

Radiochemische Methoden in der analytischen Chemie I

Im Rahmen des 1. Schweizerischen Treffens für Chemie (17. bis 21. Oktober 1966), das zusammen mit der 3. Internationalen Fachmesse für Laboratoriumstechnik, Meßtechnik und Automatik in der Chemie (ILMAC) vom Schweizerischen Chemiker-Verband in Basel veranstaltet wurde, führte die Schweizerische Vereinigung für Atomenergie eine Fachtagung über Radiochemische Methoden in der analytischen Chemie durch. Die neun an dieser Tagung gehaltenen Vorträge kommen in den Heften 1, 3 und 4 dieses Jahrganges zum Abdruck.

La méthode des indicateurs radioactifs: principe, avantages et limites*

Par P. LERCH

Institut d'Electrochimie et de Radiochimie, Ecole Polytechnique de l'Université de Lausanne

Summary

Radioactive substances have two generally quite distinct types of application according to whether they are used as radioactive tracers or as sources of ionising radiations. The tracer method is a general experimental technique which allows the evolution of a population of specific elements similar to each other to be observed by a process of labelling certain elements only. The indispensable conditions for the success of this method are discussed; the various ways of labelling are presented and compared. The advantages resulting from the choice of isotopic radioactive tracers are such that the radioactive tracer method is of great interest in the most diverse fields of science, medicine and industry. The exceptional sensitiveness of this technique makes it particularly adapted for use in analytical chemistry and also for the study of the behaviour of traces.

The existence of isotopic effects constitutes a fundamental limitation of the radioactive tracer method which may be capable of compromising its results. The physical isotopic effects which are at the basis of all the others are first explained; the different categories of chemical isotopic effects are then described and finally their incidence in radiochemistry is examined. The radiolytic action of radiation emitted by the radiotracers represents a second fundamental limitation to be considered by the radiochemist; the chemical transformations of the labelled molecules which occur at the very moment of disintegration constitute a third, not always negligible limitation; these phenomena are described and their importance evaluated.

Several experimental contingencies may also play a part in limiting the use of the radioactive tracer method; it is often essential to have available radio-isotopes of high specific activity; the radio-isotopic, radiochemical and chemical purity of the radioactive substances exercise an important influence. The choice of radio-isotope (half-life, nature and energy of the radiation emitted), when this is possible, can have a decisive influence on the success of the tracer method. Finally, the problem of radiation protection of the operators and the imperatives prescribed by it is touched upon.

1. Principe de la méthode

Les substances radioactives donnent lieu à deux genres d'applications le plus souvent bien distinctes, suivant qu'elles sont utilisées comme indicateurs radioactifs, ou comme sources de radiations ionisantes. Dans le premier cas, auquel est limité cet exposé, la radioactivité est un simple moyen analytique, qui permet de repérer un genre de molécules et de suivre son comportement. Dans le second cas par contre, les radiations émises par une source radioactive constituent un moyen physique capable d'influencer considérablement le comportement d'un système chimique.

D'une manière générale, la méthode des indicateurs est une technique expérimentale qui permet l'observation de l'évolution d'une population d'éléments spécifiques, animaux, objets, granules ou molécules par exemple, tous semblables entre eux, mais dispersés dans un milieu complexe d'autres éléments, par un procédé de marquage. Le marquage est loin d'être étendu à toute la population; au contraire, seul un petit nombre d'éléments de la population sont marqués. Pour que le marquage soit correct, deux conditions sont indispensables:

- a) Dès le départ, les éléments marqués doivent être distribués uniformément dans la population.
- b) Les éléments marqués doivent être identiques aux autres éléments de la population.

Au sens strict, ces conditions, et surtout la seconde, sont irréalisables, le fait même de marquer un élément de la population le différencie des autres éléments. Sur le plan

* Présenté le 17 octobre 1966, au Premier Congrès Suisse de la Chimie (journées sur l'application de la radiochimie à la chimie analytique).

expérimental, il faut se rapprocher au mieux de ces conditions idéales, l'effort étant par ailleurs adapté à la nature des résultats recherchés.

Le marquage le plus banal est le baguage des oiseaux, qui permet d'étudier notamment leurs migrations; de nombreuses autres méthodes macroscopiques de marquage sont utilisées. En chimie par contre, seul un marquage moléculaire peut être envisagé, dont nous distinguerons quatre types:

- a) le marquage physique
- b) le marquage isochimique
- c) le marquage isotopique
- d) le marquage isomérique (nucléaire)

énumérés dans l'ordre de perfection croissante.

En l'absence de réactions chimiques dans le système étudié, un *marquage physique* est suffisant. C'est le cas en hydrologie, où la fluorescéine est utilisée pour repérer le cheminement des eaux, ou des colorants en médecine interne, pour la mesure du volume sanguin. Le *marquage isochimique* consiste à marquer une espèce moléculaire par des molécules homologues, de proche comportement chimique. Plusieurs procédés d'entraînement utilisent ce principe: la syncristallisation par exemple; certaines familles d'éléments chimiques se prêtent assez bien à un tel marquage: alcalins (en particulier K-Rb-Cs), halogènes, terres rares notamment.

Le *marquage isotopique*, qui utilise des molécules identiques à la masse près, se rapproche mieux des conditions idéales. Deux modes de procéder sont possibles suivant que la molécule marquée contient un *isotope stable* ou un *isotope radioactif* de l'atome sur lequel a lieu le marquage: l'avantage des *indicateurs radioactifs* réside dans la facilité avec laquelle les radiations émises peuvent être directement mesurées de l'extérieur. Les isotopes stables sont néanmoins fort utilisés, lorsque les radioisotopes susceptibles d'être employés ont une période trop courte, ou que l'on craigne une action des radiations ionisantes sur le système étudié. Le *marquage isomérique* (nucléaire) est celui qui se rapproche le plus des conditions idéales; comme l'isomère nucléaire a sensiblement la même masse que les atomes qu'il marque, les effets isotopiques sont quasi nuls; seule, l'émission γ du nuclide isomère l'en distingue. Le procédé est limité à un nombre peu élevé d'isomères nucléaires utilisables. Enfin, un cas mixte doit être signalé, qui présente un grand intérêt en biochimie et en médecine, le *marquage isochimique à l'aide de molécules marquées*, où le radioélément indicateur ne correspond pas à un nuclide isotope stable dans les molécules non marquées. Le marquage d'albumines par une albumine radioiodée en est un exemple.

Le principal avantage de la méthode des indicateurs radioactifs réside dans sa *sensibilité* exceptionnelle; le repérage individuel des radiations émises a pour effet de permettre le comptage des atomes radioactifs, malgré leur masse infime. Ainsi, un nombre peu élevé d'atomes

marqués, de masse négligeable, peut servir d'indicateur à une masse macroscopique considérable. La masse m^* d'une substance radioactive pure de masse moléculaire M , marquée par un radionuclide de période T , est égale à:

$$m^* = N^* \frac{M}{N} = \frac{A \cdot T}{\ln 2} \frac{M}{N}$$

$$= 2,40 \cdot 10^{-24} MTA = 8,88 \cdot 10^{-14} MTA_{Ci}$$

ou N^* est le nombre des molécules radioactives, N le nombre d'AVOGRADO, A l'activité absolue exprimée en dps, ou A_{Ci} en Curie.

Le tableau ci-dessous donne la masse d'une substance radioactive pure de masse moléculaire égale à 100, dont l'activité de 200 dps est aisément mesurable avec une installation courante de comptage de la radioactivité, pour différentes périodes.

	$T = 1$ heure (3,6 · 10 ³ s)	$T = 1$ jour (8,64 · 10 ¹ s)	$T = 1$ mois (2,59 · 10 ⁶ s)	$T = 1$ an (3,15 · 10 ⁷ s)
Masse	$1,73 \cdot 10^{-12} \mu\text{g}$	$4,14 \cdot 10^{-11} \mu\text{g}$	$1,24 \cdot 10^{-9} \mu\text{g}$	$1,51 \cdot 10^{-8} \mu\text{g}$

L'ordre de grandeur des chiffres précédents laisse prévoir l'intérêt d'un marquage par un si petit nombre de molécules, compatible avec une détermination courante de radioactivité. Avec des instruments de mesure spécialement conçus, il est possible de réduire encore le taux de marquage d'un facteur 100 au moins. C'est l'extrême sensibilité de la méthode des indicateurs radioactifs qui en fait une technique de choix en chimie analytique comme dans l'étude des substances en traces: la plupart des exposés présentés à ce colloque le montreront.

Le second avantage de l'emploi des indicateurs radioactifs réside dans la facilité d'exécuter les mesures de radioactivité. Les instruments de mesure sont plus simples et moins coûteux qu'un spectrographe de masse. Par ailleurs, les déterminations sont plus rapides que les analyses chimiques; le pouvoir de pénétration des radiations ionisantes est tel qu'il est souvent possible d'éviter d'avoir à purifier les substances avant la mesure. Grâce aux spectromètres β ou γ , la discrimination d'énergie rend possible cette simplification même dans le cas de substances multi-marquées. Grâce à la facilité des mesures de la radioactivité, la méthode des radioindicateurs excelle pour l'étude dynamique des équilibres, comme pour la mesure de la vitesse des échanges moléculaires entre différentes phases ou constituants.

2. Limitations de principe: les effets isotopiques

Les *effets isotopiques* résultent des différences de constitution des isotopes d'un même élément; ils se manifestent par des différences quantitatives, généralement faibles, du comportement de chacun des isotopes; ils sont de nature physique, chimique ou biologique.

Les effets isotopiques physiques, à la base de tous les autres, ont leur origine dans l'inégalité des masses des nuclides isotopes surtout, mais aussi dans celle d'autres grandeurs nucléaires, comme le moment angulaire total notamment.

Différences relatives de masse

H	-	¹² C	-	³¹ P	-	²³⁴ U	- 1,7%
D	+ 100%	¹³ C	+ 8,3%	³² P*	+ 3,2%	²³⁵ U	- 1,3%
T*	+ 200%	¹⁴ C*	+ 16,7%	³³ P*	+ 6,4%	²³⁸ U	-

Ces effets isotopiques sont très marqués dans le cas de l'hydrogène, à cause des grandes différences de masses, et déjà bien plus faibles pour les éléments de bas nombre atomique; elles sont difficiles à mettre en évidence le plus souvent chez les éléments de haut nombre atomique.

Les effets isotopiques les plus considérables concernent la molécule diatomique H₂, puisqu'aucun élément plus lourd ne vient tempérer le doublement ou le triplement de la masse lorsque l'on passe de H₂ à D₂, et à T₂:

	H ₂	HD	D ₂	T ₂
Point de fusion	13,95 °K	16,60 °K	18,65 °K	20,6 °K
Point d'ébullition (1 atm)	20,39 °K	22,13 °K	23,67 °K	25,05 °K
Point critique	32,99 °K	35,41 °K	38,96 °K	40,5 °K
Chaleur de fusion	28,0 cal/mole	37,0 cal/mole	47,0 cal/mole	58,0 cal/mole
Chaleur de vaporisation (au P. E.)	219,7 cal/mole	263 cal/mole	302,3 cal/mole	333 cal/mole
Densité (20 °K)	0,08		0,170	0,282

Dans l'eau, la présence de l'oxygène atténue déjà beaucoup ces effets isotopiques:

	H ₂ O	D ₂ O
Point de fusion	0 °C	3,8 °C
Point d'ébullition	100 °C	101,42 °C
Point critique	374,2 °C	371,5 °C
Chaleur de fusion	1436 cal/mole	1515 cal/mole
Chaleur de vaporisation (au P. E.)	10515 cal/mole	10844 cal/mole
Densité, à 20 °C	0,99823	1,10530
Densité maximum	1,0000 à 3,98 °C	1,1060 à 11,23 °C
Viscosité, à 25 °C	8,91 mpoises	10,99 mpoises
Potentiel normal H ₂ /H ⁺ (D ₂ /D ⁺) à 25 °C dans H ₂ O ou D ₂ O resp.	0 V	- 0,0035 V
Mobilité de H ₃ O ⁺ (D ₃ O ⁺) à 18 °C dans H ₂ O ou D ₂ O resp.	3,27 · 10 ⁻³ cm ² /V · s	2,21 · 10 ⁻³ cm ² /V · s

Les différences de masses se répercutent sur les états énergétiques des atomes ou molécules isotopiques, d'où un déplacement des lignes spectrales. Pour les spectres atomiques, il s'observe même pour l'uranium:

Hydrogène		Uranium	
H	4340,47 Å	²³⁸ U	4243,977 Å
D	4341,19 Å	²³⁴ U	4244,075 Å
		²³⁵ U	4244,122 Å
		²³⁸ U	4244,373 Å

Pour les molécules légères, le spectre de vibration est nettement déplacé, d'où modification de l'énergie de zéro E₀, donc celle de dissociation aussi. Ainsi, pour les molécules diatomiques (anharmonicité négligée):

$$E_0 = \frac{1}{2} h\nu_0 = \frac{h}{4\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \text{ entraîne } \frac{\nu_0}{\nu'_0} = \frac{E_0}{E'_0} = \sqrt{\frac{\mu'}{\mu}}$$

où les *k* et *μ* sont les constante de force de rappel et masse réduite de la molécule, et *ν*₀ la fréquence de vibration; la molécule la plus lourde a une énergie de zéro et une fréquence plus faibles; l'énergie de dissociation E_D augmente par conséquent:

	$\bar{\nu} = \nu/c$ (cm ⁻¹)	E ₀ (kcal/M)	E _D (kcal/M)
H ₂	4405,30	6,212	102,80
HD	3817,09	5,390	103,62
D ₂	3117,07	4,411	104,60
HT	3598,14	5,073	-
DT	2845,64	4,030	-
T ₂	2546,50	3,603	-
H ³⁵ Cl	2988,95	4,236	102,1
D ³⁵ Cl	2142,62	3,046	103,3
T ³⁶ Cl	1774,71	-	-
H ³⁷ Cl	2985,6	4,234	102,1
D ³⁷ Cl	2139,5	-	-

Le déplacement du spectre de rotation est bien plus petit et ne joue un rôle que dans le cas des isotopes de l'hydrogène; la molécule la plus lourde a une énergie de rotation un peu plus faible.

Les effets isotopiques chimiques potentiels apparaissent à l'équilibre; ils résultent des différences de potentiel chimique des isotopes. C'est ainsi que la loi d'action de masse, appliquée à l'équilibre:

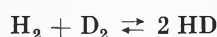


présente une constante différente de l'unité ($K = 1,035$ à 25°C):

$$\frac{[^{14}\text{NH}_3] \cdot [^{15}\text{NH}_4^+]}{[^{15}\text{NH}_3] \cdot [^{14}\text{NH}_4^+]} = K \neq 1.$$

Plus précisément, deux causes principales interviennent, le changement de symétrie d'une part et la différence de masse d'autre part.

Considérons d'abord les effets dus à un *changement de symétrie*, en supposant les autres provisoirement nuls. Soit l'équilibre en phase gazeuse:



Pour un nombre total N de moles dans un volume V , x_{H} et x_{D} , les fractions atomiques, les concentrations des trois constituants sont:

$$\begin{aligned} [\text{H}_2] &= N x_{\text{H}}^2 / V \\ [\text{D}_2] &= N x_{\text{D}}^2 / V \\ [\text{HD}] &= 2 N x_{\text{H}} x_{\text{D}} / V \end{aligned}$$

le facteur 2 dans la dernière expression provient de la double possibilité d'obtenir HD: H + D ou D + H. D'ailleurs, la somme des moles dans V est bien N :

$$N x_{\text{H}}^2 + N x_{\text{D}}^2 + 2 N x_{\text{H}} x_{\text{D}} = N (x_{\text{H}} + x_{\text{D}})^2 = N$$

car $x_{\text{H}} + x_{\text{D}} = 1$. Alors:

$$K = \frac{[\text{HD}]^2}{[\text{H}_2] \cdot [\text{D}_2]} = \frac{(2 N x_{\text{H}} x_{\text{D}} / V)^2}{N x_{\text{H}}^2 / V \cdot N x_{\text{D}}^2 / V} = 4$$

la constante d'équilibre est très différente de 1; par le même raisonnement, on montrerait qu'au contraire, lorsque la symétrie de H_2 ou de D_2 n'existe plus, comme dans HCOOH et DCOOD, la constante d'équilibre est égale à 1 (effets de masse négligés).

D'une manière générale, si σ représente le nombre de symétrie d'une molécule, ou nombre des orientations indistinguables de la molécule (HD : $\sigma = 1$; H_2 , D_2 : $\sigma = 2$; PCl_3 : $\sigma = 3$; PCl^*Cl_2 : $\sigma = 1$; ...), la mécanique statistique montre que $K = \sigma^n$, où n est le nombre des molécules de nombre de symétrie σ qui entrent en réaction. Les effets isotopiques potentiels de symétrie ne jouent en plein qu'aux hautes températures, où les équilibres chimiques sont essentiellement régis par des variations d'entropie, comme le montre la courbe ci-dessous, de $K(T)$ pour l'équilibre $\text{H}_2 + \text{D}_2 \rightleftharpoons 2 \text{HD}$.

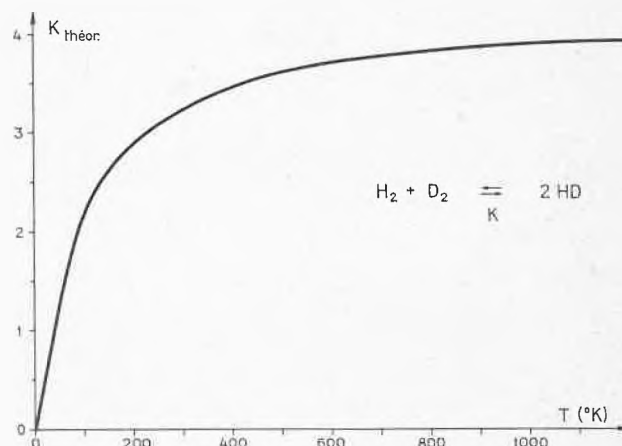


Fig. 1. Effets isotopiques chimiques potentiels de symétrie

Les effets isotopiques potentiels dus aux *différences de masse* induisent des changements dans les énergies de vibration, éventuellement de rotation et de translation, comme il a été dit plus haut; les molécules les plus

Equilibre	K_{exp}	K_{calc}
$\text{H}_2 + \text{D}_2 \rightleftharpoons 2 \text{HD}$	3,28	3,25
$\text{H}_2 + \text{T}_2 \rightleftharpoons 2 \text{HT}$	2,5 à 2,9	2,56
$\text{D}_2 + \text{T}_2 \rightleftharpoons 2 \text{DT}$	-	3,82
$\text{H}_2\text{O} + \text{D}_2\text{O} \rightleftharpoons 2 \text{HDO}$	-	3,96
$\text{H}_2\text{O} + \text{T}_2\text{O} \rightleftharpoons 2 \text{HTO}$	-	3,42
$\text{D}_2\text{O} + \text{T}_2\text{O} \rightleftharpoons 2 \text{DTO}$	-	3,59
$\text{H}_2\text{O} + \text{HD} \rightleftharpoons \text{H}_2 + \text{HDO}$	3,70	3,70
$\text{H}_2\text{O} + \text{HT} \rightleftharpoons \text{H}_2 + \text{HTO}$	6,26	6,19
$2 \text{NH}_3 + \text{ND}_3 \rightleftharpoons 3 \text{NH}_2\text{D}$	24,40	24,77
$\text{NH}_3 + 2 \text{ND}_3 \rightleftharpoons 3 \text{NHD}_2$	24,08	24,22
$^{12}\text{CO}_3^{2-} + ^{13}\text{CO}_2 \rightleftharpoons ^{13}\text{CO}_3^{2-} + ^{12}\text{CO}_2$	* 1,017	1,016
$^{12}\text{CO}_3^{2-} + ^{14}\text{CO}_2 \rightleftharpoons ^{14}\text{CO}_3^{2-} + ^{12}\text{CO}_2$	*	1,024
$^{14}\text{NH}_4^+ + ^{15}\text{NH}_3 \rightleftharpoons ^{15}\text{NH}_4^+ + ^{14}\text{NH}_3$	1,034	1,035
$^{14}\text{NO}_3^- + ^{15}\text{NO}_2 \rightleftharpoons ^{15}\text{NO}_3^- + ^{14}\text{NO}_2$	-	1,09
$\text{H}^{12}\text{CN} + ^{13}\text{CN}^- \rightleftharpoons \text{H}^{13}\text{CN} + ^{12}\text{CN}^-$	** 1,026	1,030
$\text{HC}^{14}\text{N} + \text{C}^{16}\text{N}^- \rightleftharpoons \text{HC}^{15}\text{N} + \text{C}^{14}\text{N}^-$	** < 1	1,002
$\text{H}^{32}\text{SO}_3^- + ^{34}\text{SO}_2 \rightleftharpoons \text{H}^{34}\text{SO}_3^- + ^{32}\text{SO}_2$	1,019	1,019
$\text{H}^{32}\text{SO}_3^- + ^{36}\text{SO}_2 \rightleftharpoons \text{H}^{36}\text{SO}_3^- + ^{32}\text{SO}_2$	1,043	1,039
$^{35}\text{ClO}_3^- + ^{35}\text{Cl}^{37} \rightleftharpoons ^{37}\text{ClO}_3^- + ^{35}\text{Cl}_2$	-	1,077
$^{79}\text{BrO}_3^- + ^{79}\text{Br}^{81}\text{Br} \rightleftharpoons ^{81}\text{BrO}_3^- + ^{79}\text{Br}_2$	-	1,007
$^{127}\text{IO}_3^- + ^{127}\text{I}^{129}\text{I} \rightleftharpoons ^{129}\text{IO}_3^- + ^{127}\text{I}_2$	-	1,0028
$^{127}\text{IO}_3^- + ^{127}\text{I}^{131}\text{I} \rightleftharpoons ^{131}\text{IO}_3^- + ^{127}\text{I}_2$	-	1,005

* à 0°C

** à 18°C

légères sont les moins stables, de telle sorte que dans une réaction d'échange isotopique:



l'isotope léger a tendance à se concentrer dans le composé dont la liaison est la plus faible (plus faible constante de force k). Le tableau suivant donne les valeurs des constantes de la loi d'action de masse K pour divers équilibres isotopiques; les valeurs expérimentales coïncident assez bien avec les valeurs calculées par la mécanique statistique; elles ont été établies pour 25°C (voir le tableau à la page 4).

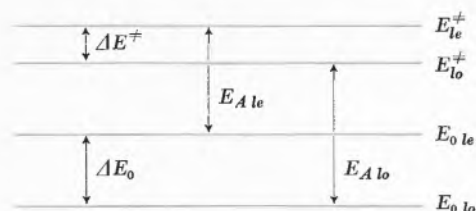
Les règles approximatives suivantes peuvent être formulées:

- $K - 1$ varie à peu près proportionnellement à la différence des masses isotopiques,
- les isotopes les plus lourds ont tendance à se concentrer dans la phase condensée,
- les isotopes les plus lourds s'accumulent de préférence dans le composé où l'élément considéré est au degré d'oxydation le plus élevé,
- lors d'une ionisation ou d'une dissociation, l'isotope le plus lourd se concentre dans la phase condensée pour autant que la forme dissociée possède un plus grand nombre de modes de vibrations (cas de HCN).

Les effets isotopiques chimiques cinétiques apparaissent au cours des réactions chimiques, mais disparaissent à la fin de celles-ci, à l'exception des effets intramoléculaires. Ces effets isotopiques se manifestent par un changement de la constante de vitesse k des réactions chimiques; les différences observées résultent du changement de l'énergie d'activation des molécules isotopiques; aux plus lourdes correspondent des énergies d'activation plus élevées, et par conséquent des constantes de vitesse de réaction plus basses. Il arrive aussi que les différences proviennent d'un changement du facteur de fréquence, pour les isotopes de l'hydrogène notamment; aux molécules lourdes correspondent de bas facteurs de fréquence, donc des constantes de vitesse de réaction également plus petites.

La théorie du complexe activé rend compte des effets isotopiques chimiques cinétiques; grâce à ce composé de transition, en équilibre thermodynamique avec les substances entrant et sortant de réaction, l'étude des effets isotopiques cinétiques peut aussi partir de la mécanique statistique. Le rapport des fréquences de chacune des variétés isotopiques du complexe activé détermine celui des constantes de vitesse de réaction.

Pour les molécules du complexe activé comme pour celles qui entrent ou sortent de réaction, la molécule isotopique la plus lourde possède les fréquences de vibration et l'énergie de zéro les plus faibles: toutefois, les différences d'énergie de zéro ΔE_0 des molécules isotopiques qui entrent en réaction sont plus élevées que celles ΔE^\ddagger des variétés isotopiques du complexe activé.



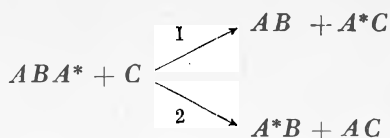
C'est pourquoi la différence $E_{A lo} - E_{A le}$ entre les énergies d'activation des molécules isotopiques est-elle inférieure, ou au plus égale, à la différence des énergies de zéro ΔE_0 . Ce cas limite est celui où les atomes isotopiques se comportent approximativement comme des atomes libres dans le complexe activé; les effets cinétiques limite correspondants ont été calculés à 25°C par BIGELEISEN:

H / D	$k_1 / k_2 = 18$
H / T	$k_1 / k_3 = 60$
¹² C / ¹³ C	$k_{12} / k_{13} = 1,25$
¹² C / ¹⁴ C	$k_{12} / k_{14} = 1,50$
¹³ N / ¹⁴ N	$k_{13} / k_{14} = 1,14$
¹⁴ N / ¹⁵ N	$k_{14} / k_{15} = 1,14$
¹⁴ N / ¹⁶ N	$k_{14} / k_{16} = 1,25$
¹⁶ O / ¹⁸ O	$k_{16} / k_{18} = 1,19$
¹⁸ F / ¹⁹ F	$k_{18} / k_{19} = 1,02$
²² Na / ²³ Na	$k_{22} / k_{23} = 1,03$
²³ Na / ²⁴ Na	$k_{23} / k_{24} = 1,03$
²⁴ Mg / ²⁷ Mg	$k_{24} / k_{27} = 1,08$
³¹ P / ³² P	$k_{31} / k_{32} = 1,02$
³² S / ³⁵ S	$k_{32} / k_{35} = 1,05$
⁴⁰ Ca / ⁴⁵ Ca	$k_{40} / k_{45} = 1,08$
¹²⁷ I / ¹³¹ I	$k_{127} / k_{131} = 1,02$

Ces effets isotopiques cinétiques limite ne sont pas négligeables même pour des nuclides de masses moyennes; lorsque les masses des deux isotopes diffèrent de plusieurs unités, ils peuvent prendre des valeurs appréciables. Les effets isotopiques cinétiques dépendent de la température comme les effets potentiels aux températures élevées; ils tendent vers une valeur qui ne dépend plus que des nombres de symétric.

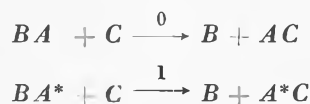
Les effets isotopiques cinétiques primaires qui se manifestent lorsque la réaction porte sur l'atome isotopique lui-même sont les plus importants; les effets isotopiques cinétiques secondaires qui concernent les atomes isotopiques placés en n'importe quelle autre position de la molécule sont plus faibles mais non nuls, à cause des résonances plus ou moins fortes qui ont lieu dans la molécule. Des effets isotopiques cinétiques de solvant importants ont lieu en solution lorsque le solvant intervient dans la formation du complexe activé.

Par ailleurs, les effets isotopiques cinétiques sont intramoléculaires lorsque la réaction conduit par deux voies différentes à la formation de molécules isotopiques, à partir des mêmes molécules marquées.

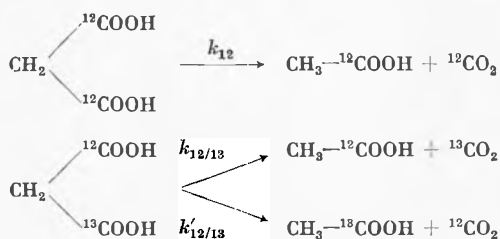


Comme les constantes de vitesse de réaction k_1 et k_2 sont différentes, les proportions des substances formées dépendent de cette différence, alors qu'en l'absence d'effet isotopique, les quantités de AB et A^*B d'une part, et de AC et A^*C d'autre part, sont respectivement égales. Les effets isotopiques intramoléculaires sont les seuls effets cinétiques qui subsistent à l'état final.

Les effets isotopiques cinétiques *intermoléculaires* concernent la différence de comportement cinétique de deux molécules isotopiques :

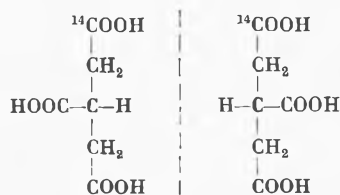


contrairement au cas précédent, aucun effet isotopique n'est décelable à la fin de la réaction. Les deux genres d'effets peuvent se superposer, comme dans le cas de la décarboxylation de l'acide malonique par l'acide sulfurique, à 138 °C :



effet intramoléculaire: $k_{12/13}/k'_{12/13} = 1,020$ (théor.) ou $1,028$ (exp.)
 $k_{12/14}/k'_{12/14} = 1,038$ (théor.) ou $1,054$ (exp.)
 effet intermoléculaire: $k_{12}/(k_{12/13} + k'_{12/13})$

Les effets isotopiques chimiques stériques ou stéréoisomériques (OGSTON, 1948) résultent de la suppression d'une symétrie dans la molécule à la suite d'une substitution isotopique. Ainsi dans une molécule organique dont un carbone est entouré de quatre substituants, dont deux égaux, il suffit de marquer l'un de ces derniers par un isotope pour que l'atome de carbone devienne asymétrique et qu'apparaisse une stéréoisomérisation. Il existe deux molécules stéréoisomériques gauche et droite après le marquage, qui correspondent à une seule molécule non marquée. Le marquage au ^{14}C de l'un des carboxyles extrêmes de l'acide citrique provoque la stéréoisomérisation :



Les pouvoirs rotatoires qui résultent de cet effet stérique sont faibles; ainsi, le pouvoir rotatoire spécifique de l'éthylbenzène marqué au D en position α est $[\alpha]_D^{25} = 0,30^\circ$.

3. Limitations de principe: les effets des radiations ionisantes et des transformations nucléaires

Sous l'action des radiations ionisantes qui y prennent continuellement naissance, les substances marquées peuvent éventuellement être altérées. Les molécules atteintes par les radiations sont tout d'abord excitées ou ionisées, puis transformées avec formation de radicaux libres très labiles; par une suite complexe de réactions chimiques rapides, toute une série de nouvelles substances peuvent apparaître. La radiolyse est d'autant plus importante que les molécules atteintes ont une structure plus complexe d'une part, et que la dose de radiations reçues est plus élevée d'autre part. C'est pourquoi l'action des radiations peut limiter l'emploi de la méthode des indicateurs radioactifs, lorsque les substances chimiques étudiées sont de constitution complexe ou que les activités spécifiques utilisées sont élevées.

Pour évaluer l'ordre de grandeur de cet effet, calculons l'énergie dépensée dans la substance chimique étudiée par les radiations qui la traversent après y avoir pris naissance. Si a est l'activité spécifique (en mCi/g ou $\mu\text{Ci/mg}$), \bar{E} l'énergie moyenne perdue par les radiations par désintégration (en MeV) ($\bar{E} = E_\alpha$ et $\bar{E} \simeq \frac{1}{3} E_{\beta \text{ max}}$ pour des émetteurs β point trop énergiques), l'énergie totale E_t dissipée par jour et par g de matière est :

$$E_t = 3,20 \cdot 10^{18} a \bar{E} \text{ eV/j} = 5,12 \cdot 10^6 a \bar{E} \text{ erg/j}$$

soit une dose absorbée de :

$$D = 5,12 \cdot 10^4 a \bar{E} \text{ rad/j}$$

Ainsi, pour un émetteur β comme le carbone-14, $\bar{E} = 0,05 \text{ MeV}$, la dose mensuelle atteint seulement 76800 rad pour 1 mCi/g , c'est-à-dire encore bien loin d'une radiolyse appréciable pour des molécules minérales ou organiques de complexité moyenne. En effet, si l'on admet que pour la plupart des réactions radiolytiques - à l'exception des réactions en chaîne - le rendement radiochimique G , ou nombre des molécules transformées par 100 eV d'énergie absorbée, est de l'ordre de l'unité, la première relation mise sous la forme :

$$n \leq \frac{3,20 \cdot 10^{18} a \bar{E} \text{ (eV/j)} \cdot G}{100} \cdot \frac{1}{N} \simeq 5,1 \cdot 10^{-8} a \cdot \bar{E} \quad (G \approx 1)$$

donne un ordre de grandeur supérieur pour le nombre de moles transformées par g ; dans l'exemple précédent du ^{14}C , $n = 7,7 \cdot 10^{-8}$ moles en 1 mois pour 1 mCi/g , c'est-à-dire une quantité souvent négligeable. Par contre, pour des substances organiques de constitution complexe, comme les enzymes par exemple, c'est déjà beaucoup

trop, une désactivation peut intervenir après quelques heures à plusieurs jours déjà suivant leur radiosensibilité.

Pour éviter ou freiner une telle action, il faut raccourcir la durée des essais et éviter une longue période de conservation de la substance radioactive avant l'expérience. Comme les produits à haute activité spécifique sont les plus exposés à l'action des radiations, il convient de les diluer dans les limites compatibles avec le succès de l'expérience; afin de conserver l'avantage de l'activité spécifique élevée, il est possible de recourir à une dilution provisoire dans un matériau non-isotopique, duquel le produit radioactif sera aisément réextrait au moment de l'emploi; lorsqu'une simple dissolution n'est pas possible, la dilution peut se faire dans une poudre inerte, par simple mélange mécanique (SiO_2 amorphe, Kieselsgur, sable propre, par exemple).

Outre l'action des radiations ionisantes, des dommages sont provoqués dans les substances radioactives par les transformations chimiques des molécules marquées qui accompagnent obligatoirement le phénomène de désintégration; ces changements sont de deux espèces:

- a) Après la désintégration de l'atome radioactif, la molécule dont il fait partie ne peut subsister comme telle puisque l'identité chimique d'un de ses constituants a changé; le plus souvent, la molécule est décomposée. L'action des produits de décomposition sur le système étudié est généralement négligeable, à cause de leur quantité extrêmement petite.
- b) Au moment de sa désintégration le noyau de l'atome radioactif subit un recul et se comporte comme un projectile lourd; bien que son parcours soit très réduit, le noyau de recul peut produire des excitations ou des ionisations comme les radiations ionisantes, et induire comme elles des effets préjudiciables au système étudié. Calculons l'énergie acquise par le noyau de recul, qu'il peut utiliser pour provoquer un tel effet:

$$E_{\text{recul}} = \frac{E_p \cdot m_p}{m_{\text{noyau}}}$$

Dans le cas des particules α , pour $E_p = E_\alpha \simeq 5 \text{ MeV}$, et $m_{\text{noyau}}/m_\alpha \simeq 50$, l'énergie de recul est de l'ordre de 0,1 MeV; l'ionisation est considérable, sur un parcours réduit et l'effet n'est pas négligeable. Au contraire, pour les particules β , où $E_p = E_\beta \simeq 0,5 \text{ MeV}$, et $m_{\text{noyau}}/m_\beta \simeq 5 \cdot 10^4$, l'énergie de recul n'atteint qu'environ 10 eV, et l'effet est absolument négligeable.

4. Aspects expérimentaux de la méthode des radioindicateurs

Le choix du nuclide radioactif indicateur est important et détermine souvent le succès de la méthode; plusieurs critères interviennent:

a) La période du radionuclide ne peut être trop courte; au-dessous d'une heure, le travail devient fort difficile;

la limite inférieure dépend surtout de l'ampleur des manipulations chimiques à effectuer. Des corrections pour la décroissance seront apportées aux activités mesurées et les manipulations, exercées à blanc à l'avance, seront particulièrement rapides. Les périodes trop longues ont aussi leurs inconvénients, moins critiques toutefois: la contamination définitive de certains ustensiles de laboratoire oblige leur destruction après usage; le risque de contamination du personnel est aussi accru et le problème de l'élimination des déchets radioactifs peut se poser. Lorsque les indicateurs radioactifs sont utilisés pour le contrôle de fabrications industrielles, les périodes courtes ou moyennes sont seules admissibles, car la radioactivité des produits finis doit être négligeable.

b) La nature et l'énergie du rayonnement du radionuclide indicateur définissent le type de détecteur et l'électronique à lui associer; certaines difficultés de mesure apparaissent avec la diminution de l'énergie des rayonnements et, à énergies égales, avec l'augmentation de la masse des particules, à cause des phénomènes d'absorption et d'auto-absorption des rayonnements mous; le coût et la complexité des installations de mesure augmentent alors en conséquence. Pour les photons γ d'énergies inférieures à 100 keV, les rayons β d'énergies maximales inférieures à 250 keV et les rayons α , des installations de mesure spéciales sont nécessaires, d'autant plus complexes et coûteuses que les activités à mesurer sont plus basses ou que la précision désirée doit être plus élevée.

c) L'activité spécifique maximum disponible du radionuclide indicateur joue un rôle important dans la plupart des cas. Il faut compter avec une activité spécifique assez grande au départ, pour tenir compte des dilutions isotopiques qui interviennent au cours des manipulations et résultent inévitablement des dégradations chimiques des molécules marquées, ou sont volontairement causées par l'emploi des méthodes d'entraînement par des substances inactives lors des séparations ou des extractions chimiques. Par ailleurs, l'emploi d'activités spécifiques trop élevées augmente considérablement le risque de contamination du matériel et même du personnel; les pertes par adsorption aux parois des ustensiles des substances radioactives à haute activité spécifique ne sont pas négligeables et les récipients utilisés pour les manipuler doivent être exceptionnellement propres, ou même spécialement traités en vue de ce travail.

La pureté des substances radioactives s'exprime à l'aide de trois notions distinctes:

- 1) pureté radioisotopique
- 2) pureté radiochimique
- 3) pureté chimique

qui jouent le plus souvent toutes les trois un rôle important; à cause de la décroissance radioactive d'une part, et de l'action chimique des radiations ionisantes d'autre part, chacune des trois puretés varie au cours du temps, d'une manière indépendante. A ce titre, la date de préparation d'une substance radioactive présente une cer-

taine importance, indépendamment du calcul de la décroissance.

La *pureté radioisotopique* s'exprime par le rapport de l'activité du radionuclide indicateur à l'activité totale de la substance marquée; sa connaissance précise suppose celle de tous les radionuclides contaminant la substance examinée et de leurs activités respectives. Lorsque la pureté radioisotopique est médiocre, des difficultés de mesure peuvent apparaître et l'emploi de spectromètres est généralement indispensable. Lorsqu'un radionuclide donne naissance par filiation à un radionuclide de période plus courte, il n'est pas tenu compte de la présence de ce nuclide-fille – toujours supposé en équilibre radioactif – pour le calcul de la pureté radioisotopique. Le terme de pureté radionuclidique remplace quelquefois celui de pureté radioisotopique.

La *pureté radiochimique* s'exprime par le rapport de l'activité du radionuclide indicateur combinée sous la forme chimique désirée, à l'activité totale de ce radionuclide; par forme chimique désirée, il faut entendre la substance définie par sa constitution atomique et stérique précise, et tenir compte des isomères de position, ou optiques notamment.

La *pureté chimique* est définie comme pour les substances non radioactives.

Pour terminer, il est utile de rappeler quelques principes élémentaires de protection contre les radiations. La manipulation des substances radioactives entraîne deux risques distincts pour les opérateurs:

- a) l'irradiation interne de l'organisme, due à sa *contamination radioactive* par les substances manipulées,
- b) l'irradiation externe de l'organisme, directement par les radiations émises pendant les manipulations.

L'irradiation interne est la plus dangereuse, car la géométrie d'irradiation est 4π et elle se poursuit sans interruption, ne dépendant que de la période du radionuclide absorbé et du métabolisme des molécules marquées inhalées ou ingérées; les radioéléments émetteurs α et β sont les plus à craindre. En principe, une telle irradiation ne peut être qu'accidentelle; il est facile de prévenir toute entrée directe et massive de substance radioactive dans l'organisme. En fait, une légère contamination est inévitable; en effet, elle se produit en deux temps, d'abord au niveau des ustensiles manipulés, ensuite à celui des personnes. Par des installations de sécurité adéquates (travail sous hottes étanches en dépression continue, ventilation des locaux, agencements faciles à décontaminer) et une discipline stricte de travail, il est cependant aisé de réduire les concentrations au-dessous des maxima admissibles dans l'organisme.

L'irradiation externe est moins dangereuse, car limitée à la fois dans l'espace et dans le temps; à cause de leur pouvoir élevé de pénétration, les radioéléments émetteurs γ sont les plus à craindre. Trois moyens permettent de réduire l'irradiation externe au-dessous de la dose maximum admissible: l'interposition d'écrans entre sources radioactives et organisme, augmentation de la distance entre l'opérateur et les substances radioactives, diminution de la durée des manipulations.

Par ces différents moyens, il est aisé de réduire l'irradiation de telle sorte que l'emploi des substances radioactives ne fasse pas courir au personnel un risque plus élevé que les manipulations courantes du laboratoire de chimie. Actuellement, le danger des radiations ionisantes ne constitue plus une raison qui puisse inciter à renoncer à l'utilisation des substances radioactives.