

note technique

Méthode rapide de dosage de l'uranium dans les urines

G. CREHANGE*, P. GERASIMO*

(Manuscrit reçu le 8 octobre 1991)

RÉSUMÉ Cette étude présente une méthode de dosage de l'uranium dans les urines qui offre les avantages d'être rapide (30 min), simple et fine (seuil de détection à 0,32 µg/l). Cette méthode allie la rapidité de la minéralisation par micro-ondes à la précision de la mesure par spectrofluorimétrie par excitation laser.

ABSTRACT A specific method of uranium determination in urine was developed. The method is quick (30 min), easy to practice and highly sensitive (detection level 0.32 µg/l). It should be pointed out that this determination is quick because of the micro-waves mineralization, accurate because of the laser-excited spectrofluorimetry of uranium.

Le dosage de l'uranium urinaire a été rendu nécessaire pour le suivi médical des personnels qui sont professionnellement au contact de l'uranium. Les trois isotopes de l'uranium sont émetteurs de particules alpha. C'est pourquoi il existe un risque de contamination radioactive, mais, dans le cas de l'uranium naturel ou de l'uranium apauvri, qui ont des activités massiques faibles, le premier risque est chimique. L'uranium est un toxique qui se fixe dans le rein. Sa concentration urinaire ne doit pas dépasser 20 µg/l après une exposition continue et 200 µg/l après une absorption unique [3]. Toutes les méthodes de dosage fournissent des valeurs inférieures à 20 µg/l mais ont des seuils de détection variant de 4 à 7 µg/l.

Il nous a semblé intéressant de développer une technique très précise qui donne la concentration urinaire réelle en uranium aussi basse soit-elle et non pas une limite de détection.

Techniquement, ce dosage pose un problème difficile. Les teneurs en uranium dans les urines sont très basses par rapport au contenu minéral et organique, et celui-ci peut interférer dans le dosage. Plus particulièrement, les ions chlorure diminuent la fluorescence des sels d'uranyle. C'est pourquoi nous avons mis au point une méthode de dosage de l'uranium dans les urines utilisant la spectrofluorimétrie par excitation laser précédée par une minéralisation dans un four à micro-ondes.

* Service de protection radiologique des armées, 1 bis, rue du Lieutenant Raoul Batany, 92141 Clamart.

1. Matériel

L'appareil utilisé est un spectrofluorimètre à excitation laser Scintrex® commercialisé en France par Techmation. Le four à micro-ondes est un CEM MSD 81 D, fabriqué par CEM et commercialisé par OSI. La méthode requiert des produits chimiques de très bonne qualité :

- eau filtrée désionisée par le système combiné MILLI RO®, Milli Q® de chez Millipore ;
- acide nitrique fumant Réf 455 Merck ;
- soude Réf 6495 Merck ;
- persulfate de potassium Réf 5092 Merck ;
- solution étalon d'uranium (nitrate d'uranium) dont la concentration est connue et comprise entre 70 et 200 µg/l.

2. Méthode

2.1 Principe

Le dosage repose sur le principe de la mesure de la fluorescence spécifique des sels inorganiques d'uranyle après excitation laser dans le domaine des ultra-violet. La sensibilité de la technique est obtenue en utilisant un réactif inorganique complexant de l'ion uranyle (Fluran®), qui a la propriété de donner un spectre de fluorescence présentant un pic unique avec un haut rendement de fluorescence, alors que, classiquement, les sels d'uranyle présentent trois pics caractéristiques à 494, 516 et 540 nm (fig. 1) [5].

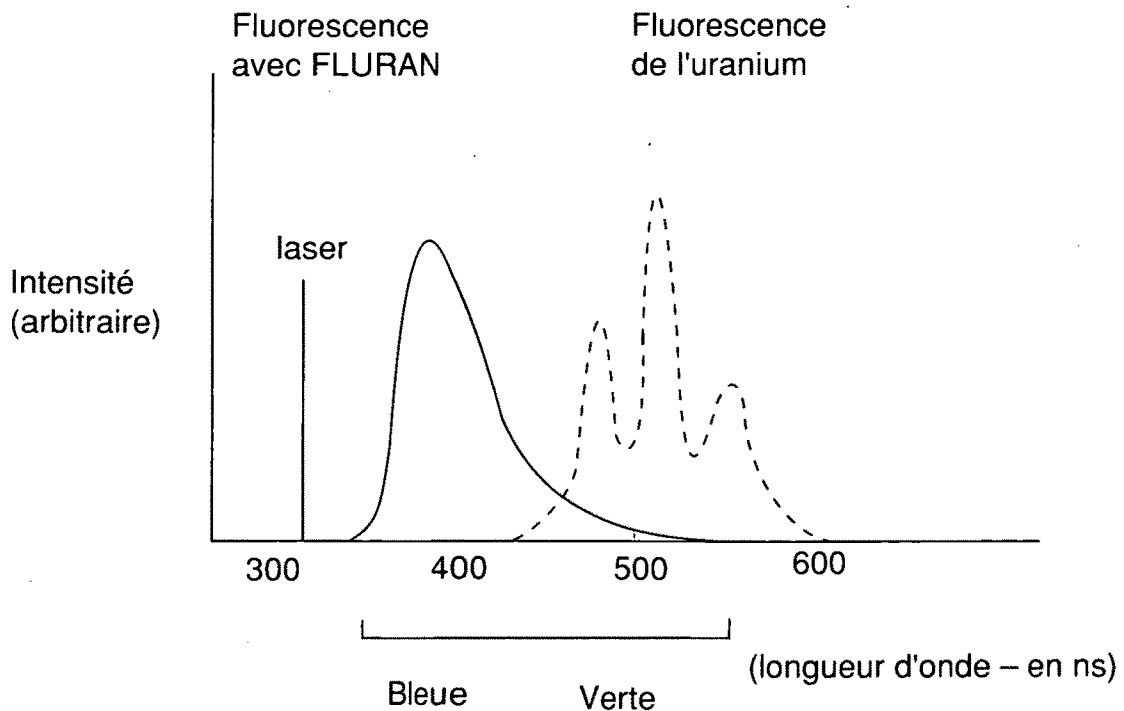


Fig. 1 - Comparaison des pics de fluorescence des sels d'uranyle avec et sans Fluran®.

L'interférence des substances organiques présentes dans l'échantillon est minimisée par l'utilisation de deux procédés :

- la minéralisation dans un four à micro-ondes en présence de persulfate de potassium, afin de se débarrasser de la plus grande partie des substances organiques ;
- l'utilisation d'une excitation laser à 337 nm pendant 3 ns avec mesure de la fluorescence retardée.

On constate, en effet, que les substances organiques en solution peuvent développer une fluorescence bleue intense après excitation à 337 nm avec une longueur d'onde d'émission maximale aux alentours de 400 nm. Cette fluorescence est normalement arrêtée par le filtre vert utilisé pour le dosage de l'uranium, mais une fraction du spectre peut passer et interférer sur la mesure. Cependant, la durée de vie de fluorescence de tels composés est inférieure à celle des complexes inorganiques de l'ion uranyle (quelques nanosecondes pour les composés organiques contre quelques dizaines de microsecondes pour l'ion uranyle (fig. 2) [5].

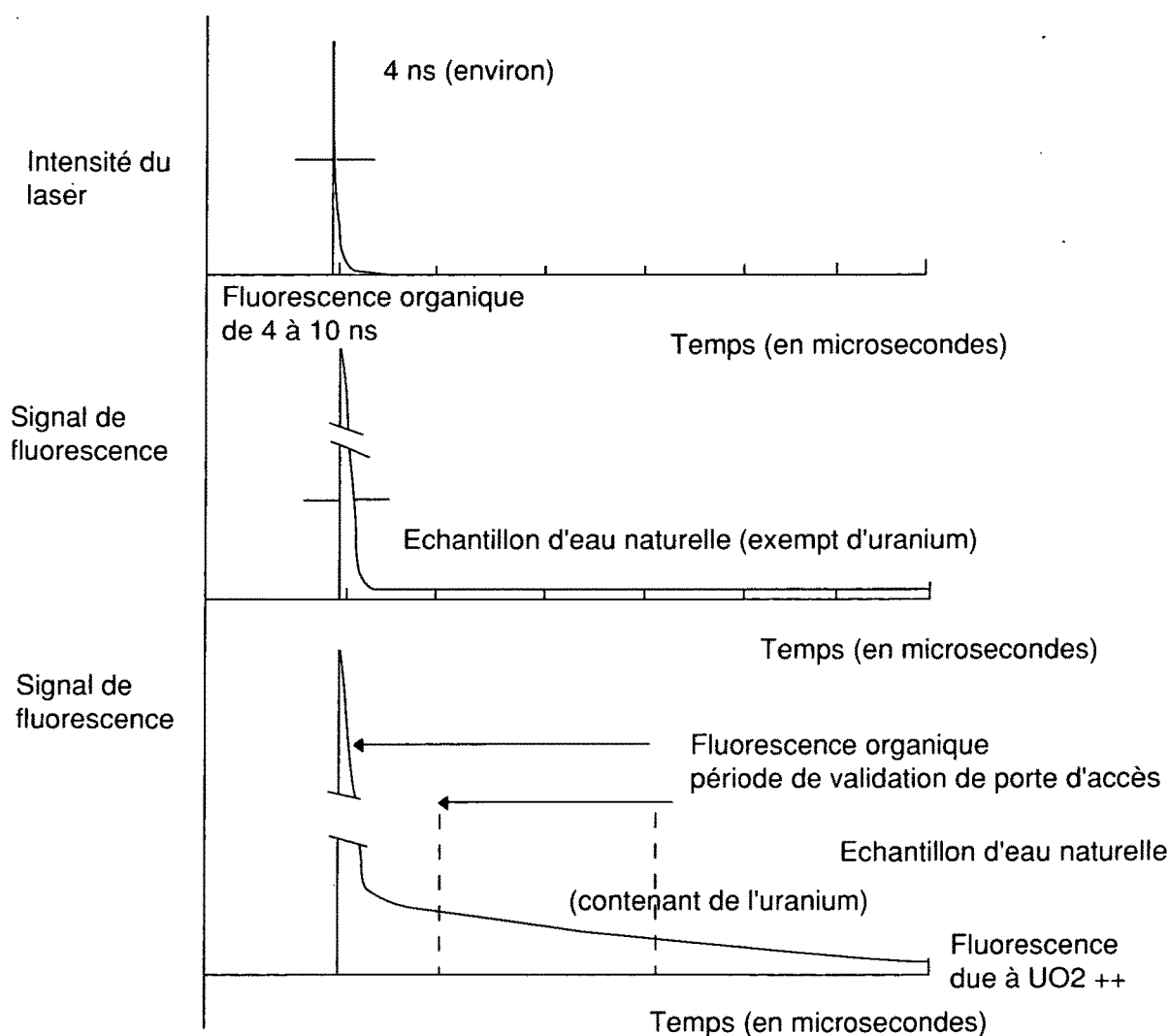


Fig. 2 - Caractéristiques du laser et du signal de fluorescence.

L'appareil utilise donc cette propriété, en mesurant la fluorescence de l'échantillon après un délai suffisant pour obtenir l'extinction de la fluorescence des composés organiques mais pas de l'ion uranyle [5]. La fluorescence est regardée perpendiculairement à l'axe du laser.

2.2 Description

2 ml d'urine sont minéralisés pendant 15 min – 5 min à 35 % de puissance, 5 min à 50 % et 5 min à 60 % – dans un four à micro-ondes en présence de 2 g de persulfate de potassium utilisé comme agent oxydant et de 25 ml d'eau. La minéralisation est réalisée dans des flacons en Teflon spécifiques au four.

Après refroidissement, on rajoute 25 ml d'eau. Puis, le produit de minéralisation, dont le pH est à la fois très acide mais instable, est amené à pH basique à l'aide d'une solution concentrée de soude, puis ramené à un pH compris entre 3 et 5 à l'aide d'une solution d'acide nitrique à 10 % en volume à partir de l'acide nitrique fumant. Le pH est alors stabilisé.

23 Evaluation de la concentration en uranium

Elle est réalisée selon le principe des ajouts dosés. Dans un premier temps, le zéro de l'appareil est fait sur 5 ml de l'échantillon en l'absence de complexant. Après ajout de 0,8 ml de Fluran[®], on mesure l'intensité de fluorescence. On procédera de même chaque fois que l'on ajoutera une quantité connue exactement de la solution étalon d'uranium (nous préconisons des ajouts de 20 µl pour ne pas avoir d'effet de volume entraînant une dilution).

Sur la figure 3, nous avons représenté les courbes obtenues à partir de la surcharge de quatre échantillons différents d'urine. La figure 4 montre le principe de la détermination de la concentration en uranium.

L'évaluation de la quantité d'uranium par litre d'urine est calculée de la façon suivante :

La pente de la droite (fig. 4) est : $\frac{N - N_0}{n}$

La quantité d'uranium dans les 5 ml de l'échantillon est :

$$\frac{n}{N - N_0} * N_0 * C * 20 \times 10^{-6} \quad (20 \times 10^{-6} \text{ l} = 20 \text{ } \mu\text{l})$$

La densité de la solution obtenue étant égale à 1, la quantité d'uranium contenue dans le bécher en Teflon est :

$$\frac{n}{N - N_0} * N_0 * C * 20 \times 10^{-6} * \frac{(P - P_0)}{5}$$

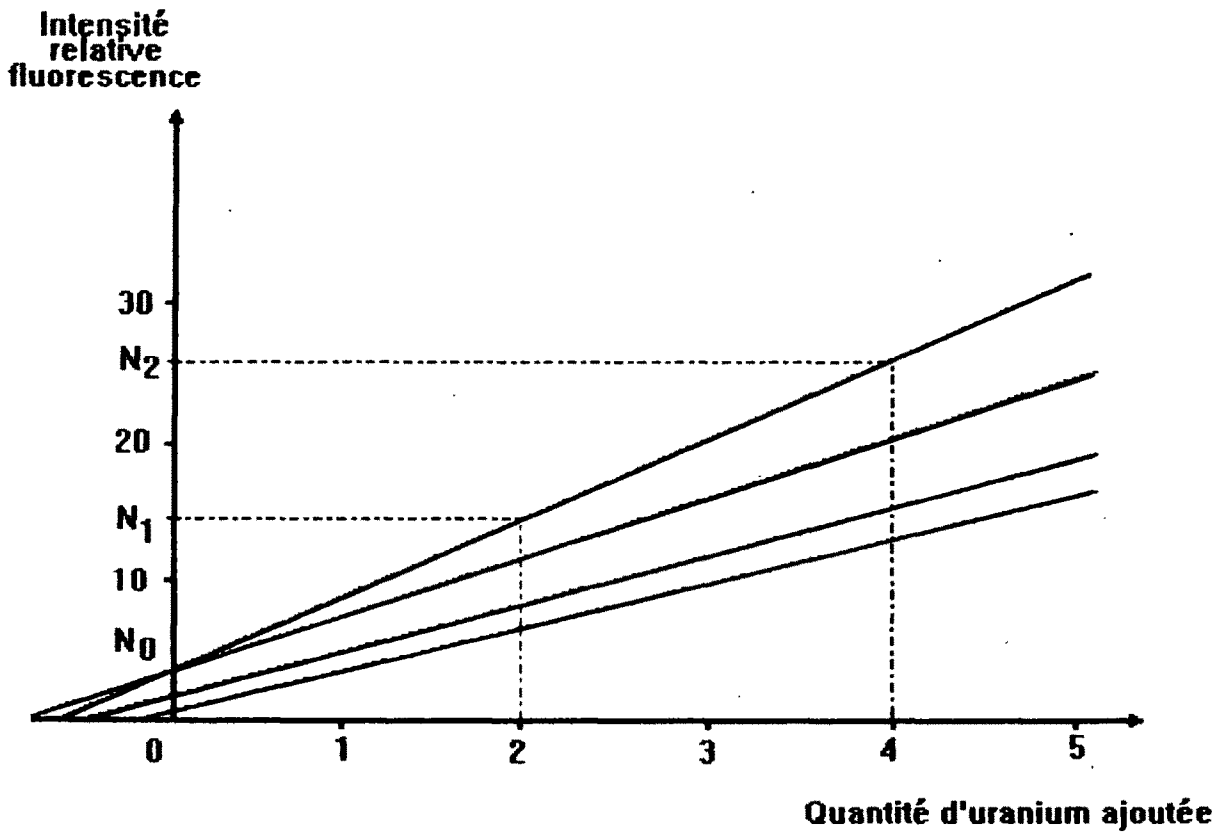


Fig. 3 - Courbe de fluorescence en fonction de la quantité d'uranium ajoutée à l'échantillon.

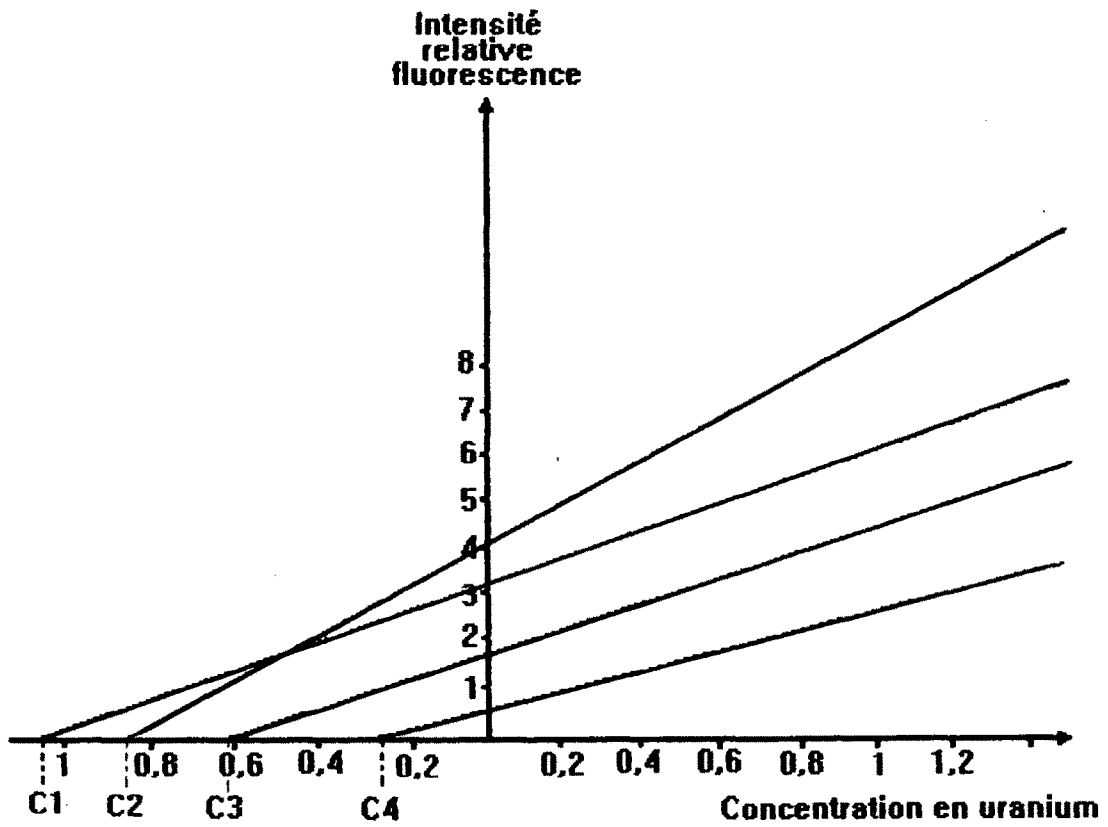


Fig. 4 - Détermination de la concentration en uranium dans les échantillons à partir de la droite d'étalonnage correspondante.

Cette quantité correspond aussi à l'aliquot de 2 ml d'urine. Par conséquent, la quantité volumique d'uranium urinaire est :

$$\frac{n}{N - N_0} * N_0 * C * 20 \times 10^{-6} * \frac{(P - P_0)}{5} * 500$$

On calculera la concentration urinaire d'uranium selon la formule suivante :

$$U = \frac{N_0}{N - N_0} * n * C * (P_1 - P_0) * 2 \times 10^{-3} \quad \text{en } \mu\text{g/l}$$

où P_0 est le poids du bécher en Teflon vide ;

P_1 est le poids du bécher en Teflon plein ;

N_0 est la valeur de la première déviation d'aiguille ;

N est la valeur de la dernière déviation d'aiguille ;

n est le nombre d'ajouts ;

C est la concentration de la solution étalon (en $\mu\text{g/l}$).

3. Résultats

3.1 Evaluation de la concentration de l'uranium chez des sujets témoins

La technique a été appliquée à 68 échantillons d'urine provenant d'une population témoin constituée de sujets n'étant pas professionnellement soumis à un risque de contamination par l'uranium. La moyenne des résultats a été évaluée à 0,57 $\mu\text{g/l}$ avec un écart type de 0,27 $\mu\text{g/l}$ et une incertitude quadratique moyenne de 0,31 $\mu\text{g/l}$.

3.2 Evaluation de la limite de détection

Chaque dosage comporte un bruit de fond qui lui est propre. Nous avons donc calculé le bruit de fond minimal que nous avons pensé possible d'obtenir, et qui constituera notre limite de détection. Nous avons réalisé le dosage de l'uranium sur 30 échantillons d'eau désionisée déminéralisée. La moyenne des résultats a été évaluée à 0,14 $\mu\text{g/l}$ avec une incertitude moyenne de 0,18 $\mu\text{g/l}$.

Nous considérerons donc que tout résultat supérieur à 0,32 $\mu\text{g/l}$ (= 0,14 + 0,18 $\mu\text{g/l}$) est significatif.

3.3 Calcul de l'incertitude liée à la mesure

Les valeurs des dosages urinaires chez des sujets non exposés ne sont pas très éloignées des valeurs du bruit de fond. Il nous a donc semblé nécessaire de pouvoir quantifier l'incertitude liée à chaque mesure.

Les principes de calcul sont extraits de la norme AFNOR NF X-06-044 [1].

$$\Delta U / U = \sqrt{\{\Delta N_0 / N_0\}^2 + \{(\Delta N_n^2 + \Delta N_0^2) / (N_n - N_0)^2\} + (\Delta C / C)^2 + (\Delta (20 \mu\text{l}) / (20 \mu\text{l}))^2 + (\Delta (5 \text{ ml}) / (5 \text{ ml}))^2 + (\Delta (P_1 - P_0) / (P_1 - P_0))^2}$$

On prouve que les incertitudes liées au pipetage, à la pesée, etc., sont négligeables devant les incertitudes liées à la lecture. En fait, on peut calculer l'incertitude liée à la mesure au moyen d'une formule simplifiée :

$$\Delta U / U = \sqrt{\{(\Delta N_0 / N_0)^2 + ((\Delta N_n^2 + \Delta N_0^2) / (N_n - N_0)^2)\}}$$

4. Discussion

Nous avons choisi de comparer notre technique à deux méthodes couramment utilisées. L'une d'elles est aussi une méthode rapide, l'autre est plus classique de ce qui se fait en radiochimie (passage sur résine échangeuse d'ions). On s'aperçoit qu'il est difficile de concilier rapidité et seuil de détection bas.

Méthode de dosage	Minéralisation par $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$	Minéralisation $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ [4]	Minéralisation [2, 6]
	Spectrofluorimétrie par excitation laser	Réduction de U par TiCl_3 en milieu phosphorique puis copréciptation par LaF	Fluorimétrie par NaF dans l'ultraviolet
		Comptage alpha 50 min ou *Spectrométrie alpha du microprécipité 15 h	
Seuil de détection	0,32 $\mu\text{g/l}$	7 $\mu\text{g/l}$ ou *0,13 $\mu\text{g/l}$	4 $\mu\text{g/l}$
Temps total	30 min	3 jours ou *4 jours	30 min
Volume d'urine	2 ml	250 à 1000 ml	0,1 ml

Notre méthode présente plusieurs avantages :

1) *Rapidité de mise en œuvre* : le temps nécessaire que requiert le traitement d'un échantillon est de 30 min au maximum ;

2) *seuil de détection très bas* ;

3) *économie de produits chimiques* ;

4) *réalisation sur une faible quantité d'échantillon* : 2 ml d'urine suffisent.

Ajoutons encore que cette méthode est facile à mettre en œuvre, et que ses résultats sont très reproductibles car le spectrofluorimètre est d'une remarquable fiabilité.

Cette méthode a aussi quelques inconvénients :

- 1) elle nécessite au départ un investissement élevé ;
- 2) elle donne des résultats en concentration volumique sans tenir compte de la répartition isotopique ;
- 3) on suppose *a priori* que toute la fluorescence observée est due à l'uranium ; une deuxième génération de spectrofluorimètres permettant de visualiser les spectres de fluorescence devrait lever cette ambiguïté.

Conclusion

Ce qui caractérise la technique de spectrofluorimétrie par excitation laser est une très grande sensibilité. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence que la concentration moyenne dans les urines d'une population témoin était de 0,57 µg/l.

Elle présente, en outre, comme autres avantages, sa rapidité et sa facilité d'utilisation. ■

RÉFÉRENCES

- [1] AFNOR. – Application de la statistique. Traitement des résultats de mesure – détermination de l'incertitude associée au résultat final. Norme NF X-06-044, 1984.
- [2] CHALABREYSSE J. – Surveillance radiotoxicologique du personnel de l'usine de séparation des isotopes de l'uranium par diffusion gazeuse de Pierrelatte. Méthodes et résultats. Rapport COGEMA-R-2, 1978, 370 pages.
- [3] GALLE P. – Métabolisme et toxicité de l'uranium. In : Toxiques nucléaires. Paris : Masson, 1982, 224-240.
- [4] HARDUIN *et al.* – Radiotoxicologie. Recueil de techniques. Rapport COGEMA, 1989.
- [5] ROBBINS J.C., CASTLEDINE C., KOSTIAK W. – Analytical procedures for UA-3 uranium analysis. Applications Brief 79-2. Rapport Scintrex, 1985, 20 pages.
- [6] RONTEIX C., HUGOT G. – Dosage fluorimétrique de l'uranium urinaire. Rapport CEA n° 1706, 1960, 15 pages.