mayeda T.K., *Science*, **1973**, *182*, p. 485.
[20] Thiemens M.H., Heinrich J.E., *Science*, **1983**, *219*, p. 1073.
[21] Chaussidon M., Robert F., *Nature*, **1995**, *374*, p. 337.
[22] McKeegan K.D., Chaussidon M., Robert F., *Science*, **2000**, *289*, p. 1334.
[23] Chaussidon M., Robert F., McKeegan K.D., Krot A.N., *Lunar. Planet. Sci.*, **2001**, *32*, p. 1862.
[24] Davis A.M., Hashimoto A., Clayton R.N., Mayeda T.K., *Nature*, **1990**, *347*, p. 655.
[25] Geiss J., Reeves H., *Astron. Astrophys.*, **1972**, *18*, p. 126.
[26] Deloule E., Robert F., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1995**, *59*, p. 4695.
[27] Deloule E., Robert F., Doukhan J.-C., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **1998**, *62*, p. 3367.

Étienne Deloule
est directeur de recherche au Centre de recherches pétrographiques et géochimique (CRPG-CNRS) à Vandœuvre-lès-Nancy*.

* CRPG-CNRS, BP 20, 54501 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex.
Tél. : 03 83 59 42 21.
E-mail : deloule@crpg.cnrs-nancy.fr

Conclusion

Étienne Roth

Ce numéro de *L'Actualité Chimique* reprend certains thèmes de la conférence organisée en 2002 à Nantes par la Société Française des Isotopes Stables (SFIS). Il met en lumière les applications réglementaires des mesures de teneur isotopique pour lutter contre des fraudes diverses, notamment en matière alimentaire et de stupéfiants, applications souvent ignorées, bien qu'elles soient employées, parfois depuis plusieurs années, au niveau européen et national.
On y trouve des résultats nouveaux et importants sur les variations de composition isotopique dans les plantes avec leur nature, leur origine géographique, les circonstances climatiques, ainsi qu'en hydrologie, en datation où des variations locales dans de petits échantillons sont mises en évidence.
Des principes de métrologie sont donnés. Il faut en souligner l'importance pour obtenir des résultats fiables, car on constate que des variations relatives de teneurs isotopiques inférieures au dix millième donnent maintenant lieu à interprétation. Il faut donc que les mesures soient crédibles à cette précision au moins et, pour pouvoir comparer les résultats de différents laboratoires, il faut qu'ils utilisent les mêmes échelles avec des justesses comparables.

Mais un numéro de revue n'est pas un traité, il ne peut épuiser les sujets d'études ou d'applications des isotopes stables.
Telle qu'elle est, nous espérons que cette publication attirera l'attention de lecteurs sur des sujets hors de leur propre spécialité car il est important d'être familier avec les problèmes variés traités au moyen des isotopes stables. Cette importance peut être démontrée par la similitude des méthodes de mesure de volume de réservoirs et d'« espaces eau » en biologie ou, en se penchant sur le passé, par l'étude de la formation des grêlons qui s'est inspirée des travaux d'Urey et Epstein sur les paléotempératures, et par l'explication du phénomène d'Oklo, obtenue en utilisant les méthodes isotopiques de détermination des taux de combustion de combustibles nucléaires.

Si donc certains articles de ce numéro éveillent un appétit de lecture supplémentaire, nous recommandons, sur les mesures d'abondance isotopique les rapports de l'IUPAC publiés régulièrement dans *Pure and Applied Chemistry*, sur les applications en agriculture et agronomie des rapports de l'AIEA (Agence Internationale de l'Énergie Atomique de Vienne). Signalons aussi qu'il se prépare en Europe deux gros livres consacrés l'un aux méthodes analytiques utilisées pour, ou avec, les isotopes stables, l'autre aux études faites, grâce à eux, de l'échelle atomique, à celle de l'Univers. Mais les méthodes de séparation isotopique sur lesquelles rien de plus récent n'existe que le livre de Manson Benedict, n'y seront pas traitées. Enfin, les applications en médecine ne font l'objet d'aucune monographie.

Heureusement, la consultation du site de la SFIS (http://www.sfis.asso.fr) permet de trouver, dans tous les domaines mentionnés, des références à de nombreuses publications et à des rapports récents, à des articles de base, à des monographies et à des livres essentiels, voire historiques (dont « *le Benedict* » !). On y trouve aussi des informations sur les conférences nationales et internationales sur les isotopes.

Étienne Roth
Président d'honneur de la SFIS

Livres

Thermosetting polymers
Jean-Pierre Pascault,
Henry Sautereau, Jacques Verdu et
Roberto J.J. Williams
477 pages, 185 $
Marcel Dekker, 2002

Les utilisateurs des matériaux organiques savent que l'on distingue deux grandes familles de polymères : ceux dont les chaînes macromoléculaires sont chimiquement indépendantes les unes des autres, ce sont les thermoplastiques (leurs mises en œuvre se font indépendamment de la synthèse et sont théoriquement réversibles), et ceux dont les chaînes forment un réseau chimiquement lié, ce sont les thermodurcissables (leurs mises en œuvre se produisent durant la synthèse et sont irréversibles).
Ce livre est consacré à ces derniers qui, bien qu'ils aient été les premiers polymères obtenus par synthèse (la Bakélite qui appartient à cette catégorie a été préparée au XIXe siècle), sont sans doute restés longtemps beaucoup plus mystérieux que les thermoplastiques en ce qui concerne la chimie, l'organisation et les propriétés. C'est à une explication de ces mystères que le lecteur est convié en parcourant 14 chapitres qui peuvent se lire indépendamment.
Tout commence par la chimie, et après l'introduction, le chapitre 2 décrit les grandes familles de systèmes réticulables dont la polymérisation peut être soit polycondensation, soit polymérisation en chaîne. Le texte est concis, les schémas explicites, et l'ensemble permet au lecteur qui possède des bases en chimie de se repérer. Cependant, ce lecteur aimerait disposer dans la bibliographie de références sur de très bonnes et complètes monographies qui existent et décrivent en détail les différentes familles citées.
La caractéristique des systèmes réticulables est qu'elle met en jeu des réactifs dont la fonctionnalité est supérieure à 2. Dès lors, à partir d'un certain avancement de la réaction (polycondensation ou polymérisation en chaîne), la masse molaire en poids diverge et une macromolécule géante insoluble se forme, c'est le gel. La description de ce phénomène pour les différents types de polymérisation et son analyse mathématique statistique en fonction de la conversion des réactifs fait l'objet du chapitre 3. Ce dernier est important pour comprendre la différence entre polymère linéaire et système thermodurcissable. Quelle est l'influence des transformations avant le gel et au-delà du gel sur la transition vitreuse du réseau formé ? Cette question est traitée dans le chapitre 4 qui introduit la notion importante de l'équivalence temps température dans le processus de transformation.
Il est, me semble-t-il, nécessaire de consulter ensemble les chapitres 5 et 6. Le premier traite de l'analyse cinétique de la formation du réseau, le second des méthodes rhéologiques et diélectriques permettant de suivre l'avancement des réactions. En ce qui concerne les états cinétiques, les auteurs ont raison de ne pas s'étendre sur les méthodes d'analyse enthalpique qui ne permettent réellement que de suivre une transformation globale et ne s'appuient pas sur, ou ne rendent pas compte, des mécanismes réactionnels qui sont complexes, comme le font d'ailleurs les méthodes rhéologiques – cette remarque étant moins vraie pour les méthodes diélectriques.
Il est important que les auteurs s'interrogent sur l'inhomogénéité des réseaux réticulés (chap. 7). Comment ne pas se poser la question puisque les réactions avant et après le gel se déroulent dans des milieux différents ? Cette réflexion ouvre la voie à la discussion sur les réseaux modifiés par des polymères linéaires (élastomères ou thermoplastiques) (chap. 8). Comment ces mélanges vont-ils se comporter ? Ils sont évidemment d'une manière générale non miscibles et les questions de séparation des phases en fonction de l'avancement de la formation du réseau et de la morphologie du mélange sont importantes. Ce chapitre aurait peut-être été mieux placé entre les chapitres 12 et 13 qui traitent des propriétés mécaniques des polymères. Il en est de même pour le chapitre 9 qui discute des phénomènes se produisant lors de la mise en œuvre. Ce chapitre est important et finalement, les phénomènes évoqués peuvent être associés à ce qui fait l'objet des chapitres relatifs à la cinétique et au suivi de la formation des réseaux.
A partir du chapitre 10, le lecteur entre dans le domaine des propriétés des réseaux thermodurcis. Le comportement dans l'état vitreux et dans l'état caoutchoutique sont discutés, ainsi que les valeurs des transitions vitreuses en terme de contribution des motifs à la cohésion et à la mobilité. Les propriétés élastiques et viscoélastiques à faible déformation sont analysées aussi en termes de cohésion et de mobilité des segments (chap. 11). On comprend par là la relation avec la densité de réticulation, point sur lequel les auteurs auraient peut-être pu insister davantage.
Déformation et fracture des réseaux et des réseaux modifiés font l'objet des chapitres 12 et 13, chapitres essentiels pour les utilisateurs, mais aussi pour le chimiste qui voudrait concevoir un matériau répondant à un cahier des charges précis en termes de propriétés mécaniques et de comportement au vieillissement et aux phénomènes de fatigue. Pour m'être intéressé au problème autrefois, j'ai particulièrement apprécié la partie consacrée au renforcement des réseaux par des polymères linéaires.
La durabilité et l'étude des phénomènes, qui provoquent la destruction d'un réseau polymère en fonction de l'environnement, sont discutées dans le dernier chapitre. Ce thème est extrêmement important pour l'ingénieur de bureau d'étude, et bien que les auteurs proposent une méthode pour prédire la durée de vie (en précisant ses limitations), un classement, même grossier, du comportement des familles de thermodurcissables en fonction de différents environnements aiderait le lecteur non spécialiste.
En conclusion, cet ouvrage rédigé par des experts du domaine est une très bonne contribution à l'analyse du comportement des matériaux polymères réticulés. C'est un outil précieux pour les étudiants en DEA et en thèse, et il doit trouver sa place dans les laboratoires de recherche publics et privés et dans les bureaux d'étude.

Bernard Sillion

A signaler

- **Reviews of environmental contamination and toxicology**
  G.W. Ware (ed.)
  Vol. 175, 270 p., 105,45 €
  Springer, 2002

- **Environmental sampling and analysis for metals**
  M. & C. Csuros
  408 p., 89,95 $
  Lewis Publishers, 2002

- **Polymer films with embedded metal nanoparticles**
  Springer series in materials science (vol. 52)
  A. Heilmann
  300 p., 84,35 €
  Springer, 2002

29 septembre-3 octobre 2003

JADH'2003

12e Journées d'étude sur l'adhésion

Ile d'Oléron

- sfv@vide.org
  http://www.vide.org/jadh2003.html

30 septembre-2 octobre 2003

Innovact 2003

Les journées européennes de la jeune entreprise innovante

Reims

- http://www.innovact.com

5-10 octobre 2003

10th European conference on applications of surface and interface analysis

Berlin (Allemagne)

- ecasia03@bam.de
  http://www.bam.de/ecasia03.htm

9 octobre 2003

La chimie en milieux extrêmes

Mons (Belgique)

- src@ulb.ac.be
  http://www.src.be

11 octobre 2003 sfc

Dictionnaires de chimie et dictionnaires de pharmacie

Paris

Club Histoire de la chimie

(*L'Act. Chim.*, juillet 2003, p. 64)

- marika.blondel-megrelis@libertysurf.fr

12-15 octobre 2003 sfc

Nanopatterns and nano-structures at the interfaces

Mulhouse

Division Chimie physique

(*L'Act. Chim.*, juillet 2003, p. 64)

- C.Ecoffet@uha.fr
  http://www.dpg.uha.fr

13-15 octobre 2003 sfc

SAJEC 2003

Symposium Sigma-Aldrich jeunes chimistes

Gujan-Mestras

Division Chimie organique

(*L'Act. Chim.*, avril-mai 2003, p. 150)

- http://sajec2003.free.fr

15-16 octobre 2003

15e Rencontres chimiques de l'Ouest

Risques technologiques et industriels. Évaluation et prévention

Rennes

- RCO@ensc-rennes.fr
  http://www.rco.free.fr/

15-17 octobre 2003

1er World congress on synthetic receptors

Lisbonne (Portugal)

- SR2003@heaton-connexion.co.uk
  http://www.synthetic-receptors2003.com

15-17 octobre 2003

L'authenticité et la sécurité des produits alimentaires

7e Symposium international

Nantes

- fasis@eurofins.com
  www.eurofins-fasis.com

20-23 octobre 2003

11e Congrès international de métrologie

Toulon

- info@cfmetrologie.com
  http://www.cfmetrologie.com

21-23 octobre 2003

Mesurexpo 2003

Exposition de physique 2003

Paris

- mrenoult@exposium.fr
  http://www.mesurexpo.com

22 octobre 2003 sfc

7e entretiens Physique-Industrie

La couleur : origines, perception et implications

Paris

(*L'Act. Chim.*, juillet 2003, p. 64)

- mialocq@drecam.saclay.cea.fr
  http://sfp.in2p3.fr

22-24 octobre 2003

CaPoC6

6th International congress on catalysis and automotive pollution control

Bruxelles (Belgique)

- nkruse@ulb.ac.be
  http://www.ulb.ac.be/sciences/cpmct/CAPoC6/

24-27 octobre 2003 sfc

51e Journées nationales de l'Union des Physiciens

Strasbourg

(*L'Act. Chim.*, juillet 2003, p. 64)

- http://www.udpstrasbourg2003.org

6-7 novembre 2003

SNSS-9

International symposium on surface and colloid chemistry for the life sciences

Lund (Suède)

- agneta@chemsoc.se
  http://www.ykoll.fkem1.lu.se

17-18 novembre 2003 sfc

10e Journées de formulation

Énergie et formulation

Toulouse

Groupe Formulation

(*L'Act. Chim.*, mars 2003, p. 63)

- Progep-Formulation@ensiacet.fr
  http://www.ensiacet.fr/PROGEP/FORMULATION

19-22 novembre 2003

Educatec

Salon professionnel des équipements, systèmes, produits et services pour l'éducation et la formation

Paris

Thèmes de la 21e édition : éducation et décentralisation.

- http://www.educatec.com

25 novembre 2003 sfc

Journée d'automne de la division Chimie organique

Paris

(*L'Act. Chim.*, avril-mai 2003, p. 150)

- janine.cossy@espci.fr
  claude.amsterdamsky@espci.fr

25-27 novembre 2003

Colloque national 2003 du Groupe Français des Polymères

Cycle de vie des polymères

Clermont-Ferrand

- vincent.verney@univ-bpclermont.fr
  http://www.univ-bpclermont.fr/CONGRES/gfp2003/

Compte rendu de l'Assemblée générale de la SFC

Paris, 25 juin 2003

Le Président François Mathey ouvre la séance à 11 h.

Rapport moral du Président

Il est incontestable que le point fort de l'année 2002 aura été la tenue exemplaire du congrès SFC-Eurochem à Toulouse. Grâce à une gestion serrée et intelligente, ce congrès aura atteint l'équilibre financier en dépit de subventions très réduites. Il aura vu la participation de nos sociétés sœurs britannique, allemande et suisse. Une journée dévolue aux industriels aura été l'occasion d'échanges très fructueux malgré un contexte local *a priori* défavorable. Bravo donc aux organisateurs toulousains ! La seule question qui reste en suspens aujourd'hui est celle du prochain congrès général de la SFC. Les candidats ne se bousculent pas !

Parlons maintenant des publications. Le système européen (*Chemistry*, *EurJIC*, *EurJOC*, *ChemPhysChem*, *ChemBioChem*, *ABC*) tourne comme une horloge maintenant. Du point de vue de la SFC, la réussite la plus éclatante est celle de *ChemPhysChem*, le successeur du *Journal de Chimie Physique* qui, avec un indice d'impact de 4,14,... se situe d'emblée comme le meilleur journal mondial du domaine. Rétrospectivement, la division Chimie-physique et la SFC ont eu raison de choisir le partenariat avec Wiley et la GDCh plutôt que la solution alternative offerte par PCCP (*Physical Chemistry Chemical Physics*). Le seul point noir concernant les publications touche *L'Actualité Chimique*. Sa qualité indiscutable, confirmée tout récemment encore par un très beau numéro sur l'avenir de la chimie organique, n'en rend que plus nécessaire son établissement sur des bases financières solides. Par suite d'un déficit structurel d'environ 60 K€, EDP Sciences, qui l'avait prise en charge en 2002, nous rend l'AC en 2003. Techniquement, nous pouvons faire « tourner » le journal, mais nous ne pouvons pas encaisser tous les ans un tel déficit. D'où les augmentations du prix de l'abonnement qui ont été dans l'ensemble bien comprises. Mais cela ne suffit pas. C'est l'un des gros problèmes auxquels nous devons faire face aujourd'hui.

Le site web, quant-à-lui, connaît un succès croissant et tient la comparaison avec les sites de nos consœurs européennes. Le journal en ligne a beaucoup de succès également. Mais évidemment, tout cela coûte cher, sans espoir de rentabilité. Ce coût intrinsèque fait partie des dépenses incompressibles de la SFC et il doit être accepté si l'on veut que la SFC soit en phase avec son temps.

Dans un autre registre, quelques mots sur le projet de Fédération des Chimistes de France. Ce projet est, en fin de compte, la relance d'une idée qui avait été déjà proposée à nos partenaires potentiels, il y a quatre ans, par le président Philippe Desmarescaux. A l'époque, il avait été refusé par la SCI car trop favorable à la SFC. Aujourd'hui, il est proposé par la SCI et refusé par la SFC car trop centré sur la résolution des problèmes existentiels de la SCI. Je caricature à peine ! Ces discussions franco-françaises apparaissent assez futiles. S'il est souhaitable que les sociétés savantes s'occupant des différents aspects de la chimie en France se concertent le plus possible, leur enrôlement dans une structure commune ne peut se faire que dans la clarté et la confiance réciproque. Nous n'en sommes apparemment pas encore là. Nous devons faire tous les efforts possibles pour établir ou rétablir cette confiance. De toute façon, le seul grand projet qui aujourd'hui vaille vraiment la peine d'être poursuivi est celui d'une grande Société Européenne de Chimie.

Puisque je quitte sa présidence à la fin de cette année, je voudrais, pour terminer, résumer mes sentiments sur la SFC. Avec des moyens limités, la société fait beaucoup et tient son rang sur le plan international. Elle mérite plus de respect et de participation de la part de la communauté des chimistes français. Affaiblir la SFC serait marginaliser notre communauté dans l'Europe scientifique et académique en construction. La renforcer ne pourrait, au contraire, qu'être bénéfique pour nous tous.

Élection au Conseil d'administration

Six administrateurs ont été élus ou réélus :

- **Alain Gay-Bellile**, vice-président de l'Union Nationale des Associations Françaises d'Ingénieurs Chimistes (UNAFIC) ;
- **Yves Gnanou**, directeur du Laboratoire de chimie des polymères organiques (LCPO, Bordeaux) ;
- **Danièle Olivier** (réélue), directrice de l'ENSCP et présidente de la Fédération Gay-Lussac ;
- **Bernard Pierrelle** (réélu), trésorier de la SFC ;
- **Nelly Plé**, chef du Département de chimie (IUT de Rouen) ;
- **Igor Tkatchenko** (réélu), vice-président de la SFC.

Rapport du Trésorier (Bernard Pierrelle)

Comptes de l'exercice 2002

Compte de résultats 2002

L'exercice 2002 fait apparaître un résultat bénéficiaire de 6 598 €, dont 3 484 € au titre du congrès SFC Eurochem 2002 qui s'est tenu à Toulouse en juillet 2002. Les produits et charges courantes d'exploitation sont en ligne avec les éléments de même nature de l'exercice précédent.

Bilan au 31 décembre 2002

La situation patrimoniale, tant active que passive, est également inchangée par rapport au 31 décembre 2001, date de clôture de l'exercice précédent.

Affectation du résultat net 2002

La totalité du résultat, comme pour tous les exercices antérieurs, est virée en fonds propres.

L'Assemblée générale, après lecture du rapport général et spécial du Commissaire aux comptes les certifiant sans réserve, a approuvé les comptes de l'exercice 2002 ainsi que l'affectation du résultat net dudit exercice.

Budget de l'exercice 2003

Le budget de l'exercice 2003 est en déficit de 91 000 € dont 68 000 € suite à la reprise au 1er janvier 2003 par la SFC de la réalisation et de la diffusion de la revue *L'Actualité Chimique*, la SFC et la société EDP Sciences ayant d'un commun accord mis fin au contrat les concernant à ce propos.

L'Assemblée générale a approuvé le budget 2003.

Le rapport détaillé du Trésorier ainsi que les tableaux présentant les comptes 2002 (compte de résultats,

bilan, annexe, rapports général et spécial du Commissaire aux comptes) et le budget 2003 ont été adressés à chaque membre de la SFC dans un encart inclus dans la revue *L'Actualité Chimique* n° 4-5 de mai 2003.

Approbation des résolutions

Les trois résolutions suivantes soumises à l'Assemblée ont été votées à l'unanimité :

• **Résolution n° 1**

Ayant pris connaissance du compte d'exploitation de l'exercice 2002 et du bilan au 31 décembre 2002, arrêtés par le Conseil d'administration, du rapport du Trésorier et de celui du Commissaire aux comptes, l'Assemblée générale approuve les dits comptes, se clôturant par un bénéfice de 6 598 €.

Elle donne quitus de leur mandat aux membres du Conseil d'administration.

• **Résolution n° 2**

L'Assemblée générale approuve :

- L'imputation au compte « Fonds associatif » de 11 344,80 € respectant les 10 % minimum statutaires des produits annuels du patrimoine, portant le montant de ce compte à 2 490 448,94 € au 31 décembre 2002.
- L'imputation au compte « Report à nouveau » de - 4 746,80 € portant le montant dudit compte à 158 055,73 € au 31 décembre 2002.

• **Résolution n° 3**

Ayant pris connaissance du compte du résultat prévisionnel pour l'exercice 2003, l'Assemblée générale approuve ce budget dégageant une perte de - 90 999 €.

Jean-Claude Brunie
Secrétaire Général

Division Chimie de coordination

8-9 janvier 2004
Journées de la division
Rennes
Inscription à partir du 15 septembre 2003.

• jean-rene.hamon@univ-rennes1.fr
karine.costuas@univ-rennes1.fr
http://sfc-coord04.univ-rennes1.fr

Le Conseil d'administration a donné son accord le 25 juin dernier pour que la **Commission interdivisions enseignement** ait désormais le **statut de division** sous le vocable :
division Éducation

• g.chambaud@univ-mlv.fr

L'apport de la France à la catalyse

François Mathey a rapporté du Japon un petit livre qui présente, en une ou deux pages, certains « grands hommes » de la chimie japonaise ou certaines découvertes.

L'idée est donc venue d'écrire un fascicule présentant les grandes découvertes issues de la chimie française et redonnant les noms et les « œuvres » des chimistes français qui ont marqué leur époque. Certaines mises au point peuvent éviter une réécriture de l'histoire de la chimie et ce « livre » pourrait être utilisé pour les 150 ans de la SFC en 2007.

Dans un premier temps, un fascicule spécial catalyse pourrait être réalisé pour le congrès de 2004. Nos historiennes, M. Blondel-Mégrelis et J. Fournier, sont partantes pour l'aventure. Donc, si vous possédez des documents qui mettent en exergue « l'apport de la France à la catalyse », prévenez M.-C. Vitorge (marie-claude.vitorge@sfc.fr).

Chimie des aliments et du goût : un nouveau groupe à la SFC

Dans *L'Actualité Chimique* de juin 2003 (p. 53) et comme mentionné dans des numéros précédents, il était indiqué que je cherchais à constituer un groupe de chimie des aliments et du goût. C'est exact : je trouve paradoxal que, dans notre pays si fier de sa culture culinaire, nous n'ayons rien à mettre en face de la section de « *food chemistry* » de l'American Chemical Society, par exemple.

Pour pallier ce manque, des moyens modernes et peu coûteux ont été employés : par courrier électronique, j'ai demandé aux chimistes que je connais s'ils seraient intéressés d'avoir leurs noms dans un annuaire, sans frais. Des centaines de collègues ont répondu, souvent avec enthousiasme, à l'appel. Ces réponses n'étaient-elles pas la preuve d'un besoin réel ?

A l'issue de cette consultation, un annuaire a été progressivement constitué : y figurent tous ceux qui se sont déclarés intéressés. Il sera accessible, et modifiable, sur le site de la SFC, grâce à Marie-Claude Vitorge, dont on doit saluer le dévouement remarquable à la « cause chimique ».

Évidemment, cet hébergement de l'annuaire sera tout à fait officiel : la SFC a été consultée quant à l'opportunité de créer une « division » de chimie des aliments et du goût. Groupe ? Division ? Le secrétaire général, Jean-Claude Brunie, a donné de bonnes raisons pour proposer plutôt la création d'un « groupe », lequel peut accepter des collègues de disciplines variées (chimie physique, physico-chimie, chimie des polymères, chimie analytique, etc.), qu'ils soient ou non membres de la SFC.

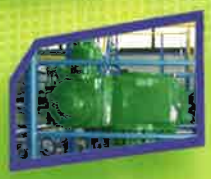
Je suis heureux de vous indiquer que le 25 juin, le Conseil d'administration de la SFC a accepté la ***création officielle du groupe Chimie des aliments et du goût***.

Que faire, maintenant ? Naturellement l'annuaire peut servir à représenter notre communauté à l'étranger, ou même dans les limites de l'Hexagone. Naturellement, on imagine bien des réunions de cette communauté. Toutefois, à quoi ces réunions serviraient-elles ? En quoi la constitution d'un tel groupe pourrait-elle contribuer à l'avancement de la chimie des aliments et du goût ? Des réunions du groupe qui ne répondraient pas à cette question engendreraient, au pire, du tourisme scientifique, et au mieux, des collaborations scientifiques entre équipes. Ne pourrions-nous pas, plutôt, proposer des réunions qui contribueraient à faire surgir des thématiques, à attaquer des questions importantes ? C'est ma proposition. Qu'en pensez-vous ?

J'oubliais : avec quelque 300 membres, l'annuaire constitué est très incomplet. N'hésitez pas à faire savoir autour de vous que toute personne professionnellement intéressée par la chimie des aliments et du goût peut se joindre à la communauté sur simple demande. Industriels, chercheurs, enseignants, utilisateurs, techniciens, chimistes, peuvent se retrouver et mettre utilement en commun des connaissances et des expériences. Chimistes organiciens, inorganiciens, théoriciens, biochimistes, polyméristes…, ne pourrait-on considérer, assez œcuméniquement, que tous ceux qui sont intéressés par les molécules des aliments, ainsi que les transformations chimiques de ces aliments, méritent d'appartenir au groupe et d'être avertis de ses activités ?

Hervé This
herve.this@college-de-France.fr

Quand
la Technologie
rencontre
la matière



PARIS
Parc des expositions
Paris-Nord-Villepinte
8.9.10.11 Mars
2004

INTERCHIMIE
PROCHEM
salon international
de la Chimie de Spécialités
& des Industries
Pharmaceutiques
& Cosmétiques

The International Exhibition of
Fine Chemistry &
Pharmaceutical &
Cosmetics Industries

When
technology
meets
with material

ORGANISATION : IDEXPO 58 Bd P.V. Couturier - 94246 L'Haÿ-les-Roses Cedex France - Tél.: 33(0)1 46 65 18 34 - Fax : 33(0)1 46 63 26 00 - E-mail : info@idexpo.com - Internet : www.idexpo.com

Nom/
Name _____

Société/
Company _____

Adresse/
Address _____

Ville/
Town _____ Code postal/
Postal code _____

Pays/
Country _____ Tel. _____

Fax _____ E-mail _____

Fonction/
Job title _____

Activité/
Activity _____

☐ Souhaite recevoir des informations pour exposer au salon./
Please send me information to reserve exhibit space at.

☐ Souhaite recevoir _____ carte(s) d'invitation au salon./
Please send me _____ free exhibition admission ticket(s) to visit.

Salon International de la Chimie de Spécialités
& des Industries Pharmaceutiques & Cosmétiques.
8.9.10.11 MARS 2004 PARIS Nord-Villepinte

The International Exhibition of Fine Chemistry
& Pharmaceutical & Cosmetics Industries
8.9.10.11 MARCH 2004 PARIS Nord-Villepinte

INTERCHIMIE
PROCHEM 2004

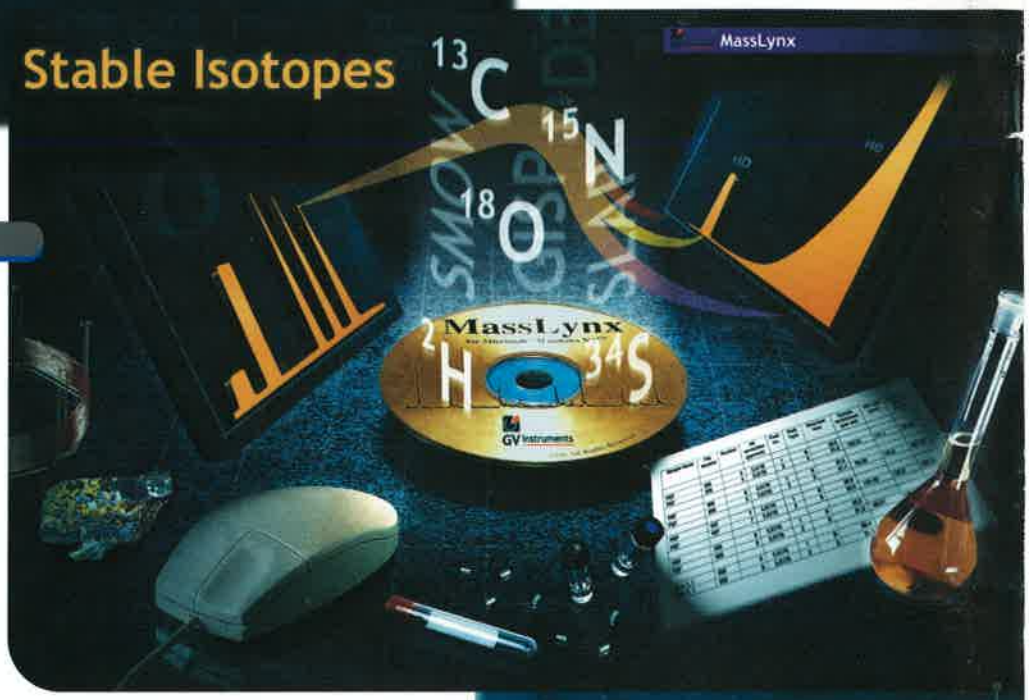
In stable isotope ratio mass spectrometry precision is critical who will maximise your precision?

Food Adulteration

Soil Science

Geology

Stable Isotopes



Pharmacology

Head Space

Oceanography

Metabolism

Breath Gas

Ecology

www.gvnstruments.co.uk

Whatever your stable isotope analytical requirements, from routine high-throughput analysis to a state-of-the-art IRMS research tool, GV Instruments has the solution.

At the heart of GV Instruments' modular IRMS solution is the high performance IsoPrime™ MS, now with both Continuous Flow and NEW Dual-Inlet capability. IsoPrime™ delivers the best in performance/price ratio in a bench-top IRMS solution.

GV Instruments has the largest portfolio of sample preparation and presentation modules for stable isotope ratio mass spectrometry. Seamless integration of these sample management modules with the IsoPrime™ is achieved using GV Instruments' MassLynx™ 32 bit Windows NT software suite.

STABLE ISOTOPES

GV Instruments....delivering innovative solutions in stable isotope MS.

GV Instruments will with IsoPrime™ The high performance choice in IRMS

GV Instruments

Reflecting 25 years experience in Mass Spectrometry

GV Instruments, Crewe Road, Wythenshawe, Manchester M23 9BE Tel: +44 (0) 161 902 2100
www.gvinstruments.co.uk info@gvinstruments.co.uk