

Substances chimiques et agents biologiques

Études et recherches

RAPPORT R-700



Détermination du béryllium dans l'air en milieu de travail

Mise au point d'une méthode d'analyse en fluorescence

*Marie-Claude Giguère
Pierre Larivière
Chantal Dion
Huu Van Tra*



Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

NOS RECHERCHES

travaillent pour vous !

Mission

Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes.

Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Assurer la diffusion des connaissances, jouer un rôle de référence scientifique et d'expert.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission de la santé et de la sécurité du travail.

Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour. De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement. www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine Prévention au travail, publié conjointement par l'Institut et la CSST. Abonnement : 1-877-221-7046

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales
2011
ISBN : 978-2-89631-560-4 (PDF)
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
Télécopieur : 514 288-7636
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche Robert-Sauvé
en santé et en sécurité du travail,
juin 2011



Substances chimiques et agents biologiques

Études et recherches



RAPPORT R-700

Détermination du béryllium dans l'air en milieu de travail

Mise au point d'une méthode d'analyse en fluorescence

Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document. En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

Marie-Claude Giguère¹, Pierre Larivière², Chantal Dion³, Huu Van Tra¹

¹Département de chimie, UQAM

²Services et expertises de laboratoire, IRSST

³Service de la recherche, IRSST



Cette publication est disponible
en version PDF
sur le site Web de l'IRSST.

Cette étude a été financée par l'IRSST. Les conclusions et recommandations sont celles des auteurs.

CONFORMÉMENT AUX POLITIQUES DE L'IRSST

Les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document
ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

REMERCIEMENTS

Cette activité de recherche, subventionnée par l'IRSST, projet 099-596, a été réalisée à l'UQAM et à l'IRSST par Marie-Claude Giguère dans le cadre de ses études de maîtrise (UQAM-IRSST). Les auteurs tiennent à souligner les contributions de Mme Annie Ouellet, M. Pierre-Jean Desormeaux, Mme Phuong Nguyen et M. Livain Breau à la réalisation de cette étude.

SOMMAIRE

Le béryllium (Be) est rencontré lors de multiples usages industriels grâce à ses propriétés uniques, toutefois il représente un risque pour la santé des travailleurs qui y sont exposés. La béryllose chronique (BC), une maladie professionnelle reliée à l'exposition au Be, serait la progression d'une phase de sensibilisation consistant en une réponse immunitaire spécifique suite à une exposition au Be. La voie d'absorption principale du Be est l'inhalation de particules, toutefois la pénétration cutanée ne serait pas négligeable dans le processus de sensibilisation. Depuis les années 90, la CSST a dû indemniser de nombreux travailleurs amenant une préoccupation grandissante face au Be dans les milieux de travail. Des échantillonnages périodiques sont maintenant requis dans les milieux où la présence de béryllium est connue. La norme québécoise est de $0,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de Be dans l'air pour une valeur d'exposition moyenne pondérée, ce qui nécessite l'utilisation d'une méthode analytique ayant une faible limite de détection. L'IRSST a développé une méthode d'analyse par ICP-MS¹ permettant d'atteindre une telle limite. Toutefois, l'utilisation de cette technique analytique est onéreuse. Afin de rendre accessible une méthode pouvant être implantée dans les milieux de travail où les contrôles sur la présence de béryllium sont fréquents, la technique de fluorescence moléculaire a été envisagée. La fluorescence est une technique très sensible et des appareils portables sont disponibles commercialement. La détermination du béryllium en fluorescence passe par la formation d'un complexe avec un ligand qui possède des propriétés de fluorescence. Le 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate forme un complexe avec le béryllium qui émet une fluorescence à 475 nm. L'intensité de l'émission est linéairement proportionnelle avec la concentration de Be. De plus, le ligand semble spécifique au Be puisqu'aucun autre signal d'émission n'a été observé en présence d'autres cations. Toutefois, une présence élevée en fer cause une baisse du signal due à la précipitation des hydroxydes de fer en milieu basique. Les essais de dissolution conduits avec l'oxyde de béryllium, une espèce pratiquement insoluble, et le NH_4HF_2 1 % a permis d'atteindre des taux de récupération de près de 96 %. De plus, le NH_4HF_2 est compatible avec le réactif. Une limite de détection méthodologique aussi basse que $0,0002 \mu\text{g}/\text{échantillon}$ a été atteinte permettant d'évaluer des quantités en deçà de la norme québécoise. Les coefficients de variation de moins de 4 % obtenus pour la réplicabilité et la répétabilité de cette méthode assurent une bonne précision des résultats. La méthode d'analyse en fluorescence pour la détermination du béryllium est applicable à la méthode d'échantillonnage dans l'air actuellement utilisée par l'IRSST.

Mots clés : béryllium, fluorescence, 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate, ultra-trace, dissolution

¹ ICP-MS : spectrométrie de masse par torche à plasma

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	I
SOMMAIRE	III
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 Propriétés du béryllium.....	1
1.2 Effets sur la santé et réglementation	1
1.2.1 Effets sur la santé	1
1.2.2 Réglementation et situation québécoise.....	2
1.3 Méthodes actuellement utilisées pour l'analyse du béryllium	3
2. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS	5
3. MÉTHODOLOGIE.....	5
3.1 Choix de la méthode analytique.....	5
3.2 Critères généraux et spécifiques requis pour le développement de la méthode.....	5
3.2.1 Choix des chromophores.....	6
3.2.2 Choix des cuvettes de mesure	8
3.2.3 Choix des espèces de Be et du solvant de dissolution	8
3.2.4 Choix des interférents potentiels.....	9
3.2.5 Comparaison avec les interférences observées en ICP-MS	10
3.2.6 Protocole d'extraction et d'analyse.....	10
3.2.7 Validation.....	11
3.3 Produits chimiques et préparation	12
3.3.1 Produits chimiques.....	12
3.3.2 Préparation des solutions	12
3.4 Instrumentation.....	13
4. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	15
4.1 Études des chromophores : propriétés spectroscopiques.....	15
4.2 Évaluation du chromophore choisi: fluorescence et stabilité du HBQS au temps et au pH.16	
4.3 Quantification du Be à l'aide du HBQS.....	19
4.3.1 Comparaison de différentes cuvettes de fluorescence	20

4.4	Évaluation des interférences	20
4.4.1	Interférences spectrophotométriques	20
4.4.2	Impact de la présence d'ions métalliques sur la quantification du Be	25
4.4.3	Interférence sur l'ICP-MS.....	26
4.5	Essais de dissolution du BeO	27
4.5.1	Dissolution alcaline.....	28
4.5.2	Dissolution acide.....	28
4.5.3	Dissolution au NH ₄ HF ₂ 1%	31
4.6	Validation de la méthode de fluorescence	32
4.6.1	Évaluation de la répétabilité et de la répliquabilité.....	33
4.6.2	Évaluation des limites de détection et de quantification.....	33
5.	CONCLUSION	35
6.	PERSPECTIVES	37
7.	BIBLIOGRAPHIE	39
8.	ANNEXES	44
	Annexe A1	44
	Annexe A2	45

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Méthodes standards disponibles pour le dosage du béryllium dans l'air en milieu de travail (Ashley et al., 2006).....	3
Tableau 3.1 : Présentation de chromophores pour l'analyse du Be en fluorescence.....	6
Tableau 3.2 : Constitution des solutions d'ions multi-élémentaires pour les tests d'interférences ..	9
Tableau 3.3 : Niveaux de concentrations évalués pour la réplicabilité et la répétabilité.....	11
Tableau 3.4 : Paramètres de l'ICP-MS.....	13
Tableau 4.1 : Comparaison des pourcentages d'écart au signal du Be-HBQS en présence du multi-5 et du multi-16.	23
Tableau 4.2 : Paramètres des droites d'étalonnage.....	28
Tableau 4.3 : Présentation des masses moyennes et de la récupération moyenne obtenues lors des dissolutions au NH_4HF_2 à 1% pour des basses teneurs en Be.	31
Tableau 4.4 : Évaluation de la réplicabilité et de la répétabilité pour les deux méthodes.	33
Tableau 4.5 : Limite de détection et de quantification pour le dosage du Be en fluorescence avec le HBQS.....	34
Tableau 4.6 : Comparaison des limites de détection de cette méthode avec la méthode de l'IRSST et une méthode similaire en fluorescence.	34

LISTE DES FIGURES

Figure 3.1 : Complexation du Be par le HBQS.	7
Figure 3.2 : Complexation du Be par le H-Resorcinol.	7
Figure 3.3 : Complexation du Be par le HPHBQ.	8
Figure 4.1 : Spectre d'excitation et d'émission du H-Resorcinol seul ou avec le Be (fluorimètre PerkinElmer).	15
Figure 4.2 : Spectre d'excitation et d'émission du HBQS et du complexe de Be-HBQS avec [Be]= 8 ppb (Hitachi).	16
Figure 4.3 : Fluorescence du HBQS provenant de la solution de Berylliant et de la synthèse (USB4000, λ_{ex} = 380 nm) et fluorescence du complexe, [Be]= 8 ppb avec les deux réactifs (Hitachi, λ_{ex} = 380 nm).	17
Figure 4.4 : Intensité d'émission à λ =563 nm du HBQS à différentes concentrations (Hitachi, λ_{ex} = 365 nm).	17
Figure 4.5 : Spectre d'émission d'une solution de HBQS mesurée à différents moments (Hitachi F2000, λ_{ex} =365 nm).	18
Figure 4.6 : Courbe de fluorescence du complexe Be-HBQS à différentes concentrations (Hitachi, λ_{ex}=385 nm).	19
Figure 4.7 : Spectre de fluorescence du Be-HBQS à 20 ppb mesuré dans des cuvettes faites de différents matériaux (Hitachi, λ_{ex} = 385 nm).	20
Figure 4.8 : Spectre de fluorescence de HBQS et de Be-HBQS en présence de différents métaux. [Be]=[M]=0,75 μ M (Hitachi, λ_{ex} =385 nm).	21
Figure 4.9 : Perte de signal du HBQS et du Be-HBQS dans les basses teneurs en présence de solutions multi-élémentaires à différentes concentrations.	22
Figure 4.10 : Impact de l'ajout de solutions multi-5 à différentes concentrations sur des solutions de Be-HBQS ou de HBQS dans les basses et hautes teneurs.	23
Figure 4.11 : Pourcentages de perte de signal de la fluorescence lors de l'ajout de métaux au complexe de Be-HBQS avec la méthode basse teneur. [Be]= 2ppb.	24
Figure 4.12 : Dosage de solutions de Be dans les basses teneurs avec ou sans la présence de solutions multi-élémentaires. (Modulus, SO1)	26
Figure 4.13 : Pourcentage d'écart à la concentration de Be attendue en fonction des interférents présents mesuré par ICP-MS.	27

Figure 4.14 : Taux de récupération du Be pour différentes quantités de Be et différentes conditions de dissolution (V(mL) HNO ₃ 1 %/ V(mL) H ₂ SO ₄ ; durée; température).....	29
Figure 4.15 : Comparaison des pourcentages de récupération pour des solutions de BeO sans filtre et avec filtre.....	30
Figure 4.16 : Pourcentage de récupération du Be lors de la dissolution sans chauffage à l'aide du 1 % NH ₄ HF ₂	32

1. INTRODUCTION

1.1 Propriétés du béryllium

Avant les années 50, le béryllium (Be) était un élément peu exploité. Son utilisation a connu un essor suite à la deuxième guerre mondiale. Ses caractéristiques physico-chimiques uniques, notamment sa légèreté, sa chaleur spécifique, sa température de fusion, sa perméabilité aux rayons-X, son amagnétisme et sa résistance spécifique élevée, ont accru considérablement la demande pour des matériaux constitués de Be. En effet, sa présence dans les alliages ou les céramiques leur confèrent des propriétés améliorées comme une meilleure conductivité thermique et électrique, une plus grande dureté et légèreté, une meilleure résistance à la corrosion et à la fatigue (Bonnard et al., 2006 ; WHO, 1990). C'est ainsi que le béryllium s'est retrouvé dans une multitude de secteurs industriels tels l'aéronautique, l'aérospatiale, l'électronique, le nucléaire, etc.

1.2 Effets sur la santé et réglementation

1.2.1 Effets sur la santé

Dès la fin des années 40, des médecins ont soupçonné que des problèmes de santé observés chez des travailleurs de l'industrie de fabrication de tubes fluorescents pourraient être reliés à une certaine toxicité du béryllium. En 1949, l'industrie cessait l'utilisation de composés phosphorés de Be suite à l'effet combiné de rapports médicaux reliant le béryllium aux problèmes de santé observés chez les travailleurs et de l'inquiétude de la population (Kolanz, 2001). Les processus d'absorption et d'élimination du béryllium entraînant une affection pulmonaire, connue aujourd'hui comme la béryllose chronique (BC), n'étaient pas encore expliqués à cette époque. Mais depuis les années 90, les recherches se sont multipliées pour mieux comprendre et connaître les risques d'exposition au Be et du développement de la BC (Paustenbach, Madl et Greene, 2001). Il est maintenant connu qu'elle consiste en une inflammation persistante dans les poumons puis à la formation de lésions granulomateuses. Ces lésions mèneraient éventuellement à une fibrose et à la destruction du parenchyme pulmonaire (Paustenbach Madl et Greene, 2001). La BC serait la progression d'une phase de sensibilisation qui consiste en une réponse immunitaire spécifique suite à une exposition au Be. Il existe une période de latence entre l'exposition et le développement de la maladie pouvant aller jusqu'à plusieurs dizaines d'années (IARC, 1993). La réaction de sensibilisation est observée chez environ 16% des individus exposés (Newman, Lloyd et Daniloff, 1996). L'avancement des recherches a mis en lumière la présence d'une prédisposition génétique à la réaction de sensibilisation. Cependant, c'est plus de 50% des cas de sensibilisation qui ne dégénèrent pas vers la BC (ACGIH, 2009). La voie d'absorption principale du Be est connue comme étant l'inhalation de particules, toutefois des études récentes semblent démontrer que la pénétration cutanée ne serait pas négligeable dans le processus de sensibilisation (Day et al, 2006 ; Tinkle et al, 2003). Plusieurs variables doivent être considérées telles que le niveau d'exposition, la dose, la fréquence d'exposition, la spéciation et la taille des particules (Paustenbach, Madl et Greene, 2001). Dans le cas de l'inhalation, la taille des particules est déterminante : plus les particules sont fines, plus elles peuvent pénétrer profondément dans les voies respiratoires. Les trois principales fractions, rencontrées en hygiène du travail, sont la fraction respirable (diamètre aérodynamique < 10 µm), la fraction thoracique

(diamètre aérodynamique $< 50 \mu\text{m}$) et la fraction inhalable (diamètre aérodynamique $< 100 \mu\text{m}$) (Dufresne, Dion et Perrault, 2004). La solubilité des différentes espèces de Be dans les fluides pulmonaires aura aussi un impact sur leur rétention dans les poumons (Paustenbach, Madl et Greene, 2001). Tandis que lors de contact cutané, la forme chimique du Be aura une incidence plus importante quant à la possibilité de pénétrer la barrière dermique. Les sels solubles et les particules insolubles de faible granulométrie ($< 1 \mu\text{m}$) ont démontré leur capacité à pénétrer la peau (Tinkle et al., 2003). Le béryllium est reconnu comme étant l'élément non-radioactif le plus toxique (Schmidbaur, 2001).

La population à risque face à l'exposition au Be est principalement constituée de travailleurs des industries où le Be est utilisé comme matériau ainsi que celles où il est présent comme produit secondaire. Toutefois, des cas de maladie reliés au Be ont également été recensés aux États-Unis chez des individus n'ayant pas eu de contact direct avec le Be (Kolaniz 2001).

1.2.2 Réglementation et situation québécoise

Au Québec, il y a eu une recrudescence des demandes de réclamations pour des maladies professionnelles relatives à l'exposition au Be. Depuis 1999, ce sont 76 travailleurs qui ont été indemnisés suite à un diagnostic de sensibilisation ou de BC. La préoccupation de la Commission de la santé et de la sécurité du travail (CSST) sur la situation a mené, en 2000, à la mise sur pied de l'Opération Béryllium, avec l'aide de ses partenaires (IRSST, réseau de la santé, les associations sectorielles paritaires concernées). Cette intervention avait pour but de documenter les établissements où le Be était présent, de réduire l'exposition au Be au minimum pour les travailleurs ainsi que d'assurer le contrôle et la prévention face au risque présenté par ce contaminant. L'atteinte des objectifs de l'opération a fourni une lecture plus juste de la situation du Be au Québec (Faucher, 2006). En effet, les secteurs à risque ainsi que les niveaux d'exposition des travailleurs ont été cartographiés. Les campagnes d'échantillonnages menées dans des établissements du secteur des fonderies, de l'aéronautique, de l'environnement et de l'usinage de pièces ont révélé des niveaux de Be supérieurs ou égaux à $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dans 17% des cas (Dion, 2006). Dans le but d'apporter des mesures correctives ou préventives, des outils d'information, de formation et de communication ont été mis à la disposition des travailleurs et des employeurs. De plus afin d'assurer la surveillance médicale, trois laboratoires d'immunologie québécois se sont dotés d'un test de prolifération lymphocytaire induite par le Be (BeLPT). De son côté, l'IRSST a développé une méthode d'analyse pour quantifier le Be dans l'air et les surfaces. En 2005, l'IRSST a été l'hôte de la première Conférence Internationale de la recherche sur le Be. Le partage des connaissances sur le béryllium a été reconduit à Philadelphie en 2007 où des lacunes sur l'état des connaissances ont été mises en lumière dont notamment l'incapacité de la norme actuelle à protéger adéquatement les travailleurs (Viau et al., 2009). Au Québec, la valeur d'exposition moyenne pondérée (VEMP) a été réévaluée à la baisse passant de 2 à $0,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en poussière totale avec un niveau d'action à $0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$, une des normes les plus sévères au monde (Québec, 2007). Plus récemment en 2009, l'*American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH) aux États-Unis a recommandé la diminution de la VEMP à $0,05 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (en poussière inhalable) (ACGIH, 2009). Outre ces normes, le RSST a accordé au Be les notations *CI* pour cancérogène démontré chez l'humain, *EM* pour une exposition qui doit être réduite au minimum, *S* pour le risque de sensibilisation et *RP* pour la recirculation prohibée (Québec, 2007). L'ACGIH a ajouté la notification de *Skin* puisque la pénétration dermique du Be a été démontrée (ACGIH, 2009).

Les dépôts de poussières sur les surfaces sont une source d'exposition potentielle que ce soit par contact cutané ou par une re-suspension par un brassage de l'air. Il n'existe pas de normes pour les surfaces mais des valeurs de référence sont toutefois appliquées, soit 0,2 µg/100 cm² pour une zone reconnue sans Be et 3 µg/100 cm² dans une zone où il y a présence de Be. (Brisson et al, 2006b, Dion et Perrault, 2004)

1.3 Méthodes actuellement utilisées pour l'analyse du béryllium

La surveillance de l'exposition nécessite l'utilisation de méthodes analytiques de plus en plus performantes qui permettent de mesurer des ultra-traces de béryllium. Les méthodes comportent 3 étapes : l'échantillonnage, la dissolution/l'extraction et l'analyse. Dans l'air des lieux de travail, l'échantillonnage est effectué sur cassette par aspiration des poussières à travers des filtres, à l'aide d'une pompe (IRSST, 2005). Pour les surfaces, des frottis sur une aire de 100 cm² sont effectués à l'aide de filtres ou de lingettes humides de type Ghost WipesTM (IRSST, 2005 ; ASTM, 2003). La dissolution se fait dans un milieu acide pour détruire la matière organique du média d'échantillonnage et surtout pour solubiliser les particules de béryllium peu importe leurs formes chimiques. Les méthodes standards d'analyse actuelles utilisent principalement les techniques d'absorption atomique avec four au graphite (AAFG), de plasma à couplage inductif avec la spectroscopie d'émission atomique (ICP-AES) et de plasma à couplage inductif couplé à la spectrométrie de masse par torche à plasma (ICP-MS). (Brisson et al., 2006a). Cette dernière est la plus performante au niveau des limites de détection et possède également l'avantage de présenter très peu d'interférences. Par contre, l'équipement et les coûts d'opération sont plus élevés.

Tableau 1.1 : Méthodes standards disponibles pour le dosage du béryllium dans l'air en milieu de travail (Ashley et al., 2006).

Méthode	Média échantillonnage	Média dissolution	Technique d'analyse	LD ^b estimée (µg/éch.)	Références
NIOSH7300	Filtre ECM ^a	HNO ₃ /HClO ₄	ICP-AES	0,005	NIOSH, 2007a
OSHA ID-125G	Filtre ECM	H ₂ SO ₄ /HNO ₃ / H ₂ O ₂ /HCl	ICP-AES	0,043	OSHA, 2002
NIOSH 7102	Filtre ECM	H ₂ SO ₄ /HNO ₃	AAFG	0,005	NIOSH, 1994
IRSST359	Filtre ECM	HNO ₃	ICP-MS	0,0005	IRSST, 2007
EPA200.7	Filtre ECM	HNO ₃ /HCl	ICP-AES	0,014	EPA, 1994

^afiltre d'esters de cellulose mélangés

^blimite de détection

2. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS

Les connaissances actuelles sur la toxicité du Be suggèrent la nécessité de détenir une méthode d'analyse rapide afin de permettre l'identification, du moins préliminaire, d'une situation où il y a présence d'un risque pour les travailleurs. À ce jour, les méthodes disponibles impliquent un délai de plusieurs jours entre le moment de l'échantillonnage et l'obtention des résultats puisque les échantillons doivent être envoyés dans les laboratoires accrédités pour l'analyse.

Cette étude a pour but de développer une méthode d'analyse rapide du béryllium en milieu de travail. La méthode développée devrait permettre des mesures de quantités de Be en deçà des normes ou des valeurs de référence en vigueur. Pour ce faire, il est nécessaire de se baser sur une technique analytique fiable mais simple d'utilisation. Cette méthode pourrait être disponible en complément à la méthode conventionnelle de référence par ICP-MS. Elle permettra de mesurer de faibles concentrations de Be dans l'air et sur les surfaces des milieux de travail, après vérification des interférences potentielles. La méthode développée permettra de réaliser, directement sur les lieux de travail, des suivis de décontamination et de l'exposition des travailleurs. Elle constitue donc une alternative plus économique et plus rapide que la méthode conventionnelle.

La méthode qui sera développée à l'IRSST, devra rencontrer les exigences de validation analytique de l'IRSST (IRSST, 2006a).

3. MÉTHODOLOGIE

La méthodologie et les démarches détaillées pour réaliser ce travail sont décrites dans un mémoire déjà publié (Giguère, 2010).

3.1 Choix de la méthode analytique

Les méthodes fluorimétriques se retrouvent parmi les outils d'analyse du Be depuis les années 60 (IARC, 1993). Malgré que le béryllium n'émette aucune fluorescence dans l'UV-visible, le couplage avec un ligand ayant des propriétés de fluorescence en permet l'analyse. La technique de la fluorescence moléculaire présente l'avantage d'utiliser une instrumentation portative. En effet, des appareils de moins de 5 kg sont disponibles sur le marché à des coûts raisonnables; de plus, cette technique est très sensible par rapport aux autres techniques spectrophotométriques.

3.2 Critères généraux et spécifiques requis pour le développement de la méthode

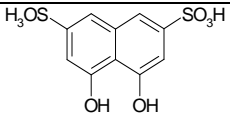
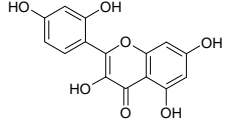
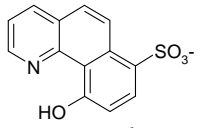
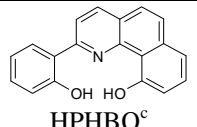
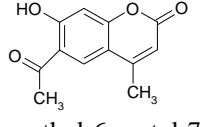
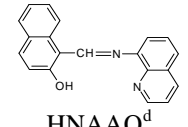
Le développement d'une méthode d'analyse du Be en fluorescence requiert l'étude de chromophores afin d'en cibler un qui répondra à des critères précis tel que la présence de propriétés de fluorescence, de sensibilité, et de stabilité ainsi que l'évidence de complexation avec le Be. Une fois le chromophore ayant les meilleures performances spectroscopiques choisi, il est nécessaire d'évaluer la meilleure méthode d'extraction du Be c'est-à-dire qui permettra d'obtenir des taux de récupération représentant la totalité ou la quasi-totalité du Be échantillonné ainsi que la compatibilité de celle-ci avec le chromophore et la technique de mesure. Suite à cela, il est nécessaire d'évaluer les interférences potentielles causées par d'autres cations fréquemment

rencontrés en présence du béryllium. La méthode développée devra permettre le dosage du Be à des niveaux de concentrations tels que rencontrés en hygiène du travail, c'est-à-dire couvrant au minimum entre 10 et 200% de la valeur de la norme québécoise. Finalement, la démonstration de la solidité de la méthode par l'application des paramètres de validation tels que définis par l'IRSST (IRSST, 2006a) devra être effectuée.

3.2.1 Choix des chromophores

Dans la littérature, plusieurs ligands ont été répertoriés pour complexer le Be, tel que montré au tableau 3.1. Certains auteurs ont rapporté la création de ligand spécifique au Be (Keizer, Sauer et McCleskey, 2004).

Tableau 3.1 : Présentation de chromophores pour l'analyse du Be en fluorescence.

Chromophore	Solvant	LD	$\lambda_{ex}/\lambda_{em}$ (nm)	Interférences	Références
 Acide chromotropique	H ₂ O	ND ^a	362/387	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Mg ²⁺ , Pb ²⁺ , Fe ³⁺ , Co ²⁺	Pal, 1992
 Morin	H ₂ O /Triton-X	40 ng/L	440/530	Zn ²⁺ , F ⁻ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺	Jiang, 2003
 HBQS ^b	H ₂ O /NaOH	4,7 ng/L	385/475	B ³⁺ , Fe ³⁺	Matsumiya, 2001
 HPHBQ ^c	H ₂ O	39 pg/L	420/496	Al	Matsumiya, 2003
 4-méthyl-6-acétyl-7-hydroxycoumarin	H ₂ O/benzène	ND ^a	403/465	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Cr ³⁺ , Pb ²⁺ , Fe ³⁺ , Al, EDTA, Ti	Yoshida, 1990
 HNAAQ ^d	H ₂ O /EtOH	99 ng/L	410/450	Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Mg ²⁺ , Pb ²⁺ , Fe ³⁺ , Ca ²⁺ etc	Jiang, 2003

^a non disponible

^b 10-hydroxybenzo[h]quinoline sulfoné

^c 2-(2'-hydroxyphényl)-10-hydroxybenzo[h]quinoline

^d 2-hydroxy-1-naphtalaldéhyde-8-aminoquinoline

Trois réactifs déjà documentés dans la littérature pour complexer le béryllium ont été retenus pour réaliser l'étude. Le premier réactif est le 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate (HBQS) qui semble très prometteur. Une méthode fluorométrique de détection du béryllium a été développée au *Los Alamos National Laboratory* (LANL). Cette molécule possède une fluorescence maximale à 565 nm qui est déplacée vers 475 nm lorsque complexée avec le Be (Agrawal et al., 2006, Ashley et al., 2007). Le complexe est présenté à la figure 3.1. D'après la tolérance aux interférents potentiels, ce chromophore semble sélectif au Be (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). Une limite de détection estimée de 0,00075 µg/filtre a déjà été rapportée (Ashley et al., 2007). Le réactif est disponible commercialement sous forme de solution de détection, toutefois le coût est très élevé (Berylliant, 2007).

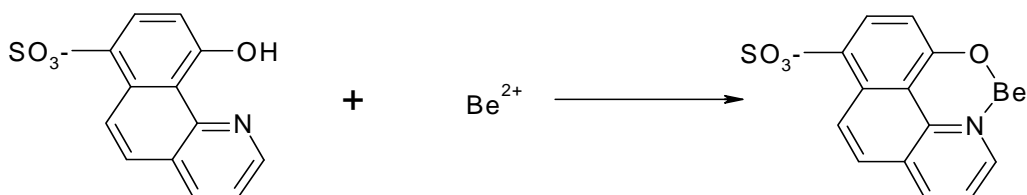


Figure 3.1 : Complexation du Be par le HBQS.

Le deuxième réactif retenu est le 1-(2,4-dihydroxy-1-phénylazo)-8-hydroxy-3,6-naphtalènesulfonate (H-Resorcinol). Il est cité pour permettre la complexation du Be tel que montré à la figure 3.2 et ainsi procéder à l'analyse par chromatographie liquide à haute performance couplée à une détection UV (HPLC-UV) (Hoshino et al., 1996). La limite de détection rapportée est de 7,2 ng/L. Aucune étude n'a été trouvée quant à l'application de ce ligand pour des mesures en fluorescence. Malgré tout, sa structure permet d'émettre l'hypothèse qu'il possède des propriétés de fluorescence. Il est possible de se le procurer chez un fournisseur de produits chimiques.

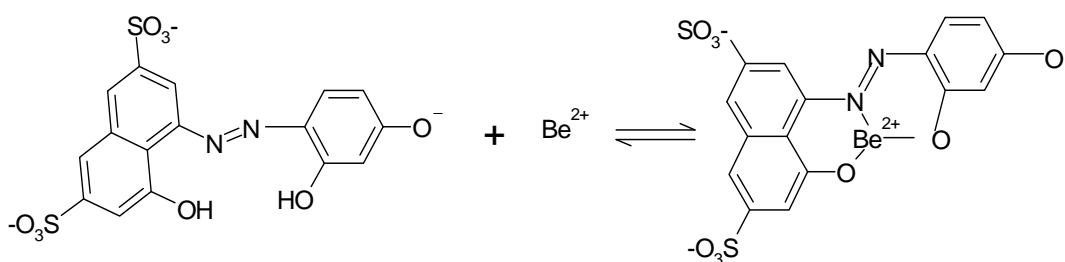


Figure 3.2 : Complexation du Be par le H-Resorcinol.

Le troisième réactif sélectionné, le 2-(2'-hydroxyphényl)-10-hydroxybenzo[h]quinoline (HPHBQ) forme un complexe avec le Be qui émet à 496 nm (Matsumiya et Hoshino, 2003).

L'étude rapporte l'utilisation de la HPLC-Fluorescence pour l'analyse. Toutefois, ce réactif n'est pas disponible commercialement.

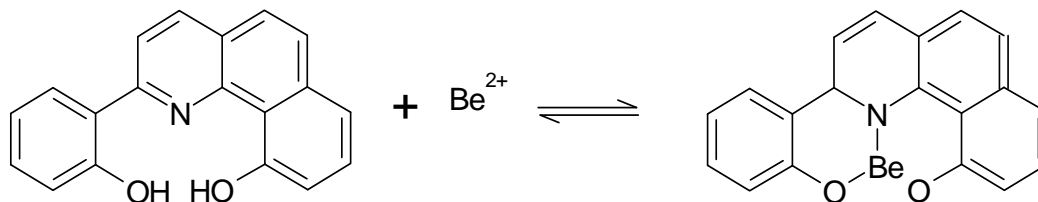


Figure 3.3 : Complexation du Be par le HPHBQ.

Des nombreux chromophores documentés dans la littérature, le choix de ces trois est supporté par la facilité de formation du complexe (en milieu aqueux, sans chauffage) et de plus, ils semblent très sélectifs en présence d'autres ions potentiellement interférents. L'analyse d'ultra-traces paraît envisageable en raison des basses limites de détection.

Dans le cadre de la présente étude, les caractéristiques de la fluorescence du chromophore ont été étudiées : les longueurs d'excitation et d'émission optimales pour le ligand et le complexe, la réponse en fonction des concentrations de Be, l'effet du pH sur la fluorescence et la stabilité de la solution de chromophore.

3.2.2 Choix des cuvettes de mesure

Des cuvettes jetables en polyméthylméthacrylate et en polystyrène sont testées pour leur rendement par rapport aux cuvettes de verre. Si elles permettent une transmission de lumière équivalente au verre alors elles seront préconisées pour la méthode. L'évaluation sera faite sur la fluorescence du complexe de béryllium.

3.2.3 Choix des espèces de Be et du solvant de dissolution

La dissolution est une étape importante dans le processus puisqu'elle doit permettre de mettre en solution tout le Be échantillonné et ainsi obtenir une représentation la plus fidèle possible de l'exposition des travailleurs. Afin de reproduire le plus possible les conditions réelles d'échantillonnage en milieu de travail, les tests de dissolution/extraction ont été réalisés avec un composé de béryllium sous forme solide. Plusieurs formes de Be solide sont disponibles ; Be⁰, BeAl, BeCu, BeCl et BeO. Le BeO est le seul composé retenu en raison de sa disponibilité commerciale et du défi que représente son insolubilité. En effet, de nombreux auteurs rapportent la difficulté d'amener cette espèce réfractaire en solution. Seules des attaques agressives avec des acides concentrés peuvent y parvenir (Brisson et al., 2006b ; Stefaniak et al., 2007 ; Coleman et al., 2004). L'acide sulfurique à concentration élevée est réputé suffisamment puissant pour dissoudre des particules de BeO. Des auteurs rapportent également une bonne solubilité du BeO dans des solutions fortement alcalines ou d'acide fluorhydrique concentré (Brisson et al., 2006b ; Coleman et al., 2004). Les méthodes actuellement validées pour l'analyse du Be procèdent toutes par une dissolution acide, tel que présenté au tableau 1.1, et différentes combinaisons d'acides sont possibles. La manipulation des poudres de BeO impose des contraintes étant donné les

risques reliés à l'exposition et à la contamination de l'environnement de travail. L'utilisation d'une suspension dans l'isopropanol facilite la manipulation de la poudre (Paquette, 2008).

Dans le cadre de cette étude, les essais de mise en solution ont été conduits avec différents solvants : le NaOH, un mélange HNO₃/H₂SO₄ et le NH₄HF₂. Il n'existe pas d'étude sur la solubilisation du Be par le NaOH mais un brevet datant des années 70 inclut le NaOH dans leur procédé d'extraction du Be des minerais (Grunig, Davis et Aitkenhead, 1972). Ce choix était également conduit par l'obtention d'un pH alcalin, ce qui pourrait être souhaitable étant donné que les chromophores choisis présentent une fluorescence en milieu basique. Ce même brevet ainsi que des publications récentes (Ashley et al., 2007; Agrawal, Tonazzi et Cronin, 2007) font également mention de l'utilisation du NH₄HF₂ pour solubiliser le BeO. Ils rapportent la solubilisation du BeO par ce produit avec une récupération de près de 100 %. Les essais de dissolution ont été conduits en variant les volumes et proportions de solvant de dissolution ainsi que la durée du chauffage.

3.2.4 Choix des interférents potentiels

Le béryllium est surtout utilisé dans le milieu industriel en tant que composante d'alliage métallique. Il est donc retrouvé le plus souvent dans les milieux de travail en présence d'autres métaux. Les alliages les plus courants se font avec l'aluminium, le cuivre, le fer, le nickel et le chrome. Ces métaux devront donc être étudiés plus particulièrement. D'autres cations ou métaux ont été étudiés, leur choix est basé sur leur incidence et sur d'autres études d'interférences pour le béryllium (Minogue et al., 2005 ; Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001).

Afin d'évaluer les interférences spectrophotométriques, des solutions d'interférents potentiels ont été préparées, elles sont composées de métaux individuels ou de multi-métaux. Les solutions de métaux individuels possèdent des concentrations variant de 0,15 mM à 8 mM et ont été préparées pour l'aluminium, le cuivre, le chrome, le fer et le nickel dans HNO₃ 1%. Les compositions des solutions multi-métaux sont présentées au tableau 3.2.

Tableau 3.2 : Constitution des solutions d'ions multi-élémentaires pour les tests d'interférences

Éléments contenus dans les solutions	Solution #	Concentration de chacun des ions dans la solution (µM)
<u>Multi-16</u> : Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sn, Zn	1	400
	2	300
	3	200
	4	100
	5	50
	6	15
<u>Multi-5</u> : Al, Cr, Cu, Fe, Ni	7	5000
	8	1600
	9	800
	10	400
	11	300
	12	200

L'impact de la présence des métaux sur les mesures directes des concentrations a également été étudié. Les solutions multi-élémentaires à 400 et 15 μM (solution #1 et #6 du tableau 3.2) ont été utilisées. Le dosage de solution de Be soluble a été fait pour 5 concentrations dans les basses teneurs (0,1; 0,2; 0,5; 1,0 et 2,0 ppb) et 5 concentrations dans les hautes teneurs (2,0; 5,0; 6,8; 10,0; et 40,0 ppb).

Les essais ont été effectués sur des solutions de HBQS et sur des solutions de Be-HBQS en observant l'effet de la présence par rapport à l'absence des interférents potentiels sur le spectre de fluorescence.

3.2.5 Comparaison avec les interférences observées en ICP-MS

Des solutions ayant démontré des interférences en fluorescence ont été mesurées en ICP-MS (sans le chromophore) afin de voir si les interférences de la fluorescence sont évitables par des mesures en ICP-MS. Des solutions individuelles de Cu, Al, Cr, Fe, Ni à 400 μM , deux solutions contenant soit 250 ou 80 μM de chacun de ces métaux ; Al, Cu, Cr, Fe et Ni ainsi que cinq solutions contenant 16 éléments différents avec des concentrations totales d'ions de 320, 240, 160, 80 et 40 μM ont été mesurées en ICP-MS. Les solutions ont été mesurées sans la présence de Be, avec 0,4 et 2 ppb de Be.

3.2.6 Protocole d'extraction et d'analyse

Un protocole général s'applique aux différents essais, d'abord un volume d'un solvant de dissolution donné est ajouté aux tubes contenant le Be dont l'isopropanol a été évaporé, les solutions sont ensuite chauffées à l'aide d'un bloc chauffant (HotBlockTM Pro de Environmental Express, Mt. Pleasant, South Carolina) à 85°C pour une durée déterminée. Les tubes sont ensuite refroidis à température ambiante. Par la suite, les solutions sont filtrées dans des tubes coniques de 15 mL à l'aide d'une seringue de 10 mL de BD syringe (Franklin Lakes, NJ) munie d'un filtre Millex HV en PVDF 0,45 μm de Millipore Corporation (Billerica, MA).

Afin de rendre applicable la méthode pour la mesure de la norme et des valeurs de référence, deux étalonnages sont nécessaires pour couvrir la gamme des concentrations en Be rencontrées. Un premier, de basse teneur, couvre de 0 à 4 ppb et le deuxième, de haute teneur, s'étend de 4 à 40 ppb. La préparation des solutions pour les mesures de fluorescence sont les mêmes pour les échantillons et les étalons. Pour l'échelle des basses teneurs, les échantillons sont préparés en mélangeant directement, dans une cuvette pour la fluorescence, 0,4 mL de la solution d'échantillon et 1,6 mL de la solution de chromophore. Pour les hautes teneurs, 0,1 mL d'échantillon est utilisé pour 1,9 mL de solution de chromophore. Le volume total est limité à 2 mL. Les solutions sont préparées tout juste avant de les introduire dans l'appareil.

3.2.6.1 Préparation des échantillons avec ou sans filtres

Des volumes allant de 100 à 1000 μL de la suspension de BeO sont délivrés par une pipette automatique dans des tubes de polypropylène de 50 mL. Là où requis, des filtres ECM de 37 mm et d'une porosité de 0,8 μm (SKC, Mississauga, ON) sont disposés préalablement dans chacun

des tubes. Les embouts de pipette ne sont pas rincés avec la suspension avant de prélever le volume désiré. Toutefois, après avoir délivré le volume requis de la suspension, l'embout est rincé avec de l'isopropanol pour environ 2 volumes d'embout afin de récupérer les particules pouvant avoir adhéré à la paroi. Les embouts ont un usage unique. Par la suite, les tubes sont laissés au moins 3 jours sous la hotte sous une cage de plexiglas pour permettre l'évaporation complète de l'isopropanol. Quelques essais ont été réalisés en présence d'un chiffon humide de type Ghost Wipes provenant d'Environmental Express (Mt. Pleasant, South Carolina).

3.2.7 Validation

La méthodologie pour la validation provient d'un protocole de développement, de mise au point et de validation de méthode analytique qui est appliqué à l'IRSST (IRSST, 2006a). Ce document a été conçu à l'aide de plusieurs publications traitant de la validation de méthode dont ceux d'organismes gouvernementaux reconnus tels OSHA, NIOSH et le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ, 2002).

Le processus de validation qui a été mené, comprend l'évaluation de la précision par la réplicabilité et la répétabilité ainsi que les limites de détection et de quantification. La précision a été étudiée pour les deux méthodes, soit la basse et la haute teneur en Be. Pour tous les paramètres évalués, le processus complet de traitement de l'échantillon a été appliqué. Les échantillons et leur traitement consistent en des enrichissements (*spikes*) de béryllium soluble sur des filtres ECM de 37 mm de 0,8 µm digérés sur un bloc chauffant à 85°C pendant 35 minutes à l'aide de 5 mL de NH₄HF₂ 1% (la procédure générale de dissolution retrouvée à l'article 3.2.6 a été appliquée). Les résultats ont été obtenus avec le fluorimètre Modulus (section 3.4).

La réplicabilité permet d'évaluer la précision pouvant être obtenue sur les mesures successives d'un même échantillon dans les mêmes conditions : même laboratoire, même journée, même analyste, même appareil. Six répliqués de quatre niveaux de concentrations ont été analysés l'un à la suite de l'autre. La répétabilité permet d'évaluer la précision des résultats pouvant être obtenue sur la mesure de 4 niveaux de concentrations qui sont analysés 6 fois chacun mais en variant une la condition d'analyse suivante entre les répétitions soit la série d'analyse.

Tableau 3.3 : Niveaux de concentrations évalués pour la réplicabilité et la répétabilité

Niveaux de concentration (ppb)	
Basse teneur	Haute teneur
0,2; 0,4; 1,1; 2,2	2; 10; 20; 30

La limite de détection est déterminée à partir de la mesure de la concentration de 10 aliquotes d'un même échantillon dans un même étalonnage. La concentration utilisée doit répondre à certains critères : le signal doit être statistiquement différent de celui produit par un blanc dans les mêmes conditions et elle doit se situer dans un intervalle compris entre 4 et 10 fois la limite de détection (ratio de conformité). La multiplication par un facteur 3 de l'écart-type des 10 mesures correspond à la limite de détection (IRSST, 2006a).

La limite de quantification méthodologique constitue la concentration minimale pouvant être quantifiée par une méthode d'analyse. Elle est déterminée à partir de la mesure de la

concentration de 10 aliquots d'un même échantillon dans un même étalonnage. La multiplication par un facteur 10 de l'écart-type de ces mesures correspond à la limite de quantification.

3.3 Produits chimiques et préparation

3.3.1 Produits chimiques

La poudre d'oxyde de béryllium (99,7%) est un matériel de référence (#lot: 1877) du National Institute of Standard and Technology préparé par Brush Wellman Inc. (Elmore, Ohio). Les solutions standards de Be utilisées sont certifiées matériel de référence. Les solutions standards de 1000 mg/L Be de grade Claritas et de 10000 mg/L de grade Assurance proviennent de Spex Certiprep (Metuchen, NJ). La solution standard de 10 mg/L grade PlasmaCal provient de SCP Plasma Cal (Baie d'Urfé, Qc). Pour les études d'interférences, les solutions standards de métaux de 10000 mg/L (Al, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, Sn, Ba, K, Na et Zn) sont de grade Assurance par Spex Certiprep (Metuchen, NJ). Le V et le W de 1000 mg/L sont de grade PlasmaCal de SCP Sciences (Baie d'Urfé, Qc).

Pour préparer la suspension de BeO, l'isopropanol est de grade ACS plus de Fisher Scientific (Ottawa, ON). Pour les dissolutions, le NaOH 10N utilisé est de grade réactif de J.T. Baker (Phillipsburg, NJ) et l'acide sulfurique 95% p/p de grade Optima de Fisher Scientific (Ottawa, ON). L'acide nitrique grade trace métal (70% p/p) de chez Fisher Scientific (Ottawa, ON) et du NH_4HF_2 solide (99,999%) de grade métal de Sigma-Aldrich (Oakville, ON) ont aussi été utilisés pour les dissolutions et pour les solutions de dilution.

Le H-Resorcinol (95%) provient de TCI America (Portland, OR). La synthèse du HBQS a été réalisée avec du HBQ (98%) de Alfa Aesar (Ward Hill, MA) ainsi que l'acide chlorosulfonique de Fisher Scientific (Ottawa, ON). Pour préparer la solution de HBQS, ces réactifs ont été nécessaires : EDTA grade ACS de Aldrich (Milwaukee, WI), L-Lysine monohydrochloride (99+%) de Alfa Aesar (Ward Hill, MA), du NaOH 10N de J.T. Baker. L'eau utilisée dans les préparations est de type nanopure purifiée avec un système Milli-Q Element A-10 (Millipore, Billerica, MA).

3.3.2 Préparation des solutions

La solution de chromophore qui permettra de doser le béryllium est composée d'un mélange de 3 solutions. La première est une solution de 1,1 mM de HBQS dissous dans un volume total de 50 mL avec du NaOH 0,1 N. La deuxième, une solution d'EDTA à 10,7 mM dans de l'eau nanopure. La troisième, la L-Lysine monohydrochloride à 107 mM qui est préparée en dissolvant la L-Lysine monohydrochloride dans environ 75 mL d'eau nanopure puis le pH est ajusté à 12,8 avec du NaOH 10 N avant de compléter le volume à 100 mL. Le mélange final contient 6 mL de HBQS 1,1 mM, 25 mL d'EDTA 10,7 mM et 50 mL de lysine 107 mM. Les solutions sont mélangées dans un ballon de 100 mL puis le pH est ajusté à 12,8 avec le NaOH 10 N avant d'être jaugé au volume avec de l'eau nanopure. La solution de chromophore contient une concentration de 66 μM en HBQS. La solution étant sensible à la lumière elle a été conservée dans une bouteille en Nalgène™ ambrée.

Trois séries de solutions étalons de Be ont été préparées et elles se différencient principalement par le solvant de dilution soit le NaOH 6 N, HNO₃ 1 % et NH₄HF₂ 1 %. Les concentrations des étalons varient de 0,5 ppb à 800 ppb. Les essais de dissolution qui utilisent des solvants différents justifient la nécessité de posséder 3 séries de standards pour les étalonnages.

3.4 Instrumentation

Les mesures de fluorescence du H-Resorcinol ont été faites avec un spectromètre de luminescence de Perkin Elmer (Waltham, MA) modèle LS50B avec une lampe au Xénon.

Les mesures de fluorescence du HBQS ont été faites avec un fluorimètre Hitachi modèle F-2000 (Pleasanton, CA) muni d'une lampe au Xénon. Les mesures ont été effectuées à une bande passante de 10 nm, une vitesse de balayage de 240 nm/min, un temps d'acquisition de 0,5 s et un voltage 700 V du photomultiplicateur. Le deuxième fluorimètre utilisé est le ModulusTM single tube multimode reader de Turner Biosystems (Sunnyvale, CA). Le Modulus est un fluorimètre portable de 33x27x21 cm pesant seulement 3 kg. Il est compatible avec Microsoft Excel. Le système optique est contenu dans une cassette modulaire qui s'installe et se retire de l'appareil par l'analyste. L'excitation par une source DEL fixée à 385 nm avec une fenêtre d'émission entre 468 et 480 nm. L'appareil de fluorescence Modulus comporte deux modes de mesure : la mesure de la fluorescence brute et le mode de calibration. Les principaux avantages du *Modulus* sont sa simplicité d'utilisation, sa rapidité et le fait qu'il permet d'obtenir la concentration d'un échantillon directement. Cet appareil est donc celui sur lequel a été développée la méthode de fluorescence.

Un spectromètre de masse à couplage à plasma inductif (ICP-MS) de marque Perkin Elmer Elan DRC-II (Waltham, MA) avec un échantillonneur ESI SC-Fast est utilisé pour des mesures comparatives. L'appareil est muni d'une pompe péristaltique à trois canaux pour acheminer la solution porteuse, l'échantillon et le standard interne vers la valve de mélange. L'analyseur est un quadripôle et la détection s'effectue grâce à un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes. Le tableau 3.4 donne les paramètres de l'ICP-MS pour la mesure.

Tableau 3.4 : Paramètres de l'ICP-MS.

Isotope	⁹ Be
Standard interne	⁶ Li
Débit des gaz (Plasma)	15 L/min
Débit des gaz (Auxiliaire)	1,2 L/min
Débit des gaz (Nébuliseur)	1,05 L/min
Puissance RF ICP	1100 W
Voltage du champ axial	350 V

4. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

4.1 Études des chromophores : propriétés spectroscopiques

Des trois chromophores mentionnés à l'article 3.2.1, deux ne seront pas détaillés dans ce document. Le HPHBQ n'a pas été étudié puisqu'il requerrait une synthèse complexe. Il aurait été considéré seulement dans le cas où les deux autres chromophores n'auraient été adéquats. Le H-Resorcinol a été étudié mais n'a démontré qu'une faible intensité de fluorescence. En présence de béryllium, l'intensité obtenue ne varie presque pas et la longueur d'onde d'émission demeure la même tel que présenté à la figure 4.1. La fluorescence du H-Resorcinol ne pouvant donc pas être distinguée du Be-Resorcinol, il serait donc nécessaire d'ajouter une étape d'extraction.

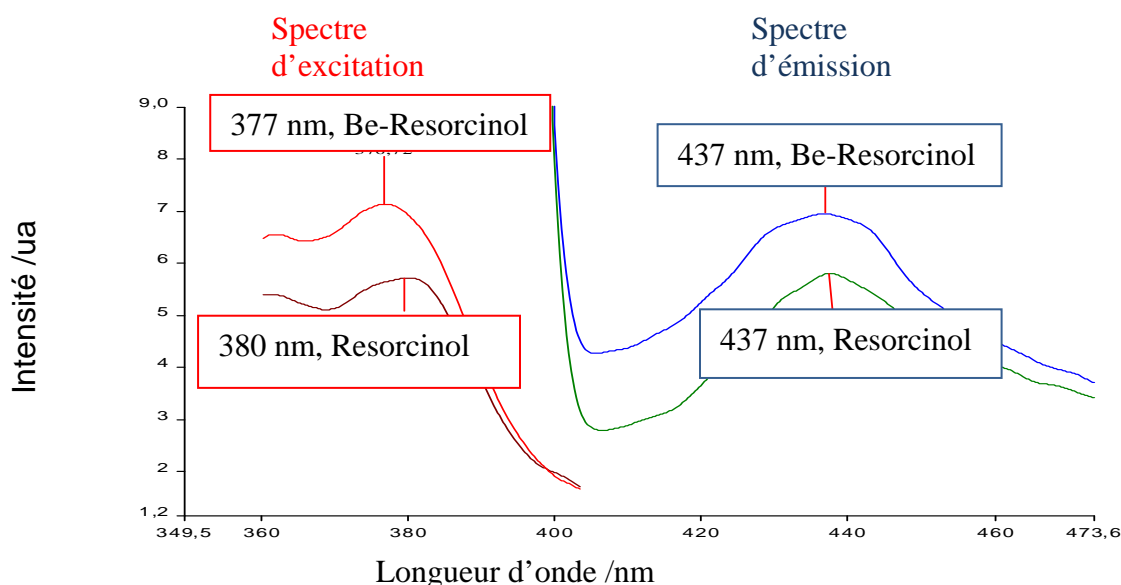


Figure 4.1 : Spectre d'excitation et d'émission du H-Resorcinol seul ou avec le Be (fluorimètre PerkinElmer).

L'autre chromophore à l'étude pour ses propriétés fluorescentes est le HBQS qui n'est pas disponible commercialement. Le réactif HBQS a donc été fabriqué à partir du HBQ selon une stratégie différente de celles retrouvées dans la littérature (McCleskey et al., 2006; Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). En effet, la sulfonation a été réalisée à l'aide de l'acide chlorosulfonique alors que dans la littérature, l'acide sulfurique fumant a été utilisé. Des caractérisations par spectroscopies RMN¹H (voir annexe A1) et IR ont permis d'identifier le produit obtenu comme étant le HBQS.

Le HBQS possède une émission de la fluorescence non négligeable dans le visible à une longueur d'onde de 565 nm. Il y a évidence de formation d'un complexe avec le pic d'émission à 475 nm qui apparaît lorsque que le béryllium est ajouté à la solution de chromophore. Le déplacement de Stokes observé est de près de 100 nm, ce qui indique une spécificité de la

fluorescence du complexe. Cette spécificité devrait permettre de quantifier le Be en mesurant l'intensité à 475 nm dans la solution sans procéder à l'extraction du complexe.

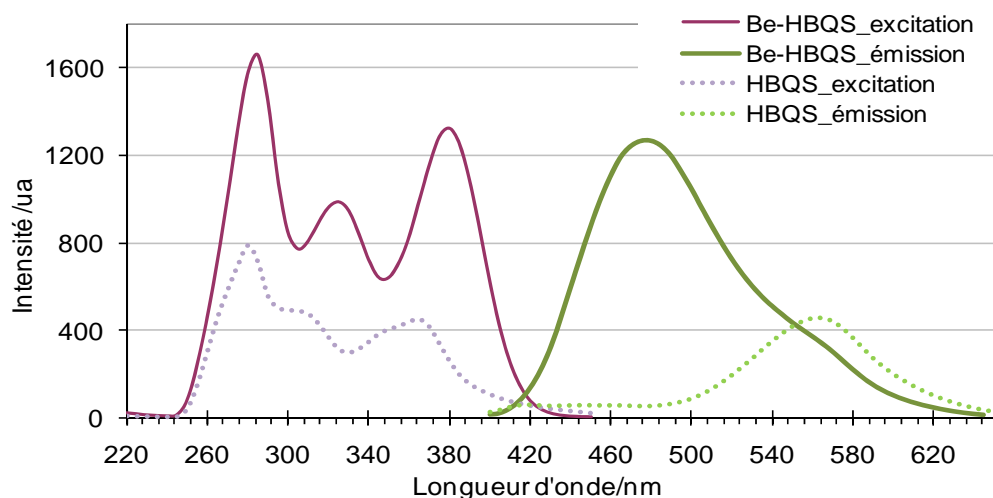


Figure 4.2 : Spectre d'excitation et d'émission du HBQS et du complexe de Be-HBQS avec [Be]= 8 ppb (Hitachi).

La complexation du Be par le HBQS se produit instantanément (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). Des tests ont été effectués en mesurant une solution, soit tout de suite après le mélange du Be avec le HBQS ou en laissant une période de temps s'écouler entre le mélange et la mesure. Les résultats démontrent que peu importe le moment de la mesure, l'intensité d'émission ne varie pratiquement pas, confirmant que la complexation est instantanée.

4.2 Évaluation du chromophore choisi: fluorescence et stabilité du HBQS au temps et au pH.

Une solution de HBQS est commercialisée par Berylliant Inc. (Berylliant, 2007) pour la détection du Be. À la figure 4.3, la fluorescence du réactif synthétisé dans ce projet a été comparée avec le produit commercial. L'intensité des deux réactifs à la longueur d'onde d'émission du complexe, à 475 nm, est comparable. Quant aux complexes formés avec l'un ou l'autre des réactifs, ils émettent à la même longueur d'onde avec une intensité similaire pour une même concentration de Be. Les deux réactifs sont donc considérés comme équivalents pour la complexation du Be.

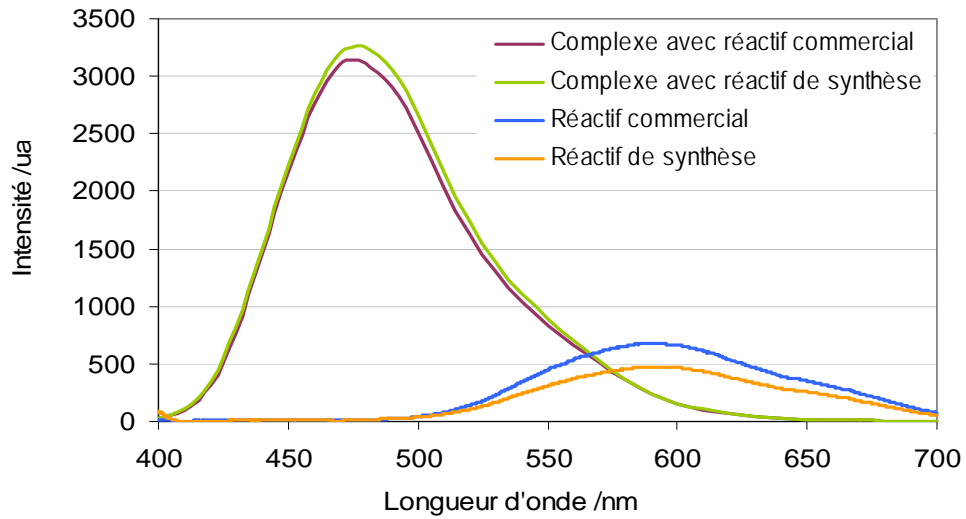


Figure 4.3 : Fluorescence du HBQS provenant de la solution de Berylliant et de la synthèse (USB4000, λ_{ex} = 380 nm) et fluorescence du complexe, [Be]= 8 ppb avec les deux réactifs (Hitachi, λ_{ex} = 380 nm).

Afin de vérifier s'il se produit une inhibition de la fluorescence due à la quantité de chromophore dans la solution, des solutions de HBQS à différentes concentrations ont été mesurées. Les résultats sont présentés à la figure 4.4. Il a été observé qu'au-delà de 150 μ M de HBQS, l'intensité cesse d'augmenter. L'intensité du HBQS à 150 μ M est la même qu'à 300 μ M. Des processus de désexcitation peuvent se produire en présence d'une quantité élevée de molécules en solution qui se traduit par une baisse apparente de l'émission de fluorescence.

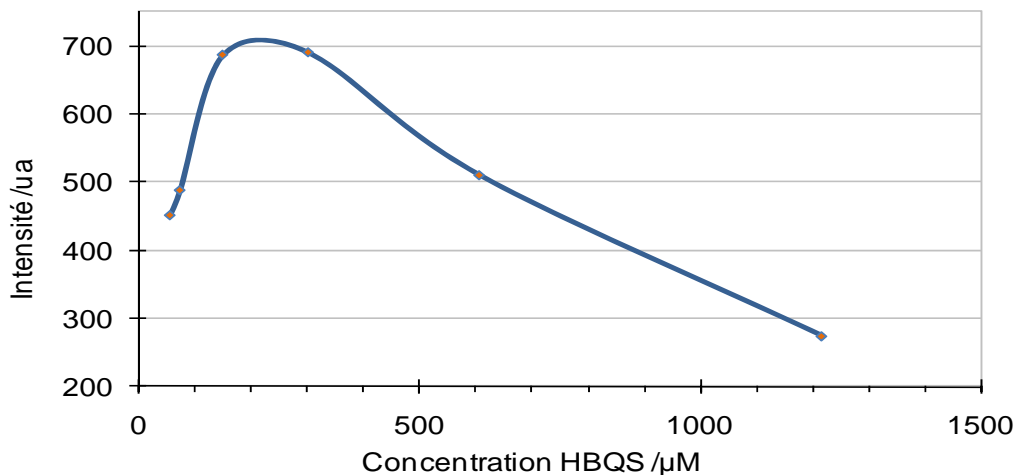


Figure 4.4 : Intensité d'émission à λ =563 nm du HBQS à différentes concentrations (Hitachi, λ_{ex} = 365 nm).

La fluorescence de la solution de HBQS a été mesurée dans un intervalle de temps afin de vérifier sa stabilité à long terme. La solution était conservée dans un contenant fermé et ambré. La figure 4.5 montre les spectres obtenus pour une même solution, tel que mesurés 5 fois en l'espace de 2 ans.

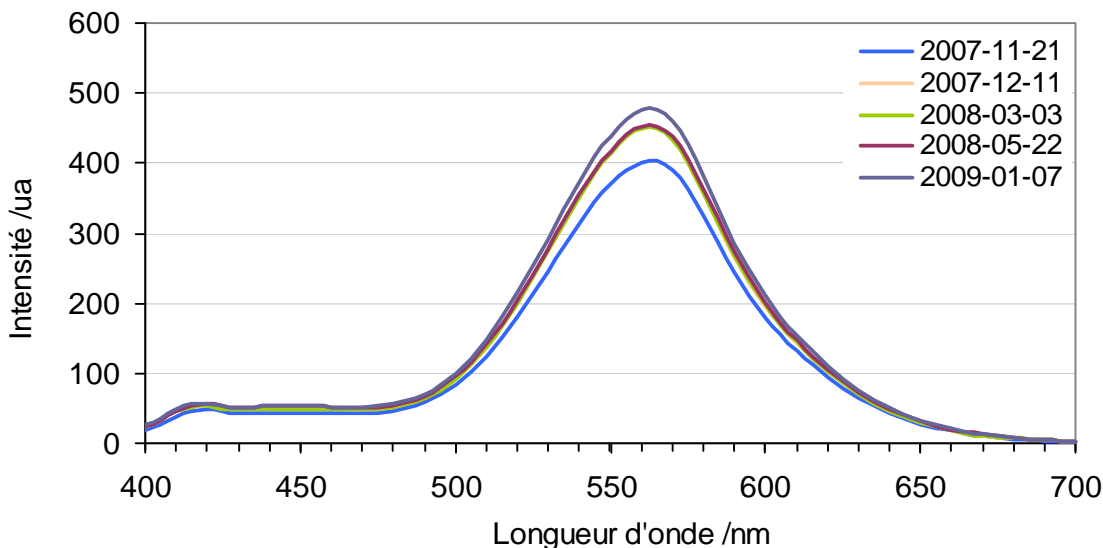


Figure 4.5 : Spectre d'émission d'une solution de HBQS mesurée à différents moments (Hitachi F2000, $\lambda_{ex}=365$ nm).

La première mesure a été prise dans la journée même de la préparation ce qui pourrait expliquer la grande différence par rapport aux autres mesures. Toutefois, entre 400 et 480 nm, l'intensité des cinq solutions est pratiquement la même. La solution est suffisamment stable pour être conservée, de façon appropriée, pendant deux ans.

Étant donné que les mesures de fluorescence sont souvent influencées par le pH du milieu, il ne faut pas négliger la sensibilité du réactif et du complexe à l'acidité. La solution de détection est maintenue à pH 12,8 avec un tampon mais l'ajout de la solution de Be qui est dans un milieu acide pourrait avoir un impact sur le pH. L'intérêt d'étudier l'impact de l'acidité est également d'évaluer si la dissolution acide d'un échantillon de Be serait compatible avec cette méthode d'analyse (Coleman et al., 2004; Brisson et al., 2006b). Les deux méthodes utilisées, dépendamment des teneurs en Be à mesurer, n'impliquent pas les mêmes volumes de solution. Pour les basses teneurs, le ratio du mélange entre les solutions de HBQS et de Be est de 4:1 tandis que pour les hautes teneurs le ratio est de 19:1. Ce qui signifie que les mesures dans les basses teneurs seront plus susceptibles d'être affectées par l'acidité de l'échantillon (de Be) puisque la proportion de solution acide y sera plus élevée.

Les tests effectués sur l'effet de l'acidité de la solution de Be démontrent que celle-ci influence l'intensité du signal mesuré. Le fait qu'il y ait une variation de l'intensité d'émission du complexe en fonction de l'acidité est surtout problématique puisqu'il peut être difficile d'harmoniser le pH entre les solutions d'étalonnage et les échantillons. Il est donc nécessaire de définir la zone où la variation d'acidité de la solution de Be a peu d'effet sur le signal. Pour une

teneur de 2 ppb en Be (basse teneur), l'intensité de la fluorescence du complexe croît avec l'augmentation de la concentration en H^+ jusqu'à ce que la concentration en acide de l'échantillon atteigne environ 4 M. Puis, l'intensité diminue drastiquement jusqu'à donner un signal équivalent au réactif seul. Il est probable que l'acidité trop élevée de la solution de Be brise l'effet du tampon et par le fait même, le complexe. L'impact est beaucoup moins important pour les hautes teneurs puisque le volume de solution acide ne représente qu'un vingtième du volume total de la solution mesurée (versus un cinquième pour les basses teneurs). Même à une concentration de 11 M en H^+ de l'échantillon, le signal du complexe ne diminue pas. L'écart de signal entre des solutions de Be à 2 ppb contenant 0,2 M et 1,1 M de H^+ est de 3 % dans les basses teneurs et de 2 % pour les hautes teneurs. Si la concentration en H^+ est augmentée à 2,2 M, l'écart passe à 12 % pour les basses teneurs et 6 % pour les hautes. La concentration en H^+ de la solution d'échantillon devrait donc être limitée à un maximum de 1 M pour éviter des variations de signal trop importantes.

4.3 Quantification du Be à l'aide du HBQS

La mesure de différentes concentrations de Be (figure 4.6) donne lieu à une augmentation de la réponse en fonction de cette concentration. Les faibles concentrations de Be ne produisent pas un signal suffisant pour former un pic de fluorescence se distinguant nettement de celui du HBQS. Le complexe forme plutôt un épaulement. La présence de cet épaulement augmente l'étendue de la bande du HBQS. Il importe donc de déterminer la longueur d'onde du complexe avec des solutions à teneur de Be suffisamment élevée pour que la bande du Be-HBQS se distingue de celle du HBQS.

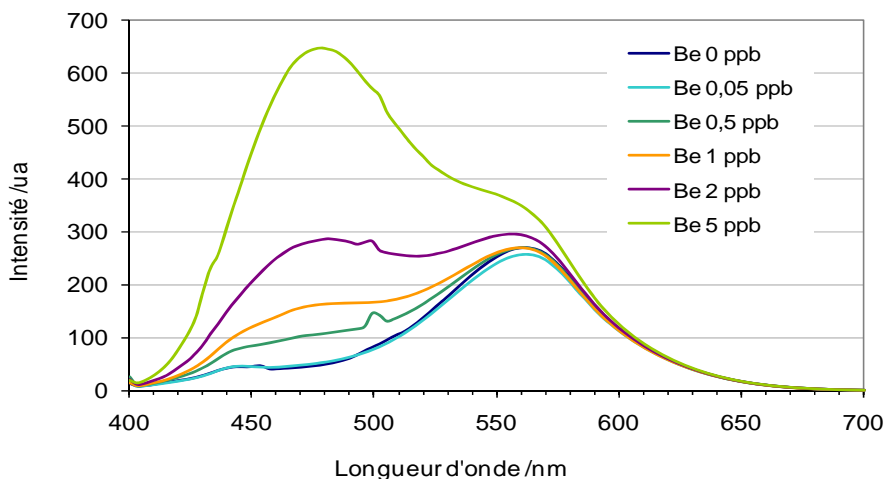


Figure 4.6 : Courbe de fluorescence du complexe Be-HBQS à différentes concentrations (Hitachi, $\lambda_{ex}=385$ nm).

Il a été établi que l'intensité d'émission du complexe à 475 nm en fonction de la concentration de Be était linéaire avec un coefficient de détermination de 0,9999. La régression linéaire de l'étalonnage des hautes teneurs (2 à 40 ppb) donne une sensibilité légèrement plus basse mais un coefficient de détermination équivalent à celui des basses teneurs.

4.3.1 Comparaison de différentes cuvettes de fluorescence

Le développement d'une méthode portable requiert non seulement des procédés simplifiés mais également du matériel robuste, facilement utilisable sur le terrain. Les cuvettes de mesure en fluorescence sont généralement des cuvettes de verre ou de quartz qui sont fragiles et onéreuses. Les cuvettes de plastiques présentent un intérêt puisqu'elles coûtent environ 10 ¢/chacune, sont plus résistantes et sont jetables. Toutefois, la qualité optique du plastique étant moindre, il est nécessaire de vérifier l'impact sur les mesures avant de les utiliser. Le polyméthylmétacrylate (PMMA) donne un résultat presque identique au quartz tandis que le polystyrène (PS) ne permet pas une transmission optimale de la lumière dans les longueurs d'onde utilisées, comme le démontre la figure 4.7.

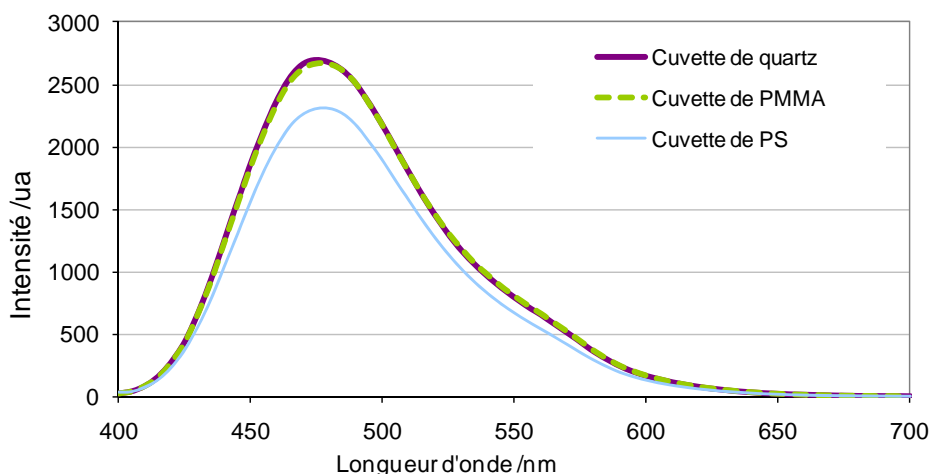


Figure 4.7 : Spectre de fluorescence du Be-HBQS à 20 ppb mesuré dans des cuvettes faites de différents matériaux (Hitachi, λ_{ex} = 385 nm).

Les cuvettes de PMMA ont donc été utilisées pour les étapes de développement de la méthode soit l'évaluation des interférences, la dissolution du BeO ainsi que les mesures de répétabilité, de répliquabilité et de limite de détection.

4.4 Évaluation des interférences

4.4.1 Interférences spectrophotométriques

Différents métaux, dont Al, Cu, Cr, Fe et Ni, ont été étudiés individuellement, en présence du HBQS afin de voir s'il y avait formation d'un complexe fluorescent métal-HBQS. Les résultats montrent qu'il n'y a pas de formation de complexe entre ces métaux et le HBQS entre 400 et 700 nm. En effet, le spectre de fluorescence du HBQS est demeuré inchangé en présence de chacun des métaux, tel que présenté à la figure 4.8, indiquant qu'aucun complexe n'est formé et qu'aucune inhibition de la fluorescence n'a lieu dans les conditions de mesures utilisées. La solution de HBQS contient de l'EDTA comme agent masquant. Ces cations ont pour la plupart des constantes de formation très élevées avec EDTA allant de 4×10^{13} à 6×10^{18} (Patnaik, 2004).

Celle du Be est plus faible, soit $1,6 \times 10^9$. En combinant l'effet de l'agent masquant et de la configuration moléculaire du HBQS qui favorise la chélation du Be, la complexation est nettement favorisée entre le Be et le HBQS. De plus, les métaux de transition sont moins propices à la formation de chélate fluorescent puisqu'ils possèdent plusieurs niveaux d'énergie voisins, ce qui leur permet de procéder à la désexcitation par conversion d'énergie interne.

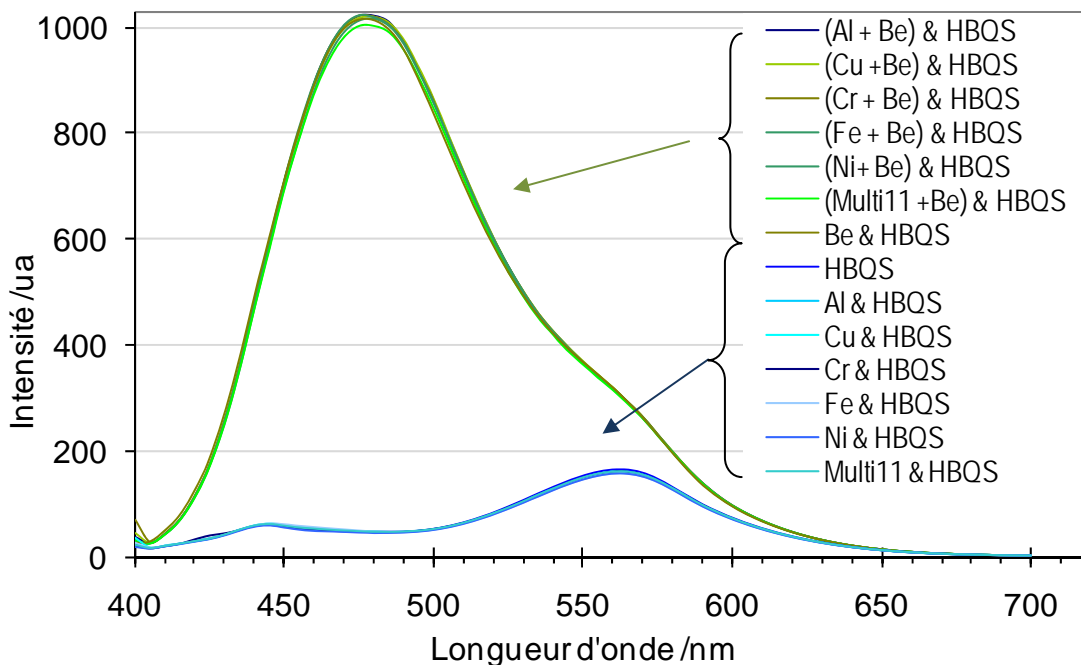


Figure 4.8 : Spectre de fluorescence de HBQS et de Be-HBQS en présence de différents métaux. [Be]=[M]=0,75 μ M (Hitachi, λ_{ex} =385 nm).

Les cinq métaux testés n'interfèrent pas non plus avec la formation du complexe puisque le spectre du Be-HBQS n'est pas modifié en leur présence. La solution appelée multi-11, présentée à la figure 4.8, est une solution multi-élémentaire composée de 11 autres métaux, soit Ba, Ca, Cd, Co, K, Mg, Mn, Na, Pb, Sn, Zn. Aucune modification aux spectres n'est visible en présence de cette solution. Ces 11 métaux sont donc considérés comme non interférents au niveau spectral.

À cette étape, les concentrations de métaux utilisées étaient du même ordre de grandeur que celle de Be. Toutefois, dans une situation d'échantillonnage en milieu de travail, il est très probable que le Be soit en quantité minoritaire par rapport aux autres métaux puisqu'il est généralement en faible pourcentage dans les alliages (< 2 %). Le complexe et le HBQS seul ont donc été mis en présence de quantités de métaux plus élevées. Les solutions multi-élémentaires utilisées comptent 16 ions dont Al, Cu, Cr, Fe et Ni. La composition des solutions multi-élémentaires est décrite en détail à la section 3.2.4. La concentration de chacun des 16 éléments dans la solution varie de 0,75 à 40 μ M résultant en des excès molaires totaux entre 55 et 2900 par rapport au Be. Ces solutions seront nommées multi-16 pour alléger le texte. L'effet de ces solutions a été

observé sur la mesure de 2 ppb de Be. L'intensité du signal du Be-HBQS mesuré dans les basses teneurs présente une interférence négative (perte d'intensité) significative en présence des mélanges multi-16 à 320, 480 et 640 μM (figure 4.9). Ils causent une baisse de signal allant de 13 à 21 %. Une légère interférence de 4 % est également causée par la multi-16 à 160 μM . L'intensité du signal du HBQS ne subit pas autant de perte que le complexe pour une même concentration d'ions mais malgré tout elle croît avec l'augmentation de la concentration des ions tout comme il avait été observé pour le complexe. Toutefois, la perte se limite à 5 % comparativement à 21 % pour le complexe. Les solutions les plus concentrées en métaux demeurent celles qui causent le plus d'écart au signal du Be-HBQS. L'effet de la présence des ions a été évalué sur le complexe de 2 ppb de Be mesuré avec la méthode des hautes teneurs, le signal est moins affecté, les écarts se situant à moins de 10 %.

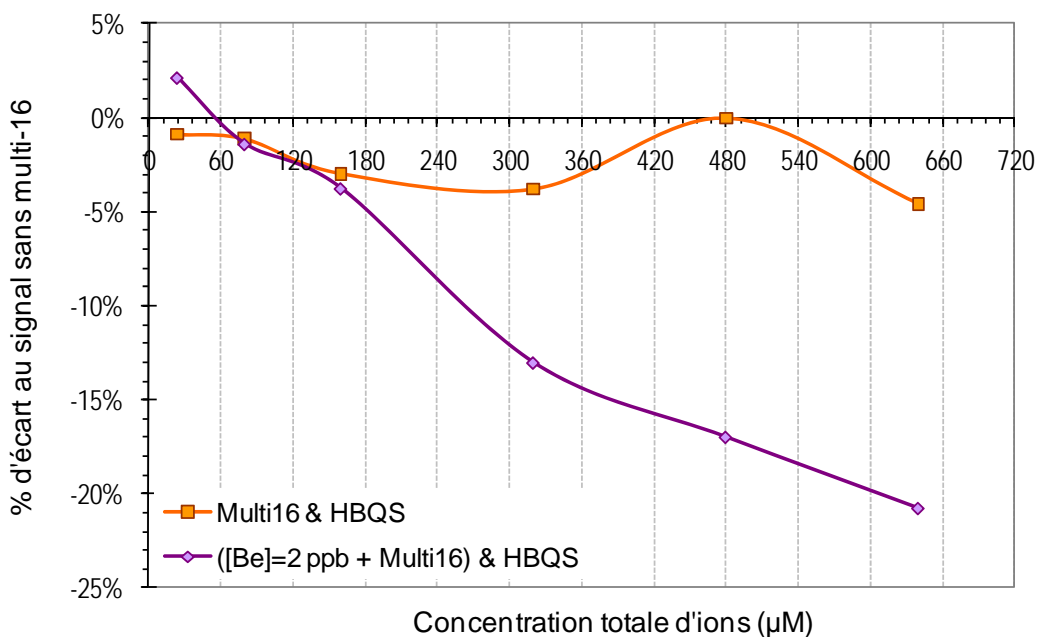


Figure 4.9 : Perte de signal du HBQS et du Be-HBQS dans les basses teneurs en présence de solutions multi-élémentaires à différentes concentrations.

Étant donné que la solution multi-16 affecte le signal du complexe, la cause de l'interférence doit être identifiée. Elle pourrait provenir d'une inhibition de la fluorescence due au grand nombre d'ions dans la solution ou bien d'une espèce présente dans le mélange qui interfère dans la complexation. Des mélanges d'Al, Cu, Cr, Fe et Ni (appelés multi-5 pour alléger le texte), à différentes concentrations, ont donc été ajoutés à des solutions de Be. Le mélange le plus concentré contient 250 μM de chacun des 5 métaux (1,25 mM au total) et le moins concentré, 10 μM de chacun d'eux (50 μM au total). Les deux mélanges les plus concentrés, 1,25 mM et 400 μM , sont ceux qui causent la plus grande baisse de signal. Plus la concentration en ions est élevée, plus l'écart au signal de la solution sans métaux est grand. L'effet sur l'intensité est du même ordre de grandeur pour toutes les solutions de HBQS et de Be-HBQS tel que présenté à la figure 4.10.

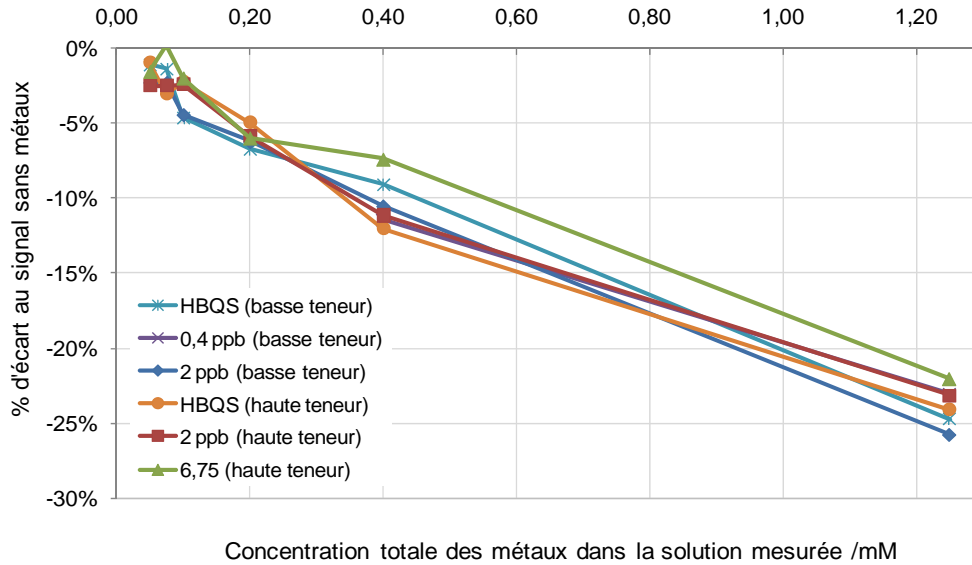


Figure 4.10 : Impact de l'ajout de solutions multi-5 à différentes concentrations sur des solutions de Be-HBQS ou de HBQS dans les basses et hautes teneurs.

Les pertes d'intensité causées par la solution multi-5 et la multi-16 sont semblables aux mêmes concentrations d'ions comme montré au tableau 4.1.

Tableau 4.1 : Comparaison des pourcentages d'écart au signal du Be-HBQS en présence du multi-5 et du multi-16.

Concentration d'ions totale (μM)	% écart calculé	
	Multi-5 ^a	Multi-16
400	10	15 ^b
200	6	6 ^b
100	3	2 ^b
80	2	1
50	2	0

^a % d'écart moyen

^b valeur estimée à partir de la figure 4.9

La plus grande part de l'interférence proviendrait donc de l'un ou de l'ensemble de ces 5 métaux. L'effet individuel de chacun d'eux sur l'intensité du signal du complexe a donc été étudié avec des excès molaire variant de 450 à 1800 par rapport au Be. Les résultats présentés à la figure 4.11 montrent qu'au temps zéro l'aluminium et le cuivre à 400 μM n'interfèrent pas sur le signal du Be et le chrome très peu.

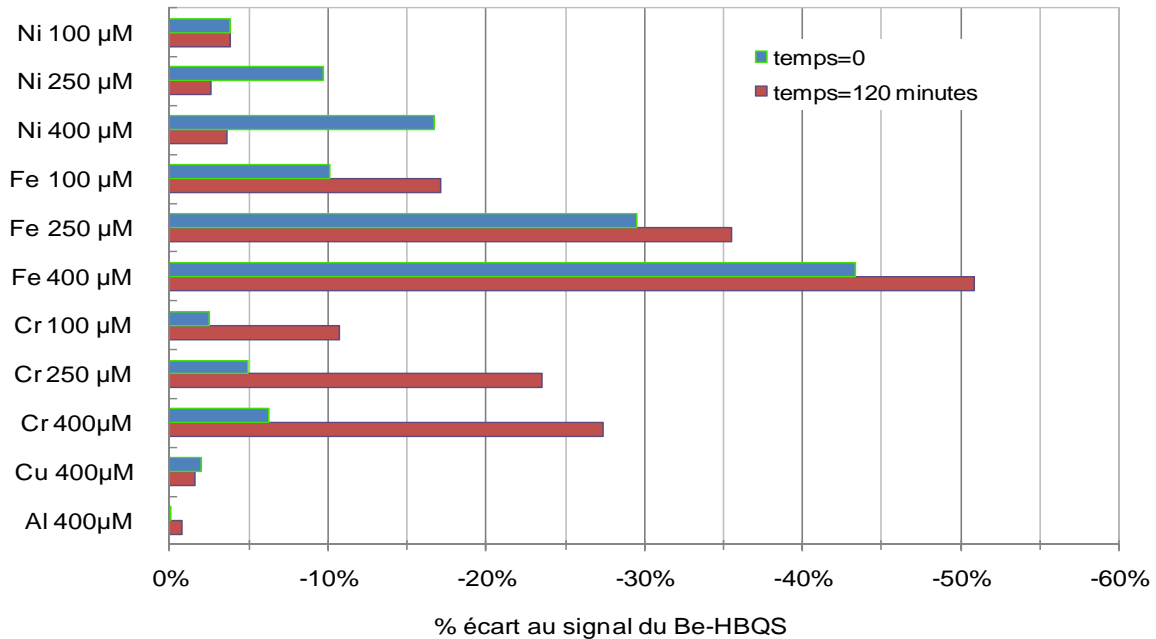


Figure 4.11 : Pourcentages de perte de signal de la fluorescence lors de l'ajout de métaux au complexe de Be-HBQS avec la méthode basse teneur. [Be]= 2ppb

La présence du fer abaisse considérablement le signal du Be qui cause une perte de 50% du signal. L'écart grandit avec l'augmentation de la quantité de fer. En milieu basique, il se forme un hydroxyde de fer insoluble qui produit une coloration jaune. Les particules formées peuvent absorber la lumière, ce qui expliquerait la baisse d'intensité. Le précipité se dépose graduellement. Le nickel à 400 et 250 µM cause aussi une interférence négative mais il n'y avait pas apparence de coloration ou formation de particules dans la solution. Sur la même figure, sont également présentés les résultats d'une deuxième mesure des mêmes solutions deux heures plus tard. Des observations surprenantes ont été faites. Les solutions contenant du chrome ont perdu de l'intensité, l'écart pour le chrome à 400 µM est passé de 6% à 27% lorsque remesuré deux heures plus tard. Tandis que l'inverse s'est produit pour le nickel, l'écart au signal de Be était de 17% et il a été réduit à 4% deux heures plus tard. La présence de nickel qui causait une perte de signal au départ a un effet mineur après ce laps de temps. Le nickel semble causer un ralentissement dans la formation du complexe et quant au chrome, il produit une interférence à retardement. L'effet observé semble être intimement relié à l'espèce métallique. En effet, des essais ont également été réalisés avec d'autres concentrations de Be soit, 0,4 ppb (basse teneur) ainsi que 2 ppb et 6,75 ppb (haute teneur) et les écarts mesurés sont du même ordre de grandeur qu'en présence de 2 ppb (basse teneur). La même variation du pourcentage d'écart pour le chrome et le nickel entre 0 et 120 minutes est observée. Le fer cause également des écarts de signal comparables pour une même concentration peu importe la concentration de Be. Toutefois, en présence des trois métaux, Cr, Ni et Fe, il est très probable que l'effet interférent observé soit principalement attribuable au fer. En effet, la forte coloration jaune produite masque les autres

sources d'interférents. Le fer est probablement la source d'interférent parmi celles vérifiées qui a le plus d'impact sur la fluorescence mesurée du réactif et du complexe. Toutefois, la présence de fer est rapidement détectée par la coloration jaune qui apparaît dans la solution dont l'intensité augmente avec la quantité de fer. De plus, les hydroxydes de fer insolubles sont complètement précipités après 4 ou 5 heures. Il est toutefois possible d'éliminer l'interférence en filtrant le précipité pour ensuite procéder à l'analyse (Minogue et al., 2005).

Des travaux sur les interférences concernant le Be-HBQS mentionnent que le complexe supporte un excès molaire de ces métaux de 50000 fois (Minogue et al., 2005). Les auteurs ont aussi rapporté une baisse de signal autour de 10 % causée par excès molaire de fer de 4000. Quant au chrome et au nickel, leur interférence sur le signal serait de moins de 1 %. Ces résultats ne correspondent pas à ceux qui ont été obtenus dans le cadre du présent travail où un excès molaire de fer de 1100 fois cause une interférence significative de 30 %. La seule différence entre les deux expérimentations est le solvant des solutions de métaux ; dans leur publication ils utilisent le NH_4HF_2 1 % alors que dans la présente étude c'est le HNO_3 1 % qui a été utilisé. Une autre étude sur le complexe Be-HBQS rapporte qu'un excès molaire de fer (dans 0,01 M de HCl) de 100000 fois conduit à une interférence positive (augmentation du signal) de 27 % et un excès de 10000 fois à 2% (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). Ce qui correspond à l'effet inverse de ce qui a été observé dans la présente étude et de ce qui a été rapporté dans les travaux de Minogue et al. Pour l'aluminium, le cuivre et le nickel en excès molaire de 100000 fois, l'écart rapporté ne se situe pas au-delà de 4% (Matsumiya, Hoshino et Yotsuyanagi, 2001). Malgré la divergence entre les résultats rapportés, toutes les études incluant celle-ci s'accordent pour désigner le fer comme l'interférent le plus important.

Sur la base de ces résultats, il est clair qu'une espèce ionique donnée et sa concentration ont une influence sur l'intensité de la fluorescence du complexe de Be-HBQS et cela peu importe la concentration du complexe. Ainsi, une solution contenant plusieurs métaux dont une concentration de plus de 100 μM de fer présentera une baisse de signal qui sera principalement causée par cet élément. Toutefois, si la présence de chrome et de nickel est soupçonnée alors les résultats doivent être utilisés avec prudence puisque ces métaux ont démontré de l'interférence en présence du complexe de Be-HBQS puisqu'ils font varier l'intensité selon le temps d'exposition à la solution

4.4.2 Impact de la présence d'ions métalliques sur la quantification du Be

Étant donné les variations de signal obtenues en présence de solutions multi-élémentaires, il était nécessaire de vérifier l'impact sur la quantification directe d'échantillons de Be. Pour ce faire, les solutions de Be-HBQS ont été additionnées de solutions de métaux multi-16 afin qu'elles aient une concentration totale de 24 ou de 640 μM en métaux. Les intensités mesurées ont été comparées avec des solutions de Be sans éléments interférents. Les résultats montrent, à la figure 4.12, que les faibles concentrations en Be sont les plus affectées par la présence d'une quantité élevée de métaux. L'impact de la solution à 640 μM , sur la concentration de Be, est très grand. En effet, la concentration 0,1 ppb est surestimée de 120 % ce qui est inacceptable. Celle de 0,2 ppb l'est de plus de 20%. L'écart mesuré, de 20 %, pour la concentration de 2 ppb de Be concorde avec le pourcentage d'écart de 21 % (voir fig. 4.9) qui avait été obtenu précédemment pour la solution de Be à 2 ppb entre le signal sans métaux et celui contenant 640 μM d'ions.

Dans le cas de la solution de 24 μM d'ions, elle interfère très peu sur la quantification du Be. Seule la concentration de 0,1 ppb est problématique.

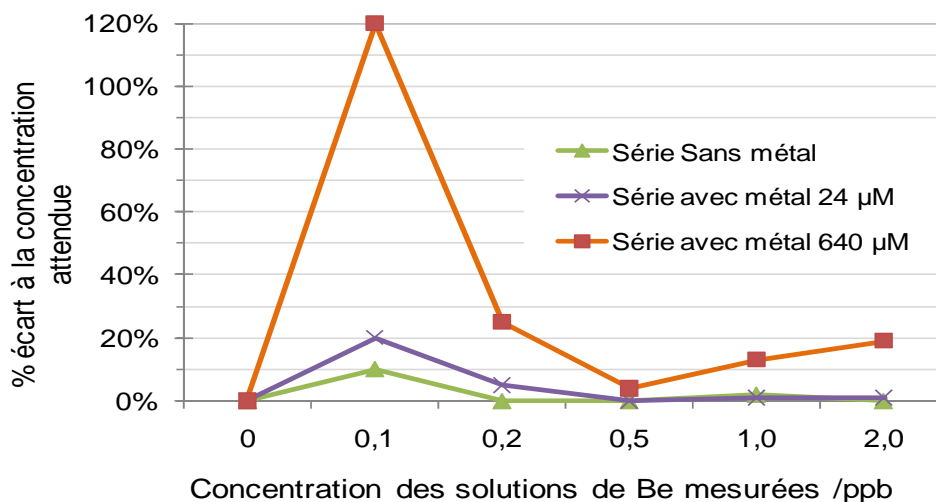


Figure 4.12 : Dosage de solutions de Be dans les basses teneurs avec ou sans la présence de solutions multi-élémentaires. (Modulus, SO1)

4.4.3 Interférence sur l'ICP-MS

Quelques solutions de métaux utilisées pour les tests d'interférence et ayant démontré un effet sur le signal du complexe ont été reprises pour évaluer leur impact sur des solutions de Be dosées à l'ICP-MS. Les concentrations de Be dans le HNO_3 1 % ont été choisies dans les basses teneurs puisque c'était généralement celles qui étaient le plus affectées. L'ICP-MS est une technique qui présente des effets interférents différents de ceux rencontrés en fluorescence. Ils peuvent survenir dans le cas d'atomes ou de poly-atomes ayant un même ratio m/z, par la présence d'espèces isobariques ou par un effet de densité de charge qui cause une baisse de signal de la part des plus petits ions. La baisse de signal est due à l'expulsion, par répulsion électrostatique, des petits atomes hors du faisceau d'ions par des ions de masses plus élevées donc avec une plus grande énergie cinétique. L'effet de densité de charge est surtout rencontré dans l'analyse de traces d'éléments légers dont la matrice contient des éléments de masses élevées (Thomas, 2004).

Les différentes solutions de métaux ont été analysées seules et aucune n'a démontré de contamination en Be, les concentrations en Be calculées étaient de zéro. En présence des métaux (figure 4.13) les concentrations de Be mesurées sont plus basses par rapport à celles attendues. Les solutions multi-5 à 1250 μM et multi-16 à 320 μM sont celles qui causent le plus d'écart par rapport à la concentration de Be attendue tout comme en fluorescence. Les métaux étudiés ne sont pas considérés comme des atomes lourds. Toutefois par le nombre élevé d'ions dans la solution, il est possible que l'effet de densité de charge déplace les ions légers de Be hors du faisceau d'ions lors du parcours des ions à la suite de l'ionisation dans le plasma jusqu'à la lentille (zone sous vide) (Paquette, 2008).

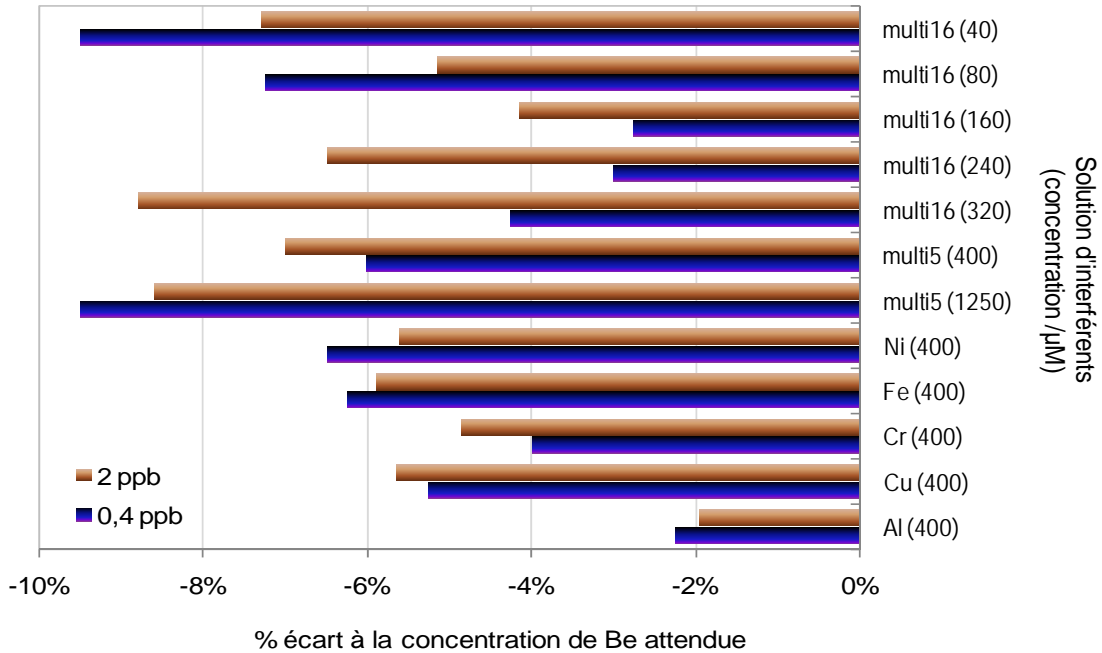


Figure 4.13 : Pourcentage d'écart à la concentration de Be attendue en fonction des interférents présents mesuré par ICP-MS.

L'impact demeure relativement minime par rapport à celui observé en fluorescence puisqu'il n'y a pas d'écart au-delà de 10 %. La solution multi-5 à 1250 μM avait causé une baisse du signal > 20 % et celle de fer à 400 μM, une perte de plus de 40 %. L'ICP-MS présente donc globalement des résultats moins sensibles aux interférents étudiés par rapport à la fluorescence.

4.5 Essais de dissolution du BeO

Le tableau 4.2 donne les paramètres de sensibilité, d'ordonnées à l'origine et de coefficients de détermination pour chacun des étalonnages réalisés avec les différents médias d'extraction testés. Les écarts types sur la pente sont faibles et les coefficients de détermination élevés démontrent une très bonne linéarité. Le critère de linéarité minimum appliqué dans les procédures de l'IRSST doit être supérieur à 0,990 (IRSST, 2006a).

Tableau 4.2 : Paramètres des droites d'étalonnage.

Solvant	Pente (m)	Écart-type de la pente (s_m)	Ordonnée à l'origine (b)	Écart-type de b (s_b)	R ²
NH ₄ HF ₂	297,6	1,8	83,7	33,1	0,9999
HNO ₃	269,2	2,6	150,7	44,9	0,9996
NaOH	271,4	4,0	6,4	73,9	0,9994

4.5.1 Dissolution alcaline

Les premiers essais de dissolution ont été effectués avec le NaOH. L'utilisation de ce solvant permet de conserver le caractère hautement alcalin de la solution de chromophore. Le BeO peut être soluble dans une solution fortement alcaline (Cotton, 1988). Il est connu que le Be dans une solution aqueuse basique, à pH entre 8 et 10, est sous la forme de Be(OH)₂, une espèce insoluble. À pH plus élevé, c'est le Be(OH)₃⁻ qui prédomine et cette forme demeure en solution (Sutton et Burastero, 2003). Le pH de la solution de NaOH 6N est supérieur à 12, les espèces de Be présentes à ce pH devraient donc être solubles. Les essais de dissolution ont démontré que le NaOH en concentration élevée était apte à dissoudre des particules de BeO mais le taux de récupération était < 60 %. Il a été possible d'améliorer la récupération d'environ 20 %, à 85°C, en augmentant la durée du chauffage. L'augmentation du volume de NaOH ou de sa concentration a également permis d'améliorer les pourcentages de récupération mais de moins de 10 %. Les pourcentages de récupération sont toutefois en-deçà de 80 % malgré une dissolution de 4 heures. De plus, la mise en solution du filtre ECM par le NaOH 6N cause un effet de matrice. Le filtre dissout cause une augmentation de l'intensité du blanc de plus de 3 fois le signal d'un blanc sans filtre, ce qui est bien suffisant pour masquer le signal de basses concentrations de Be. La solution d'hydroxyde de sodium n'est donc pas bien adaptée pour cette méthode.

4.5.2 Dissolution acide

Les acides inorganiques concentrés sont utilisés depuis longtemps pour la dissolution des métaux (Brisson, 2006a et 2006b). Ils sont utilisés dans la majorité des méthodes de dosage des métaux dont la méthode de l'IRSST pour doser le Be (IRSST, 2007). Non seulement les acides permettent de détruire la matrice mais assurent que les particules se dissolvent quantitativement. Il y a deux critères principaux à observer pour les acides dans le cadre de cette méthode : l'acide ne doit pas détruire le filtre pour éviter l'interférence provoquée par ce dernier et la force de l'acide doit être apte à dissoudre les particules les plus insolubles. La conservation du filtre implique que le processus d'extraction du Be ne peut pas être amené à sec. Il faut donc considérer que l'acide ou le mélange d'acide de dissolution sera présent dans la solution d'échantillon qui sera dosée. Tel qu'il avait été démontré à la section 4.2, l'impact de l'acidité de l'échantillon sur le tampon de la solution de chromophore ne doit pas être négligé.

L'acide sulfurique à 50 % serait plus efficace dans la solubilisation du BeO que le concentré, la présence d'eau permettant de former un sulfate de béryllium hydraté soluble. Ainsi, un taux de

récupération de 99 % est atteint pour l'analyse par ICP-AES d'une dissolution sur plaque chauffante de BeO avec un mélange 50:50 H₂SO₄/H₂O pendant 30 minutes (Coleman et al., 2004). Des essais ont donc été conduits en utilisant, HNO₃ à 1 % comme milieu aqueux acide accompagné de plus faibles volumes de H₂SO₄ concentré pour dissoudre les particules de BeO.

Différents volumes de H₂SO₄ concentré ont été testés sur des concentrations de Be élevées et analysés par la méthode des hautes teneurs (ratio d'échantillon/HBQS de 1:9). Les résultats présentés à la figure 4.14 indiquent que plus le volume de H₂SO₄ est élevé plus le taux de récupération du Be est favorisé. Une dissolution prolongée permet également d'augmenter la récupération d'environ 5 %.

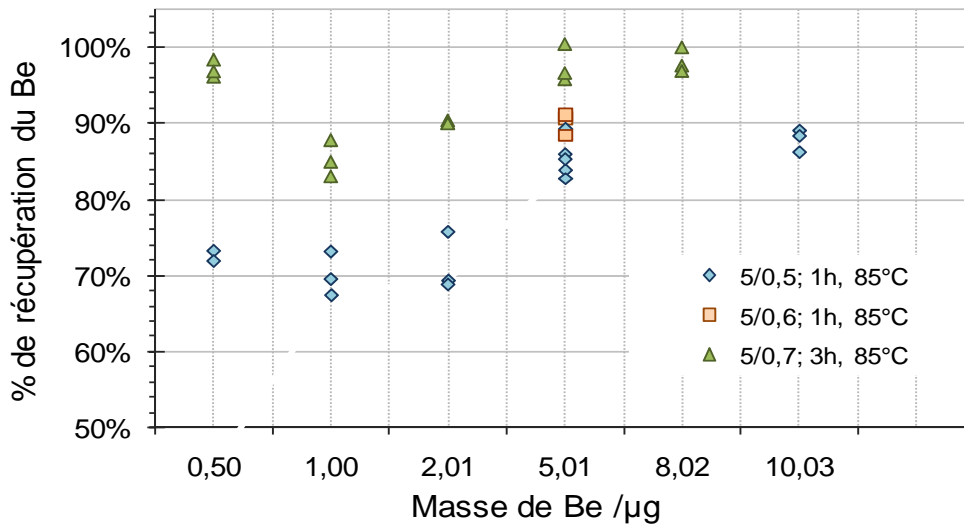


Figure 4.14 : Taux de récupération du Be pour différentes quantités de Be et différentes conditions de dissolution (V(mL) HNO₃ 1 %/ V(mL) H₂SO₄; durée; température).

Des essais ont aussi été faits en présence d'une matrice de filtres ECM (figure 4.15). La récupération moyenne pour toutes les quantités de Be sans la présence de filtre est de 94 ± 6 %. La digestion en présence du filtre donne généralement un taux de récupération plus bas, 89 ± 3 % en moyenne. Cette baisse est probablement attribuable à l'effet de matrice. Toutefois, cet effet est minime puisque dans la plupart des cas, les taux de récupération en présence de filtres se situent autour de 5 % de ceux sans filtre.

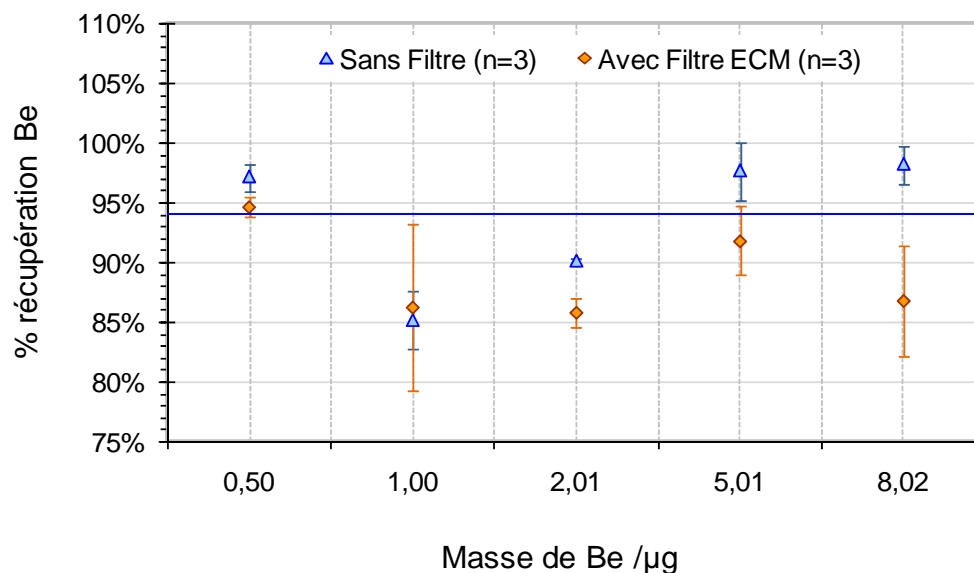


Figure 4.15 : Comparaison des pourcentages de récupération pour des solutions de BeO sans filtre et avec filtre.

Des lingettes humides de type Ghost Wipe™ sont utilisées pour les prélèvements d'échantillons de poussières sur les surfaces. La méthode de dissolution acide a été appliquée à une lingette sur laquelle a été déposée une quantité connue de BeO. Les récupérations sont très faibles comparativement aux solutions ne contenant pas de filtre ou avec un filtre ECM. Le volume de solution de dissolution utilisé n'est pas très grand, ce qui fait que la lingette en absorbe presque la totalité et il est alors difficile de récupérer la solution contenant le Be solubilisé. Avec une récupération moyenne de seulement 34 %, la méthode n'est pas adaptée pour les lingettes de type Ghost Wipe™.

La dissolution acide présente une limite lors de l'analyse de faibles quantités de Be par la méthode des basses teneurs (ratio échantillon/HBQS de 1 :4). Les basses quantités de Be ont été testées avec des *spikes* de Be solubles. La quantité de Be la plus basse (10 % de la norme) n'a pas pu être mesurée adéquatement puisque le signal de l'échantillon était inférieur à celui du blanc dans le HNO₃ 1 %. Cela est attribuable à l'acidité de l'échantillon qui était suffisamment élevée pour causer une variation du pH de la solution de chromophore résultant en une baisse de signal significative du complexe. En utilisant un étalonnage où l'acidité des étalons est plus élevée (HNO₃ 5 %), le taux de récupération passe à 57 %. Toutefois, cette valeur demeure insuffisante.

La dissolution acide semblait prometteuse quant aux taux de récupération de BeO atteignant jusqu'à 95 %. Toutefois, des problèmes liés à la compatibilité de l'acidité du milieu de dissolution et du réactif sont survenus lors des mesures des basses concentrations de Be. Cette méthode de dissolution est donc difficilement applicable puisqu'il faudrait déterminer un protocole pour assurer que les dissolutions produisent des échantillons ayant une faible variation de pH afin qu'ils correspondent avec celui des étalons de Be.

4.5.3 Dissolution au NH_4HF_2 1%

Le bifluorure d'ammonium (NH_4HF_2) libère de l'acide fluorhydrique en solution aqueuse, acide réputé très efficace pour digérer des matrices minérales complexes (Brisson et al., 2006b). Des réticences concernant les dangers reliés à son utilisation sont fréquentes mais l'application de mesures de sécurité normales à un laboratoire de dissolution de métaux réduit les risques d'autant plus qu'il est très dilué. L'acide fluorhydrique est peu utilisé dans les méthodes de dissolution car il abîme le verre dont sont constituées certaines pièces d'appareil analytique.

La dissolution du BeO avec 5 mL de NH_4HF_2 1 % à 85°C a donné des taux de récupération moyens, de 87 ± 7 % après 30 minutes, de 94 ± 2 % après 60 minutes et de 89 ± 4 % après 90 minutes.

Tout comme dans le cas de la dissolution acide, les récupérations dans les basses teneurs ont été vérifiées à partir de solution de Be soluble. Les résultats varient entre 93 et 96 % avec une moyenne de 95 ± 2 % (tableau 4.3).

Tableau 4.3 : Présentation des masses moyennes et de la récupération moyenne obtenues lors des dissolutions au NH_4HF_2 à 1% pour des basses teneurs en Be.

Masse de Be attendue (ng)	Masse de Be moyenne mesurée (n=6) (ng)	Récupération moyenne (n=6) (%)
0,40	$0,39 \pm 0,03$	$96,3 \pm 6,6$
0,80	$0,76 \pm 0,04$	$94,8 \pm 5,3$
2,16	$2,06 \pm 0,2$	$95,4 \pm 9,2$
4,32	$4,03 \pm 0,33$	$93,2 \pm 7,7$

Les masses de Be théoriques (attendues) se retrouvent dans l'intervalle donné par les écart-types sur les masses moyennes mesurées comme en témoigne les pourcentages de récupération moyens élevés, de 93 % et plus. L'avantage avec la dissolution à l'aide du NH_4HF_2 , est que les quantités de Be, dans les solutions d'échantillon, sont plus élevées que dans le cas de la dissolution acide car la solution à doser est plus concentrée. En effet, le volume d'extraction est de 5 mL alors que dans la dissolution acide il est de 10 mL. La dissolution au NH_4HF_2 permet donc de mesurer des quantités de Be plus basses tout en conservant la fiabilité de la mesure.

La dissolution du BeO avec le NH_4HF_2 a également été testée sans chauffage ni agitation. Les résultats, présentés à la figure 4.16, sont surprenants.

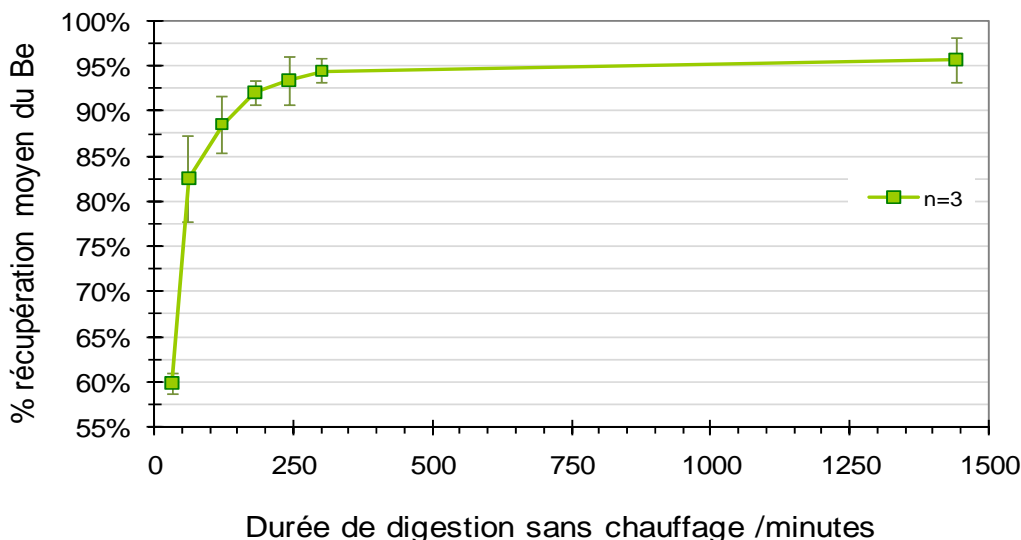


Figure 4.16 : Pourcentage de récupération du Be lors de la dissolution sans chauffage à l'aide du 1 % NH_4HF_2 .

Après 240 minutes de repos, la récupération du Be a atteint 94 ± 3 % et 96 ± 3 % après 24 heures. La disponibilité d'une méthode sans chauffage pour la dissolution de métaux est assez inhabituelle. Les méthodes requièrent généralement plusieurs heures de chauffage. La dissolution sans chauffage demande approximativement le même temps et permet d'obtenir d'aussi bons résultats avec moins d'équipement. Cela donne une alternative intéressante pour l'analyse de Be dans les endroits où les équipements de dissolution tels une hotte et une plaque chauffante ne sont pas disponibles. Les filtres ECM, ajoutés aux échantillons, sont demeurés intacts dans le solvant d'extraction.

Des essais ont aussi été réalisés par agitation et dans le bain à ultrasons pour 30 minutes. Les résultats de récupération sont plutôt bas, se situant autour de 70 %. Malgré cela, le NH_4HF_2 1 % semble une meilleure alternative pour la dissolution du BeO puisqu'il permet une durée d'extraction plus courte que la dissolution acide et permet même d'effectuer une extraction sans chauffage. De plus, la solution d'échantillon est moins acide qu'avec la combinaison d'acides, ce qui risque moins d'affecter le pH de la solution de chromophore. Cette méthode de dissolution est également mieux adaptée pour les basses teneurs en Be puisque que la solution à doser est plus concentrée en raison du volume d'extraction qui correspond à la moitié de celui de la dissolution acide. Toutefois, un volume d'extraction de 5 mL est insuffisant avec les lingettes de type Ghost WipeTM pour l'échantillonnage.

4.6 Validation de la méthode de fluorescence

Les solutions mesurées pour les étapes de validation ont été soumises à toutes les étapes de la méthode sauf l'échantillonnage. Des filtres ECM enrichis de Be soluble ont été digérés avec le NH_4HF_2 1 % sur le bloc chauffant pour 35 minutes à 85°C à couvercle fermé. Les solutions ont ensuite été refroidies et filtrées. L'analyse a été faite par la technique de fluorescence avec la méthode des basses ou des hautes teneurs selon le cas.

4.6.1 Évaluation de la répétabilité et de la réplicabilité

La précision des méthodes est évaluée au moyen de la réplicabilité et de la répétabilité. Ces deux paramètres sont mesurés avec six répliqués sur quatre niveaux de concentration : pour le premier toutes les mesures se font dans les mêmes conditions tandis que pour le deuxième une des conditions est modifiée entre les répétitions. Les deux méthodes utilisées soient les basses et les hautes teneurs en Be, ont été évaluées pour ces paramètres. Les pourcentages de réplicabilité, montrés au tableau 4.4, sont très bas, ce qui signifie que la variation entre les différentes mesures est faible. Les deux méthodes ont des résultats très semblables, 0,34 et 0,38 % respectivement. La répétabilité est plus élevée mais elle demeure très correcte puisque le critère d'acceptabilité est < 10 %. Il est normal d'observer des valeurs plus élevées pour la répétabilité que pour la réplicabilité. En effet, ce paramètre est basé sur l'évaluation de la précision lorsque des variations sont effectuées dans l'application de la méthode telle que la courbe d'étalonnage, l'analyste ou l'appareil. Un critère d'exactitude est cependant retrouvé dans l'évaluation de la précision : une mesure ne peut excéder 25 % de la valeur attendue dans 95 % des cas («25 % Accuracy Criterion» de NIOSH). Lors de l'évaluation de la précision aucune des mesures n'a dépassé ce critère (IRSST, 2006a).

Tableau 4.4 : Évaluation de la réplicabilité et de la répétabilité pour les deux méthodes.

Méthode	Réplicabilité	Répétabilité	R ² moyen
Basse Teneur	0,34 %	3,48 %	0,9999
Haute Teneur	0,38 %	1,57 %	0,9999

Les coefficients de détermination moyens obtenus lors des mesures sont de 0,9999 (tableau 4.4) soit supérieurs à la recommandation de l'IRSST : $R^2 > 0,990$ (IRSST, 2006a). À notre connaissance, aucune publication n'avait encore évalué la réplicabilité et la répétabilité de la méthode de fluorescence pour la détermination du Be dans les basses et hautes teneurs.

4.6.2 Évaluation des limites de détection et de quantification

La limite de détection n'a pas été évaluée pour la méthode des hautes teneurs puisque cette méthode est essentiellement utilisée pour mesurer les concentrations situées entre 2 et 40 ppb. Les concentrations en deçà de 2 ppb devraient être mesurées avec la méthode des basses teneurs.

La limite de quantification méthodologique (LQM) obtenue est de 0,028 ng/mL ce qui est nettement sous la norme québécoise pour le Be dans l'air. Celle-ci correspond à 1,08 ng/mL, ce qui est environ 40 fois plus élevée que la LQM. Un échantillon situé à la norme et recueilli selon la méthode de prélèvement actuellement en vigueur à l'IRSST correspondra à une quantité de 5,4 ng de Be dans la solution de mesure. La méthode permet de quantifier le Be aussi bas que 0,06 ng, et est donc applicable pour la mesure de Be dans des échantillons prélevés dans l'air selon la méthode actuellement utilisée à l'IRSST (IRSST, 2005).

Tableau 4.5 : Limite de détection et de quantification pour le dosage du Be en fluorescence avec le HBQS.

Méthode	LDM ^a (ng/mL)	LQM ^b (ng/mL)	LQM (ng)
Basse Teneur	0,008	0,028	0,06

^aLDM : limite de détection méthodologique

^bLQM : limite de quantification méthodologique

Les valeurs de référence pour les surfaces soit 0,2 µg/100 cm² et 3 µg/100 cm², correspondent à des teneurs en Be retrouvées dans la méthode des hautes teneurs (2 et 30 ppb). Elles peuvent donc être quantifiables de façon assez précise en considérant les résultats de réplicabilité.

La limite de détection méthodologique pour la méthode des basses teneurs en fluorescence est plus basse d'un facteur 10 comparativement à celle de la plupart des autres méthodes présentées au tableau 1.1 (sect. 1.3). Dans le tableau 4.6, la LDM mesurée est comparée à d'autres limites de détection.

Tableau 4.6 : Comparaison des limites de détection de cette méthode avec la méthode de l'IRSST et une méthode similaire en fluorescence.

Organisme	Méthode /Instrument	Limite de détection
IRSST	359 / ICP-MS	0,0005 µg (VMR)
NIOSH	7704 / Fluorescence	0,00075 µg/filtre (estimé)
Cette étude	Fluorescence	0,0002 µg/filtre

VMR : Valeur minimale rapportée

La limite de détection obtenue avec cette méthode se compare avantageusement aux valeurs de l'ICP-MS. La méthode NIOSH rapporte une limite de détection estimée, c'est-à-dire qu'elle correspond à la concentration qui donne un signal égal à 3 x l'écart-type du signal pour la moyenne des mesures de 10 blancs non enrichis (Ashley et al., 2007 ; NIOSH, 2007b). Dans le cadre de cette étude, la limite de détection a été évaluée selon les critères de validation du CEAEQ. Ce qui signifie que la limite de détection a dû être évaluée sur la plus basse des concentrations de l'analyte qui, après avoir subi toutes les étapes de la méthode, produit un signal fiable et statistiquement différent d'un blanc (CEAEQ, 2002). Cette concentration doit d'ailleurs se situer entre 4 et 10 fois la limite de détection (ratio de conformité). La limite de détection estimée sur des blancs permet généralement d'obtenir des limites de détection plus basses. Malgré cela, la LDM obtenue lors de la présente étude a permis d'atteindre une valeur encore plus basse. Une des différences entre la méthode NIOSH et la présente étude est l'appareil de fluorescence utilisé ainsi que la provenance du réactif. La méthode NIOSH a été évaluée avec un fluorimètre Turner Quantech de Barnsted et le réactif de Berylliant tandis que notre méthode a été développée sur un appareil Modulus de Turner Biosystems et avec un réactif synthétisé.

5. CONCLUSION

La mise au point d'une méthode en fluorescence pour la détermination du béryllium a nécessité plusieurs étapes. D'abord, un réactif chromophore, le HBQS, a été synthétisé selon une méthode plus simple que celles retrouvées dans la littérature. Ensuite, la formation d'un complexe fluorescent avec le béryllium a été étudiée. L'émission de la fluorescence de ce complexe à 475 nm s'est distinguée de celle du réactif à 565 nm permettant une analyse directe sans extraction préalable. Le fluorimètre portable Modulus de Turner Biosystems avec le système optique ayant une $\lambda_{ex}=385$ nm et une $\lambda_{em}=468 - 480$ nm a permis de quantifier adéquatement le béryllium. Afin de couvrir la gamme de concentration en Be de la norme québécoise dans l'air ($0,15 \mu\text{g}/\text{m}^3$), deux protocoles ont été validés. Le premier couvre les concentrations de 0 à 4 ppb et le deuxième celles de 2 à 40 ppb. L'intensité d'émission du complexe en fonction de la concentration du béryllium est linéaire avec un coefficient de détermination de 0,9999 pour les deux protocoles.

L'étude des interférences a révélé que le fer à $100 \mu\text{M}$ dans la solution de mesure cause une interférence, le pH alcalin causant sa précipitation. Il a également été démontré que la présence de $40 \mu\text{M}$ de chacun des seize interférents potentiels étudiés dont le fer cause une surestimation des concentrations de béryllium dans les basses concentrations.

Par ailleurs, la dissolution du BeO a été évaluée avec différents solvants : le NaOH 6N, mélange HNO_3 1 % / H_2SO_4 concentré et NH_4HF_2 1 %. Alors que le taux de récupération d'environ 60 % obtenu avec le NaOH était jugé trop faible, le mélange acide montrait un taux moyen d'environ 90 %. Cependant, l'acidité du mélange causait des variations de signal lors des mesures avec la méthode des basses concentrations. Les meilleurs taux de récupération ont été obtenus avec NH_4HF_2 1 %, soit autour de 95 %. Il a même été possible d'atteindre cette valeur sans recourir au chauffage de l'échantillon, ce qui peut présenter un avantage pour l'utilisation de la méthode en fluorescence sur les lieux de travail.

La précision des deux protocoles a été évaluée en fonction de répliquabilité et de répétabilité : les coefficients de variation sont respectivement de 0,34 % et 3,48 % pour la première méthode et de 0,38 % et 1,57 % pour la deuxième. Les résultats indiquent une précision des méthodes acceptable. La limite de détection de la méthode est de $0,0002 \mu\text{g}/\text{échantillon}$, ce qui est comparable à la valeur minimale rapportée de $0,0005 \mu\text{g}/\text{échantillon}$ obtenue avec la méthode de l'IRSST utilisant l'ICP-MS (IRSST, 2007).

Finalement, la basse limite de détection obtenue avec la méthode de fluorescence permet de mesurer des ultra-traces de béryllium et les taux élevés de récupération pour le BeO assurent une mise en solution quasi-quantitative du béryllium échantillonné (voir annexe A2). Par ailleurs, la détermination du béryllium par une méthode de fluorescence est efficace dans la mesure où les interférents potentiels présents dans le milieu d'échantillonnage sont connus.

6. PERSPECTIVES

L'IRSST, pourra rendre disponible auprès des intervenants en santé et en sécurité du travail qui ont les compétences pour effectuer de telles analyses, les résultats de cette recherche et ainsi leur permettre de procéder à la mise en place de la méthode en fluorescence pour la détermination du béryllium dans les milieux de travail. Cela permettrait de diminuer les délais causés par l'envoi des échantillons à l'extérieur pour leur analyse. Le contrôle des concentrations de béryllium dans les espaces de travail concernés s'effectuerait ainsi plus rapidement et donnerait la possibilité aux intervenants de prendre les actions nécessaires le jour même de la prise d'échantillon. Toutefois, il faudra s'assurer que l'implantation de cette méthode dans les lieux de travail soit encadrée par un programme strict de contrôle de la qualité et d'accréditation sous la supervision d'un chimiste, tout comme le sont les analyses effectuées dans les laboratoires de l'IRSST. De plus, une mise en garde quant au danger du bifluorure d'ammonium pour la santé devra être mentionnée et des recommandations devront être établies en ce qui a trait à l'utilisation de cette méthode en présence de certains contaminants.

Bien qu'elle ne soit pas automatisée, cette méthode pourra également être utilisée en complément de la méthode ICP-MS par l'IRSST en raison de la rapidité du processus d'extraction comparativement à celui utilisé actuellement. Il est d'abord recommandé de procéder à une validation de la méthode en fluorescence avec des échantillons de terrain pour tester la méthode dans les conditions d'échantillonnage réel.

Cette méthode pourrait éventuellement être appliquée à l'analyse d'échantillons de surfaces avec des membranes puisque l'étendue de concentrations mesurables couvre la gamme des valeurs de référence pour les surfaces.

7. BIBLIOGRAPHIE

Agrawal, Anoop, John Cronin, Juan Tonazzi, Mark T. McCleskey, Deborah S. Ehler, Edel M. Minogue, Gary Whitney, Christopher Brink, Anthony K. Burrell, Benjamin Warner, Michael J. Goldcamp, Paul C. Schlecht, Prerna Sonthalia et Kevin Ashley. 2006. «Validation of a standardized portable fluorescence method for determining trace beryllium in workplace air and wipes samples». *Journal of environmental monitoring*, vol. 8, p. 619-624.

Agrawal, Anoop, Juan C.L. Tonazzi et John Cronin. 2007. *High sensitivity, low-cost fluorescence detection system for beryllium particulates*. Final report phase 1 SBIR, DOE ER84587, soumis par AJJER LLC Tucson, AZ.

American conference of governmental industrial hygienists (ACGIH). 2009. «*Beryllium and compounds*». Documentation of threshold limit values. ACGIH, Cincinnati, Ohio, 14 p.

American society for testing and materials (ASTM). 2003. «Standard practice for collection of settled dust samples using wipe sampling methods for subsequent determination of metals (D6966)». *Annual book of ASTM standards*, ASTM International, 4 p.

Ashley, Kevin, Michael J. Brisson et Steven D. Jahn. 2006. «Standard methods for beryllium sampling and analysis: Availabilities and needs» *Journal of ASTM international*, vol. 3, no. 1 (janvier), p. 15-26

Ashley, Kevin, Anoop Agrawal, John Cronin, Juan Tonazzi et T. Mark McCleskey. 2007. «Ultra-trace determination of beryllium in occupational hygiene samples by ammonium bifluoride extraction and fluorescence detection using hydroxybenzo[h]quinoline sulfonate». *Analytica chimica acta*, vol. 584, p. 281-286.

Berylliant Inc. 2007. *Manual for procedures and kit description for determination of beryllium particulates (Befinder)*. www.berylliant.net visité le 10 octobre 2008.

Bonnard, N., M.T. Brondeau, M. Falcy, J.C. Protois, et O. Schneider. 2006. «Beryllium et composés minéraux». *Institut national de recherche et de sécurité (INRS), FT92*, 8 p.

Brisson, Michael J., Amy A. Ekechukwu, Kevin Ashley et Steven D. John. 2006a. «Opportunity for standardization of beryllium sampling and analysis». *Journal of ASTM international*, vol. 3, no. 1, p. 3-14

Brisson, Michael J., Kevin Ashley, Aleksandr B. Stefaniak, Amy A. Ekechukwu et Kathryn L. Creek. 2006b. «Trace-level beryllium analysis in the laboratory and in the field: state of the art, challenges and opportunities». *Journal of environmental monitoring*, vol. 8, p. 605-611.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (CEAEQ). 2002. *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*, document DR-12-VMC, 27 p.

Coleman, C.J., A.R. Jurgensen, D.R. Click, J.C. Hart, W. Rutherford, M. Smith, T.L. White, B.H. Burch et D.M. Missimer. 2004. *Evaluation of high-fired beryllium oxide digestion methods to measure beryllium in industrial hygiene samples by inductively coupled plasma atomic emission*

spectroscopy. Savannah river national laboratory technical report n° WSRC-TR-2004-00395, rev. 1, Aiken, South Carolina, USA, 37 p.

Cotton, Albert F. et Geoffrey Wilkinson. 1988. *Advanced Inorganic Chemistry*. 5e Edition, New York: John Wiley & Sons, 1455 p.

Day, Gregory A., Aleksandr B. Stefaniak, Ainsley Weston et Sally S. Tinkle. 2006. «Beryllium exposure: dermal and immunological considerations». *International archives of occupational and environmental health*, vol 79, p.161-164.

Dion, Chantal et Guy Perrault. 2004. *Nettoyage et décontamination des lieux de travail où il y a présence de béryllium, Synthèse des bonnes pratiques*. Montréal : IRSST, 26 p.

Dion, Chantal. 2006. «Le plan béryllium au Québec». In *Toxicologie humaine et environnementale : indicateur d'exposition, marqueurs d'effet : Colloque de l'association pour la recherche en toxicologie(ARET)* (Paris, 15-16 juin, 2006) 5 p.

Dufresne, André, Chantal Dion et Guy Perrault. 2004. In *Manuel d'hygiène du travail – du diagnostic à la maîtrise des facteurs de risque*. Édition Modulo-Griffon. Montréal, Canada. Chapitre 8.

Environmental Protection Agency (EPA). 1994. «*Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (200.7)*». 58 p.

Faucher, Monique L. 2006. «Opération béryllium, la traque continue de plus belle». *Prévention au travail*, vol. 19, p.37-39.

Giguère, Marie-Claude. 2010. «Mise au point d'une méthode d'analyse en fluorescence pour la détermination du béryllium dans l'air en milieu de travail». Mémoire de maîtrise, Montréal, Université du Québec à Montréal, 124 p.

Grunig, James K., William B. Davis et William C. Aitkenhead. 1972. «Extraction of beryllium from ores». *US patent* no. 3699208.

Hoshino, Hitoshi, Takeshi Nomura, Kouji Nakano et Takao Yotsuyanagi. 1996. «Complexation of Be(II) ion with 1-(2,4-dihydroxy-1-phenylazo)-8-hydroxy-3,6-naphthalenedisulfonate as the chemical basis of the selective detection of ultratrace Be by reversed-phase high-performance liquid chromatography». *Analytical chemistry*, vol. 68, p. 1960-1965.

Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST). 2005 «Guide d'échantillonnage des contaminants de l'air en milieu de travail», Guide technique T-06, Montréal : IRSST, 200 p.

Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST). 2006a «Développement, mise au point et validation d'une méthode analytique», Document I-G-020, 15 p.

Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail (IRSST). 2007 «Détermination du béryllium [7440-41-7] dans l'air des lieux de travail (359)», Méthode analytique, 13 p.

International agency for research on cancer (IARC). 1993. «Beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry». *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, World Health Organization, Lyon, France, 444 p.

Jiang, Chongqui et Fang He. 2003. «Spectrofluorimetric determination of trace amounts of beryllium in mineral water and human's hair». *Spectrochimica acta part A*, vol. 59, p.1321-1328.

Keizer, Timothy S., Nancy N. Sauer et T. Mark McCleskey. 2004. «Designer ligands for beryllium». *Journal of american chemical society*, vol. 126, p. 9484-9485.

Kolanz, Marc E. 2001. «Introduction to beryllium : Uses, regulatory history, and disease». *Applied occupational and environmental hygiene*, vol. 16, no 5, p. 559-567.

Matsumiya, Hiroaki, Hitoshi Hoshino et Takao Yotsuyanagi. 2001. «A novel fluorescence reagent, 10-hydroxybenzo[h]quinoline-7-sulfonate, for selective determination of beryllium(II) ion at $\mu\text{g cm}^{-3}$ levels». *Analyst*, vol. 126, p. 2082-2086.

Matsumiya, Hiroaki et Hitoshi Hoshino. 2003. «Selective determination of beryllium (II) ion at picomole per decimeter cubed levels by kinetic differentiation mode reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorometric detection using 2-(2'-hydroxyphenyl)-10-hydroxybenzo[h]quinoline as precolumn chelating reagent». *Analytical chemistry*, vol. 75, p. 413-419.

McCleskey, T.Mark, Deborah S. Ehler, Kevin D. John, Anthony K. Burrell, Gavin E. Collins, Edel M. Minogue et Benjamin P. Warner. 2006. «Quantitative method of determining beryllium or a compound thereof in a sample». *US Patent* n° 7129093B2.

Minogue, Edel M., Deborah S. Ehler, Anthony K. Burrell, T. Mark McCleskey et Tammy P. Taylor. 2005. «Development of a new fluorescence method for the detection of beryllium on surface». *Journal of ASTM international*, vol. 2, p. 92-101.

National institute for occupational safety and health (NIOSH). 1994. «Beryllium and compounds, as Be (7102)». *NIOSH manual of analytical methods*, 4^e édition, 3 p.

National institute for occupational safety and health (NIOSH). 2007a. «Elements by ICP (nitric/perchloric acid ashing) (7300)». *NIOSH manual of analytical methods*, 4^e édition, 8 p.

National institute for occupational safety and health (NIOSH). 2007b. «Beryllium in air by field-portable fluorometry (7704)». *NIOSH manual of analytical methods*, 5^e édition, 6 p.

Newman, Lee S., Jenifer Lloyd et Elaine Daniloff. 1996. «The natural history of beryllium sensitization and chronic beryllium disease». *Environmental health perspectives*, vol. 104, p.937-943.

Occupational safety and health administration (OSHA). 2002. «Metal and metalloid particulates in workplace atmospheres (ICP analysis) (ID125G)» *OSHA sampling and analytical methods*, 46 p.

Pal, Bijoli K. et Kalyan Baksi. 1992. «Chromotropic acid as fluorogenic reagent. I. Fluorimetric determination of beryllium». *Microchimica Acta*, vol. 108, p. 275-283.

Paquette, Vincent. 2008. «Développement, validation et application de méthodes d'analyse d'ultra-trace du béryllium dans des matrices biologiques». Mémoire de maîtrise, Montréal, Université du Québec à Montréal, 121 p.

Patnaik, Pradyot. 2004. *Dean's analytical chemistry handbook*. 2^e édition, New York: McGraw-Hill, 1280 p.

Paustenbach, Dennis J., Amy K. Madl et Jessica F. Greene. 2001. «Identifying an appropriate occupational exposure limit (OEL) for beryllium : Data gaps and current research initiatives». *Applied occupational and environmental hygiene*, vol. 16, no. 5, p. 527-538.

Québec, Commission de la santé et de la sécurité au travail (CSST). 2007. *Règlement sur la santé et la sécurité du travail (RSST)*. L.R.Q. c. S-2.1, r.19.01 Québec: Éditeur officiel du Québec.

Schmidbaur, Hubert. 2001. «Recent contributions to the aqueous coordination chemistry of beryllium». *Coordination chemistry reviews*, vol. 215, p. 223-242.

Stefaniak, Aleksandr B., Christopher A. Brink, Robert M. Dickerson, Gregory A. Day, Michael J. Brisson, Mark D. Hoover et Ronald C. Scripsick. 2007. «A theoretical framework for evaluating analytical digestion methods for poorly soluble particulate beryllium». *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 387, p. 2411-2417.

Sutton, Mark. et Stephen R. Burastero. 2003. «Beryllium chemical speciation in elemental human biological fluid ». *Chemical research in toxicology*, vol. 16, no 9, p. 1145-1154.

Thomas, Robert. 2004. *Practical guide to ICP-MS*. New York: Marcel Dekker Inc, 324 p.

Tinkle, Sally S., James M. Antonini, Brenda A. Rich, Jenny R. Roberts, Rebecca Salmen, Karyn DePree et Eric J. Adkins. 2003. «Skin as a route of exposure and sensitization in chronic beryllium disease». *Environmental health perspectives*, vol. 111, p. 1202-1208.

Viau, Stéphanie, Chantal Dion, Guy Perrault, André Dufresne, Valérie Turcotte, Hooman Golshahi, Bethany Campbell, Teodor Mocanu, Annie Ouellet et Pierre-Jean Désormeaux. 2009. «Nettoyage et décontamination des lieux de travail où il y a présence de béryllium : Techniques et solutions nettoyantes». Rapport de recherche R613, IRSST, Québec, 76 p.

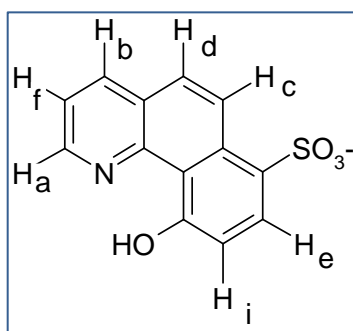
World health organization (WHO). 1990. *Beryllium*. Environmental health criteria 106, 145 p.

Yoshida, Hiroyuki, Takushi Ito et Akira Murata. 1990. «Fluorimetric determination of beryllium with 4-methyl-6-acetyl-7-hydroxycoumarin». *Fresenius journal of analytical chemistry*, vol. 338, p. 738-740.

8. ANNEXES

Annexe A1 : Description détaillée du spectre RMN¹H du HBQS et comparaison avec les valeurs de la littérature (McCleskey et al., 2006).

	Littérature	Synthèse	Attribution proton
δ (ppm)	9,01	8,98	
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	H _a
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{a-f} =4,8; J _{a-b} =1,6	J _{a-f} =4,7; J _{a-b} =1,7	
δ (ppm)	8,67	8,64	
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	H _b
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{b-f} =8,1; J _{a-b} =1,6	J _{b-f} =8; J _{a-b} =ND	
δ (ppm)	9,00	8,92	
Multiplicité	Doublet	Doublet	H _c
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{c-d} =9,4	J _{c-d} =9,3	
δ (ppm)	7,94	7,93	
Multiplicité	Doublet	Doublet	H _d
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{c-d} =9,4	J _{c-d} =9,3	
δ (ppm)	8,12	8,11	
Multiplicité	Doublet	Doublet	H _e
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{g-i} =8,3	J _{g-i} =8,5	
δ (ppm)	7,86	7,83	
Multiplicité	Doublet de doublet	Doublet de doublet	H _f
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{f-b} =8,1; J _{f-a} =4,8	J _{f-b} =8; J _{f-a} =4,8	
δ (ppm)	7,08	7,07	
Multiplicité	Doublet	Doublet	H _i
Intégration	1	1	
Couplage (Hz)	J _{i-g} =8,3	J _{i-g} =8,5	



Annexe A2 : Quantités de Be récupérées par différentes méthodes de dissolution du BeO et comparaison entre l'analyse en ICP-MS et en fluorescence.

Pour des fins de vérification, des volumes de suspension ont été prélevés en parallèle pour une analyse selon la méthode de l'IRSST à l'ICP-MS. Le tableau suivant résume les masses de Be obtenues par deux différentes techniques analytiques et pour des protocoles de dissolution différents. Aucune des méthodes ne permet de recouvrir la totalité du Be théoriquement présent dans les échantillons mesurés. Les échantillons A ont été digérés selon la méthode de l'IRSST (avec une modification : ajout de 100 µL de H₂SO₄ concentré à l'étape de digestion) et mesurées selon deux modes de mesure soit en ICP-MS et en fluorescence (IRSST, 2007). Les échantillons B ont été mesurés en fluorescence et les dissolutions des échantillons ont été effectuées selon les différents protocoles testés dans cette étude.

#	Masse de Be théorique (µg)	Masse de Be mesurée (µg)		
		Échantillons A ^a		Échantillons B
		ICP-MS	Fluorescence	Fluorescence
1	10,03	9,59	9,26	5,85 ^b
2	10,03	9,38	9,23	9,63 ^c
3	10,03	8,97	8,91	8,82 ^d
4	2,01	1,77	1,76	1,4 ^d
5	5,01	4,62	4,53	4,66 ^d
6	5,01	4,82	4,59	4,51 ^d ; 4,95 ^c
7	5,01	4,7	4,48	4,9 ^d

^a Dissolution avec la méthode IRSST 359 modifiée

^b Dissolution alcaline, testée dans cette étude

^c Dissolution avec le NH₄HF₂, testée dans cette étude

^d Dissolution acide, testée dans cette étude

Les échantillons A ont été analysés selon deux techniques (ICP-MS et fluorescence) et les résultats montrent que les échantillons mesurés par l'un ou l'autre des deux appareils donnent des valeurs assez semblables ; les écarts étant de moins de 5 %. Il est très intéressant de constater que les mesures en fluorescence permettent d'obtenir des résultats très similaires à ceux observés sur un ICP-MS.