



HAL
open science

Amiante et bonnes pratiques. Rapport scientifique final

Christine Laporte-Magoni, Mario Tribaudino, Michaël Meyer, Bice Fubini,
Maura Tomatis, Farid Juillot, Jasmine Rita Petriglieri, Peggy Gunkel-Grillon,
Nazha Selmaoui-Folcher

► To cite this version:

Christine Laporte-Magoni, Mario Tribaudino, Michaël Meyer, Bice Fubini, Maura Tomatis, et al..
Amiante et bonnes pratiques. Rapport scientifique final. [Rapport de recherche] Programme ABP.
Tome Nickel et Santé, CNRT Nickel et son environnement. 2018, 234 p. ird-02157481v1

HAL Id: ird-02157481

<https://ird.hal.science/ird-02157481v1>

Submitted on 17 Jun 2019 (v1), last revised 9 Oct 2021 (v2)

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

Rendu scientifique

Edition 2018

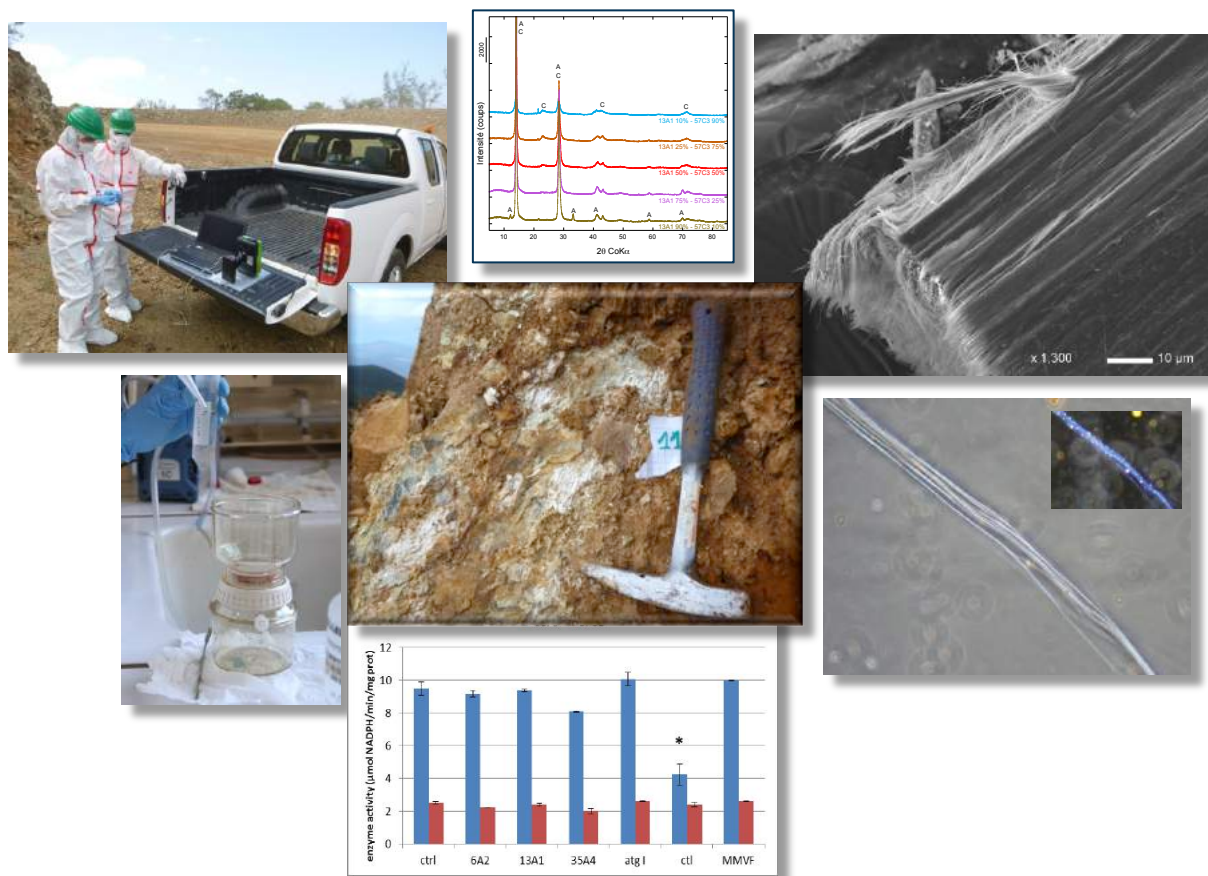
ABP

Amiante et Bonnes Pratiques



Rapport Scientifique 2018

PROJET AMIANTE ET BONNES PRATIQUES – RAPPORT FINAL



Étude réalisée dans le cadre des programmes de recherche financés par le CNRT « Nickel & son environnement »

**CNRT
NICKEL**
& son environnement

Mai 2018

UNC
UNIVERSITÉ
de la
NOUVELLE-CALÉDONIE



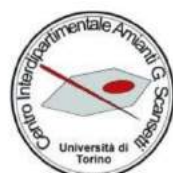
UNIVERSITÀ DEGLI
STUDI DI PARMA



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TORINO

**CENTRO INTERDIPARTIMENTALE
"GIOVANNI SCANSETTI"**

PER LO STUDIO DEGLI AMIANTI E
DI ALTRI PARTICOLATI NOCIVI



arpae
emilia-romagna

«AMIANTE ET BONNES PRATIQUES»

Rapport scientifique final

Mai 2018

AUTEURS :

Ouvrage collectif coordonné par :

Christine LAPORTE-MAGONI, Institut des Sciences Exactes et Appliquées (Université de Nouvelle-Calédonie),

à partir des synthèses de :

Pr Mario TRIBAUDINO, (Université de Parme)

Michael MEYER, Institut des Sciences Exactes et Appliquées (Université de Nouvelle-Calédonie)

Pr Bice FUBINI, Centre Scansetti, (Université de Turin)

Maura TOMATIS, Centre Scansetti, (Université de Turin)

Farid JUILLOT, Institut de Minéralogie, de Physique des Matériaux et de Cosmochimie (Institut de Recherche pour le Développement / Centre National Recherche Scientifique)

et des contributions de :

Jasmine Rita PETRIGLIERI (Université de Parme/UNC)

Peggy GUNKEL-GRILLON, Institut des Sciences Exactes et Appliquées (Université de Nouvelle-Calédonie)

Nazha SELMAOUI-FOLCHER, Institut des Sciences Exactes et Appliquées ((Université de Nouvelle-Calédonie)

REVISION DU DOCUMENT

Réf.	CSF n°8PS2013-CNRT-UNIVTURIN/ABP			
Version	Date	Rédacteur(s)	Qualité du rédacteur(s)	Révision pour CNRT
V2	03/08/2018	Christine Laporte-Magoni (ISEA-UNC)	Coordinateur du programme en Nouvelle-Calédonie	F. Bailly CNRT

CITATION DU DOCUMENT

Mots clés : Risque sanitaire, Amiante environnemental, analyses minéralogiques, altération chimique, toxicologie, antigorite, chrysotile, trémolite, Nouvelle-Calédonie, Italie

En bibliographie, ce rapport sera cité de la façon suivante :

LAPORTE-MAGONI C., TRIBAUDINO, M., MEYER M., FUBINI B., TOMATIS M., JUILLOT, F., PETRIGLIERI J.R., GUNKEL-GRILLON P., SELMAOUI-FOLCHER, N. (2018) – *Rapport Final*. Programme « Amiante et Bonnes Pratiques ». CNRT « Nickel & son environnement. 214 pages.

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION	19
2. DESCRIPTION DES ECHANTILLONS	24
3. TACHE 1 « ETUDE COMPARATIVE DES ATOUTS/LIMITES DES TECHNIQUES ANALYTIQUES D'IDENTIFICATION DES MINERAUX ASBESTIFORMES »	26
3.1. <u>SOUS TACHE 1</u> : « COMPARAISON DES DONNEES MINERALOGIQUES OBTENUES VIA L'UTILISATION DE LA NOMENCLATURE DES PROFESSIONNELS DE LA MINE ET CELLES RESULTANT DES ANALYSES, DRX, MOLP, MEB, ET SPECTROMETRIE RAMAN »	27
3.1.1. <i>Selection des echantillons italiens et caledonien</i>	28
3.1.2. <i>Apports des méthodes analytiques pour caractériser la minéralogie des minéraux asbestiformes présents en secteur minier (DRX, MOLP, MOLP-CP, MEB, Spectrométrie Raman).</i> 30	
3.1.3. <i>Comparaison des résultats d'identification des minéraux d'amiante, obtenus par les différentes méthodes analytiques et issus de l'utilisation de la nomenclature suivie par les professionnels de la mine.</i>	44
3.1.4. <i>Proposition d'une méthode analytique de terrain : la spectrométrie Raman portable ...</i> 49	
3.1.5. <i>évaluation de l'influence d'une altération croissante sur les résultats analytiques permettant l'identification des minéraux asbestiformes »</i>	54
3.1.6. <i>COMPARAISON DES DIFFERENTES METHODES ANALYTIQUES : AVANTAGES ET inconvenients</i>	56
3.1.7. <i>RECOMMANDATIONS PRATIQUES : PROPOSITION DE PROCEDURE POUR UNE IDENTIFICATION PLUS RAPIDE DES ASBESTES et perspectives</i>	60
3.2. <u>SOUS TACHE 2</u> : « ESTIMATION DES LIMITES DES METHODES ANALYTIQUES DE DRX, SPECTROMETRIE RAMAN, INFRA-ROUGE ET MET POUR LA DETECTION DES MINERAUX DE TYPE AMIANTE, VIA DES TESTS DE MELANGES (MINERAIS/ASBESTES ET ASBESTES ENTRE EUX) ».....	64
3.2.1. <i>resultats obtenus sur les pôles purs</i>	64
3.2.2. <i>Conclusions sur les poles purs</i>	81
3.2.3. <i>resultats obtenus sur les mélanges binaires d'asbestos</i>	83
3.2.4. <i>Conclusions sur les mélanges binaires d'asbestos</i>	97
3.2.5. <i>resultats obtenus sur les mélanges asbestos/latérite</i>	98
3.3. <u>SOUS TACHE 3</u> : ETUDE DU POTENTIEL DE LA DIFFUSION STATIQUE DE LA LUMIERE POUR LA CARACTERISATION DES MINERAUX FIBREUX	104
3.3.1. <i>Description de la technique et des modèles de diffUsion STATIQUE de LA lumière</i>	104
3.3.2. <i>PREMIERS Résultats des mesures réalisées PAR diffusion STATIQUE de LA lumière</i>	108
4. TACHE 2 : CARACTERISATION DES PROPRIETES CHIMIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DES MINERAUX ASBESTIFORMES	112
4.1. <u>METHODOLOGIE ET ECHANTILLONNAGE</u>	114
4.1.1. <i>MESURE des concentrations totales en éléments majeurs et traces sur poudre</i>	114
4.1.2. <i>Experiences de lixiviation en mode batch</i>	114
4.2. <u>SOUS TACHE 1</u> : ANALYSE DES CONCENTRATIONS EN ELEMENTS MAJEURS ET TRACES DES MINERAUX ASBESTIFORMES POUR DES DEGRES D'ALTERATION DIFFERENTS	121
4.2.1. <i>Les éléments majeurs</i>	121
4.2.2. <i>éléments traces</i>	128
4.3. <u>SOUS TACHE 2</u> : RECONSTITUTION EXPERIMENTALE DE L'ALTERATION DE SURFACE- EXPERIENCES DE LIXIVIATION.....	137

4.3.1. Simulation de l'alteration chimique des minéraux asbestiformes caledoniens sans contrôle de paramètres physico-chimiques.....	137
4.3.2. Simulation de l'alteration chimique des minéraux asbestiformes caledoniens à pH contrôlé	150
5. TACHE 3 : TOXICOLOGIE DES MINERAUX AMIANTIFERES DE LA NOUVELLE CALEDONIE: FOCUS SUR L'ANTIGORITE	158
SYNTHESE	158
PREPARATION DES ECHANTILLONS.....	160
5.1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ASSOCIEES A LA TOXICITE	161
5.1.1. Dimension et morphologie.....	161
5.1.2. Production d'espèces réactives de l'oxygène	163
5.1.3. Libération de fer.....	164
5.1.4. Interaction avec des antioxydants	166
5.2. DISSOLUTION IN VITRO DANS DES FLUIDES BIOLOGIQUES SYNTHETIQUES.....	167
5.3. TEST CELLULAIRES.....	169
5.3.1. Cytotoxicité	171
5.3.2. Stress oxydant.....	172
5.3.3. Activité pro-inflammatoire.....	177
5.3.4. Genotoxicité.....	179
5.4. ETUDE DU ROLE DE LA FRACTION FIBREUSE DANS LA TOXICITE DE L'ANTIGORITE	182
5.4.1. Effet de la forme fibreuse sur les réponses cellulaires	182
6. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	195
7. BIBLIOGRAPHIE	197
8. VALORISATION.....	203
8.1. CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES:	203
8.2. CONFÉRENCES GRAND PUBLIC :	204
9. ANNEXES.....	205
affinements Rietveld sur DRX mélanges binaires.....	209
Microscopie raman sur mélanges binaires.....	215

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Organisation scientifique du projet « Amiante et Bonnes Pratiques »	20
Figure 2 : Organigramme du consortium.....	23
Figure 3 : Carte géologique des zones d'occurrence potentielle d'amiante (surfaces en orangé) et localisation des sites d'échantillonnage (modifiée d'après DIMENC, 2010 par Jasmine Petriglieri-thèse-2017)	24
Figure 4 : Nomenclature utilisée en secteur minier pour la description des serpentines de type antigorite (communication société Glencore).....	25

<i>Figure 6 :</i> Exemples de résultats des analyses des standards de référence utilisés dans la sous tâche 1. A) Spectre DRX pour la trémolite de Val Susa (Italie), B) analyse MEB du chrysotile, UICC (Zimbabwe), C) Cliché de diffraction MET; antigorite de Valli di Lanzo (Italie), D) image MET, du chrysotile, UICC (Zimbabwe) (Vigliaturo 2015)	29
<i>Figure 7 :</i> Illustration de la différence de niveau d'altération entre, à gauche, les affleurements d'asbeste en Nouvelle-Calédonie (massif du Koniambo), et à droite, les affleurements italiens (massif de Lanzo)	30
<i>Figure 8 :</i> Récapitulatif des analyses réalisées dans le cadre du programme Amiante et Bonnes Pratiques dans le 1, 2 et 3 de la tâche 1	31
<i>Figure 9 :</i> Diffractomètres de rayon X utilisés dans le projet ABP (à gauche ISEA, UNC ; à droite université de Parme).....	32
<i>Figure 10 :</i> Exemples de diffractogrammes obtenus à l'université de Parme sur les 3 échantillons 33A1 (chrysotile), 3A2 (antigorite) et standard de trémolite.....	33
<i>Figure 11 :</i> Comparaison des diffractogrammes obtenus à Parme et à l'ISEA, UNC. Axe horizontal : 2θ ($^{\circ}$), vertical unité arbitraire. Les diffractogrammes de Parme ont été décalés à la longueur d'onde du Co. À gauche et au-dessous, antigorite : échantillon 3A2 ; chrysotile, échantillon 33A2 ; trémolite, échantillon 42T2.....	35
<i>Figure 12 :</i> A) Comparaisons des diffractogrammes de chrysotile et antigorite (ISEA-UNC, Jasmine Rita Petriglieri).	36
B) Discrimination entre chrysotile et antigorite par la valeur de la largeur à mi-hauteur du pic le plus intense.	36
<i>Figure 13 :</i> Photographies en lumière polarisée et analysée (polariseurs croisés) des différentes textures pétrographiques identifiées par MOP à partir des minéraux asbestiformes néo-calédoniens. Le point d'interrogation indique la particularité de la texture de l'échantillon d'antigorite 18A2.	38
<i>Figure 14 :</i> Observation du chrysotile pour un indice de réfraction $n=1.550$. Noter la couleur bleue associé à un halo orange, lié à la dispersion optique, qui caractérise le chrysotile	39
<i>Figure 15 :</i> Observation de la trémolite pour un indice de réfraction $n=1.605$ (haut) et de l'antigorite pour un indice de réfraction $n=1.568$ (bas). Noter la couleur bleu pale, sans halo, mais associée à une dispersion indigo/violet, qui caractérise l'antigorite	40
<i>Figure 16 :</i> A gauche photo macroscopique d'un échantillon de trémolite 41T1 et d'antigorite-chrysotile 39F4. A droite, les images MEB correspondantes, montrent l'état de cohésion des fibres et fibrilles.....	41
<i>Figure 17 :</i> Bandes de vibration en spectroscopie Raman, permettant de discriminer a) les polymorphes des serpentines via les spectres des hydroxyles, b) les serpentines et les amphiboles (exemple : chrysotile et trémolite) via les spectres principaux, (Petriglieri et al. 2015 ; Rapport master Serena Gnappi 2015)	43

<i>Figure 18</i> :	Exemple de mesure en micro-spectrométrie Raman : échantillon 30A1; en haut à gauche : lame mince en lumière polarisée et analysée (polariseurs croisés), avec localisation des points de mesure ; a, b et c représentent les résultats des mesures en micro-spectrométrie Raman (mesures Jasmine Rita Petriglieri).....	44
<i>Figure 19</i> :	Echantillon 33A1, reconnu dans la classification minière comme antigorite de degré d'altération 1 mais identifié comme chrysotile par les méthodes analytiques. Sont reportées d'une part les photos de l'échantillon, la flèche rouge souligne la présence de lamelles jugées caractéristiques de l'antigorite ; et d'autre part, le diffractogramme et les résultats de spectroscopie Raman du même échantillon, qui identifient clairement du Chrysotile.....	46
<i>Figure 20</i> :	Pour chaque échantillon : à gauche photographie de l'échantillon, qualifié de degré d'altération #1 et d'apparence très cohésif. A droite, une image MEB du même échantillon qui montre la présence de fibres de petites tailles individualisées. A) échantillon 13A1 ; B) échantillon 41T1	47
<i>Figure 21</i> :	A gauche photos macroscopiques des échantillons ; à droite image MEB des fibres correspondantes. Les morphologies des fibres montrent de grandes similitudes, alors qu'il s'agit de deux familles minérales très distinctes.....	48
<i>Figure 22</i> :	Bandes de vibration en spectroscopie Raman permettant de discriminer a) les polymorphes des serpentines via les spectres des hydroxyles, b) les serpentines et les amphiboles (exemple : chrysotile et trémolite) via les spectres principaux, (Petriglieri et al. 2015 ; Rapport master Serena Gnappi 2015), c) Raman portable Raport.....	50
<i>Figure 23</i> :	Exemple d'acquisition des données in situ, par spectrométrie Raman Portable	51
<i>Figure 24</i> :	Exemple d'analyses par spectrométrie Raman portable.	52
<i>Figure 25</i> :	Comparaison entre les spectres Raman portable et Raman de laboratoire de l'échantillon 18A1, antigorite, niveau d'altération#1	53
<i>Figure 26</i> :	Diffractogrammes obtenus à partir de minéraux d'antigorite (en haute) et de trémolite (en bas) pour des niveaux d'altération croissants (#1 à #4)	54
<i>Figure 27</i> :	Image par microscopie électronique à balayage de l'échantillon 1A4, antigorite de niveau d'altération#4.....	55
<i>Figure 28</i> :	Identification de la minéralogie d'une antigorite très altérée par spectrométrie Raman portable. Exemple de l'échantillon 15A4 (Petriglieri, 2017).....	56
<i>Figure 29</i> :	Limite de détection par diffraction des rayons X, du chrysotile dans un mélange binaire avec l'antigorite.	57
<i>Figure 30</i> :	Différents échantillons de saprolite, DRX et observation MEB correspondants.	58

<i>Figure 31</i> : Différents échantillons de latérite, DRX et observation MEB correspondants. Les analyses MEB-EDS révèlent la présence de fibres de la famille des serpentines dans les sols latéritiques	58
<i>Figure 32</i> : Diffractogrammes de rayons X des échantillons 13A1, 12A4 (antigorite), 56C3, 57C3 (chrysotile), 37T2 et 41T1 (trémolite)	66
<i>Figure 33</i> : Diffractogramme de rayons X de l'échantillon 13A1 (antigorite) ajusté à l'aide du programme MAUD (données expérimentales en noire et calculées en rouge)	67
<i>Figure 34</i> : Diffractogramme de rayons X de l'échantillon 57C3 (chrysotile) ajusté à l'aide du programme MAUD (données expérimentales en noire et calculées en rouge)	67
<i>Figure 35</i> : Diffractogramme de rayons X de l'échantillon 13A1 (antigorite) ajusté à l'aide du programme MAUD (données expérimentales en noire et calculées en rouge)	68
<i>Figure 36</i> : Régions 3800-3600 cm^{-1} et 1200-100 cm^{-1} des spectres Raman des échantillons 13A1, 12A4, 3A1 (antigorite), 56C3, 57C3 (chrysotile), 36T4, 37T2 et 41T1 (trémolite).....	70
<i>Figure 37</i> : Clichés MET des échantillons 13A1, 12A4 (antigorite), 56C3, 57C3 (chrysotile), 37T2 et 41T1 (trémolite). La barre d'échelle sur chaque image correspond à une longueur de 2 μm	72
<i>Figure 38</i> : Cliché MET à fort grandissement (x80.000) de l'échantillon 13A1 (antigorite) et profil d'intensité de la zone délimitée par le rectangle rouge (droite). La barre d'échelle sur l'image correspond à une longueur de 100 nm.....	73
<i>Figure 39</i> : Cliché MET à fort grandissement (x300.000) de fibres repérées dans l'échantillon 56C3 (chrysotile). La barre d'échelle sur l'image correspond à une longueur de 20 nm.....	74
<i>Figure 40</i> : Cliché MET à fort grandissement (x40.000) de l'échantillon 13A1 (antigorite). La barre d'échelle sur l'image correspond à une longueur de 200 nm.....	75
<i>Figure 41</i> : Cliché MET à fort grandissement (x40.000 gauche et x200.000 droite) de l'échantillon 41T1 (trémolite). La barre d'échelle sur l'image de gauche correspond à une longueur de 200 nm et celle sur l'image de droite correspond à une longueur de 50 nm.	75
<i>Figure 42</i> : Image MET d'une particule d'antigorite (échantillon 12A4) (gauche) et cliché de diffraction d'électrons (droite) de la zone représentée par le cercle rouge. La barre d'échelle sur l'image de gauche correspond à une longueur de 500 nm.....	76
<i>Figure 43</i> : Image MET (A), cliché de diffraction électronique (zone dans le cercle rouge) (B) et diffractogramme d'électrons (C) obtenus sur des fibres de chrysotile (échantillon 56C3). La barre d'échelle sur l'image de gauche correspond à une longueur de 2 μm .	77
<i>Figure 44</i> : Image MET (gauche) et cliché de diffraction électronique (gauche) obtenus sur la zone définie par le cercle rouge sur une fibre de trémolite (échantillon 37T2). La barre d'échelle sur l'image de gauche correspond à une longueur de 500 nm.....	78

- Figure 45 :* Image MEB des échantillons 13A1 (gauche) et 12A4 (droite) constitués d'antigorite. La barre d'échelle sur les images correspond à une longueur de 5 μm 79
- Figure 46 :* Image MEB des échantillons 56C3 (gauche) et 57C3 (droite) constitués de chrysotile. La barre d'échelle sur les images correspond à une longueur de 5 μm 79
- Figure 47 :* Image MEB des échantillons 41T1 (gauche) et 37T2 (droite) constitués de trémolite. La barre d'échelle sur les images correspond à une longueur de 5 μm 80
- Figure 48 :* Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges binaires antigorite/trémolite. Les pics indexés avec la lettre T correspondent à la trémolite et ceux indexés avec la lettre A correspondent à l'antigorite. 85
- Figure 49 :* Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges binaires chrysotile/trémolite. Les pics indexés avec la lettre C correspondent au chrysotile et ceux indexés avec la lettre T correspondent à la trémolite..... 86
- Figure 50 :* Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges binaires antigorite/chrysotile. Les pics indexés avec la lettre A correspondent à l'antigorite et ceux indexés avec la lettre C correspondent au chrysotile..... 87
- Figure 51 :* Exemples des résultats d'ajustement par affinement Rietveld (rouge) des diffractogrammes de rayons X expérimentaux (noir) obtenus sur les mélanges 50/50 Antigorite/Chrysotile (haut), Antigorite/Trémolite (milieu) et Chrysotile/Trémolite (bas). 90
- Figure 52 :* Comparaison entre les proportions réelles et celles estimées par affinement Rietveld des diffractogrammes de rayons X pour l'antigorite, le chrysotile et la trémolite dans les différents mélanges de pôles purs..... 91
- Figure 53 :* (gauche) Relation entre la fraction massique d'antigorite estimée à partir de la surface du pic de diffraction (102) et la fraction massique réelle d'antigorite. (droite) Relation entre la fraction massique de trémolite estimée à partir de la surface du pic de diffraction (201) et la fraction massique réelle de trémolite. 93
- Figure 54 :* (gauche) Relation entre la fraction massique de chrysotile estimée à partir de la surface du pic de diffraction (002) et la fraction massique réelle de chrysotile. (droite) Relation entre la fraction massique de trémolite estimée à partir de la surface du pic de diffraction (201) et la fraction massique réelle de trémolite. 94
- Figure 55 :* (gauche) Relation entre la fraction massique d'antigorite estimée à partir de la surface du pic de diffraction (001) et la fraction massique réelle d'antigorite. (droite) Relation entre la fraction massique de chrysotile estimée à partir de la surface du pic de diffraction (002) et la fraction massique réelle de chrysotile..... 94
- Figure 56 :* Relation entre la fraction massique de chrysotile estimée à partir de la surface du pic de diffraction (020) et la fraction massique réelle de chrysotile. 95
- Figure 57 :* Exemples de spectres Raman obtenus sur le mélange Antigorite/Trémolite 10/90. Le spectre du haut est caractéristique de la trémolite, alors que le spectre du bas est caractéristique de l'antigorite. 96

- Figure 58* : Exemples de spectres Raman obtenus sur le mélange Antigorite/Trémolite 90/10. Le spectre du haut est caractéristique de la trémolite, alors que le spectre du bas est caractéristique de l'antigorite. 96
- Figure 59* : Diffractogramme de rayons X de l'échantillon de latérite utilisé pour réaliser les mélanges asbestes/latérite. Hm : Hématite (Fe_2O_3). Gt : Goéthite (FeOOH). Qz : Quartz (SiO_2). 99
- Figure 60* : Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges latérite/trémolite. Le diffractogramme de droite correspond à la partie encadrée du diffractogramme de gauche. Les étoiles sur le diffractogramme de droite indiquent les pics de diffraction caractéristiques de la trémolite. 100
- Figure 61* : Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges latérite/chrysotile. Le diffractogramme de droite correspond à la partie encadrée du diffractogramme de gauche. Les étoiles sur le diffractogramme de droite indiquent les pics de diffraction caractéristiques du chrysotile..... 100
- Figure 62* : Exemples de spectres Raman obtenus sur les mélanges Antigorite/Latérite à 1%poids (haut), 2%poids (milieu) et 3%poids (bas) d'antigorite. Chaque spectre présente la double bande d'absorption caractéristique de l'antigorite vers 3700 cm^{-1} . 101
- Figure 63* : Exemples de spectres Raman obtenus sur les mélanges Trémolites/Latérite à 1%poids (haut), 2%poids (milieu) et 3%poids (bas) de trémolite. Chaque spectre présente le pic d'absorption très intense vers 675 cm^{-1} et le pic d'absorption de plus faible intensité vers 3700 cm^{-1} caractéristiques de la trémolite. 102
- Figure 64* : Schéma de principe de la diffusion statique de la lumière. 104
- Figure 65* : Schéma du parcours d'un faisceau lumineux au sein d'une particule, phénomène pris en compte par la théorie de Mie..... 107
- Figure 66* : Intensité de la lumière en fonction du vecteur de diffusion q ($q=(4\pi/\lambda)\sin(\theta/2)$) pour les échantillons 37T2 (haut), 13A1 (milieu) et 57C3 (bas). Les points rouges correspondent aux données expérimentales et les traits noirs correspondent aux valeurs théoriques. 109
- Figure 67* : Socle commun du protocole de toutes les expériences de lixiviation de la tâche
2 116
- Figure 68* : Résultats du traitement d'une image des dépôts obtenus sur le filtre, après filtration du lixiviat de l'échantillon 41T1 (trémolite de niveau d'altération 1), soumis pendant 24h au MES. 120
- Figure 69* : Tri statistique et restauration. A gauche image résultat de la classification ; A droite, image résultat de la restauration des formes 120
- Figure 70* : $\text{FeO}_{\text{totwt}}\%$ versus $\text{MgO}_{\text{wt}}\%$ pour tous les échantillons identifiés comme antigorite sur le terrain. Pour comparaison, sont reportées les concentrations des minéraux d'antigorite du Voltri Massif (Alps, Italy), (Cannao et al., 2016). 123

- Figure 71* : Résultats de deux simulations de dissolution de serpentinites à 25°C réalisées par l'utilisation de EQ3/6, version 8.0 software. Critelli et al. (2015)..... 123
- Figure 72* : Image MEB de l'échantillon 19A1, identifié comme antigorite « pure » par DRX et spectrométrie Raman, et de degré d'altération #1 via la nomenclature utilisée en secteur minier. 124
- Figure 73* : Diagramme $FeO_{tot}wt\% = f(MgOwt\%)$ des antigorites de cette étude. Sont reportées pour comparaison les concentrations des antigorites du Mt Reventino (Italie), issues de Canna et al. 2016. 125
- Figure 74* : En haut, photographie de l'échantillon 57C3, illustrant la morphologie de la majorité des échantillons de chrysotile, sous forme de veines très fines (partie supérieure). En bas, photographie de l'échantillon 33A1, qui avec l'échantillon 23A1, constituent les seuls exemples de chrysotile massif..... 126
- Figure 75* : Comparaison des concentrations en éléments majeurs des échantillons de chrysotile (dans l'ordre 23A1, 33A1 et 57C3) et d'antigorite calédoniens, pour différents degrés d'altération exogène..... 127
- Figure 76* : $CaOwt\%$ versus $FeO_{tot}wt\%$ pour l'ensemble des échantillons identifiés comme de la trémolite via la nomenclature utilisée en secteur minier. 128
- Figure 77* : Spectres étendus des REE des échantillons d'antigorites « pures ». Valeurs de normalisation d'après Evensen, 1978..... 130
- Figure 78* : Spectres étendus des REE des échantillons de chrysotile. Valeurs de normalisation d'après Evensen, 1978..... 131
- Figure 79* : Spectres étendus des REE des échantillons de « trémolite ». Valeurs de normalisation d'après Evensen, 1978..... 132
- Figure 80* : Diagramme $[Cr] = f(FeO_{tot} wt\%)$ pour les antigorites « pures » calédoniennes. 133
- Figure 81* : Diagramme $[Mn] = f(FeO_{tot} wt\%)$ pour les antigorites « pures » calédoniennes. 133
- Figure 82* : Spectres des éléments traces des échantillons d'antigorites « pures ». Valeurs de normalisation d'après Pearce, 1983 134
- Figure 83* : Spectres des éléments traces des échantillons de « trémolites ». Valeurs de normalisation d'après Pearce, 1983 135
- Figure 84* : Diagrammes des concentrations de Mg dissous au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C) 139
- Figure 85* : Diagrammes des concentrations de Fe dissous au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C) 140

<i>Figure 86 :</i>	Diagrammes des concentrations de Cr dissous au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C)	141
<i>Figure 87 :</i>	Diagrammes des concentrations de Cr dissous au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C)	143
<i>Figure 88 :</i>	Diagrammes représentant les masses de matière en suspension produites au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C)	148
<i>Figure 89 :</i>	A) image au microscope optique du filtre, après filtration de la solution de lixiviation DTPA, de l'échantillon d'antigorite 13A1, au temps 1 jour. B) image en microscopie électronique à balayage des fibres mise en suspension par lixiviation de l'échantillon 13A1, dans la solution de MES, au temps 60 jours.	149
<i>Figure 90 :</i>	Exemple de l'augmentation de la valeur du pH pour des durées croissantes de lixiviation (échantillon 41T1).....	149
<i>Figure 91 :</i>	Évolution des concentrations en Fer au cours du temps, pendant les expériences de lixiviation en mode batch sous pH contrôlés, pour l'échantillon 1A4, antigorite de niveau d'altération #4	151
<i>Figure 92 :</i>	Évolution des concentrations en Cr au cours du temps, pendant les expériences de lixiviation en mode batch sous pH contrôlés, pour l'échantillon 57C3, serpentine à chrysotile de niveau d'altération #3	152
<i>Figure 93 :</i>	Evolution des concentrations en Mg au cours des expériences de lixiviation en mode batch pour des valeurs de pH de 5,5 et 6,73, pour les échantillons d'antigorite 19A1 (altération #1), 9A2 (altération #2) et 1A4 (altération #4)	153
<i>Figure 94 :</i>	Evolution des concentrations en Si au cours des expériences de lixiviation en mode batch pour des valeurs de pH de 5,5 et 6,73, pour les échantillons d'antigorite 19A1 (altération #1), 9A2 (altération #2) et 1A4 (altération #4)	154
<i>Figure 95 :</i>	Image de microscopie électronique à balayage de l'échantillon 9A2 : A) surface de fibre de l'échantillon naturel ; B) surface de fibre de l'échantillon après 4 jours de lixiviation à pH = 11,28 ; C) surface de fibre de l'échantillon après 24 jours de lixiviation à pH = 11,28	156
<i>Figure 96 :</i>	Images des échantillons d'antigorite : A) 6A2, B) 13A1 et C) 35A4.....	160
<i>Figure 97 :</i>	Dimensions des échantillons d'antigorite. Colonne de gauche: % en nombre de particules avec L/D >3 (forme fibreuse) et de particules avec L/D <3 (forme non fibreuse). Colonne de droite: distribution des fibres (% de fibres respirables, D<3 µm, et non respirables, D>3 µm) en fonction de la longueur. L'analyse a été conduite par un système automatique d'analyses d'images (FPIA 3000; Malvern)	162
<i>Figure 98 :</i>	Réactivité dans la production de radicaux •OH. Quantité (en unités arbitraires) de radicaux générée après 1h, 24 h et 1 semaine d'incubation avec H ₂ O ₂ . Les échantillons ont été comparés par unité de masse. L'activité radicalaire a été évaluée en	

- milieu acellulaire avec la technique du spin trapping associée à la spectroscopie de résonance paramagnétique électronique (RPE) (Fubini et al., 1995)..... 164
- Figure 99 :* Quantité de fer libérée en solution après incubation des échantillons en milieu acide (A) et en milieu neutre (B). Le dosage du fer a été effectué par voie spectrophotométrique ($\lambda=562$ nm) sur le surnageant obtenu après incubation des fibres avec un agent chélateur (ferrozine) à pH 4.5 ou à pH 7.4 165
- Figure 100 :* Pourcentage de molécules antioxydantes qui interagissent avec la surface des fibres : A) acide ascorbique (AA) et B) glutathion (GSH). Le dosage a été effectuée par voie spectrophotométrique en évaluant la diminution de l'absorbance d'une solution de AA ($\lambda=265$ nm) ou de GSH ($\lambda=412$ nm en présence du réactif d'Ellman) à pH 7.4 après incubation avec les échantillons 166
- Figure 101 :* Dissolution dans des solutions qui simulent les fluides biologiques. Colonne à gauche: quantité de ions (Si et Mg) dissous après 28 jours d'incubation dans A) fluide phagolysosomal (PSF) et C) solution de Gamble. Colonne à droite: courbes de dissolution de 6A2 (losanges) et du chrysotile (cercles) dans B) PSF et D) solution de Gamble (symboles pleins=Mg, symboles vides= Si). 168
- Figure 102 :* Effet de l'incubation dans des fluides biologiques artificiels sur la réactivité de 6A2 face à la génération de radicaux OH. Spectres RPE de radicaux générés après 7 (spectres b) et 28 (c) jours d'incubation dans A) PSF et B) solution de Gamble comparés avec 6A2 non incubée (spectres a). L'activité radicalaire a été évaluée en milieu acellulaire avec la technique du spin trapping associée à la spectroscopie RPE. Les quatre raies identifient le radical hydroxyle. Leur intensité est proportionnelle à la quantité de radicaux générés. Le comportement de 6A2 est représentatif du comportement de tous les autres échantillons..... 169
- Figure 103 :* Cytotoxicité: quantité de LDH relevé dans le milieu de culture de cellules épithéliales alvéolaires (A549) après incubation avec 6A2, 13A1, 35A4 et Atg I. Le chrysotile UICC (Ctl) et les fibres de verre MMVF10 ont été employés respectivement comme témoin positif et négatif. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl) : * p<0.05, ** p<0.003, *** p<0.0001..... 170
- Figure 104 :* Cytotoxicité : quantité de LDH relevé dans le milieu de culture de cellules bronchiques, BEAS-2B après incubation avec 6A2, 13A1, 35A4 et Atg I. Le chrysotile UICC (Ctl) et les fibres de verre MMVF10 ont été employés respectivement comme témoin positif et négatif. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): * p<0.001, ** p<0.0001 171
- Figure 105 :* Cytotoxicité: quantité de LDH relevé dans le milieu de culture de macrophages alvéolaires MH-S après incubation avec 6A2, 13A1, 35A4 et Atg I. Le chrysotile UICC (Ctl) et les fibres de verre MMVF10 ont été employés respectivement comme témoin positif et négatif. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques

indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): * p<0.05, ** p<0.001 172

Figure 106 : Niveau intracellulaire de ROS après exposition de cellules épithéliales alvéolaires A549 (A) et de macrophages alvéolaires MH-S (B) à antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I, 120 µg/ml), chrysotile (ctl, 30 µg/ml) et fibres de verre (MMVF, 120 µg/ml). Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05, **p<0.01
173

Figure 107 : Peroxydation lipidique: quantité de produits de dégradation des lipides (TBARS = substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique) après exposition pendant 24h de cellules épithéliales alvéolaires A549 (A) et de macrophages alvéolaires MH-S (B) à antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I, 120 µg/ml), chrysotile (ctl, 30 µg/ml) et fibres de verre (MMVF, 120 µg/ml). Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05, **p<0.01 174

Figure 108 : Effet de l'antigorite sur les niveaux intracellulaires de glutathion: (A) cellules épithéliales alvéolaires A549 et (B) macrophages alvéolaires. Les cellules ont été incubées pendant 24h avec 120 µg/ml d'antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), ou 30 µg/ml chrysotile (ctl) ou 120 µg/ml de fibres de verre (MMVF) Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05, **p<0.01 175

Figure 109 : Inactivation de la voie des pentose phosphates: effet de l'antigorite sur l'activité des enzymes G6PD et 6PGD dans: (A) cellules épithéliales alvéolaires A549 et (B) macrophages alvéolaires MH-S. Les cellules ont été incubées pendant 24h avec 120 µg/ml de antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), ou 30 µg/ml chrysotile (ctl) ou 120 µg/ml de fibres de verre (MMVF) Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.01. 176

Figure 110 : Expression de l'hème oxygénase 1 (HO-1) dans cellules épithéliales alvéolaires A549 incubées pendant 24h avec 120 µg/ml d'antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), ou 30 µg/ml de chrysotile (ctl) ou 120 µg/ml de fibres de verre (MMVF). L'analyse densitométrique de l'expression de HO-1 a été réalisée à l'aide du logiciel Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Les résultats sont présentés sous forme de moyenne de trois expériences et exprimés en unités arbitraires. Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.01 177

Figure 111 : Activité pro-inflammatoire de l'antigorite: quantité de NO produite dans (A) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (B) macrophages alvéolaires MH-S après 24 h d'incubation avec 120 µg/ml d'antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), 30 µg/ml de chrysotile (ctl) ou 120 µg/ml de fibres de verre (MMVF, 120 µg/ml) Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n

= 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05..... 178

Figure 112 : Activité pro-inflammatoire de l'antigorite: quantité de TNF- α libéré dans (A) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (B) macrophages alvéolaires (MH-S) après 24 h d'incubation avec antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), chrysotile (ctl, 30 μ g/ml) ou fibres de verre (MMVF, 120 μ g/ml) Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.01-..... 179

Figure 113 : Génotoxicité de l'antigorite: dommage à l'ADN dans cellules épithéliales alvéolaires (A549) exposées pendant 24 h à 60 μ g/ml antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), chrysotile (ctl, 30 μ g/ml) ou fibres de verre (MMVF, 120 μ g/ml). Paramètres déterminés: Longueur de la queue de la comète (tail length), pourcentage d'ADN dans la tête et dans la queue par rapport à l'ADN total (tail DNA), moment de la queue de la comète = longueur de la queue x % d'ADN (tail moment). Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.01, **p<0.001 180

Figure 114 : Cytotoxicité rapportée au nombre des fibres: quantité de LDH (moyenne \pm SEM) dans le milieu de culture de (A et B) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (C et D) macrophages alvéolaires (MH-S) après 24h d'incubation avec 13A1, 6A2 et 35A4 en fonction du nombre de fibres ayant (A et C) L> 5 μ m et (B et D) L>20 μ m : * p<0.05, ** p<0.003, *** p<0.0001 184

Figure 115 : Activité pro-inflammatoire rapportée au nombre des fibres: quantité de NO produite dans (A et B) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (C et D) macrophages alvéolaires (MH-S) après 24 h d'incubation avec 13A1, 6A2 et 35A4 en fonction du nombre de fibres ayant (A et C) L> 5 μ m et (B et D) L>20 μ m : * p<0.05..... 185

Figure 116 : Cytotoxicité rapportée à la masse de fibres: quantité de LDH (moyenne \pm SEM) dans le milieu de culture de (A) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (B) macrophages alvéolaires (MH-S) après incubation avec 13A1, 6A2 et 35A4 en fonction de la masse de fibres ayant L> 5 μ m: *p<0.05, ** p<0.003, *** p<0.0001 185

Figure 117 : Evolution de la quantité de fibres et de particules en fonction du temps de broyage. Le broyage a été conduit dans un vibro-broyeur (MM200; Retsch). L'analyse dimensionnelle a été effectuée par un système automatique d'analyses d'images (FPIA 3000; Malvern) 187

Figure 118 : Réactivité de l'antigorite broyée face à la génération de radicaux OH. L'activité radicalaire a été évaluée en milieu acellulaire avec la technique du spin trapping associée à la spectroscopie RPE. Les quatre raies identifient le radical hydroxyle. Leur intensité est proportionnelle à la quantité de radicaux générés 189

Figure 119 : Quantité de fer libéré en solution (Fe biodisponible) après incubation des échantillons broyés en milieu acide (A) et en milieu neutre (B). Le dosage du fer a été effectué par voie spectrophotométrique (λ =562 nm) sur le surnageant obtenu après incubation des fibres avec un agent chélateurs (ferrozine) à pH 4.5 ou à pH 7.4 190

- Figure 120* : % de glutathion (GSH) qui a interagit avec la surface des fibres. Le dosage a été effectué par voie spectrophotométrique en évaluant la diminution de l'absorbance d'une solution de GSH ($\lambda=412$ nm en présence du réactif d'Ellman) à pH 7.4 après incubation avec les échantillons 191
- Figure 121* : Effet du broyage sur la cytotoxicité de l'antigorite: quantité de LDH relevé dans le milieu de culture de (A) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (B) macrophages alvéolaires (MH-S) après incubation pendant 24h avec 120 $\mu\text{g/ml}$ d'antigorite 6A2 broyée pendant 30 secondes, 5, ou 20 minutes. 191
- Figure 122* : Effet du broyage sur l'activité pro-inflammatoire de l'antigorite: quantité de NO produite dans macrophages alvéolaires (MH-S) après 24 h d'incubation avec 120 $\mu\text{g/ml}$ d'antigorite 6A2 broyée pendant 30 secondes, 5, ou 20 minutes. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): * $p<0.05$ 192
- Figure 123* : Effet du broyage sur la production de ROS chez de macrophages alvéolaires (MH-S) exposés pendant 24h à 120 $\mu\text{g/ml}$ d'antigorite 6A2 broyée pendant 30 secondes, 5, ou 20 minutes. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3)..... 192

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1* : Membres du consortium du projet ABP 21
- Tableau 2* : Echantillons de minéraux asbestiformes dont l'identification minéralogique, in situ, est différente de l'identification analytique..... 45
- Tableau 3* Pourcentages massiques des éléments mesurés dans les échantillons 13A1 (antigorite), 57C3 (chrysotile) et 37T2 (trémolite). 81
- Tableau 4* Nombre de mol de cations re-calculés à partir des analyses EDS du Tableau 1 pour les échantillons 13A1 (antigorite), 57C3 (chrysotile) et 37T2 (trémolite). 81
- Tableau 5* : Masses d'antigorite (échantillon 13A1), de chrysotile (échantillon 57C3) et de trémolite (échantillon 37T2) pesées pour réaliser les mélanges binaires. 84
- Tableau 6* : Masses (g) d'antigorite (échantillon 13A1), de trémolite (échantillon 37T2), de chrysotile (échantillon 57C3) et de latérite (échantillon Tiebaghi 35-45) pesées pour réaliser les mélanges asbestes/latérite. 98
- La latérite utilisée pour ces mélanges correspond à un échantillon collecté dans l'horizon localisé entre 35 et 45 cm de profondeur le long d'un profil de colluvions à la base du massif de Tiebaghi (Province Nord). L'analyse par diffraction de rayons X de cet échantillon indique qu'il est principalement constitué d'hématite (Fe_2O_3) et de goéthite (FeOOH), avec une contribution minoritaire de quartz (SiO_2). Cette analyse par diffraction des rayons X souligne l'absence de minéraux asbestiformes dans cet échantillon de latérite (Figure 59). 98

<i>Tableau 7</i> : Valeurs de d_0 et σ pour les échantillons 13A1, 37T2 et 57C3.....	110
<i>Tableau 8</i> : Récapitulatif des expériences de lixiviation menées dans le programme ABP. Les expériences de lixiviation 1 et 2 ont été réalisées par Jasmine Petriglieri (travaux de thèse) et la totalité des autres expériences par Romane Guyonnet (stage post-licence SVT), au laboratoire ISEA. Ces expériences représentent 152 filtrats analysés.....	118
<i>Tableau 9</i> : Synthèse des résultats obtenus à l'issue des expériences de lixiviation pour le minéral d'antigorite (échantillon 13A1).....	144
<i>Tableau 10</i> : Synthèse des résultats obtenus à l'issue des expériences de lixiviation pour la serpentinite à chrysotile (échantillon 57C3)	145
<i>Tableau 11</i> : Synthèse des résultats obtenus à l'issue des expériences de lixiviation pour la serpentinite à trémolite (échantillon 41T1).....	146
<i>Tableau 12</i> : Synthèse des réponses cellulaires induites par les échantillons d'antigorite sur les cellules épithéliales alvéolaires humaines (A549) : Doses comparées : 120 $\mu\text{g/ml}$ d'antigorite et 30 $\mu\text{g/ml}$ de chrysotile	181
<i>Tableau 13</i> : Synthèse des réponses cellulaires induites par les échantillons d'antigorite sur les macrophages alvéolaires (MH-S). Doses comparées : 120 $\mu\text{g/ml}$ d'antigorite et 30 $\mu\text{g/ml}$ de chrysotile	182
<i>Tableau 14</i> : Distribution des structures de forme allongée dans les différentes classes dimensionnelles	188

LISTE DES ABREVIATIONS

AA	Acide Ascorbique
ABP	Amiante et Bonnes Pratiques
ADN	Acide DésoxyriboNucléiques
AFNOR	Association Française de Normalisation
ANSES	Agence National de SEcurité Sanitaire
CNRT	Centre National de Recherche Technologique
DRX	Diffraction aux Rayons X
DTPA	acide diéthylène triamine pentaacétique
EDS	Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy
G6PD	Glucose-6-phosphate déshydrogénase
GHS	Glutathion
GSSG	Gluthathion Oxydé
HO	Hème Oxygénase
HREE	Heavy Rare Earth Element
ICP-AES	Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission spectroscopy
LAMA	LABoratoire des Moyens Analytiques
LDH	Lactate Deshydrogénase
LREE	Light Rare Earth Element
MDA	Malondialdéhyde
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
MES	acide 2-morpholino Ethan sulfonique
MET	Microscopie Electronique à Transmission
MOLP-CP	Microscopie Optique en Lumière Polarisée et Contraste de Phase
NO	Nitric Oxyde
OMS	Office Mondial de la Santé
PPP	Pentose Phosphate
PSF	Phagolysosomal Fluid
REE	Rare Earth Element
ROS	Reactive Oxygen Species
RPE	Spectroscopie de résonance paramagnétique
TBA	Acide Thiobarbiturique
TNF- α	Facteur de nécrose tumorale
UICC	Union Internationale Contre le Cancer

1. INTRODUCTION

Le projet « Amiante et Bonnes Pratiques » (ABP) propose une étude intégrée depuis l'identification jusqu'au caractère pathogène des fibres issues des minéraux amiantifères présents en secteur minier néo-calédonien. Au travers d'un échantillonnage d'un panel représentatif des asbestes présents (famille des serpentinites et des amphiboles), il s'agit de caractériser les minéralogies, les propriétés physico-chimiques et toxicologiques de ces minéraux amiantifères. Ces résultats permettront de décrypter le comportement de chaque typologie minérale d'asbeste face aux « attaques » supergènes susceptibles de déclencher l'émission de fibres pathogènes. À noter que le projet ABP apporte les premières données toxicologiques sur les fibres d'amiante néo-calédoniennes. Un intérêt particulier est porté sur l'antigorite, minéral fibreux très présent sur le territoire calédonien, notamment en secteur minier, mais non répertorié comme amiante dans la législation hors territoire.

Le projet « Amiante et Bonnes Pratiques » est scindé en 3 tâches scientifiques (Figure 1):

- ✓ Etude comparative des atouts et des limites des techniques d'identification des minéraux asbestiformes
- ✓ Caractérisation des propriétés chimiques et physico-chimiques des minéraux asbestiformes néo-calédoniens
- ✓ Toxicologie des minéraux amiantifères de la Nouvelle-Calédonie

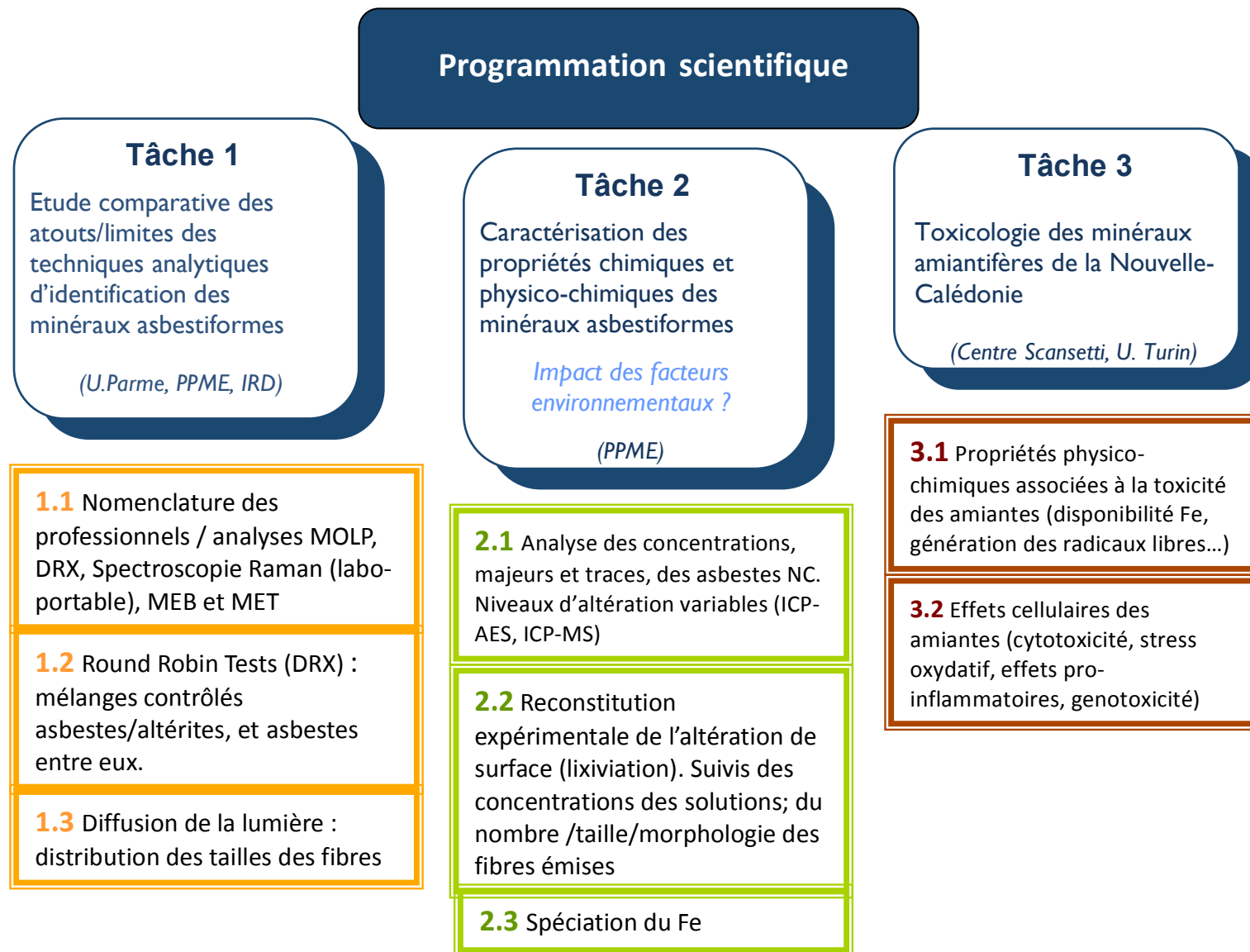


Figure 1 : Organisation scientifique du projet « Amiante et Bonnes Pratiques »

Le consortium du projet est franco-italien et se compose des intervenants suivants (Tableau 1, Figure 2) :

Tableau 1 : Membres du consortium du projet ABP

NOM/ FONCTION	APPARTENANCE	DOMAINE DE RECHERCHE
Elisabetta ALDIERI, CR	“G. Scansetti” Interdepartmental Centre for Studies on Asbestos and other Toxic Particulates	<i>Biochimiste</i>
Danilo BERSANI, PRU	Département de physiques et des sciences de la terre, Université de Parme	<i>Physicien</i>
Bice FUBINI, PRU <i>Responsable du projet ABP</i>	“G. Scansetti” Interdepartmental Centre for Studies on Asbestos and other Toxic Particulates	<i>Toxicologue</i>
Dario GHIGO, PR ^[1]	“G. Scansetti” Interdepartmental Centre for Studies on Asbestos and other Toxic Particulates	<i>Biochimiste</i>
Peggy GUNKEL-GRILLON, MCF	Pôle pluridisciplinaire de la matière et de l’environnement, Université de la Nouvelle- Calédonie	<i>Chimiste de l’ environnement</i>
Farid JUILLOT, CR	Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés (IMPMC), IRD	<i>Minéralogiste, Géochimiste</i>
Christine LAPORTE-MAGONI, MCF	Pôle pluridisciplinaire de la matière et de l’environnement, Université de la Nouvelle- Calédonie	<i>Géochimiste</i>
Luciana MANTOVANI, <i>PostDoc</i>	Département de physiques et des sciences de la terre, Université de Parme	<i>Physicienne</i>

NOM/ FONCTION	APPARTENANCE	DOMAINE DE RECHERCHE
Michael MEYER , <i>MCF</i>	Pôle pluridisciplinaire de la matière et de l'environnement, Université de la Nouvelle-Calédonie	<u><i>Physico-chimiste</i></u>
Jasmine Rita PETRIGLIERI , <i>doctorante</i> ^[2]	PPME, Université de la Nouvelle-Calédonie/ Département de physiques et des sciences de la terre, Université de Parme	<u><i>Minéralogiste</i></u>
Emma SALVIOLI MARIANI , <i>CR</i>	Département de physiques et des sciences de la terre, Université de Parme	<u><i>Pétrologiste</i></u>
Maura TOMATIS , <i>CR</i>	“G. Scansetti” Interdepartmental Centre for Studies on Asbestos and other Toxic Particulates	<u><i>Toxicologue</i></u>
Mario TRIBAUDINO , <i>PRU</i>	Département de physiques et des sciences de la terre, Université de Parme	<u><i>Minéralogiste</i></u>
Fransesco TURCI , <i>CR</i>	“G. Scansetti” Interdepartmental Centre for Studies on Asbestos and other Toxic Particulates	<u><i>Toxicologue</i></u>

[1] : L'ensemble des membres du consortium a la tristesse et le regret, d'informer de la perte prématurée du Pr Dario GHIGO, décédé au cours de la première année du projet ABP.

[2] : Mademoiselle Jasmine Petriglieri ne faisait pas partie du consortium initial. Son intégration s'est faite à la faveur de l'obtention d'une bourse de thèse UNC, délivrée par le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche. Il s'agit d'une thèse en co-tutelle

avec l'université de Parme (co-directeur de thèse : Peggy Gunkel-Grillon, PPME et Emma Salvioli-Mariani, Université de Parme).

- **Centre G. Scansetti**, *Interdepartmental Center for Studies on Asbestos and other Toxic Particulates*, Université de Turin
Bice FUBINI, coordinatrice scientifique initiale du projet
Maura TOMATIS, coordinatrice scientifique actuelle
- **Pôle pluridisciplinaire de la Matière et de l'Environnement**, UNC
Christine LAPORTE-MAGONI, coordinatrice locale
- **Département de physique et des sciences de la Terre**, Université de Parme
Mario TRIBAUDINO, correspondant pour l'université
- **Institut de recherche pour le développement**, Institut de Minéralogie et de physique des milieux condensés, UMR 7590
Farid JUILLOT, correspondant pour l'organisme

Figure 2 : Organigramme du consortium

Le projet « Amiante et Bonnes Pratiques » a officiellement démarré en septembre 2015, à la suite de la réunion de démarrage (juillet 2015) et de la signature de la convention par l'ensemble des organismes partenaires, préalable incontournable pour l'ouverture des crédits.

Cependant, l'ensemble des travaux scientifiques du projet ABP, repose sur la fourniture, par les professionnels miniers d'échantillons amiantifères représentatifs des minéralogies et des degrés d'altération présents sur les sites exploités (décision du comité inter-minier Amiante Environnemental du 14/11/2014, qui a mandaté Stéphane Lesimple, DIMENC). L'échantillonnage calédonien, initialement prévu en octobre 2015, a été reporté en janvier/février 2016. Ce décalage a, d'une part, pénalisé le recrutement des stagiaires de Master inscrits dans les formations françaises (appels à candidature lancés normalement de septembre à novembre) et d'autre part, les différents partenaires du projet ABP, n'ont pu débiter leurs expérimentations qu'en mars/avril 2016. Ce retard a provoqué un report des expérimentations et donc un décalage global du calendrier du projet ABP de 6 mois.

2. DESCRIPTION DES ECHANTILLONS

Pour répondre aux différentes questions scientifiques soulevées par le programme Amiante et Bonnes Pratiques, il était nécessaire de disposer d'un échantillonnage exhaustif des minéraux asbestiformes associés au régolithe issu de l'altération des roches ultrabasiques, qui héberge les minerais de nickel extraits dans les mines calédoniennes. La demande initiale du consortium, portée devant le comité inter-minier Amiante Environnemental, incluait un échantillonnage complet des différentes minéralogies, pures, d'asbestes rencontrés dans les mines de nickel, et pour chaque minéralogie, une représentation des différents degrés d'altération (niveau#1 à #4). La position GPS des affleurements échantillonnés devaient être fournies ainsi qu'une description de la minéralogie et du degré d'altération pour chaque échantillon, réalisée via la nomenclature utilisée par les professionnels de la mine (Figure 4).

En réponse à la demande du consortium, 58 échantillons ont été transmis. Les descriptions minéralogiques réalisées in situ, indiquaient la présence d'antigorite et de trémolite de niveau d'altération #1, #2 et #4, et de chrysotile de niveau d'altération #3. En effet, l'ensemble des niveaux d'altération ne sont pas présents à l'affleurement pour chacune des minéralogies d'asbeste. L'annexe 1 synthétise l'ensemble des échantillons étudiés dans le programme ABP. Chaque échantillon a été pesé et photographié, pour créer une base d'archive.

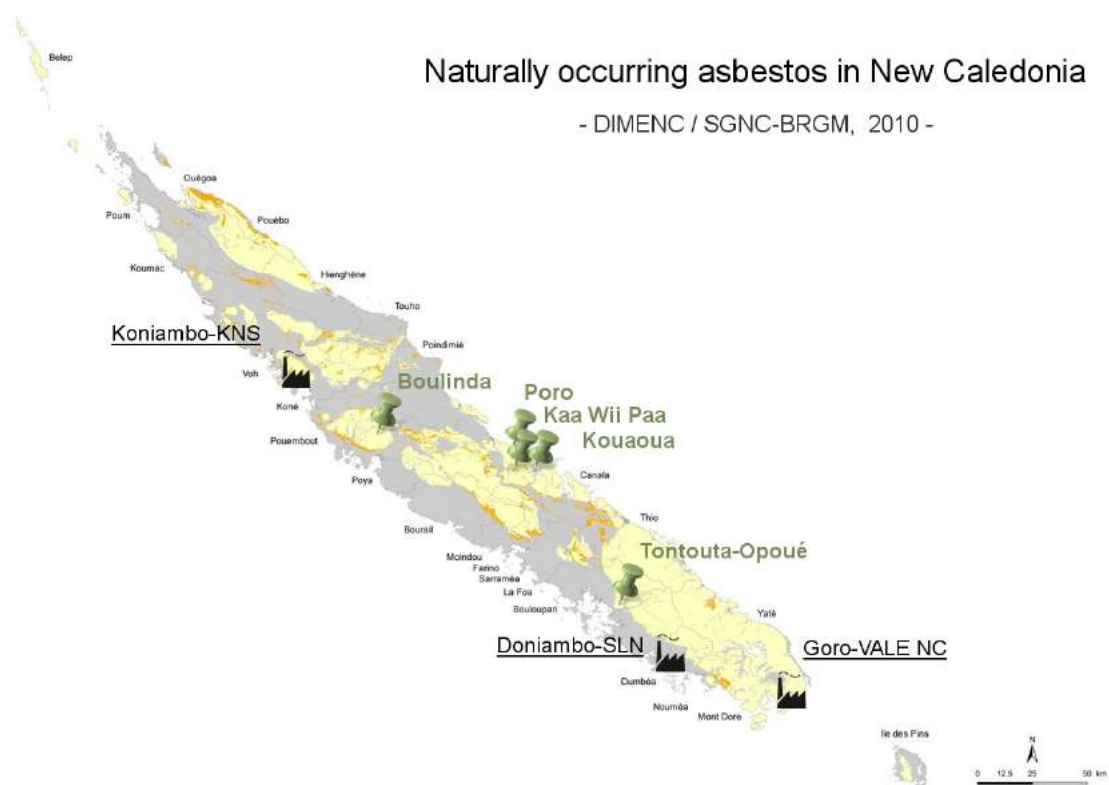


Figure 3 : Carte géologique des zones d'occurrence potentielle d'amiante (surfaces en orangé) et localisation des sites d'échantillonnage (modifiée d'après DIMENC, 2010 par Jasmine Petriglieri-thèse-2017)





Niveau d'altération	Caractéristiques visuelles	Illustration
Altération #1	L'antigorite ne se débite pas ou très peu en fines plaquettes	
Altération #2	L'antigorite se débite en amas de plaquettes et aiguilles	
Altération #3	Individualisation des fibres	
Altération #4	Disparition de la structure originelle de l'antigorite, perte de la cohésion et transformation minéralogie forte (talc)	

Figure 4 : Nomenclature utilisée en secteur minier pour la description des serpentines de type antigorite (communication société Glencore)

La nomenclature utilisée pour nommer les échantillons analysés dans le programme ABP est la suivante : le numéro de l'échantillon, suivi de la première lettre de sa minéralogie et du numéro indiquant le degré d'altération attribué in situ (ex : 1A4, pour l'échantillon 1 qui est identifié comme une antigorite de niveau d'altération 4). La liste des échantillons disponibles pour le programme Amiante et Bonnes Pratiques est disponible en Annexe 1.

3. TACHE 1 « ETUDE COMPARATIVE DES ATOUTS/LIMITES DES TECHNIQUES ANALYTIQUES D'IDENTIFICATION DES MINERAUX ASBESTIFORMES »

Responsable : Michael Meyer, Institut des Sciences Exactes et Appliquées (ISEA)

Organismes partenaires : Département de Physique et des Sciences de la Terre, Université de Parme ; Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés (IMPMC), IRD ; ISEA, Université de la Nouvelle-Calédonie

Objectifs :

L'évaluation du risque lié à l'exposition aux minéraux asbestiformes, nécessite d'être performant et rapide pour l'identification de leur occurrence à l'affleurement. La connaissance de la présence de roches contenant des minéraux fibreux pathogènes permet de déclencher immédiatement les mesures de sécurité adaptées. En secteur minier, la minéralogie des minéraux asbestiformes est définie suivant une nomenclature qui utilise des paramètres descriptifs (couleur, morphologie...) et attribue un degré d'altération lié à la capacité du minéral à se déliter et émettre des fibres sans contrainte (Figure 5).

L'un des objectifs des travaux menés au sein de la tâche 1 est de confronter les données minéralogiques obtenues par l'utilisation de la nomenclature descriptive et celles acquises via différentes techniques analytiques (sous tâche 1).

Une prise de décision plus rapide en terme d'identification du risque et, donc de prise de mesures de prévention adaptées, peut nécessiter l'utilisation, de méthodes analytiques transposables sur le terrain. Les méthodes potentiellement éligibles, doivent être adaptées à l'environnement minier. Les appareils de mesure doivent être robustes, faciles à transporter, les acquisitions rapides et reproductibles, malgré la variabilité des échantillons (degré d'altération, humidité, température...). La spectrométrie Raman portable semblait être une méthode analytique de reconnaissance minéralogique capable de répondre aux exigences de l'environnement minier.

Au sein de la tâche 1 du programme Amiante et Bonnes Pratiques, les performances de la spectrométrie Raman portable pour l'identification minéralogique des minéraux asbestiformes a été testée sur sites miniers (Italie, Nouvelle-Calédonie, sous tâche 1).

Les minéraux asbestiformes, présents sur les sites miniers calédoniens, subissent à différents degrés des processus d'altération. Les modifications physico-chimiques, et structurales induites sont peu contraintes. Il est possible que les changements visibles macroscopiquement sur les minéraux asbestiformes altérés (changement de couleur, capacité à se déliter accrue, fragilité importante...), traduisent une modification importante de leur organisation cristalline, voire une modification de leur minéralogie. Ces transformations à l'échelle du minéral peuvent créer un biais sur les résultats acquis par les méthodes

d'analyse minéralogique. Or, les professionnels de la mine corrèlent l'altération croissante des minéraux asbestiformes et l'augmentation du risque d'exposition.

L'un des objectifs de la tâche 1 du programme Amiante est Bonnes Pratiques est d'évaluer l'influence d'une altération croissante sur les résultats analytiques permettant l'identification des minéraux asbestiformes (sous tâche 1).

La détermination de la minéralogie des asbestes peut être complexe. Par exemple, le chrysotile, reconnu comme asbeste pathogène, et qui appartient à la famille des serpentines, est généralement très difficile à distinguer des autres minéraux de la même famille que sont la lizardite et l'antigorite. La démarche la plus pertinente est certainement de cumuler le maximum d'information structurale et chimique sur les minéraux pour obtenir une bonne discrimination, en croisant différentes techniques d'analyse. Cependant pour obtenir une information cohérente et pouvoir confronter les résultats acquis par cette approche pluri-analytique, il est nécessaire de définir les limites de résolution de chacune des méthodes.

Les travaux menés dans la tâche 1 proposent d'évaluer les limites de résolution des méthodes analytiques de Diffraction des Rayons X (DRX), de spectrométrie Raman (SR), de spectroscopie Infra-rouge (IR) et de Microscopie Electronique à Transmission (MET), pour l'identification des minéraux de type amiante et de leurs associations minéralogiques (sous tâche 2). Enfin, pour explorer une nouvelle approche analytique, le potentiel de la méthode de diffusion statique de lumière pour obtenir les paramètres de distribution de taille des fibres a été testé. (sous tâche 3.)

3.1. SOUS TACHE 1 : « COMPARAISON DES DONNEES MINERALOGIQUES OBTENUES VIA L'UTILISATION DE LA NOMENCLATURE DES PROFESSIONNELS DE LA MINE ET CELLES RESULTANT DES ANALYSES, DRX, MOLP, MEB, ET SPECTROMETRIE RAMAN »

Ces travaux de recherche ont été menés au sein du département de physique et des sciences de la Terre de l'Université de Parme jusqu'au 31 décembre 2016, puis à la faveur de restructuration, au sein des départements de mathématiques, physique et informatique (Danilo Bersani) et de Sciences pour la chimie, la vie et l'environnement (SCVSA, Luciana Mantovani, Emma Salvioli, Mario Tribaudino). Ce chapitre inclut les résultats obtenus par Luciana Mantovani-Post Doc, par Serena Gnappi-Master et Jasmine Rita Petriglieri-Thèse-UParme-UNC

Dans le cadre de cette sous tâche 1, trois actions ont été menées:

- 1) Sélection des échantillons dans la liste de ceux transmis par le comité amiante inter-minier Amiante Environnemental. Il s'agit de couvrir au mieux par cet échantillonnage les différentes minéralogies d'asbestes pour l'ensemble des niveaux d'altération.
- 2) Apports des méthodes analytiques pour caractériser la minéralogie des minéraux asbestiformes présents en secteur minier (DRX, MOLP, MOLP-CP, MEB,

Spectrométrie Raman). Analyses réalisées dans plusieurs laboratoires (ISEA, IRD, Université de Parme), afin de contraindre les dérives instrumentales.

- 3) Comparaison des résultats d'identification des minéraux d'amiante, obtenus par les différentes méthodes analytiques et issue de l'utilisation de la nomenclature suivie par les professionnels de la mine.

3.1.1. SELECTION DES ECHANTILLONS ITALIENS ET CALEDONIENS

Les échantillons analysés correspondent à trois catégories (Annexe 1):

- 1) Standards internationaux, reconnus comme référence pour les calibrages et suivis des analyses des amiantes
- 2) Minéraux asbestiformes prélevées dans la mine de Balangero (Italie). Les sites de prélèvement sont géolocalisés et leur géologie décrite
- 3) Minéraux asbestiformes issus de différents sites miniers de la Nouvelle-Calédonie. Les affleurements sont géolocalisés. Chaque échantillon a été identifié et son degré d'altération estimé sur la base de la nomenclature de référence employée dans le secteur professionnel minier

3.1.1.1. Standards de référence

Il est nécessaire pour vérifier la qualité et la validité des analyses menées sur différents appareillage d'utiliser des standards de référence dont les caractéristiques minéralogiques et chimiques sont parfaitement connues. Les standards utilisés doivent présenter des propriétés proches des échantillons analysés. Ainsi, les standards utilisés dans cette étude appartiennent aux mêmes familles minérales que les minéraux asbestiformes étudiés, et les résultats de leurs analyses par MEB, DRX et MET sont validées par différents laboratoires à l'international (Figure 6).

Il s'agit:

- ✓ d'un échantillon de chrysotile provenant du Zimbabwe (Chrysotile A, Zimbabwe, UICC). Ce standard international a été fourni par le centre Scancetti de Turin et il a déjà fait l'objet d'analyses spécifiques de toxicologie. Il est également utilisé comme référence juridique
- ✓ d'un échantillon d'antigorite issu de la Val di Susa, précédemment étudiée par Groppo et Compagnoni (2007)
- ✓ d'un échantillon de trémolite de la Val di Susa, également étudié par Groppo et Compagnoni (2007).

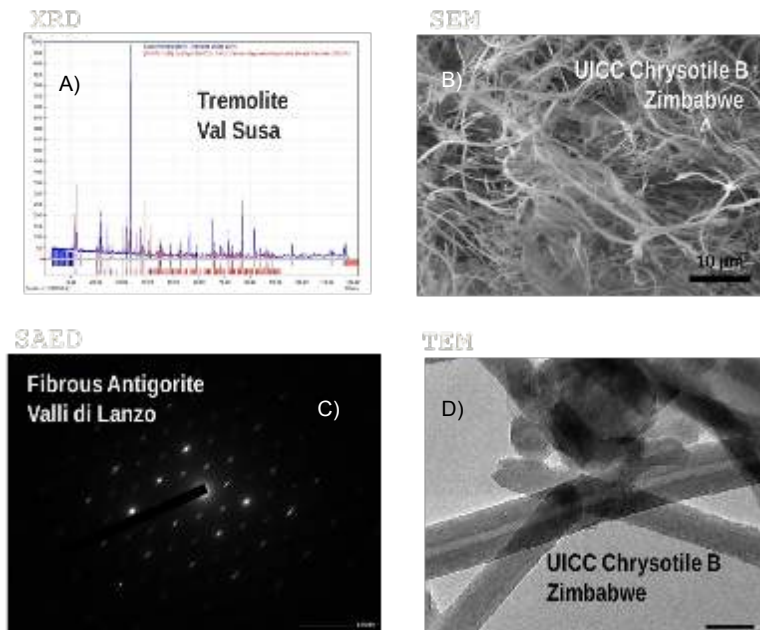


Figure 6 : Exemples de résultats des analyses des standards de référence utilisés dans la sous tâche 1. A) Spectre DRX pour la trémolite de Val Susa (Italie), B) analyse MEB du chrysotile, UICC (Zimbabwe), C) Cliché de diffraction MET; antigorite de Valli di Lanzo (Italie), D) image MET, du chrysotile, UICC (Zimbabwe) (Vigliaturo 2015)

3.1.1.2. Minéraux asbestiformes, Mine Balangero (Italie)

Les échantillons de minéraux amiantifères italiens proviennent de Balangero (affleurements référencés en Italie). La mine de Balangero exploitait le chrysotile jusqu'à sa fermeture en 1992. Elle représentait alors la plus grande mine de minéraux d'amiante d'Europe. Aujourd'hui, elle fait l'objet d'un grand projet de réhabilitation. Pour obtenir ces échantillons, non disponibles jusqu'à présent dans les lithothèques de l'université de Parme ou du centre Scancetti de Turin, des demandes d'autorisation de prélèvements, argumentées, ont été réalisées auprès du responsable minier (M. Massimo Bergamini).

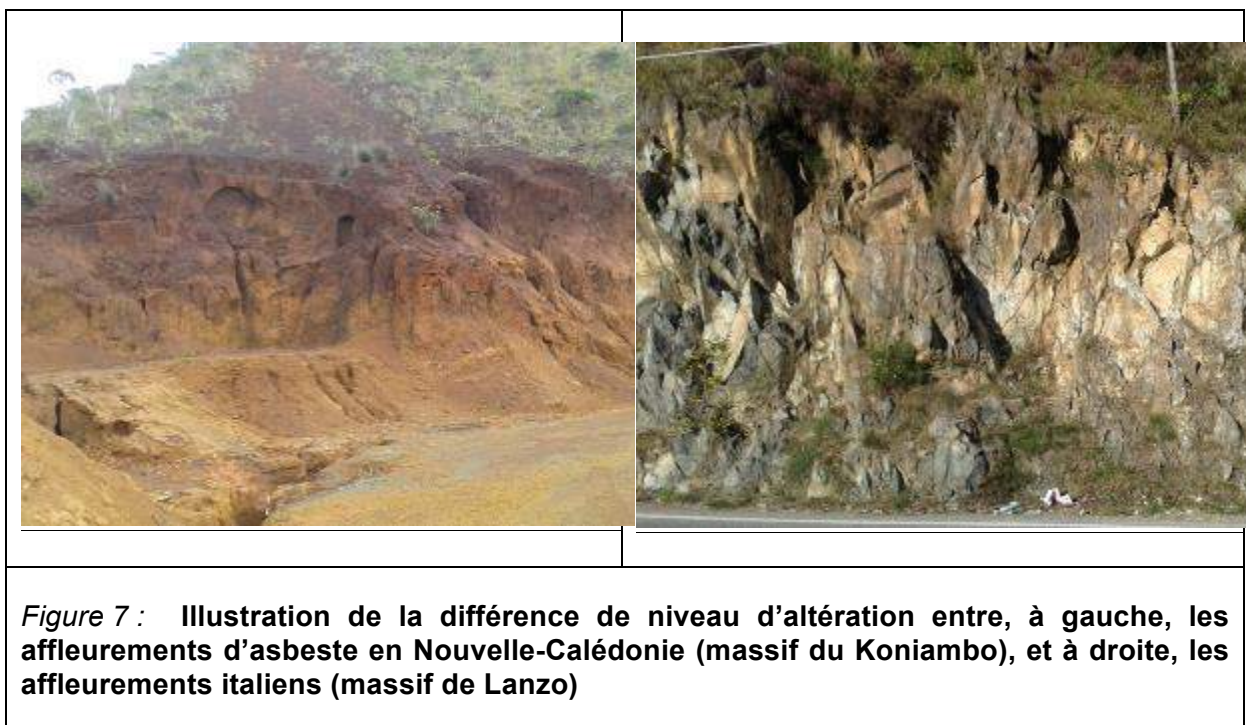
La mine Balangero est localisée dans le massif de Lanzo, situé dans les Alpes Occidentales du Piémont. Les roches rencontrées sont des péridotites plus ou moins serpentinisées. Elles sont situées près du contact entre les micaschistes et les gneiss acides de la zone Sesia-Lanzo (Mellini 1986 ; Groppo et al 2005). Un échantillonnage a également été réalisé à proximité de la mine dans la région de Traves, sur des affleurements de serpentine.

Sur ces sites, les minéraux asbestiformes affleurent sous forme de veines fibreuses de chrysotile, antigorite et trémolite, mais également, sous forme de minéraux plus rares tels que la balangerite, associée à des minéraux de diopside. Dans la mine, les veines sont très fines et étendues. De rares affleurements présentant de larges cristaux centimétriques de chrysotile et de balangerite, sont également visibles près du contact tectonique avec les roches acides du massif Sesia Lanzo.

3.1.1.3. Minéraux asbestiformes des sites miniers de la Nouvelle-Calédonie :

Sur les 58 échantillons calédoniens fournis (Annexe 1), 47 ont été analysés conjointement à l'université de Parme et à l'ISEA. L'échantillonnage a été complété par deux échantillons de sols latéritiques et deux échantillons de saprolites issus des mines de Nouvelle-Calédonie.

Les minéraux asbestiformes calédoniens en comparaison des amiantes italiennes montrent un niveau d'altération très élevé (exposition au climat tropical depuis plusieurs millions d'année, Figure 7). Seuls les affleurements italiens situés à proximité de la mine de Balangero présentent une faible coloration rouge, indicatrice d'une oxydation consécutive à l'altération. Les échantillons italiens, ne montrent pas différents niveaux d'altération.



3.1.2. APPORTS DES METHODES ANALYTIQUES POUR CARACTERISER LA MINERALOGIE DES MINERAUX ASBESTIFORMES PRESENTS EN SECTEUR MINIER (DRX, MOLP, MOLP-CP, MEB, SPECTROMETRIE RAMAN).

Une série d'analyses a été faite afin de caractériser les différents échantillons :

- diffraction de rayonnement X (DRX)
- microscopie optique polarisante et à contraste de phase (MOLP-CP), par comparaison avec des liquides d'indice de réfraction connu.
- spectroscopie micro-Raman, sur lames minces et Raman, par utilisation d'un appareil portable.
- microscopie électronique à balayage (MEB).

Le choix des méthodes d'analyse minéralogique inclue des techniques peu coûteuses, rapides à mettre en œuvre et potentiellement transférables du laboratoire vers le terrain. Le bilan détaillé des analyses réalisées à l'université de Parme et à l'ISEA, en Nouvelle-Calédonie est reporté en annexe 2, et synthétisé ci-dessous (Figure 8).

Méthode	Analyses réalisées
Diffraction des Rayons X (DRX)	47 diffractogrammes, U.Parme 47 x 2 diffractogrammes, ISEA-UNC
Microscopie optique en lumière polarisée (MOLP)	26 lames minces sur 47 échantillons
Microscopie optique en lumière polarisée associée au contraste de phase (MOLP-CP)	13 échantillons, Arpae Emilia-Romagna, Italie
Spectrométrie Micro-Raman	Tests sur 9 lames (331 points d'analyse)
Spectrométrie Raman portable	47 échantillons analysés en laboratoire
Microscopie Electronique	409 images

Figure 8 : Récapitulatif des analyses réalisées dans le cadre du programme Amiante et Bonnes Pratiques dans le 1, 2 et 3 de la tâche 1

3.1.2.1. Analyses par diffraction des rayons X

Les analyses par diffraction des rayons X (DRX) permettent de déterminer la minéralogie à partir d'une poudre, issue du broyage de l'échantillon (broyage à la main par pilon en agate). L'analyse par DRX repose sur l'interprétation des diffractogrammes obtenus par interaction du réseau cristallin d'un minéral avec un rayonnement X. Chaque espèce minérale possède son propre réseau cristallin, dont les dimensions sont liées à sa composition chimique. L'analyse par DRX réalisée en routine, est rapide, requiert uniquement le broyage de l'échantillon, sans préparation particulière, et c'est un appareil assez peu coûteux en consommables. Cependant, pour qu'une phase minérale puisse être reconnue, il faut qu'elle soit présente en quantité significative (plusieurs % en masse dans le cas des minéraux asbestiformes).

Les analyses en DRX ont été réalisées en doublon, en Nouvelle-Calédonie et à Parme. Les équipements DRX de ces deux laboratoires ne sont pas des modèles équivalents, notamment en termes de performances analytiques, celui de l'ISEA étant plus précis. Il était donc pertinent de comparer la reproductibilité des diffractogrammes obtenus sur ces deux appareils, à partir des mêmes échantillons de minéraux asbestiformes. (Figure 9).



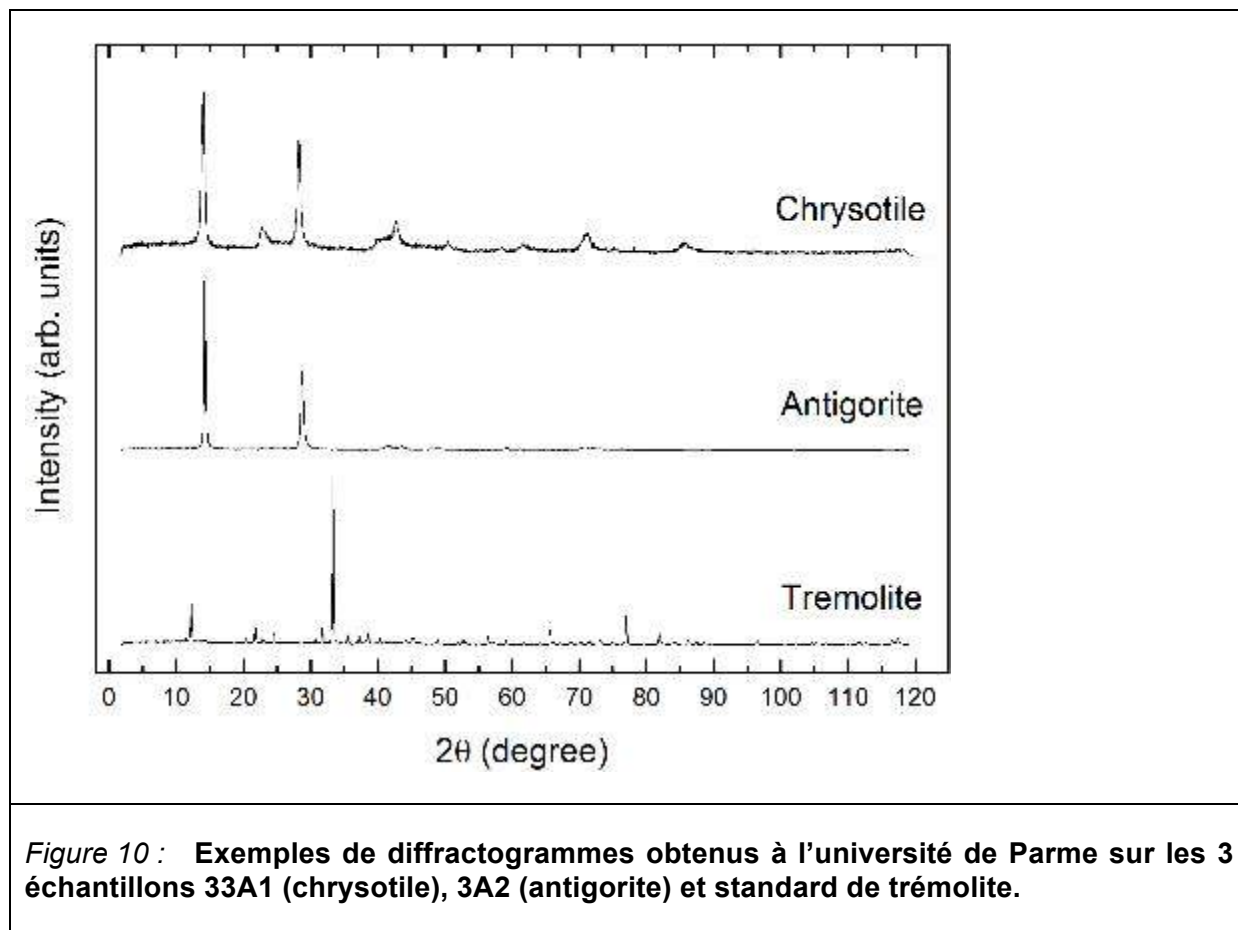
La qualité des analyses a également été contrainte par l'utilisation de standards internes et référencés.

Les analyses par diffraction des rayons X ont été faites à Parme avec un appareil compact (Bruker D2), facilement transportable, y compris à proximité des affleurements. Il ne nécessite pas un système de refroidissement à l'eau, et son alimentation requiert simplement le réseau électrique général. L'appareil est un diffractomètre Bragg-Brentano, géométrie theta-theta, c'est-à-dire avec mouvement couplé du goniomètre et de la source. Il travaille à 30 kV et 10 mA, avec une source $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=0.154178$ nm), sans monochromateur.

L'analyse a été faite de 5-80° 2θ. Pour éviter une dispersion de fibres dans l'environnement, l'échantillon est posé sur un zéro-background stage, et le « spinner » n'est pas activé.

Le diffractomètre de l'ISEA, Nouméa est un "X-Ray wide angle diffractometer INEL CPS 120". Les conditions de travail sont 30 kV et 30 mA. Le rayonnement X transmis vient d'une lampe à source monochromatisée $\text{CoK}_{\alpha 1}$ ($\lambda = 0.178897 \text{ nm}$). L'intensité de diffraction est acquise avec un détecteur courbé, sensible à la position, INEL CPS-120, entre 0° et 120° (2θ), step size of 0.03°. La résolution est variable entre ~0.10° et ~0.15° en 2θ (des petits aux larges angles). Le diffractogramme est pris simultanément à tous les angles.

Les minéraux fibreux montrent généralement une orientation préférentielle. C'est le cas des serpentines, donc du chrysotile et de l'antigorite. Cependant, pour l'acquisition des diffractogrammes, aucun protocole spécifique n'a été appliqué pour compenser cette caractéristique. L'objectif était, au contraire, de privilégier la préparation de l'échantillon la plus simple possible, pour qu'elle soit cohérente avec les contraintes des professionnels de la mine, qui ont un souci de rentabilité, d'optimisation et de gain du temps. Il est important que nos propositions soient ensuite compatibles avec leur mise en application en secteur professionnel minier, et pas seulement dans le cadre de laboratoire de recherche. C'est pourquoi par exemple, les diffractogrammes de la figure 10, montrent un nombre réduit de pics en comparaison des résultats obtenus dans la littérature.



A noter que l'échantillon 33A1 a été identifié comme étant de l'antigorite par l'observation in situ, mais son analyse par DRX révèle une minéralogie analytique de chrysotile.

La comparaison des diffractogrammes obtenus sur un même échantillon de trémolite ou d'antigorite, sur chacun des appareillages de DRX, montre une très grande similarité des positions des pics, mais pas de leur intensité. Les pics correspondant aux faibles valeurs de θ sont plus apparents sur les diffractogrammes du diffractomètre de l'université de Parme que sur ceux du diffractomètre de l'ISEA. Cette disparité est liée à la différence de la géométrie des diffractomètres. L'appareil de Parme possède une configuration qui est très affectée par l'orientation préférentielle des minéraux, ce qui est moins le cas pour l'appareil de l'ISEA. Cette conclusion est confirmée par la similitude des intensités des pics obtenue sur les deux appareils pour les minéraux de chrysotile, une serpentine qui, par sa dimension nanométrique, ne possède pas d'orientation préférentielle dominante. Les deux diffractomètres ont fourni les mêmes minéralogies des minéraux asbestiformes sauf pour l'échantillon 34A1, qui est reconnu comme une antigorite « douteuse » à Parme et comme du chrysotile à l'ISEA.

A noter également, que les diffractogrammes des deux appareils de DRX, permettent d'identifier les minéraux asbestiformes, mais également les phases minérales associées telles que, par exemple, le quartz, la magnétite et la goethite (Figure 11). Cependant, les analyses réalisées sur les deux diffractomètres donnent des réponses distinctes pour l'identification de ces phases minérales minoritaires. Cette divergence est probablement le résultat de la présence très ponctuelle de ces phases minérales. En fonction du prélèvement de la poudre, il peut donc y avoir une variabilité de la proportion de ces minéraux secondaires, qui n'apparaîtront pas systématiquement dans les diffractogrammes.

L'interprétation des diffractogrammes, permet de distinguer très facilement la trémolite (comme les autres amphiboles d'ailleurs), du chrysotile et de l'antigorite, d'une part, et des minéraux qui composent principalement les péridotites plus ou moins altérées constitutives des massifs, d'autre part. Les diffractogrammes des figures 10 et 11, attestent par contre, qu'il est bien plus difficile de discriminer le chrysotile et l'antigorite par cette méthode analytique. Cependant, l'analyse des diffractogrammes acquis dans le programme ABP, semble indiquer que la largeur à mi-hauteur des pics les plus intenses, permettrait de différencier les serpentines. Les antigorites présentent des pics de forte intensité, plus étroits, localisés à 12 et 24° en 2 θ par radiation $\text{CuK}\alpha$. Ces intensités élevées pourraient masquer les pics consécutifs à l'orientation préférentielle des minéraux. De plus, le pic plus intense visible sur les diffractogrammes de l'antigorite occupe une position un peu différente du pic équivalent dans le diffractogramme du chrysotile (thèse de Mme Serena Gnappi) (Figure 12).

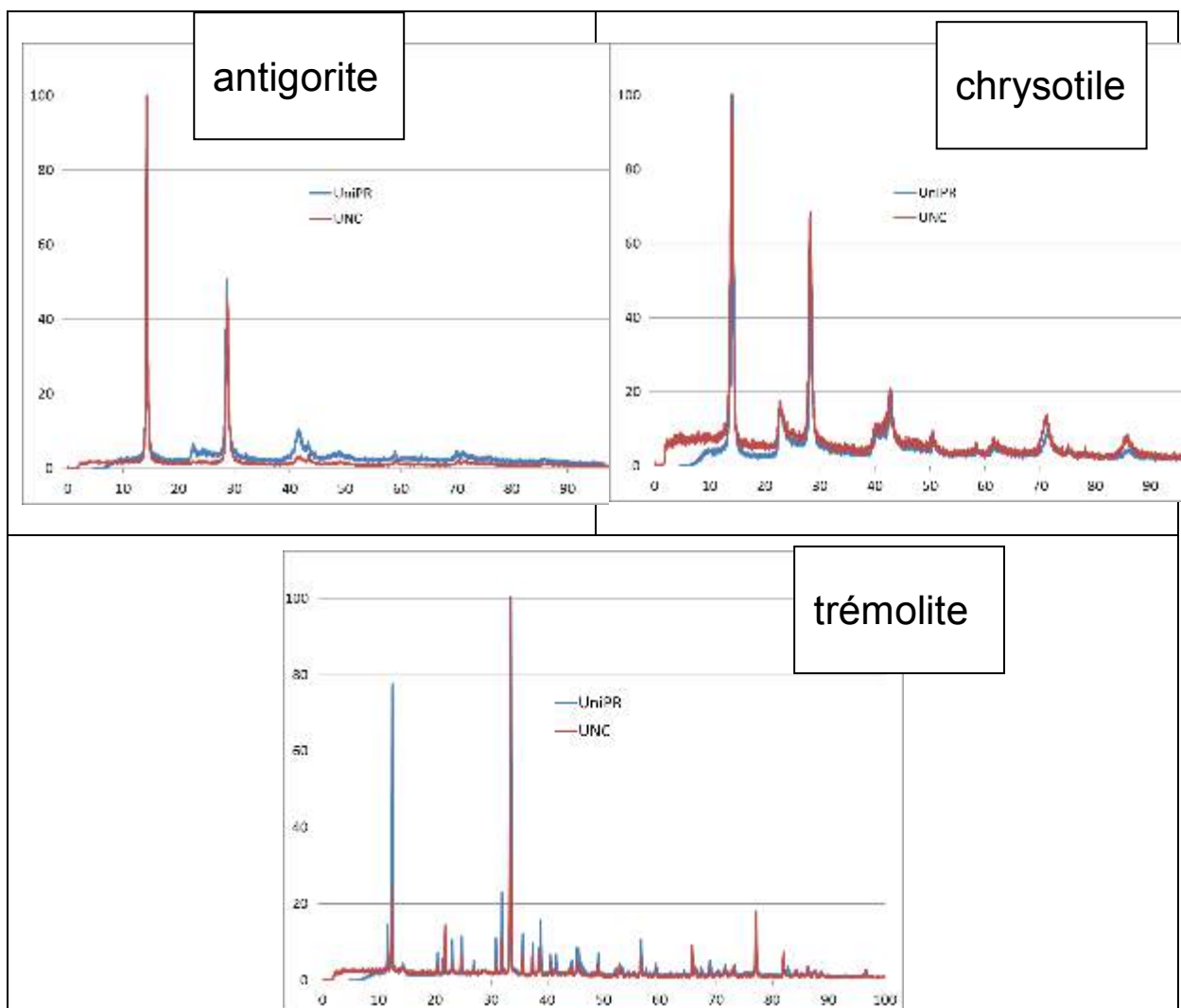


Figure 11 : Comparaison des diffractogrammes obtenus à Parme et à l'ISEA, UNC. Axe horizontal : 2θ ($^\circ$), vertical unité arbitraire. Les diffractogrammes de Parme ont été décalés à la longueur d'onde du Co. À gauche et au-dessous, antigorite : échantillon 3A2 ; chrysotile, échantillon 33A2 ; trémolite, échantillon 42T2.

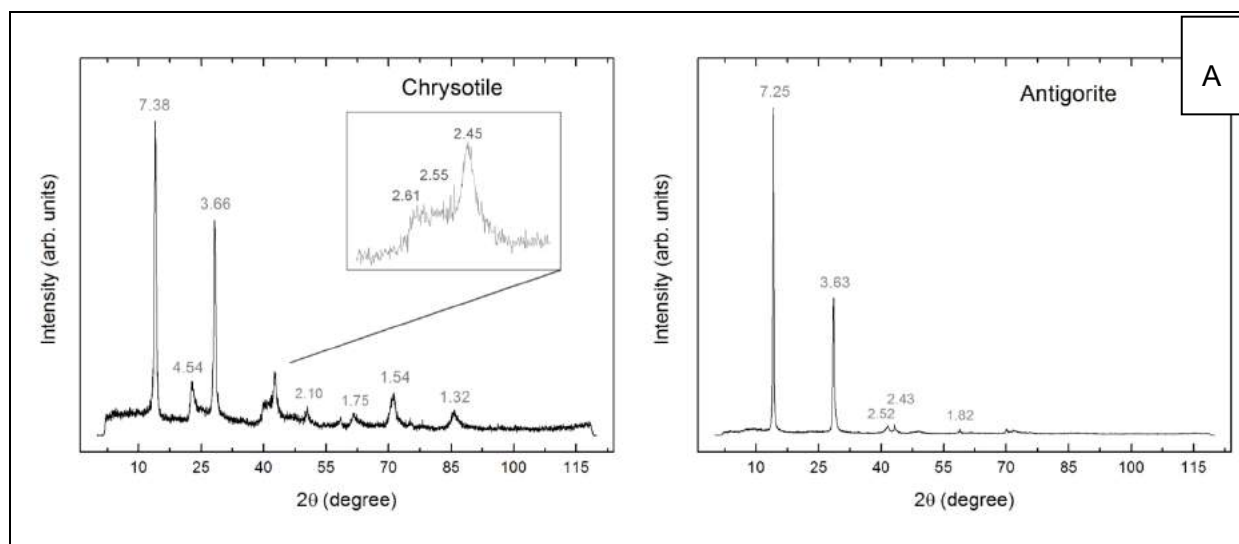
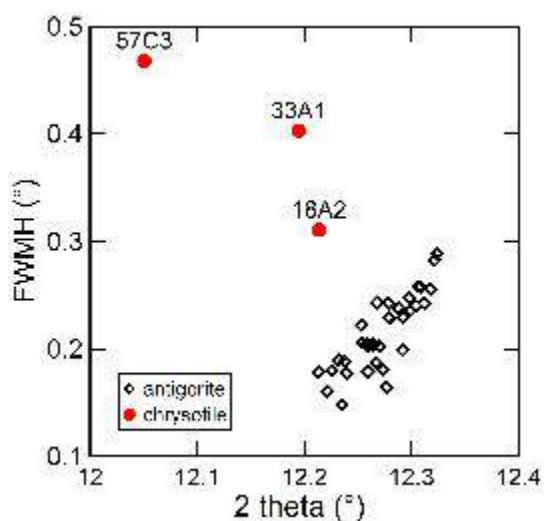


Figure 12 : A)
Comparaisons des diffractogrammes de chrysotile et antigorite (ISEA-UNC, Jasmine Rita Petriglieri).

B) Discrimination entre chrysotile et antigorite par la valeur de la largeur à mi-hauteur du pic le plus intense.

A remarquer, l'échantillon 18A2 possède une composition minéralogique mixte de chrysotile et antigorite et occupe une place intermédiaire entre les échantillons de Chrysotile et d'Antigorite.



Le diagramme représentant la largeur du pic à mi-hauteur (FWMH), en fonction de la position du pic proche de la position 12.2° en 2θ par radiation $\text{CuK}\alpha$, semble montrer que les valeurs acquises sur les diffractogrammes du chrysotile sont plus élevées que celles mesurées sur les diffractogrammes de l'antigorite (Figure 12). L'élargissement du pic à mi-hauteur, FWHM, est évalué à partir d'une approximation gaussienne. Il faut noter également, que l'échantillon 18A2, initialement classé comme antigorite, est interprété comme un mélange d'antigorite et de chrysotile, après analyse en spectrométrie Raman (Cf. Chapitre, spectrométrie Raman). Ce mélange minéralogique pourrait expliquer que la valeur FWHM de l'échantillon 18A2 est en position intermédiaire entre les valeurs des diffractomètres du chrysotile et de l'antigorite dans le diagramme (Figure 12). Un critère de différenciation des diffractogrammes du chrysotile et de l'antigorite pourrait être la présence de 3 pics à 40° ,

CoK α pour une intensité croissante avec sur les diffractogrammes en 2 θ des chrysotiles qui est inverse sur les diffractogrammes des antigorites. Cependant, ces résultats restent à confirmer par des mesures en DRX sur un plus grand nombre d'échantillons calédoniens.

En conclusion, il apparaît que l'analyse par diffraction des rayons X des minéraux asbestiformes échantillonnés sur sites miniers, permet sans ambiguïté d'identifier la présence des minéraux de type amphibole, notamment d'individualiser la Trémolite. Ces diffractogrammes indiquent également la présence de serpentine. Par contre, les analyses par DRX, obtenues via un protocole de préparation des échantillons extrêmement simple, ne fournissent pas des données systématiquement suffisantes pour individualiser avec certitude les différentes serpentines entre elles. Il reste également à déterminer quel est le pourcentage en masse nécessaire pour qu'un minéral asbestiforme puisse être identifié via les diffractogrammes lorsque l'échantillon étudié est un mélange de phases. C'est l'objet des travaux dont les résultats sont présentés dans la sous tâche 2 de la tâche 1.

Pour rappel, l'objectif de ce chapitre est de confronter les résultats de l'étude minéralogique de terrain, aux minéralogies acquises par méthode analytique. Or, les descriptions des échantillons de minéraux asbestiformes réalisées in situ, individualisent les différentes serpentines entre elles (ex : 57C3, chrysotile, et 1A4, antigorite). Pour l'objectif poursuivi, l'analyse par Diffraction des Rayon X peut apporter des éléments de réponse, notamment confirmer ou infirmer la présence de trémolite ou de serpentine, mais en l'état de nos connaissances, elle n'est pas suffisante pour mener une comparaison complète entre la démarche de terrain et analytique.

3.1.2.2. Analyses par microscopie optique en lumière polarisée (MOLP) et microscopie optique en lumière polarisée associée au contraste de phase (MOLP-CP)

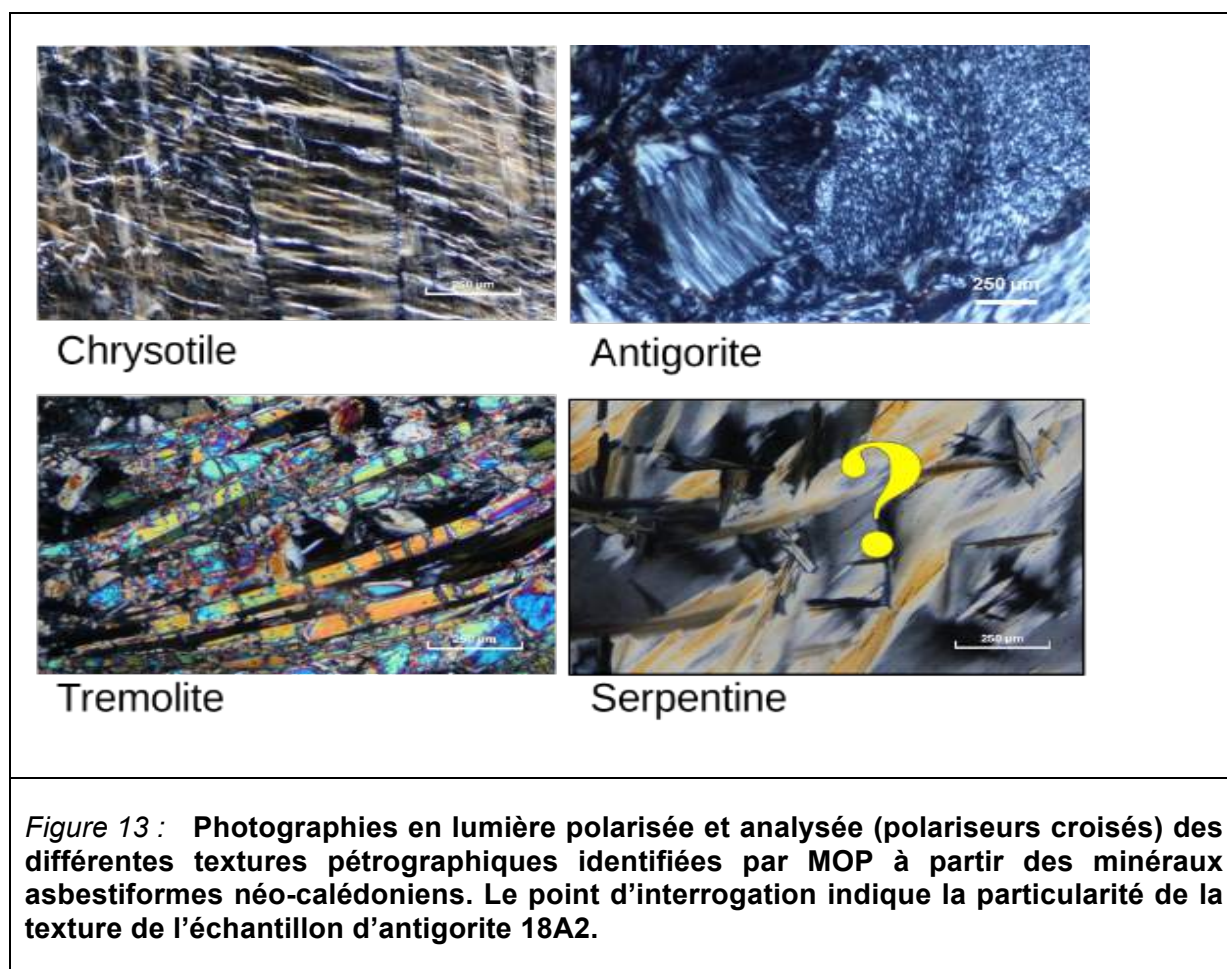
Les analyses par microscopie optique en lumière polarisée (MOLP), sont réalisées à partir de lames minces (5cm X 2cmX 30 μ m). La fabrication des lames minces nécessite un travail laborieux et minutieux, et ce d'autant plus, lorsqu'il s'agit de roches altérées, peu cohésives, comme nos échantillons calédoniens. De par la lourdeur du protocole de préparation des lames minces, la microscopie optique en lumière polarisante n'est pas une méthode d'analyse des minéraux asbestiformes qui peut être transposée sur le terrain, et reste uniquement applicable en laboratoire. La distinction, par cette technique, des différentes serpentines n'est pas toujours aisée et demande une vraie expertise. Cependant, les connaissances pétrographiques apportées par les analyses MOLP, atteignent l'échelle de la dizaine de μ m. Cette dimension de l'information peut révéler la présence de mélanges minéralogiques complexes d'asbestes. De plus, l'observation des lames minces informe sur la texture fine des minéraux asbestiformes (fibre, cohésion des minéraux, microfracturation..). Ces paramètres influent certainement sur la capacité de libération des fibres. La description des textures participe également à l'identification des orientations préférentielles des contraintes et des recristallisations secondaires, nécessaires à la compréhension des effets de l'altération. Dans le cadre du programme Amiante et Bonnes Pratiques 22 lames minces ont été analysées couvrant les différentes minéralogies et degré d'altération des minéraux asbestiformes échantillonnés.

La microscopie optique en lumière polarisante associée au contraste de phase (MOLP-CP) utilise quelques particules de l'échantillon étudié, plongées dans un liquide dont l'indice de réfraction est connu. Ce protocole de préparation des échantillons est donc simple. Un microscope optique et quelques liquides, sont transportables sur le terrain. La durée de l'analyse est courte (de l'ordre de 15 min). Pour le programme ABP, 18 échantillons

calédoniens ont été analysés par MOLP-CP. Leur choix repose sur l'ambiguïté de la minéralogie obtenue par les autres méthodes.

3.1.2.2.1. Microscopie optique en lumière polarisée (MOLP)

Les analyses des lames minces des minéraux asbestiformes calédoniens, ont montré la présence d'intercroissances fines associant notamment plusieurs serpentines (lizardite, antigorite et chrysotile), associées à d'autres minéraux tels que la goethite, le talc... Le chrysotile s'organise préférentiellement sous forme de filons, recoupant parfois d'autres serpentines, ce qui atteste de plusieurs phases de serpentinisation. A l'intérieur de ces filons, le chrysotile s'organise sous forme de colonnes transverses. Les lames de chrysotile montrent une organisation en zébrures caractéristique (Figure 13).



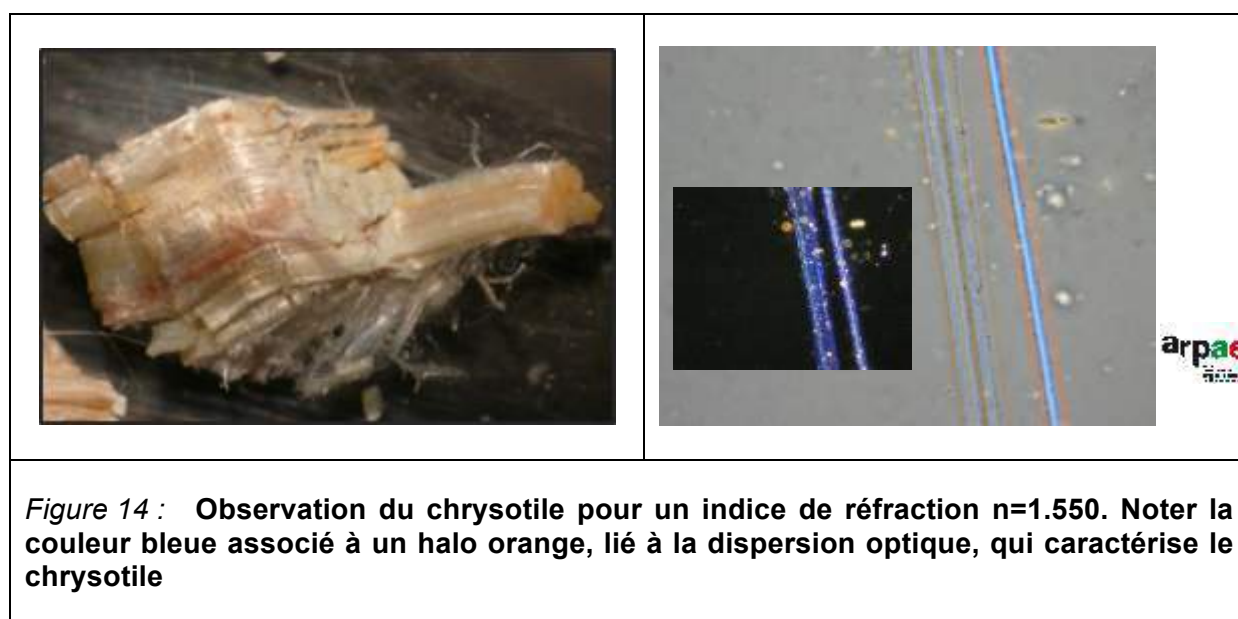
Les analyses des antigorites révèlent que les échantillons calédoniens appartiennent à plusieurs catégories de textures, mais majoritairement lamellaires (lame, interpénétration...). A noter que l'analyse de l'échantillon 18A2 a révélé l'existence d'une texture d'antigorite originale et non décrite à ce jour, à notre connaissance (Figure 13). Les minéraux de trémolite s'organisent en formes aciculaires. Très ponctuellement, une fracturation importante est visible.

3.1.2.2.2. Microscopie optique en lumière polarisée associé au contraste de phase (MOLP-CP)

Les analyses en microscopie optique en lumière polarisée associé au contraste de phase (MOLP-CP) ont été réalisées grâce à l'expertise de Mme Orietta Sala, membre de l'Agence de la Protection de l'Environnement de Reggio Emilia (Italie). Les premières analyses ont été menées en utilisant des liquides dont la réfraction est connue. Cette approche figure dans les méthodes d'identification des amiantes reconnues à la fois, par la loi régionale de l'Émilie-Romagne et par la norme de référence française, relative aux conditions de mesure et de contrôle de la valeur limite d'exposition professionnelle aux fibres d'amiante (arrêté du 12 août 2012, Norme NF X43 269). L'analyse MOP-CP est simple à mettre en œuvre et discriminante pour les amiantes de type amphibole, mais moins aisée pour la discrimination des amiantes de type serpentine.

Les analyses sont réalisées en utilisant un liquide dont l'indice de réfraction est adapté au minéral recherché, qui prend alors une couleur et/ou un halo caractéristique : 1.550 pour le chrysotile (Figure 14), 1.605 pour la trémolite (Figure 15). Un focus particulier a été réalisé pour la reconnaissance de l'antigorite, et sa différenciation des autres serpentines, notamment du chrysotile. Plusieurs expérimentations, ont permis de définir qu'un liquide dont l'indice de réfraction est 1.568 est le plus performant pour l'identification de l'antigorite (Figure 15).

Les analyses ont été réalisées par Mlle Jasmine Rita Petriglieri à Reggio Emilia sur 18 échantillons calédoniens.



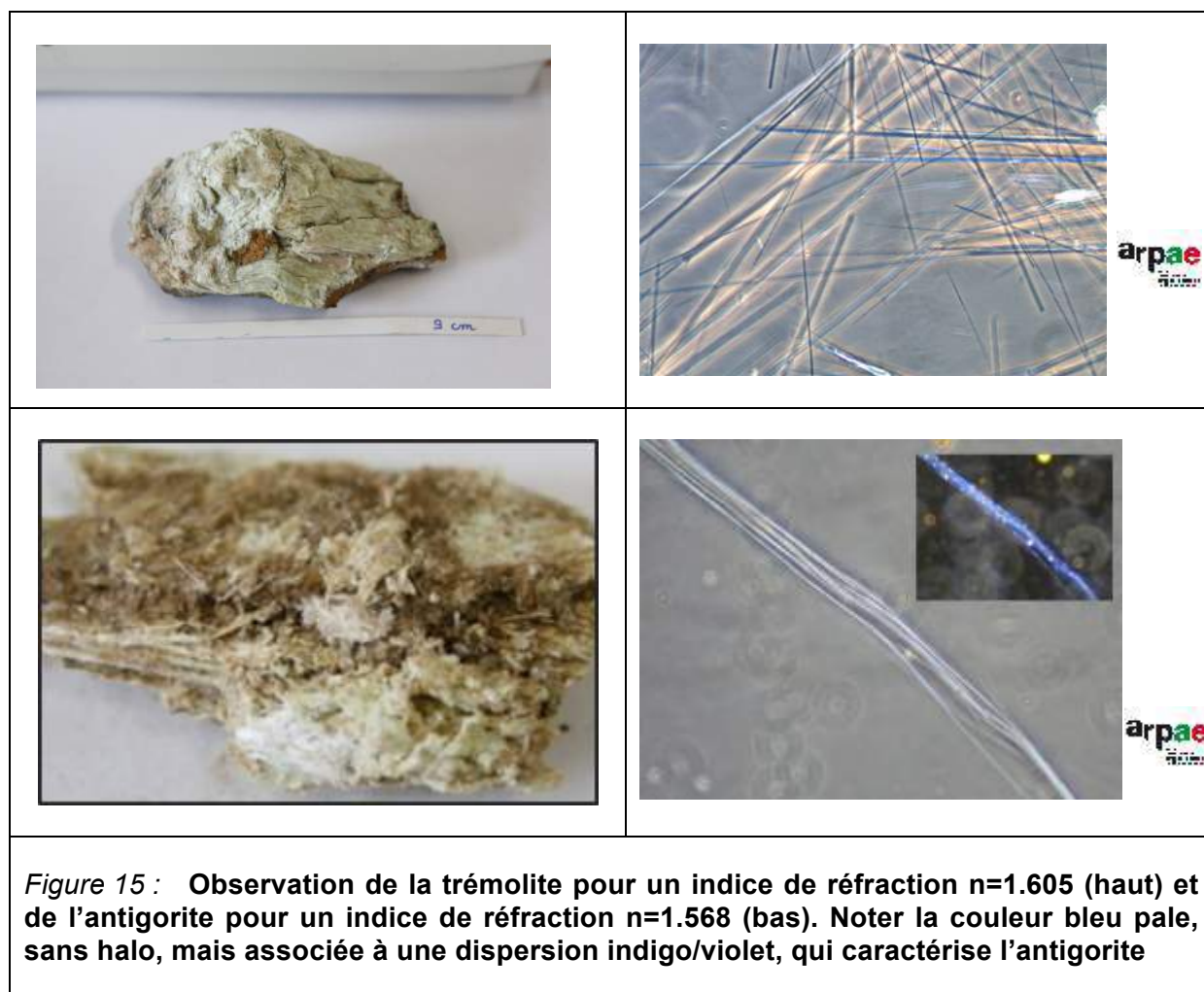


Figure 15 : Observation de la trémolite pour un indice de réfraction $n=1.605$ (haut) et de l'antigorite pour un indice de réfraction $n=1.568$ (bas). Noter la couleur bleu pale, sans halo, mais associée à une dispersion indigo/violet, qui caractérise l'antigorite

Les données acquises par microscopie optique montrent que la microscopie optique en lumière polarisée associée au contraste de phase (MOLP-CP), constitue une méthode facile à mettre en œuvre, relativement rapide dans l'acquisition et qui permet l'identification non seulement de la trémolite et des serpentines, mais également d'individualiser les serpentines entre elles, et notamment le chrysotile de l'antigorite. Les images obtenues par MOLP-CP offrent, en complément de la minéralogie, des informations sur la morphologie et la taille des fibres, ce que ne permet pas, par exemple, la diffraction aux rayons X (DRX). La méthode MOLP-CP semble transposable sur le terrain avec un minimum de contraintes.

3.1.2.3. Analyse en microscopie électronique à balayage (MEB)

L'analyse en microscopie électronique à balayage est la méthode de choix pour apprécier les dimensions et la morphologie des fibres, et les distinguer des autres particules non asbestes. Cette technique est par contre moins performante pour la détermination de la minéralogie. Elle doit être complétée par une analyse très précise des compositions par microsonde (Wagner 2015, Wicks and Plant 1979). Les analyses par MEB des échantillons du programme ABP, ont été réalisées à partir de prélèvements de quelques fibres libres (poussières). Les échantillons standards de référence ont été traités à Parme, au cours du stage de master de Mlle Serena Gnappi (2015). Les dimensions ont été évaluées au MEB, à partir d'images prises en agrandissement fixe, sur des échantillons préparés par une

procédure standard. Les pourcentages des fibres et des poussières ont été déterminés, et comparés avec ceux obtenus par interférométrie laser.

Les échantillons issus des mines de Nouvelle-Calédonie, ont été analysés à l'UNC, sur la plateforme de microscopie électronique. Les images MEB informent sur la morphologie, la taille, les fracturations, la surface et la cohésion des fibrilles ou des agrégats de fibres (Figure 16). Plus de 400 images par MEB des échantillons de Nouvelle-Calédonie, couvrant la totalité des minéralogies et des degrés d'altération, ont été acquises par Mlle Jasmine Rita Petriglieri (doctorante) et Monika Le Mestre (technicienne-ISEA). Quatre échantillons de minerai, latérite et saprolite, ont également été analysés.

La microscopie électronique à balayage est une méthode de référence pour la métrologie et le comptage des fibres. Il ne s'agit pas d'une méthode de détermination de la minéralogie des différents minéraux asbestiformes. De plus, la microscopie électronique à balayage, de par sa grande technicité, n'est pas, aujourd'hui, transposable sur le terrain.

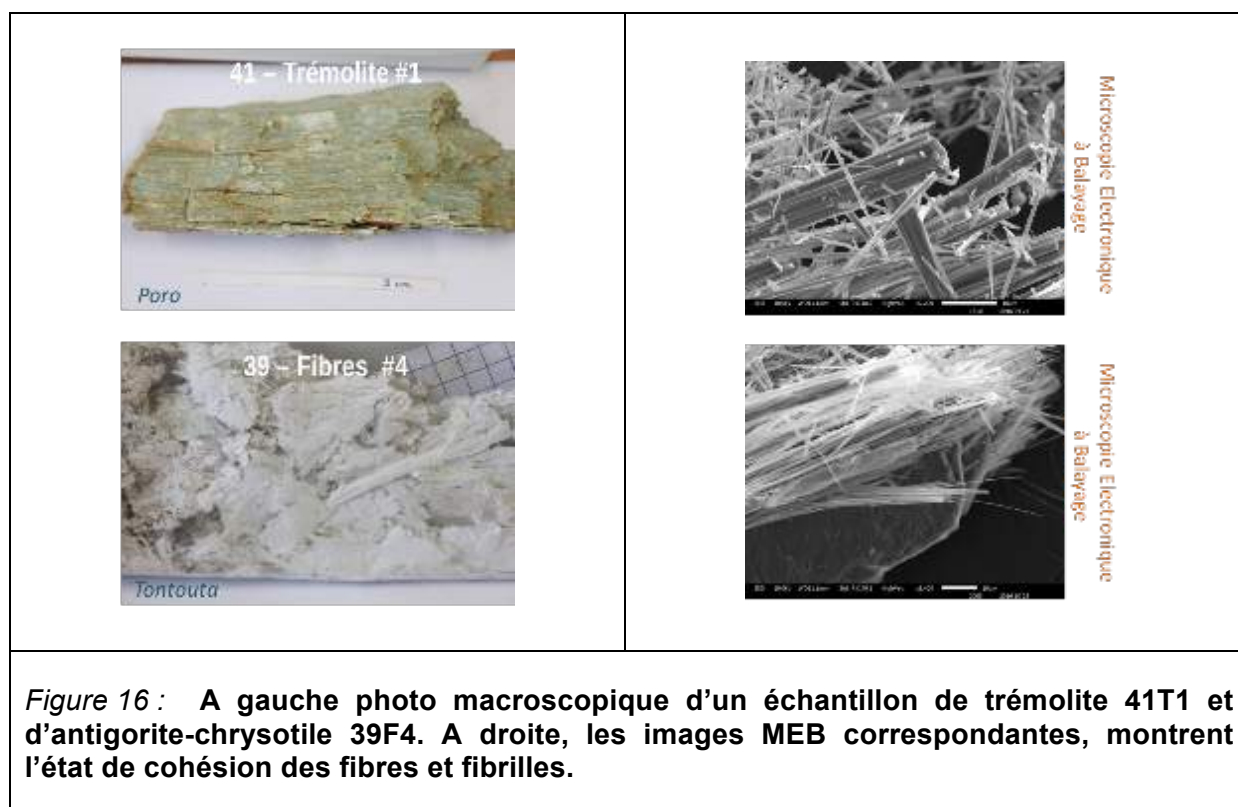


Figure 16 : A gauche photo macroscopique d'un échantillon de trémolite 41T1 et d'antigorite-chrysotile 39F4. A droite, les images MEB correspondantes, montrent l'état de cohésion des fibres et fibrilles.

Par contre, l'approche par analyse MEB offre l'opportunité de suivre la morphologie des particules émises et ainsi vérifier leur appartenance à la catégorie des fibres ou fibrilles, capables d'être inhalées, et d'en estimer la proportion. C'est important puisque le caractère pathogène des amiantes est lié en partie à leur capacité à être inhalées (taille < 5µm) et à se fixer dans les tissus pulmonaires (L/I >3). La nomenclature descriptive des minéraux asbestiformes, qui est utilisée sur mine établit implicitement un lien entre degré d'altération croissant et une plus forte capacité à émettre des fibres. La microscopie électronique à balayage des échantillons représentatifs des différentes minéralogies et de l'ensemble des degrés d'altération permet de vérifier la pertinence de ce lien et d'en affiner les effets sur la taille des fibrilles.

3.1.2.4. Micro-spectrométrie Raman

La spectroscopie Raman est une méthode analytique qui utilise les émissions des matériaux après irradiation par une source laser. Ces émissions viennent de vibrations moléculaires ou atomiques, et forment un spectre caractéristique pour chaque minéral. Le spectromètre Raman est au départ, un instrument de laboratoire, équipé d'une source de rayonnement laser, de longueur d'onde variable, qui est choisie selon les conditions expérimentales requises pour l'espèce minérale recherchée.

Dans le cas de la micro-spectrométrie Raman, la résolution analytique est de 1 cm^{-1} et la résolution spatiale de $1 \text{ }\mu\text{m}$. Le micro-spectromètre Raman représente un appareil de très haute résolution et précision, mais qui en contre partie n'est pas transposable sur le terrain. Cette méthode nécessite également une préparation des échantillons compatible avec l'utilisation d'un microscope.

Cependant, la résolution très fine de la micro-spectrométrie Raman n'est pas toujours nécessaire et l'utilisation de la simple spectrométrie Raman est souvent suffisante pour obtenir une indication sur la minéralogie d'un échantillon d'asbeste (Cf. sous tâche 2)

Les analyses par spectrométrie Raman, en laboratoire ou sur le terrain, permettent de discriminer très facilement les serpentines, antigorite ou chrysotile, de toutes les amiantes de la famille des amphiboles, soit dans notre étude de la trémolite. Entre les serpentines et les amphiboles, les spectres Raman sont très différents dans les émissions principales, et la différenciation de ces familles minérales repose sur les différences de signature des bandes de vibration (entre 200 et 1000 cm^{-1} , Figure 17 b)).

La distinction, par cette technique, des différents polymorphes de la serpentine, nécessite l'observation de la position des bandes des groupements hydroxylés situées de 3600 à $3800 \text{ wavenumber/cm}^{-1}$ (Figure 17 a, Petriglieri et al, 2015).

La précision de la micro spectrométrie Raman souligne la complexité des assemblages minéralogiques qui composent les serpentinites néo-calédoniennes. La figure 18 montre l'exemple de l'échantillon 30A1, initialement identifié comme de l'antigorite de degré d'altération #1 sur le terrain, mais qui à l'échelle microscopique, se compose d'un assemblage très hétérogène d'antigorite et de chrysotile.

La spectrométrie Raman et la micro spectrométrie Raman sont deux techniques efficaces pour la reconnaissance des minéraux asbestiformes. Les serpentines peuvent notamment être individualisées les unes par rapport aux autres, ce qui n'est pas obtenu par toutes les méthodes que nous avons testé dans le programme Amiante et Bonnes Pratiques. Le chapitre décrivant les résultats acquis par l'utilisation de la spectrométrie Raman portable atteste de l'intérêt majeur que représente cette technique pour la reconnaissance in situ des minéraux amiantifères affleurant sur mine.

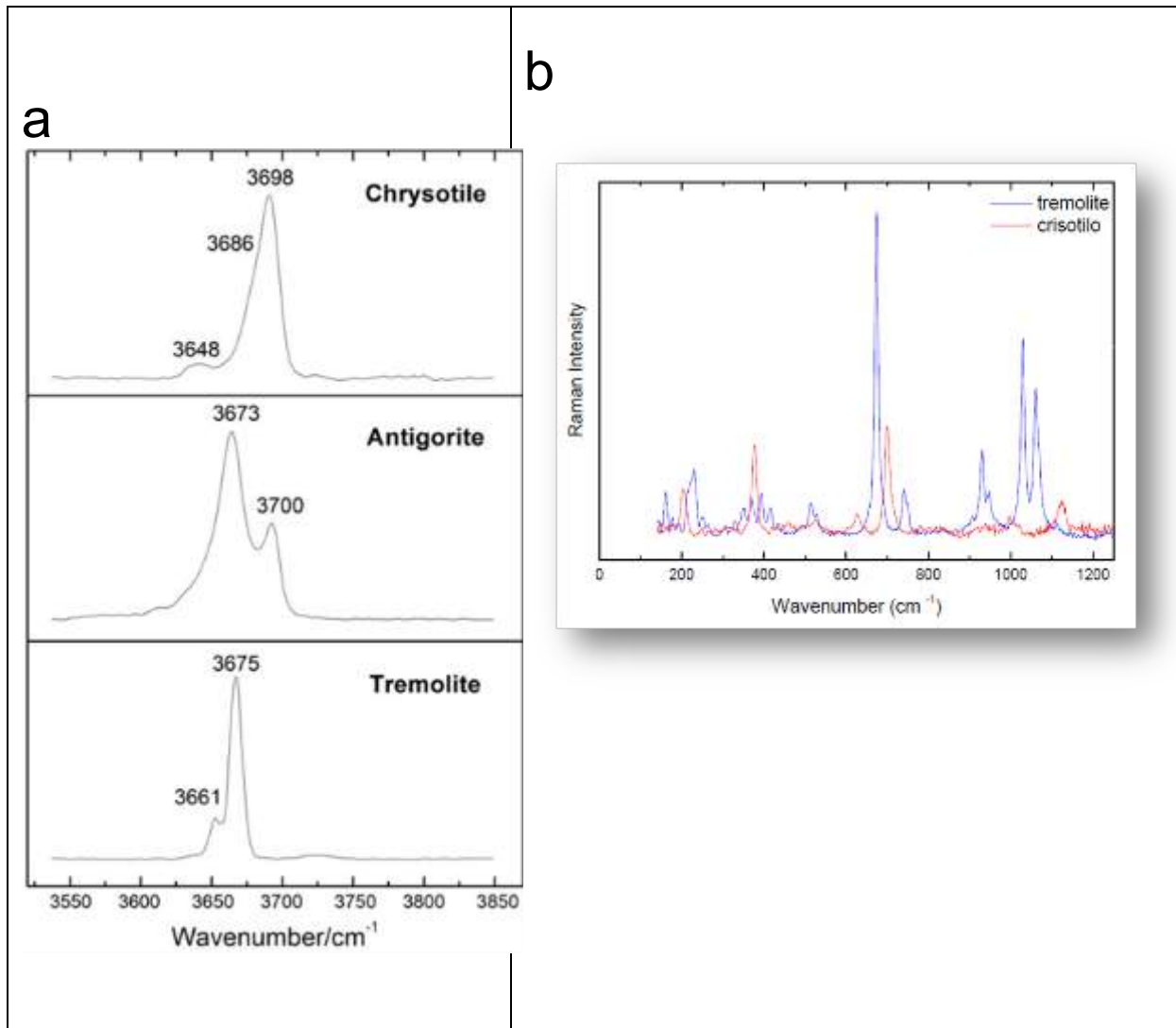


Figure 17 : Bandes de vibration en spectroscopie Raman, permettant de discriminer a) les polymorphes des serpentines via les spectres des hydroxyles, b) les serpentines et les amphiboles (exemple : chrysotile et trémolite) via les spectres principaux, (Petriglieri et al. 2015 ; Rapport master Serena Gnappi 2015)

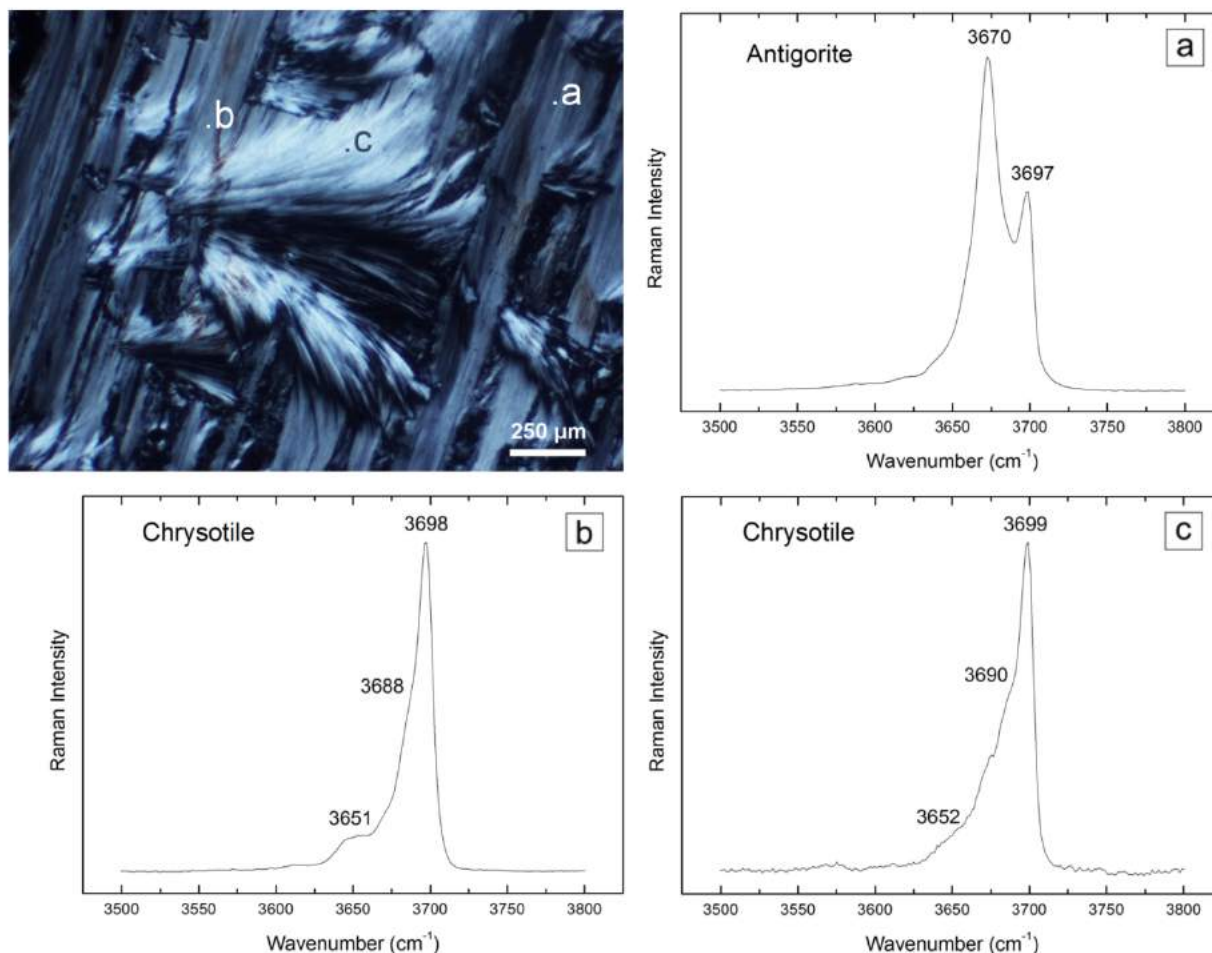


Figure 18 : Exemple de mesure en micro-spectrométrie Raman : échantillon 30A1; en haut à gauche : lame mince en lumière polarisée et analysée (polariseurs croisés), avec localisation des points de mesure ; a, b et c représentent les résultats des mesures en micro-spectrométrie Raman (mesures Jasmine Rita Petriglieri).

3.1.3. COMPARAISON DES RESULTATS D'IDENTIFICATION DES MINERAUX D'AMIANTE, OBTENUS PAR LES DIFFERENTES METHODES ANALYTIQUES ET ISSUS DE L'UTILISATION DE LA NOMENCLATURE SUIVIE PAR LES PROFESSIONNELS DE LA MINE.

Les identifications des minéraux asbestiformes acquises par l'utilisation de la nomenclature descriptive utilisée sur site minier et celles obtenues par l'utilisation des différentes techniques analytiques décrites précédemment, ne fournissent les mêmes réponses que pour 16 échantillons, sur 47 étudiés. Dans la majorité des cas, la divergence des résultats provient de l'identification d'une seule minéralogie par la méthode descriptive de terrain, alors que les analyses révèlent des mélanges minéralogiques. L'exemple le plus fréquent est l'identification d'antigorite à l'affleurement alors que les données par DRX et spectrométrie Raman portable identifient un mélange d'antigorite et de chrysotile. Cependant, ces différences dans l'identification des phases minérales asbestiformes concernent également les échantillons reconnus comme de la trémolite sur le terrain. Ils correspondent d'après les

données par méthodes analytiques à un mélange de trémolite et de serpentines. Quatre échantillons de minéraux asbestiformes ont montré deux minéralogies complètement différentes entre les identifications de terrain et celles issues des méthodes analytiques (Tableau 2).

Tableau 2 : Echantillons de minéraux asbestiformes dont l'identification minéralogique, in situ, est différente de l'identification analytique.

Label	Numéro	Identification terrain	Degré d'altération	Identification analytique
23-Tontouta-Module1-Atg1	23	Antigorite	#1	Chrysotile
33-Tontouta-module1-Atg1	33	Antigorite	#1	Chrysotile
38-Kouaoua-Fosse-Trem2?-Nephrite	38	Trémolite	#2	Antigorite & Chrysotile
48-Kouaoua-Fosse-Trem2?	48	Trémolite	#2	Antigorite

Il faut noter que ces incohérences d'interprétation ne concernent pas exclusivement un degré d'altération élevé ou particulier. En effet, la nomenclature de terrain étant basée sur une méthode descriptive, il pouvait être envisagé que l'altération croissante rende l'observation plus difficile et l'interprétation plus ambiguë. Il semble donc que les catégories définies par la nomenclature utilisée en secteur minier ne permettent pas de rendre compte de la diversité des morphologies, couleurs...ou autre paramètres de description des minéraux asbestiformes. Les photographies de la figure 19 montrent l'échantillon 33A1, tel que prélevé sur le terrain. Si la nomenclature utilisée sur mine est appliquée, elle conclue à l'identification d'antigorite de degré d'altération#1 (morphologie lamellaire, cohésion relativement forte, couleur verdâtre...). Cependant, les analyses par DRX et spectrométrie Raman portable de cet échantillon révèlent sans ambiguïté qu'il s'agit d'un échantillon de chrysotile « pur ». Les échantillons de chrysotile possèdent donc une grande diversité de morphologie qui ne laisse pas systématiquement apparaître son aspect fibreux caractéristique.

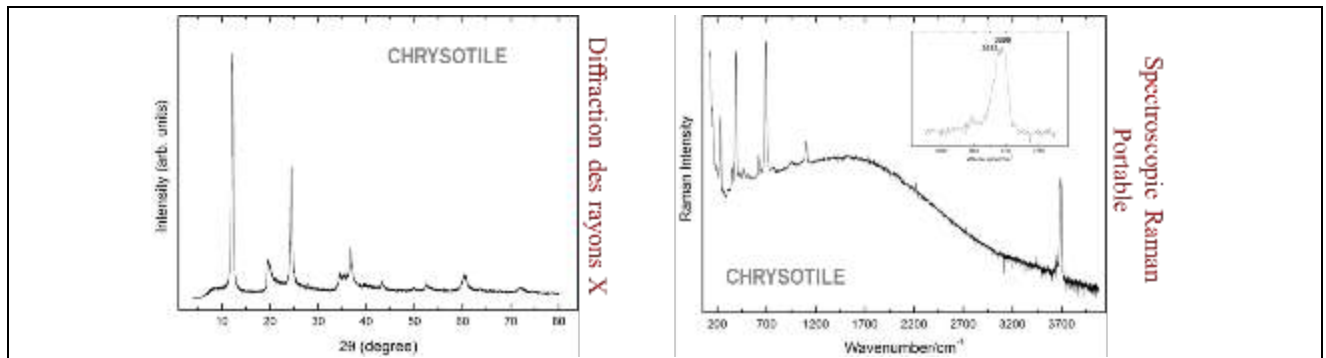


Figure 19 : Echantillon 33A1, reconnu dans la classification minière comme antigorite de degré d'altération 1 mais identifié comme chrysotile par les méthodes analytiques. Sont reportées d'une part les photos de l'échantillon, la flèche rouge souligne la présence de lamelles jugées caractéristiques de l'antigorite ; et d'autre part, le diffractogramme et les résultats de spectroscopie Raman du même échantillon, qui identifient clairement du Chrysotile.

La nomenclature descriptive utilisée sur mine qualifie également le degré d'altération des minéraux asbestiformes. Aucun minéral n'est qualifié de « non altéré » dans cette nomenclature mais le degré d'altération#1 est décrit comme « ne se délitant pas ou très peu ». Or les images par microscopie électronique à balayage des échantillons de minéraux asbestiformes de degré d'altération #1 réalisées dans le programme ABP montrent que des fibrilles sont déjà présentes, sans qu'il y ait eu de contrainte mécanique au cours de la manipulation (Figure 20). Il va donc être difficile de se référer à l'aspect macroscopique d'un échantillon pour évaluer sa capacité à émettre des fibres de taille inhalable et donc potentiellement pathogènes.

Il apparaît donc indispensable de pouvoir disposer sur le terrain d'une technique analytique qui permette d'évaluer la morphologie et la taille des fibres des minéraux asbestiformes, pour pouvoir progresser dans l'estimation du risque encouru. C'est d'autant plus vrai que les images MEB réalisées semblent indiquer que les morphologies des fibres émises ne sont pas obligatoirement liées à une seule minéralogie de minéraux asbestiformes (Figure 21).

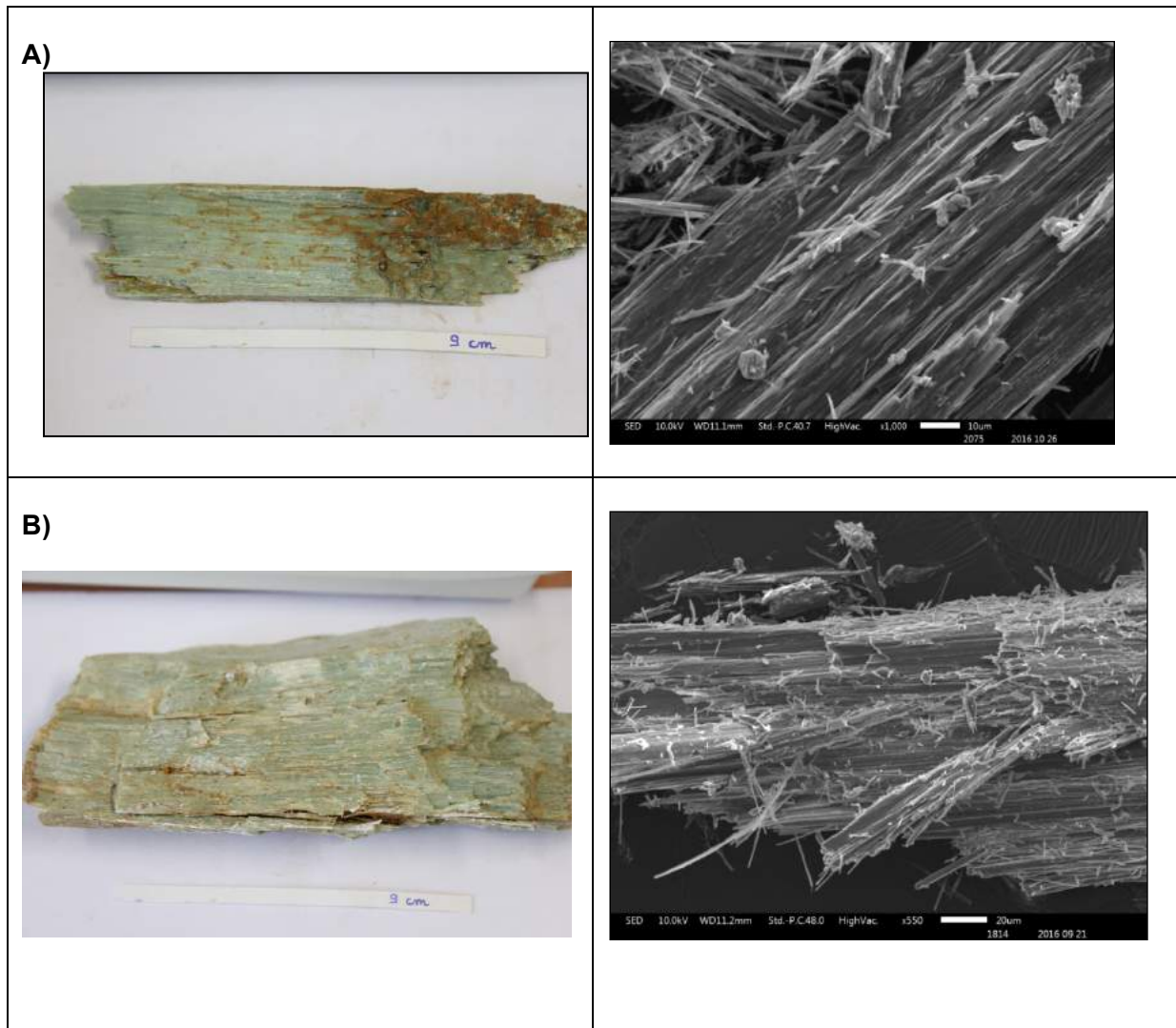
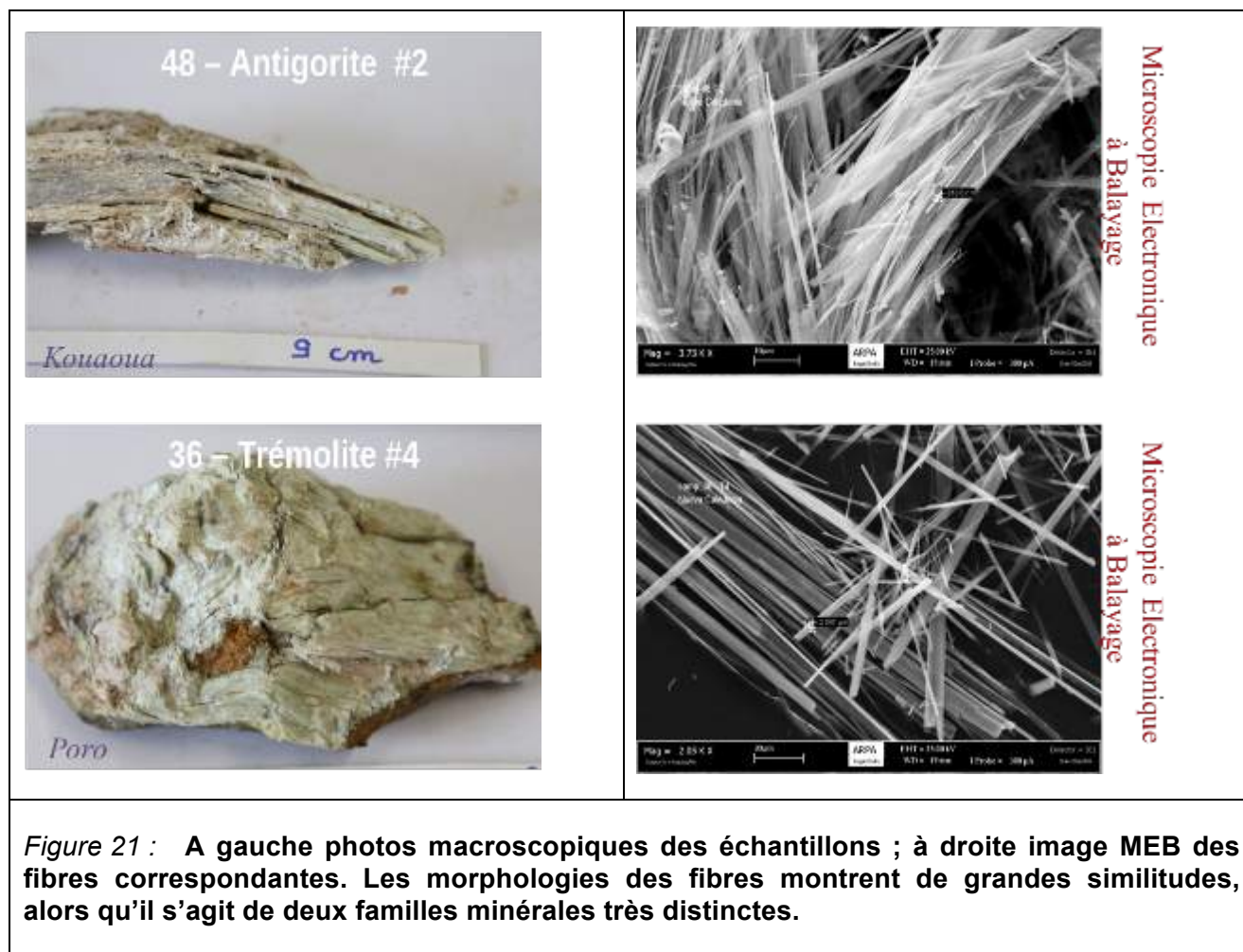


Figure 20 : Pour chaque échantillon : à gauche photographie de l'échantillon, qualifié de degré d'altération #1 et d'apparence très cohésif. A droite, une image MEB du même échantillon qui montre la présence de fibres de petites tailles individualisées.
A) échantillon 13A1 ; B) échantillon 41T1



3.1.4. PROPOSITION D'UNE METHODE ANALYTIQUE DE TERRAIN : LA SPECTROMETRIE RAMAN PORTABLE

Pour qu'une méthode analytique soit efficacement transposable sur mine, il faut que :

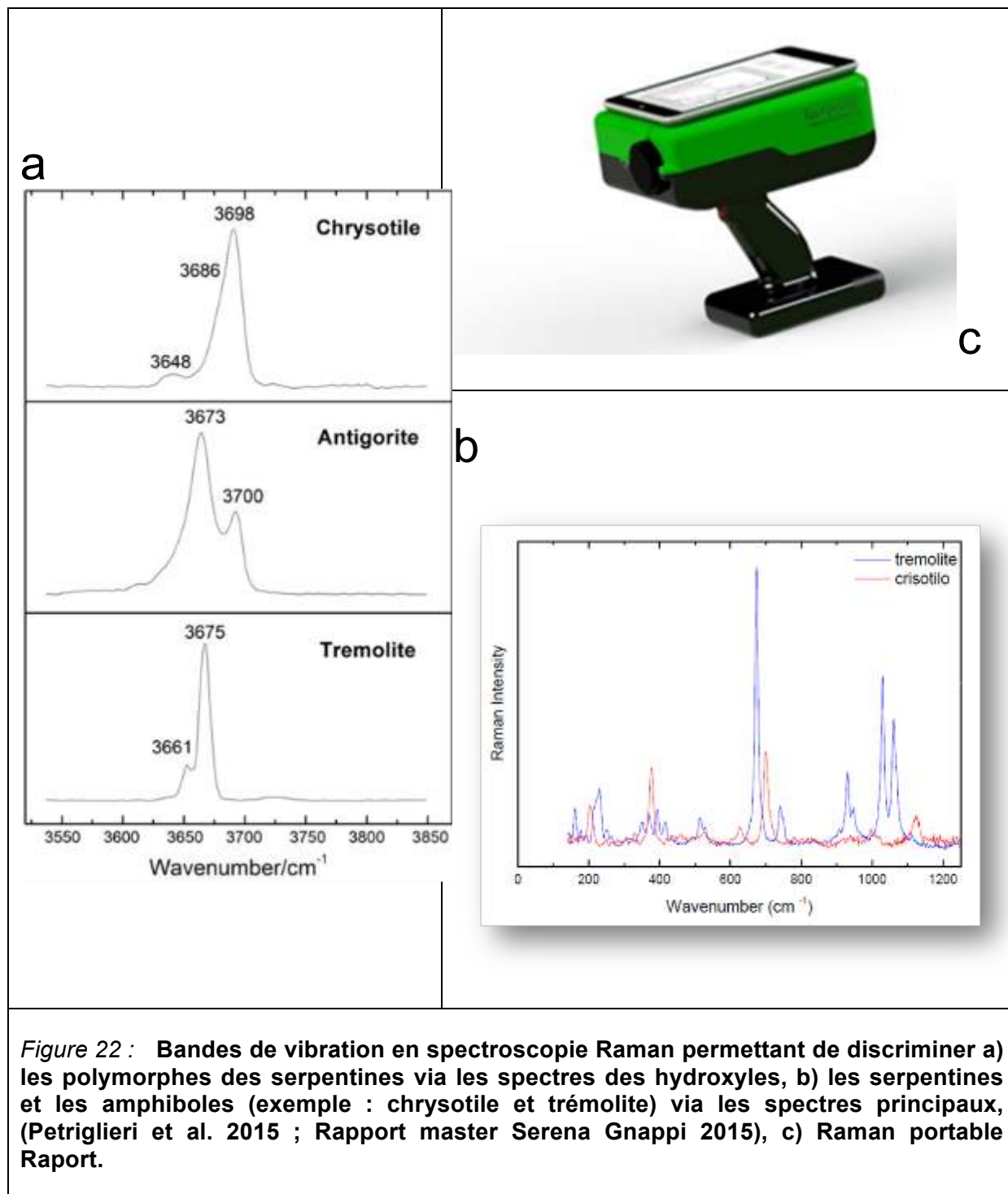
- les appareils de mesure soient facilement transportables, et robustes (forte température, humidité, poussière, bonne capacité des batteries...)
- les acquisitions soient rapides et ne demandent pas une forte expertise de l'utilisateur (équipements de protections impossibles à conserver sur un temps long ; si la mesure et l'interprétation sont dépendantes de la forte expertise de l'utilisateur, cela peut entraîner une grande variabilité des résultats et limiter les personnes utilisatrices ; nécessité de vérifier la reproductibilité des résultats en multipliant les analyses...)
- la méthode d'analyse nécessite un minimum de manipulations des échantillons d'asbeste. Plus il y a manipulation et plus le risque qu'exposition est augmenté
- l'analyse puisse se faire sur un échantillon brut (sans préparation), de petite taille, facilement prélevable

Pour qu'une méthode analytique de détermination de la minéralogie soit adaptée à l'analyse des minéraux asbestiformes et particulièrement à ceux présents sur site minier, il faut qu'elle puisse discriminer sans difficulté les serpentines entre elles. Chacun de ces minéraux ne présentant pas forcément la même toxicité.

La spectrométrie Raman portable est une méthode analytique de détermination des phases minérales, dont les asbestes, qui semble répondre aux exigences de l'analyse sur le terrain.

Récemment, grâce à la miniaturisation du spectromètre, des instruments Raman portables ont vu le jour, avec une relativement bonne résolution analytique, de quelques cm^{-1} et une résolution spatiale de 0.5 mm. Ces paramètres sont compatibles avec des mesures sur le terrain fiables et satisfaisantes. Fait non négligeable, ces appareils portables demeurent d'un prix d'achat raisonnable de 20/30000 euros. Enfin le protocole d'analyse est très simple et ne nécessite pas une formation très poussée ou des qualifications supérieures. L'ensemble de ces atouts a guidé le choix de la spectrométrie Raman portable comme méthode analytique de caractérisation minéralogique des asbestes sur site minier.

L'utilisation de la spectrométrie Raman portable pour l'identification des fibres amiantifères est très récente. À notre connaissance, il n'existe d'ailleurs pas, dans la littérature, d'étude comparative des résultats obtenus par les deux techniques de spectrométrie Raman portable et de laboratoire pour l'identification de la minéralogie des minéraux fibreux. Par conséquent, très peu de données sont disponibles pour établir une comparaison avec celles acquises au sein du projet ABP. Tous les échantillons de minéraux asbestiformes, néo-calédoniens ou italiens, ont été analysés en utilisant un spectromètre Raman portable, puis en complément et pour comparaison, quelques échantillons ont fait l'objet d'analyses supplémentaires par spectrométrie Raman classique de laboratoire, à l'université de Parme.



Nous rappelons que les analyses par spectrométrie Raman, en laboratoire ou sur le terrain, permettent de discriminer très facilement les serpentines, antigorite ou chrysotile, de toutes les amiantes de la famille des amphiboles. Les émissions principales sont suffisamment différentes pour ces deux familles minérales. Entre les serpentines et les amphiboles, les spectres Raman sont très différents dans les émissions principales (Figure 22b), et la différenciation de ces familles minérales repose sur les signatures distinctes des bandes de vibration (entre 200 et 1000 cm⁻¹). De plus, il existe un critère discriminant permettant

d'identifier les différentes serpentines, qui est la position des bandes des groupements hydroxylés situées de 3600 à 3800 wavenumber/cm⁻¹ (Figure 22a, Petriglieri et al., 2015).

3.1.4.1. Mesures en spectrométrie Raman portable réalisées sur sites miniers

Dans le cadre du programme ABP, le modèle Raman portable « Raport » a été choisi pour nos tests in situ et en laboratoire, car il permet une acquisition simultanée de 100 à 4000 cm⁻¹, ce qui autorise la détermination des modes vibrationnels des hydroxyles (Figure 22c). Son émission laser possède une fréquence de 532 cm⁻¹ (vert). Or, le laser à fréquence verte ne provoque pas de transitions électroniques dans les types de matériaux étudiés, et la fluorescence, qui cache les émissions des vibrations moléculaires, est réduite.

Les tests ont été réalisés sur les minéraux fibreux en utilisant la spectroscopie Raman portable en laboratoire puis sur le terrain (Italie et Nouvelle-Calédonie, Figure 23).

En Italie, l'identification de la minéralogie des échantillons asbestiformes de Balangero a été obtenue par spectrométrie Raman portable pour 33 échantillons sur les 37 analysés. En complément des phases minérales de serpentine, du diopside fibreux, de la chlorite et de la balangérite, elle aussi fibreuse, ont été caractérisés. Les échantillons dont les minéralogies n'ont pas pu être déterminées par cette technique, provoquaient une trop forte fluorescence, ce qui impliquait la disparition des pics les plus forts (Figure 24).



Figure 23 : Exemple d'acquisition des données in situ, par spectrométrie Raman Portable

En Nouvelle Calédonie, des mesures par spectroscopie Raman portable sur les affleurements miniers ont été réalisées en décembre 2016 (sites miniers de la Tontouta et d'Opoue, société Montagnat et SLN). Sur les 30 analyses réalisées, la minéralogie de 20 échantillons a pu être déterminée. Ces mesures ont permis d'identifier à l'affleurement du

chrysotile, de l'antigorite, de la saponite, issue de l'altération des serpentines et, pour certains échantillons, la coexistence de chrysotile et d'antigorite.

En totalité donc sur les 67 analyses réalisées par spectrométrie Raman portable, sur mine, 80% ont permis de déterminer la minéralogie des minéraux asbestiformes.

En laboratoire, les analyses par spectrométrie Raman portable ont permis de déterminer la minéralogie de 41/47 échantillons (Figure 24). Les 41 déterminations minéralogiques obtenues ont également été confirmées par les analyses par DRX. Dans les 6 cas où l'analyse par spectrométrie Raman portable n'a pas été probante, une fluorescence importante a été observée, ce qui masquait les pics principaux des hydroxyyles.

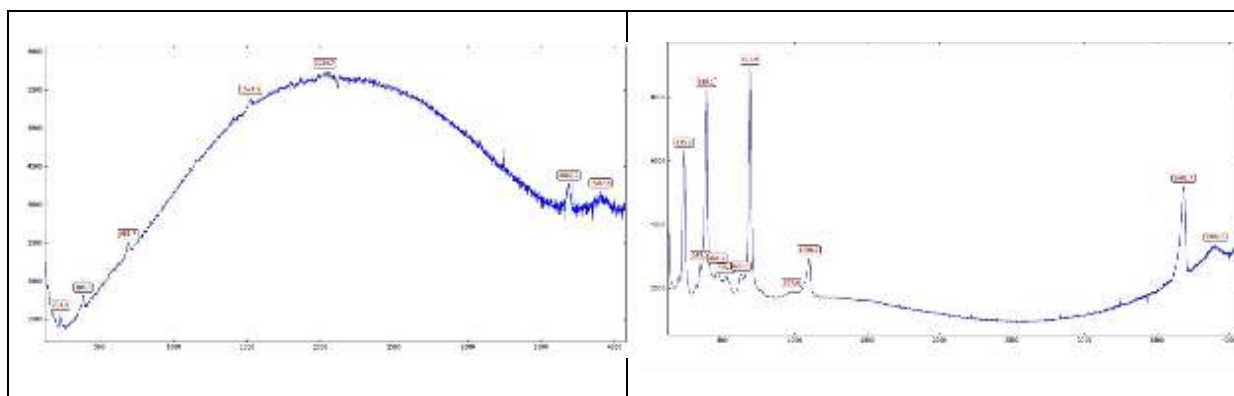


Figure 24 : Exemple d'analyses par spectrométrie Raman portable.

A gauche : une mesure sur antigorite que le spectre de spectrométrie Raman portable ne permet pas d'identification. A droite, l'exemple d'un spectre de Raman portable discriminant, mesuré sur du chrysotile, prélevé en Nouvelle-Calédonie

3.1.4.2. Comparaison des identifications par appareil RAMAN de laboratoire et portable

La résolution analytique du spectromètre Raman portable de 0.5 mm (soit 500 μm) est inférieure à celle du spectromètre Raman classique de laboratoire, qui est latéralement de 1 μm . Afin de tester les capacités de la spectrométrie Raman portable, les analyses ont été partiellement doublées par de la spectrométrie Raman classique de laboratoire. Cette précaution était nécessaire puisqu'aucune donnée préalable de spectrométrie Raman portable, pour l'identification des minéraux asbestiformes, n'était disponible dans la littérature scientifique. Les essais de spectrométrie Raman portable que nous avons réalisés sur nos échantillons, ont rapidement montré que la résolution de 0.5mm était suffisante pour déterminer la minéralogie des asbestes. Il n'est donc pas apparu nécessaire de faire un doublon systématique des données obtenues par l'appareil portable avec celles de l'appareil de laboratoire.

L'avantage majeur de la spectrométrie Raman portable par rapport à celle de plus haute précision menée en laboratoire, est une vitesse d'acquisition plus rapide, puisqu'une seule mesure permet d'accéder simultanément aux vibrations des hydroxyyles et des silicates, ainsi que l'absence de préparation de l'échantillon avant analyse.

Les échantillons 18A2 et 33A1 ont fait l'objet d'une double analyse en spectrométrie Raman de laboratoire et portable. En effet, les résultats acquis par l'utilisation de la spectrométrie portable laissent un doute quant à l'identification de leur minéralogie. La figure 25 montre les spectres obtenus par l'utilisation de ces deux techniques sur l'échantillon 18A2. Les spectres à petites longueurs d'onde sont légèrement différents, avec une fluorescence plus forte pour les données Raman de laboratoire. Ces variations s'expliquent par la différence de rayonnement, bleu (488 cm^{-1}) pour l'appareil de laboratoire et vert (532 cm^{-1}) pour l'appareil portable. Indépendamment de cette légère différence, le Raman portable fournit des spectres de résolution équivalente à celle du Raman de laboratoire.

La différence de résolution entre les deux types de mesures ressort fortement dans les fréquences des groupes hydroxylés, comprises dans l'intervalle $3500\text{-}3800\text{ cm}^{-1}$ (Figure 25). La résolution de l'appareil de laboratoire est supérieure. Cependant, le niveau de résolution du spectromètre Raman portable est suffisant pour différencier les serpentines entre elles et identifier dans cet exemple la présence d'antigorite. Cette comparaison confirme que le spectromètre Raman portable répond pleinement aux exigences requises pour l'analyse en routine, des minéralogies des asbestes calédoniens, directement à l'affleurement, sur mine. Les serpentines présentant des toxicités différentes (Cf. tâche 3), la lizardite étant par exemple non pathogène, il apparaît important de pouvoir assurer leur identification minéralogique de façon rigoureuse mais néanmoins rapide, par l'approche analytique de terrain.

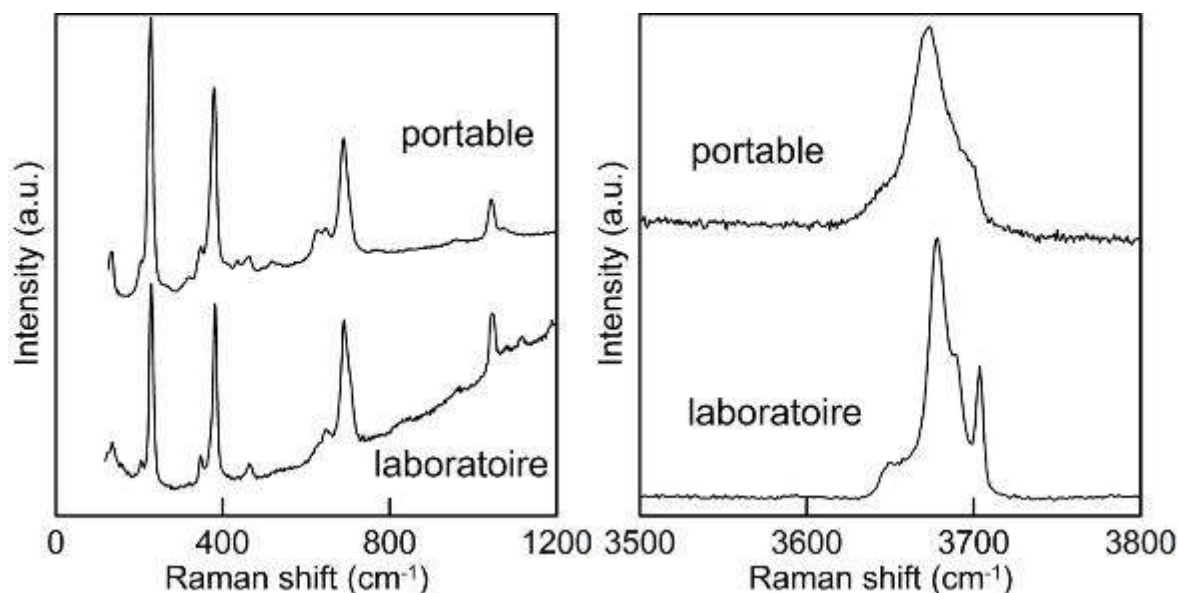


Figure 25 : Comparaison entre les spectres Raman portable et Raman de laboratoire de l'échantillon 18A1, antigorite, niveau d'altération#1

3.1.5. EVALUATION DE L'INFLUENCE D'UNE ALTERATION CROISSANTE SUR LES RESULTATS ANALYTIQUES PERMETTANT L'IDENTIFICATION DES MINERAUX ASBESTIFORMES »

Les minéraux asbestiformes calédoniens se classent, à l'affleurement dans des niveaux d'altération très différents (#1 à #4). L'altération exogène des asbestes est susceptible de modifier la réponse analytique. Il était donc nécessaire de tester son impact éventuel sur les analyses minéralogiques.

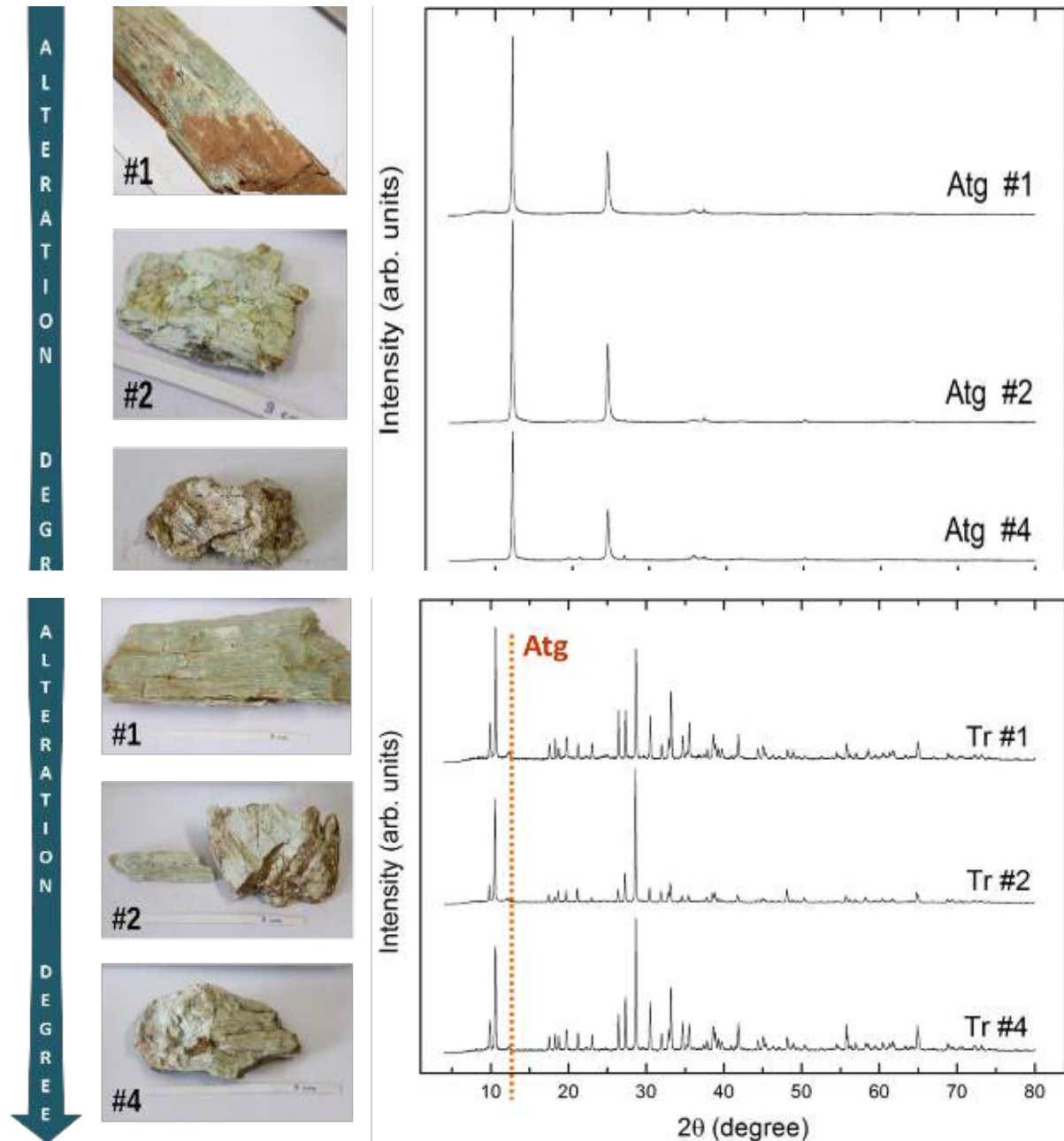


Figure 26 : Diffractogrammes obtenus à partir de minéraux d'antigorite (en haute) et de trémolite (en bas) pour des niveaux d'altération croissants (#1 à #4)

La stabilité de la réponse analytique en fonction d'un degré d'altération croissant a, en premier lieu, été testé sur la méthode de diffraction des rayons X. Il ne semble pas que l'altération modifie de façon significative, ni l'emplacement des pics, ni leur intensité ou leur morphologie. La technique de DRX pourrait donc être utilisée pour l'identification des minéraux asbestiformes, quel que soit leur degré d'altération (Figure 26). L'avantage de la diffraction de Rayon X est que l'échantillon est broyé sous forme de poudre avant l'analyse. Ainsi, quel que soit le niveau d'altération des minéraux asbestiformes, l'échantillon se présentera toujours sous forme de poudre, ce qui ne provoque pas un biais lors de l'acquisition.

Les diffractogrammes des minéraux de type amiante restant les mêmes quel que soit le niveau d'altération, il apparaît donc que l'altération exogène ne modifie pas la structure des minéraux asbestiformes et ce malgré son impact très important sur la morphologie, la coloration et la cohésion des échantillons.

Pour obtenir une mesure de qualité par spectrométrie Raman, il est important que le faisceau laser soit appliqué sur une surface plane. Cette nécessité peut poser problème pour les échantillons les plus altérés qui se délitent en amalgames de fibres de largeurs variables et dont les surfaces ne sont pas régulières (Figure 27).

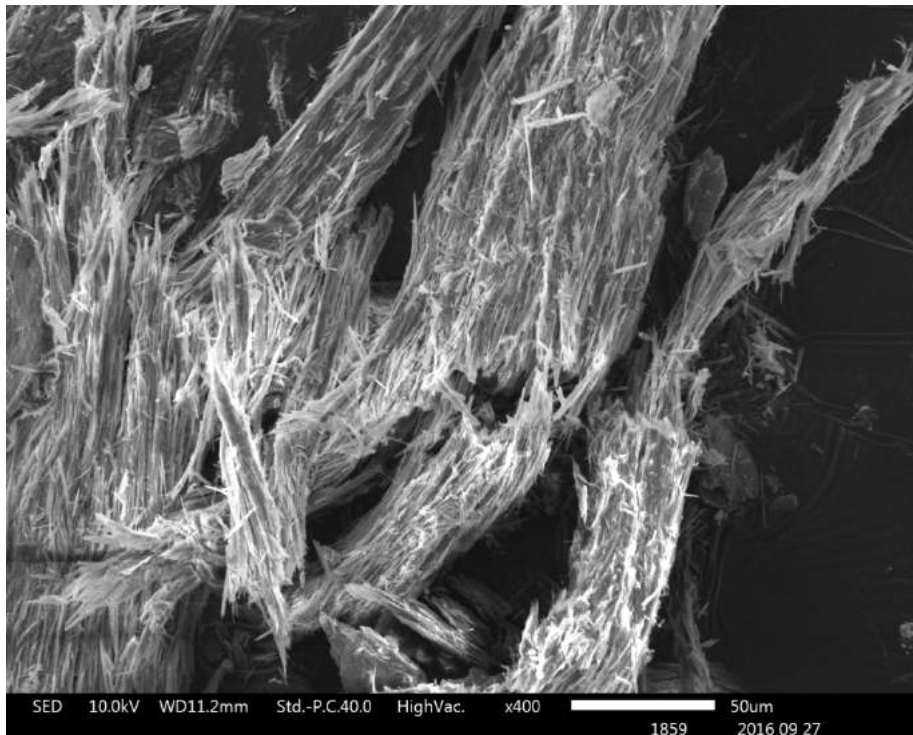


Figure 27 : Image par microscopie électronique à balayage de l'échantillon 1A4, antigorite de niveau d'altération#4.

Cependant, malgré la perte de cohésion des échantillons altérés et l'hétérogénéité de leur surface, les mesures réalisées par spectrométrie Raman portable demeurent performantes pour l'identification de leur minéralogie (Figure 28)

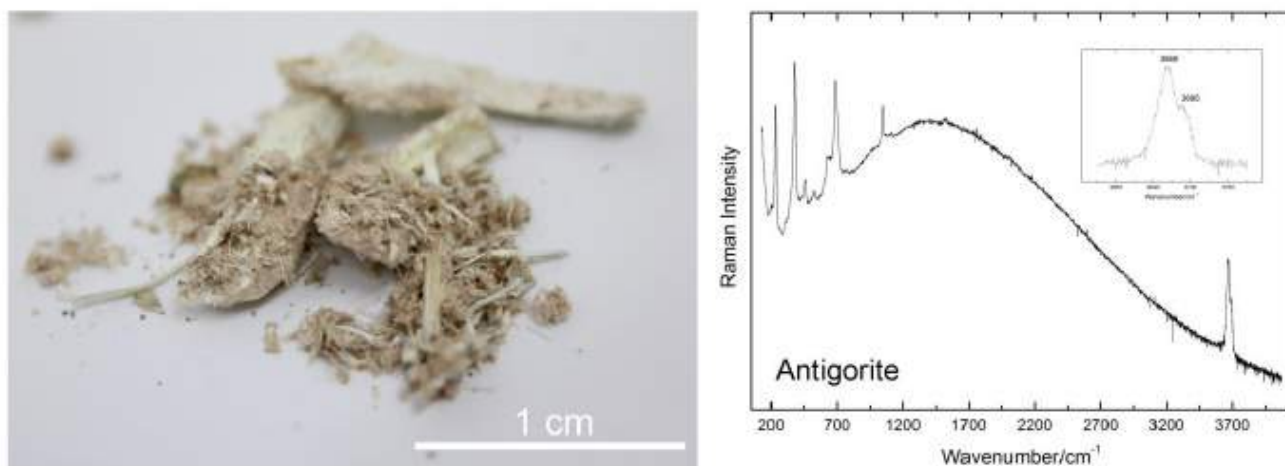


Figure 28 : Identification de la minéralogie d'une antigorite très altérée par spectrométrie Raman portable. Exemple de l'échantillon 15A4 (Petriglieri, 2017)

Ces résultats confirment que l'altération de surface, essentiellement par lessivage, des minéraux asbestiformes calédoniens ne modifie pas de façon significative leur structure minéralogique. Ces conclusions sont relativement inattendues face aux modifications importantes apportées par l'altération sur l'aspect et les propriétés cohésives des minéraux altérés à l'échelle macroscopique.

Les techniques de microscopie optique ou électronique permettent des observations à des échelles suffisamment réduites, à l'échelle de la fibre, pour que les analyses ne soient pas perturbées par l'altération exogène des minéraux de type amiante comme le montre l'exemple de la figure 27.

3.1.6. COMPARAISON DES DIFFERENTES METHODES ANALYTIQUES : AVANTAGES ET INCONVENIENTS

L'identification minéralogique des mêmes échantillons par plusieurs techniques fournit une première base de données permettant de comparer leurs performances relatives (Cf. annexe 2).

La **diffraction des Rayons X** est une technique d'analyse minéralogique très performante pour des échantillons asbestiformes monocristallins ou de minéralogie peu complexe. Cette méthode analytique est cependant assez peu performante pour distinguer les différentes serpentines.

Les mélanges dans des proportions contrôlées du chrysotile standard international et d'une antigorite de référence de Val Susa (Italie) ont été réalisés afin de tester la capacité d'identification des serpentines par DRX. Ces tests montrent que le chrysotile n'est identifié que s'il représente à minima 20% du mélange binaire de serpentines (Figure 29). Dans le cas de coexistences de chrysotile et d'antigorite, il est fréquent que le plus grand pouvoir de diffraction de l'antigorite masque la présence de chrysotile. Des tests similaires devaient être réalisés à partir de mélanges minéralogiques de serpentines/latérites et de serpentines/saprolites. Cependant les analyses par DRX des latérites et saprolites « pures », dont nous disposons, ont démontré la présence initiale de serpentines, ce qui a rendu

caduque leur utilisation pour déterminer les limites de détection des DRX, les mélanges ne concernant plus des pôles purs.

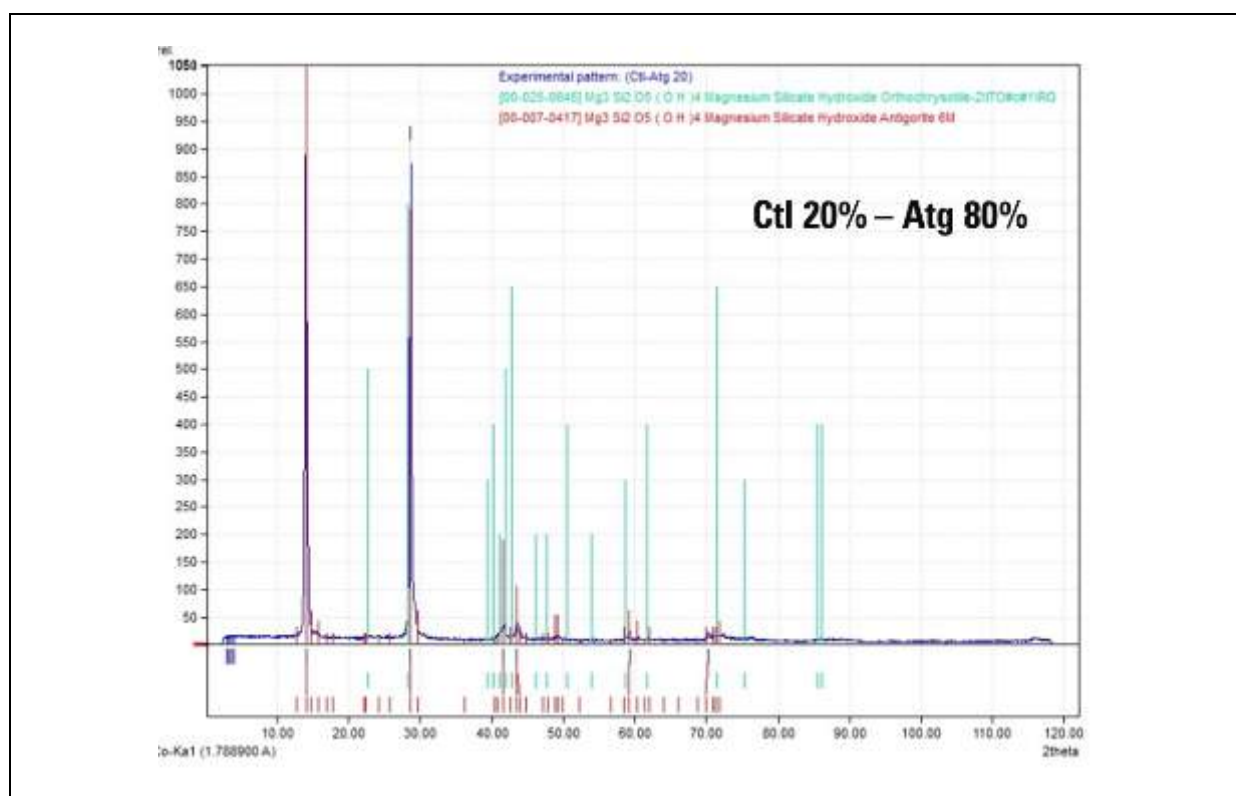


Figure 29 : Limite de détection par diffraction des rayons X, du chrysotile dans un mélange binaire avec l’antigorite.

Du point de vue de l'évaluation du risque sanitaire et de la protection des travailleurs, il apparaît donc que les minerais contiennent des minéraux de serpentines. Ce n'est pas forcément surprenant si on considère qu'elles résultent de l'hydratation des olivines et des pyroxènes qui composent les péridotites de la lithosphère océanique. Les saprolites présentent une composition minéralogique homogène, constituée de serpentine, probablement de l'antigorite, de quartz et de talc. Les latérites possèdent une composition minéralogique plus hétérogène. Les spectres DRX révèlent la présence commune de goéthite (Latérite A et B), mais avec présence secondaire de gibbsite pour la Latérite A, et d'une grande variété de silicates, riches en Ni tels que serpentine, talc, chlorite et smectite pour la Latérite B. Cependant, ce qui mérite une plus grande attention est la présence de forme fibreuse de chrysotile et d'antigorite dans les minerais latéritiques.

La quantification et l'étude morphologique des fibres identifiées par imagerie électronique à balayage dans les minerais latéritiques n'ont pas été réalisées, ce qui est un préalable à toute confirmation d'un risque d'exposition des voies respiratoires (Figure 30 et 31). Ce qui apparaît évident à travers cet exemple est que si l'analyse DRX peut permettre d'identifier la présence de minéraux connus comme étant amiantifères, elle ne donne aucune information sur le caractère fibreux de ces minéraux, paramètre très important pour définir les propriétés de toxicité.

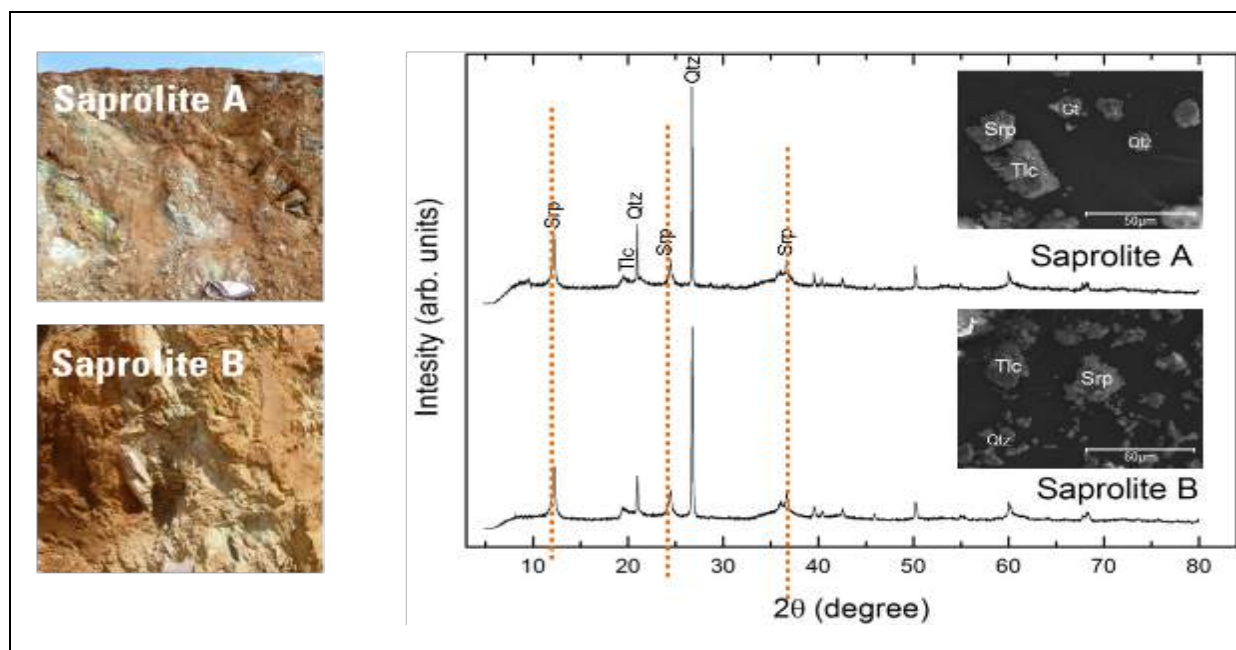


Figure 30 : Différents échantillons de saprolite, DRX et observation MEB correspondants.

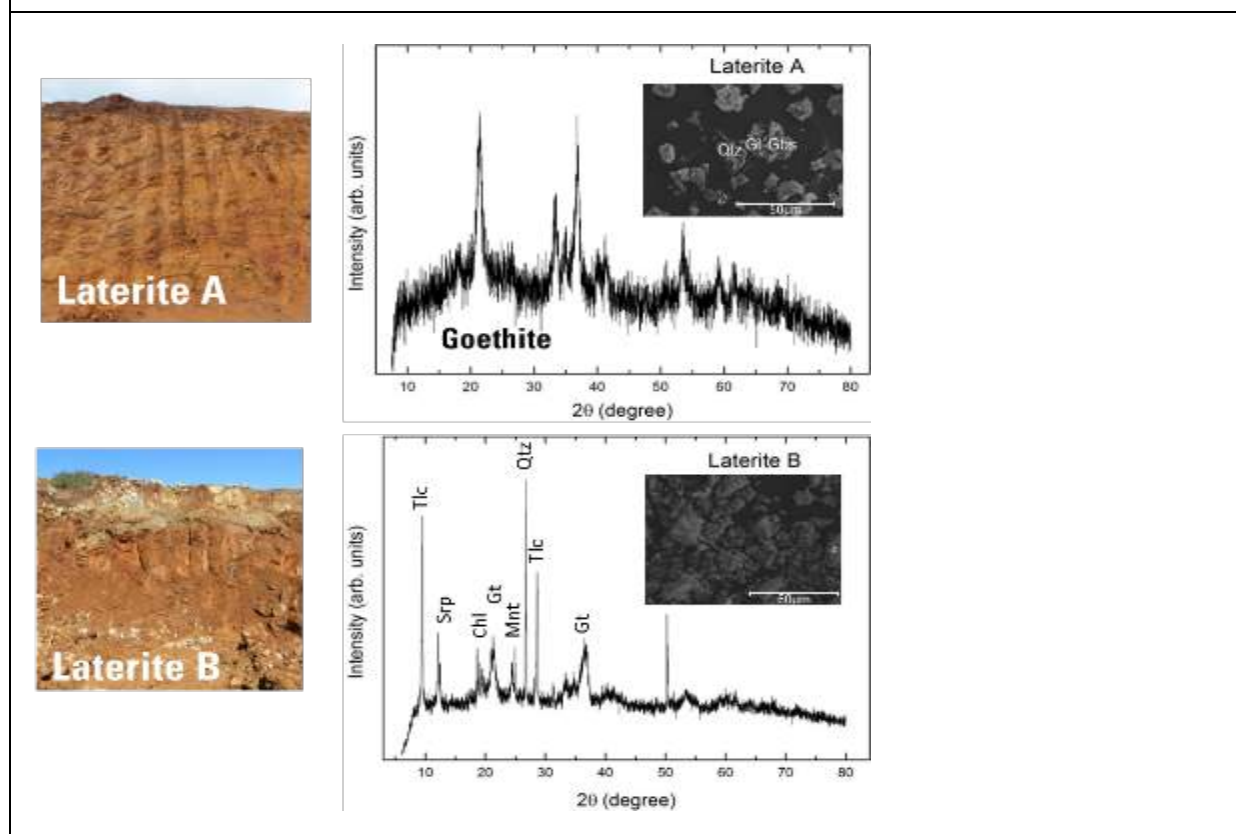


Figure 31 : Différents échantillons de latérite, DRX et observation MEB correspondants. Les analyses MEB-EDS révèlent la présence de fibres de la famille des serpentines dans les sols latéritiques

L'interprétation des diffractogrammes, qui est assez simple, si l'assemblage minéral est homogène et qu'une phase minérale est dominante, peut devenir très complexe et demander une grande expertise en minéralogie et cristallographie si plusieurs phases cohabitent. Enfin, cette technique demande une réduction en poudre préalable des échantillons ce qui est fortement contraignant en terme de protocole HSE pour les roches amiantifères. L'utilisation de chambre de vibration, comme il est proposé sur des équipements DRX portable, pourrait permettre d'éviter le broyage, mais ce dispositif n'a pas été testé sur des minéraux de type amiante à notre connaissance. Le temps d'acquisition du spectre peut être également relativement long s'il est nécessaire de s'affranchir d'un bruit de fonds élevé.

Le **Raman portable** est au contraire un instrument de terrain. La spectrométrie Raman est une méthode rapide et simple à l'usage. Cependant cette étude a permis d'identifier certaines limites :

1) il est nécessaire de maintenir l'échantillon au contact du spectromètre portable, la mesure ne pouvant pas être réalisée à distance. Les tests réalisés ont également montré que les mesures sur poudre ou sur des échantillons à surface irrégulière provoquent de la fluorescence, ce qui affecte la qualité de la donnée. Il faudra donc chercher l'échantillon de l'affleurement présentant des surfaces adaptées à la mesure.

2) pour obtenir des spectres de qualité suffisante, il faut un temps d'analyse compris entre 30 et 60 secondes. C'est relativement rapide, mais il est absolument nécessaire de ne pas bouger le spectromètre Raman ou l'échantillon dans ce laps de temps. Suivant les conditions de terrain, cela peut devenir contraignant.

3) La plus grande difficulté toutefois ne provient pas de la méthode analytique ou du protocole de mesure associé, mais du port des EPI nécessaires à la protection des manipulateurs face à l'affleurement de minéraux potentiellement amiantifères. Les EPI classiques sont, par définition, les plus hermétiques possibles, et empêchent les transferts d'air, nécessaires à l'organisme pour lutter efficacement contre le réchauffement corporel. Sous climat tropical chaud, comme en Nouvelle-Calédonie, cela occasionne très rapidement des malaises liés à la chaleur (d'après nos expériences au bout de 20 min maximum). Cependant cette contrainte est vraie pour tout déplacement en zone potentiellement amiantifère, en Nouvelle-Calédonie.

Enfin, en comparaison avec le DRX, la spectrométrie Raman portable fournit un résultat d'analyse très ponctuel et il va être nécessaire de multiplier les points d'analyse pour obtenir une bonne représentativité de la minéralogie d'un affleurement.

La **microscopie optique en lumière polarisée et en contraste** de phase (MOLP-CP), est une méthode d'identification des fibres, à la fois minéralogique et morphologique. Elle permet une description des fibres de diamètre supérieur à 0,2 μm , pour des tailles inférieures seul la microscopie électronique à transmission (MET) est utilisable (INRS, 2011). Cette technique est peu exigeante en matière d'environnement de travail et est reconnue comme méthodologie de comptage du nombre de fibres (Norme AFNOR X 43-269). Les travaux réalisés par Petriglieri, 2017, en collaboration avec Mme Orietta Sala, membre de l'Agence de la Protection de l'Environnement de Reggio Emilia (Italie), ont permis l'identification de la valeur de l'indice permettant la reconnaissance de l'antigorite, jusque-là non disponible dans la littérature scientifique. L'analyse MOLP-CP nous semble réalisable sur site minier, moyennant l'aménagement d'un simple container dédié. Elle permettrait d'apporter une réponse rapide sur la présence de fibre dans les échantillons d'intérêts, et représente un complément nécessaire aux données d'analyse de la minéralogie des

asbestes à l'affleurement. Il s'agit d'identifier in situ, sur site minier, les échantillons appartenant aux asbestes, et de pouvoir analyser les fibres associées afin d'établir une première approximation du risque d'exposition. Cette méthodologie a ses limites, notamment en terme de description des fibres de diamètre inférieur à 0,2µm, mais elle pourrait permettre, pour certains affleurements, une meilleure réactivité pour le déclenchement des plans de prévention sur site minier. Cette méthodologie demande également une formation spécifique des techniciens en charge de l'analyse.

3.1.7. RECOMMANDATIONS PRATIQUES : PROPOSITION DE PROCEDURE POUR UNE IDENTIFICATION PLUS RAPIDE DES ASBESTES ET PERSPECTIVES

L'objectif du projet Amiante et Bonnes Pratiques, était de fournir de nouvelles données sur les minéraux asbestiformes présents sur sites miniers afin de proposer des pistes d'amélioration des bonnes pratiques de prévention et de gestion des minéraux asbestiformes. Il s'agit d'améliorer l'évaluation du risque amiante sur sites miniers.

Dans ce cadre l'équipe scientifique de Parme a eu pour objectif de déterminer les avantages/inconvénients et les limites de détection de différentes méthodes et appareils utilisés pour l'identification des asbestes présents sur secteur minier en Nouvelle-Calédonie.

L'identification de la minéralogie des amiantes doit être : 1) simple ; 2) rapide ; 3) adaptée aux contraintes des terrains miniers, 4) et économique, pour faciliter la mise en œuvre d'analyses systématiques.

La procédure requise pour l'identification par analyse, de la minéralogie des asbestes et des fibres associées doit être simple pour permettre sa mise œuvre par un maximum de personnel sans qu'il y ait besoin de hautes qualifications et technicités. L'objectif est que face à un affleurement potentiellement amiantifère, la réponse sur la présence avérée d'amiante puisse être apportée dans les plus brefs délais sans attendre des analyses d'experts, au mieux situés à Nouméa ou au pire hors territoire. Ce gain de temps se traduit bien évidemment par une meilleure prévention du risque sanitaire. La limitation du coût économique des méthodes analytiques proposées offre la garantie de pouvoir démultiplier les mesures et assurer ainsi une meilleure cartographie du risque d'exposition des travailleurs.

À l'issu des travaux menés dans la sous-tâche 1, de la tâche 1 du programme Amiante et Bonnes Pratiques, nous proposons l'utilisation à l'affleurement de la spectrométrie Raman portable pour identifier avec certitude la minéralogie et la microscopie optique polarisante en contraste de phase pour caractériser les fibres potentiellement libérées et établir un comptage, sur site minier. Ce sont des appareillages relativement robustes et adaptables aux contraintes des sites miniers (ex : container aménagé pour l'analyse MOLP-CP).

L'analyse minéralogique plus globale pourra être réalisée au DRX et, pour l'identification des fibres par MEB et MET, dans les cas les plus complexes, conformément aux normes en vigueur.

Le coût de l'installation d'un laboratoire bien équipé pour les mesures en MOLP-CP sur site minier peut être estimé à environ 10000 euros, hors acquisition du microscope, et l'achat du Raman portable est environ de 20000 euros.

A nouveau nous désirons attirer l'attention sur la nécessité d'identifier des EPI compatibles avec le climat chaud et humide de la Nouvelle-Calédonie, pour garantir une protection adaptée et fiable des personnes pendant les analyses à l'affleurement.

L'identification de formes fibreuses de serpentines dans les minerais latéritiques indique qu'il serait nécessaire de pousser plus avant ces investigations afin de pouvoir obtenir une bonne représentativité statistique.

Les résultats exposés précédemment, offrent la possibilité d'améliorer les procédures d'identification des minéraux asbestiformes et des fibres associées sur site minier. Cependant pour aller plus avant encore vers une meilleure estimation du risque sanitaire, il paraît également important de mieux comprendre la relation entre les catégories d'activité professionnelle et le risque d'exposition. Cela nécessiterait une étude détaillée de la capacité de dispersion des fibres d'amiante environnemental, que ce soit dans le compartiment air ou le compartiment eau, via le ruissellement. En fait, il n'y a pas une compréhension approfondie de la formation et des processus d'émission de ces fibres. Il est nécessaire de compléter l'identification minéralogique des minéraux asbestiformes, par la caractérisation complète (identification et quantification) des fibres recueillies par les travailleurs au cours de leur activité professionnelle sur site minier afin de vérifier le réel risque sanitaire et améliorer encore les bonnes pratiques !

Conclusions sous tache 1 :

- ✓ L'identification des minéraux asbestiformes sur le terrain ne peut pas être réalisée uniquement à partir de critères descriptifs, qui présentent une grande variabilité pour une même phase minérale (16 échantillons seulement sur 47 étudiés, ont pu être correctement identifiés par cette approche).
- ✓ Il apparaît indispensable, pour améliorer l'efficacité de l'identification minéralogique des asbestes sur le terrain, de développer l'utilisation d'une méthode analytique de terrain. Cette approche devrait assurer une identification beaucoup plus fiable des minéraux asbestiformes. De ces identifications dépend la prise des mesures de prévention et de protection adaptées.
- ✓ La microscopie électronique à balayage et transmission constituent les deux techniques les plus puissantes pour la détermination des asbestes et des fibres associées. Cependant, elles nécessitent une expertise et des équipements incompatibles avec l'environnement minier et sont réservées aux laboratoires accrédités et ne répondent pas aux exigences du terrain.
- ✓ La diffraction des rayons X est une méthodologie fiable pour l'identification des minéraux d'asbeste, mais est limitée pour la reconnaissance des polymorphes de serpentines. Les analyses par DRX s'effectuent sur des poudres, et pas à l'échelle de fibre. Cette technique requiert également un personnel formé.
- ✓ La micro-spectrométrie Raman permet d'identifier sans ambiguïté les amphiboles, dont la trémolite, mais également les différents polymorphes des serpentines (chrysotile, antigorite, lizardite). Cependant, la micro-spectrométrie Raman demeure une technique de laboratoire.
- ✓ La spectrométrie Raman portable a permis d'identifier la minéralogie de 80% des minéraux asbestiformes calédoniens et italiens, au travers de mesures réalisées sur sites miniers.
- ✓ L'utilisation d'un spectromètre Raman portable permet d'identifier sans ambiguïté les différentes minéralogies des serpentines, directement sur le terrain et avec une grande rapidité d'acquisition de la donnée.
- ✓ La résolution de la spectrométrie Raman portable est inférieure à celle de la spectrométrie Raman de laboratoire, notamment dans les hautes fréquences, mais reste suffisante pour l'identification des différentes.

- ✓ L'altération exogène subie par les minéraux asbestiformes à l'affleurement, n'affecte pas l'identification minéralogique obtenue par spectrométrie Raman portable.
- ✓ Les critères morphologiques et l'aspect macroscopique des minéraux asbestiformes pourraient ne pas être suffisants pour estimer leur capacité à émettre des fibres ou fibrilles. Pour une meilleure évaluation du risque d'exposition à des fibres pathogènes, il semble nécessaire de disposer également à proximité des zones exploitées d'une méthode de description de la morphologie et de la taille des fibres à l'échelle microscopique. La microscopie optique en lumière polarisée en contraste de phase semble la plus adaptée aux contraintes de terrain pour apporter ces informations.
- ✓ Les données nouvelles acquises dans cette sous tâche du programme Amiante et Bonnes Pratiques, permettent de proposer une amélioration de l'évaluation du risque lié à la présence de minéraux asbestiformes, par l'utilisation combinée des techniques de spectrométrie Raman portable, et de MOLP-CP. Il s'agit ainsi d'obtenir une identification minéralogique fiable et rapide des asbestos (spectrométrie Raman portable) et de reconnaître les formes fibreuses, les plus pathogènes (MOLP-CP) directement sur site minier.

3.2. SOUS TACHE 2 : « ESTIMATION DES LIMITES DES METHODES ANALYTIQUES DE DRX, SPECTROMETRIE RAMAN, INFRA-ROUGE ET MET POUR LA DETECTION DES MINERAUX DE TYPE AMIANTE, VIA DES TESTS DE MELANGES (MINERAIS/ASBESTES ET ASBESTES ENTRE EUX) »

Ces travaux de recherche ont été menés au sein de l'ISEA et de l'IRD. Ce chapitre inclut les résultats obtenus par Michael Meyer (MCF, ISEA), Farid Juillot (CR, IRD, IMPMC), Alexandre Fayard (stagiaire UNC) et Nicolas Folcher (Post Doc, IRD)

Cette étude a été consacrée à la caractérisation des pôles purs et des mélanges d'échantillons naturels de chrysotile, d'antigorite et de trémolite issus du protocole d'échantillonnage préalablement décrit. Les objectifs de ces analyses étaient (1) de comparer le potentiel des différentes techniques d'identification utilisées (diffraction des rayons X, microscopie Raman, microscopie électronique à balayage, microscopie électronique en transmission) à identifier les minéraux asbestiformes et (2) de préciser le degré de pureté des échantillons naturels analysés dans le but d'identifier des pôles purs de chrysotile, d'antigorite et de trémolite. Une fois identifiés, ces pôles purs ont été utilisés pour confectionner des mélanges artificiels chrysotile/antigorite, antigorite/trémolite et chrysotile/trémolite qui ont ensuite été analysés par diffraction des rayons X et microscopie Raman dans le but de tester les limites de détection de ces techniques. Un travail similaire a été effectué avec à partir de mélanges latérites/antigorite, latérite/chrysotile et latérite/trémolite.

3.2.1. RESULTATS OBTENUS SUR LES POLES PURS

3.2.1.1. DIFFRACTION DES RAYONS X

3.2.1.1.1. Protocole de préparation et d'analyse des échantillons

Les échantillons ont été broyés manuellement à l'aide d'un mortier en agate dans un bain d'éthanol. Ils ont ensuite été séchés à l'air, puis collés sur un porte échantillon à l'aide d'un adhésif double face carboné.

Les analyses par diffraction des rayons X ont été réalisées au laboratoire PPME EA 3325 de l'UNC sur un diffractomètre INEL constitué d'un détecteur courbe CPS 120. La source de rayons X était une anticathode au Cobalt de longueur d'onde $K\alpha_1$ égale à 1,7889 Å. La tension d'accélération des électrons émis par le filament et l'intensité du courant circulant dans le filament étaient de 30 kV et 30 mA, respectivement. Le temps d'acquisition d'un diffractogramme de rayons X était de 3 h.

3.2.1.1.2. Analyse qualitative des diffractogrammes de rayons X

L'analyse par diffraction des rayons X a été réalisée sur les échantillons, 13A1, 12A4, 3A1, 56C3, 57C3, 37T2 et 41T1. Les diffractogrammes de rayons X sont présentés sur la Figure 32.

Le diffractogramme de rayons X de l'échantillon 13A1 montre des pics d'intensité aux positions angulaires $13,91^\circ 2\theta$ et $28,54^\circ 2\theta$. D'autres maximums d'intensité bien plus faible peuvent être observés, les plus visibles se trouvant aux positions angulaires $2\theta=41,53^\circ 2\theta$ et $2\theta=43,44^\circ 2\theta$. Ces pics correspondent à des distances inter-réticulaires respectivement égales à 7,38 Å, 3,63 Å, 2,52 Å et 2,41 Å. D'après la fiche JCPDS (ICDD) 44-1447, ces distances correspondent à de l'**antigorite**. On retrouve des pics d'intensité à des positions angulaires similaires sur le diffractogramme de rayons X de l'échantillon 12A4, ce qui confirme la présence d'antigorite au sein de cet échantillon. Cependant, cette phase ne semble pas seule dans cet échantillon car le diffractogramme de rayons X présente d'autres pics dont les plus intenses sont observables aux positions angulaires $24,20^\circ 2\theta$ et $30,97^\circ 2\theta$. Ces pics correspondent respectivement à des distances inter-réticulaires égales à 4,26 Å et 3,34 Å qui sont caractéristiques du quartz (SiO_2). La forte intensité du pic à $30,97^\circ 2\theta$ (i.e. 3,34 Å) suggère que cette phase est la plus abondante dans cet échantillon.

Les diffractogrammes de rayons X des échantillons 56C3 et 57C3 montrent également deux pics intenses aux positions $13,91^\circ 2\theta$ et $28,54^\circ 2\theta$ (respectivement 7,38 Å et 3,63 Å). En revanche, ces diffractogrammes de rayons X diffèrent de ceux des échantillons 13A1 et 12A4 par la présence de trois pics d'intensité moyenne et significativement plus larges aux positions angulaires $22,94^\circ 2\theta$, $71,40^\circ 2\theta$ et $86,34^\circ 2\theta$. Ces positions correspondent à des distances inter-réticulaires respectives égales à 4,5 Å 1,52 Å et 1,30 Å qui sont celles du **chrysotile**, d'après la fiche JCPDS 43-0662.

Les diffractogrammes de rayons X des échantillons 37T2 et 41T1 sont très différents des diffractogrammes de rayons X précédents. En exemple, on peut citer les positions des 5 pics les plus intenses à $11,08^\circ 2\theta$, $21,46^\circ 2\theta$, $31,63^\circ 2\theta$ qui correspondent à des distances inter-réticulaires égales à 8,71 Å, 4,8 Å, 3,28 Å, 3,13 Å et indiquent la présence de **trémolite** (fiche JCPDS 44_1447).

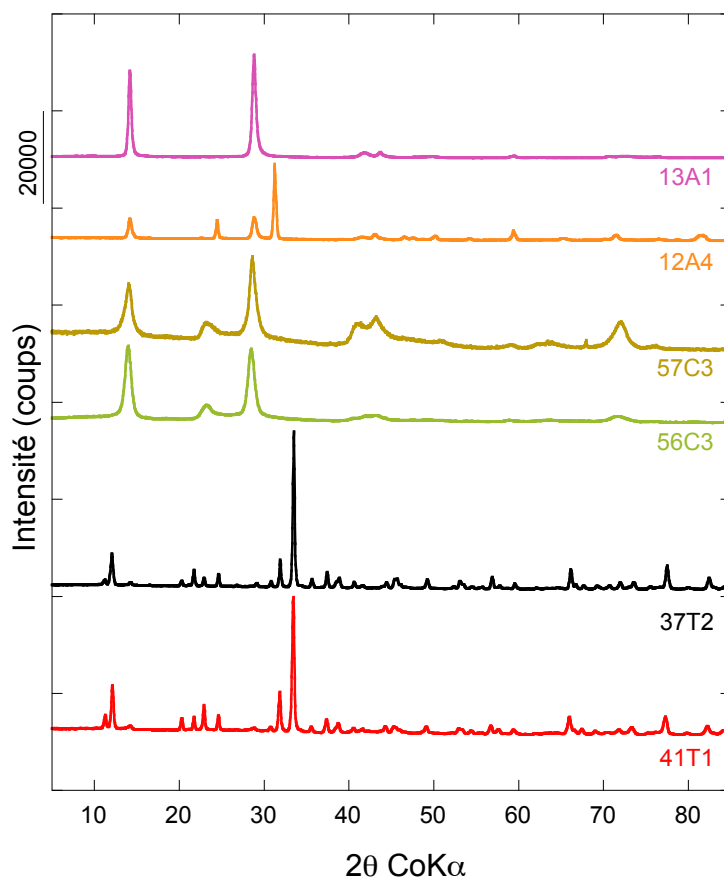


Figure 32 : **Diffractogrammes de rayons X des échantillons 13A1, 12A4 (antigorite), 56C3, 57C3 (chrysotile), 37T2 et 41T1 (trémolite)**

3.2.1.1.3. Analyse quantitative des diffractogrammes de rayons X par affinement Rietveld

Un travail d'ajustement des diffractogrammes de rayons X par affinement Rietveld a été mené à l'aide du logiciel MAUD (Ferrari et Lutterotti, 1994) de façon à obtenir des données plus précises sur la structure cristallographique des échantillons étudiés.

La Figure 33 présente l'ajustement du diffractogramme de rayons X de l'échantillon 13A1 (antigorite). Les paramètres de maille, de type triclinique, trouvés lors de cet ajustement sont $a=32.68 \text{ \AA}$, $b=9.00 \text{ \AA}$, $c=8.13 \text{ \AA}$, $\alpha=116.65^\circ$, $\beta=85.55^\circ$, $\gamma=95.08^\circ$.

La Figure 34 présente l'ajustement du diffractogramme de rayons X de l'échantillon 57C3 (chrysotile). Les paramètres de maille de type monoclinique sont $a=14,72 \text{ \AA}$; $b=17,38 \text{ \AA}$, $c=5,22 \text{ \AA}$, et $\beta=94.21^\circ$.

Enfin, la Figure 35 présente l'ajustement du diffractogramme de rayons X de l'échantillon 37T2 (trémolite). Les paramètres de maille de type monoclinique sont $a=9,78 \text{ \AA}$, $b=17,97 \text{ \AA}$, $c=5,25 \text{ \AA}$, $\beta=104,79^\circ$.

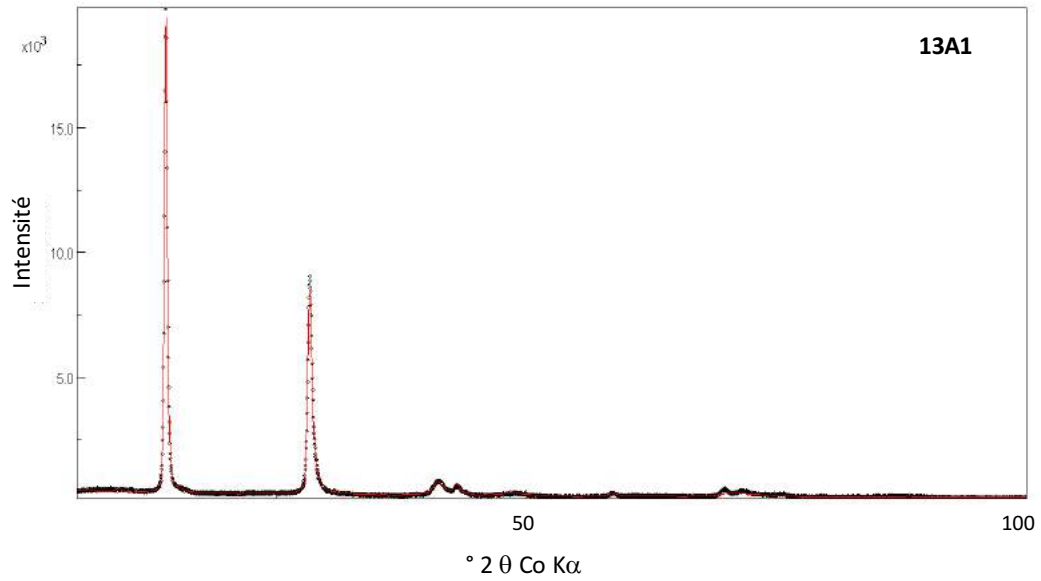


Figure 33 : Diffractogramme de rayons X de l'échantillon 13A1 (antigorite) ajusté à l'aide du programme MAUD (données expérimentales en noire et calculées en rouge)

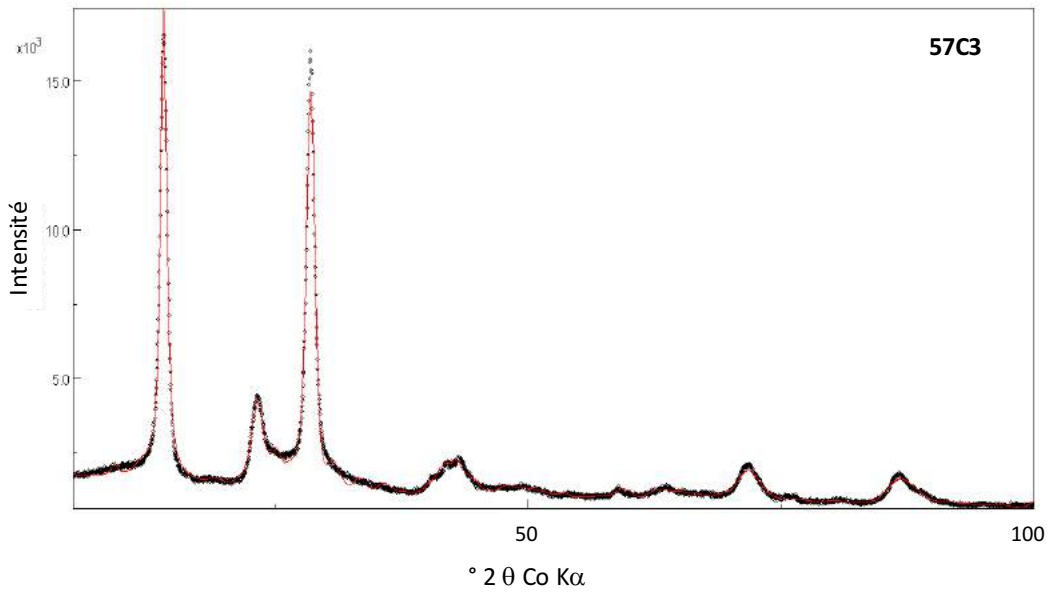


Figure 34 : Diffractogramme de rayons X de l'échantillon 57C3 (chrysotile) ajusté à l'aide du programme MAUD (données expérimentales en noire et calculées en rouge)

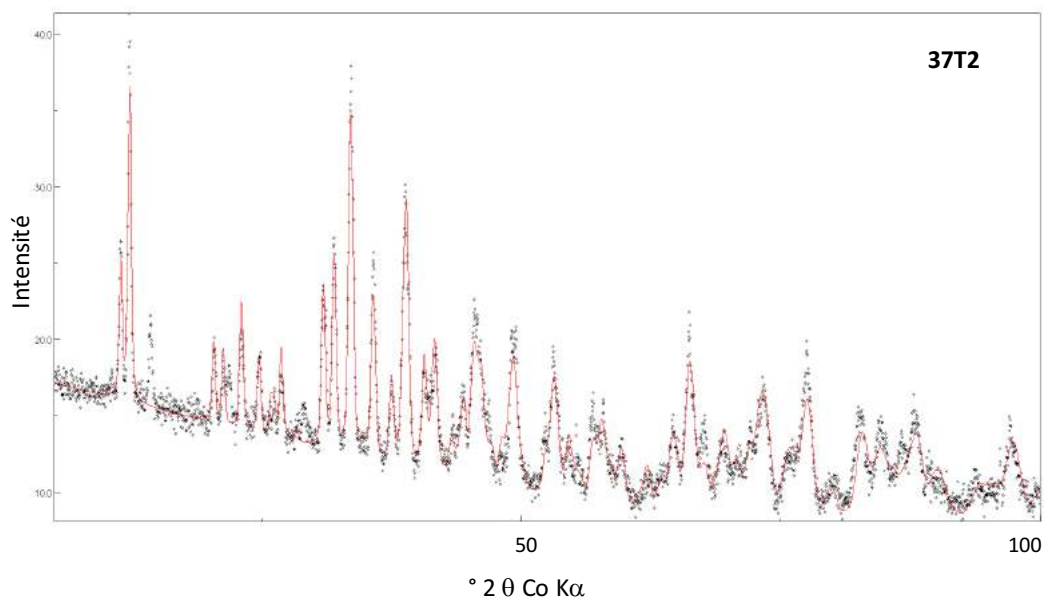


Figure 35 : Diffractogramme de rayons X de l'échantillon 13A1 (antigorite) ajusté à l'aide du programme MAUD (données expérimentales en noire et calculées en rouge)

3.2.1.2. Microscopie Raman

3.2.1.2.1. Protocole de préparation et d'analyse des échantillons

Les échantillons de pôles purs analysés par spectrométrie Raman ont été préparés à partir de quelques mg de poudre extraite manuellement des échantillons totaux. Pour chaque échantillon, une fraction de ces quelques mg de poudre a été dispersée dans de l'eau distillée et une goutte de la suspension a ensuite été déposée sur un scotch double face carboné. Après évaporation complète de l'eau à l'air, les échantillons ainsi préparés ont été directement analysés par spectrométrie Raman.

Ces analyses ont été réalisées au Centre IRD de Nouméa sur un microscope Raman Thermo DXR™ équipé d'un laser de longueur d'onde 532 nm et d'un réseau étendu permettant une analyse entre 50 et 4100 cm^{-1} . Ces analyses ont été réalisées dans une gamme de puissance de la source laser variant entre 4 mW et 9 mW, en fonction de l'échantillon. Chaque spectre Raman obtenu dans ces conditions correspond à une moyenne de 10 expositions de 5 secondes chacune, soit une durée totale d'acquisition de 50 secondes.

3.2.1.2.2. Identification des différents minéraux asbestiformes par microscopie Raman

Les spectres Raman obtenus sur les échantillons, 13A1, 12A4, 3A1 (antigorite), 56C3, 57C3 (chrysotile), 36T4, 37T2 et 41T1 (trémolite) sont présentés en Figure 36. Ces spectres montrent que les régions 3800-3600 cm^{-1} et 1200-100 cm^{-1} apparaissent comme les plus intéressantes pour discriminer la présence d'antigorite, de chrysotile ou de trémolite dans un échantillon. Ceci est en accord avec les données déjà publiées dans la littérature sur le sujet (Auzende et al., 2004 ; Petriglieri et al., 2015, Groppo et al., 2016).

Pour la région 3800-3600 cm^{-1} , les spectres Raman des échantillons 13A1, 12A4 et 3A1 montrent une double bande d'absorption vers 3697 cm^{-1} et 3670 cm^{-1} , alors que les spectres Raman des échantillons 56C3, 57C3, 36T4, 37T2 et 41T1 ne montrent qu'une seule bande d'absorption (i.e. vers 3700 cm^{-1} pour les échantillons 56C3 et 57C3 et vers 3672 cm^{-1} pour les échantillons 36T4, 37T2 et 41T1).

Pour la région 1200-100 cm^{-1} , les spectres Raman des échantillons 13A1, 12A4 et 3A1 présentent des bandes d'absorption vers 1045 cm^{-1} , 680 cm^{-1} , 455 cm^{-1} , 372 cm^{-1} et 225 cm^{-1} , alors que les spectres Raman des échantillons 56C3 et 57C3 présentent des bandes d'absorption vers 692 cm^{-1} , 388 cm^{-1} et 229 cm^{-1} et les spectres Raman des échantillons 36T4, 37T2 et 41T1 présentent des bandes d'absorption vers 1058 cm^{-1} , 1025 cm^{-1} , 672 cm^{-1} , 416 cm^{-1} , 394 cm^{-1} , 366 cm^{-1} et 225 cm^{-1} .

Ces analyses Raman indiquent que les deux régions 3800-3600 cm^{-1} et 1200-100 cm^{-1} permettent de distinguer l'antigorite, le chrysotile et la trémolite sans risque de confusion. En effet, la double bande d'absorption de l'antigorite dans la région 3800-3600 cm^{-1} apparaît comme une véritable signature spectrale Raman de ce minéral. La présence d'antigorite dans un échantillon semble donc pouvoir être validée sur la seule base du signal Raman dans cette région 3800-3600 cm^{-1} . Bien que le chrysotile et la trémolite ne présentent chacun qu'une seule bande d'absorption dans la région 3800-3600 cm^{-1} , cette conclusion pourrait être étendue à la distinction entre ces deux minéraux car les positions respectives de ces bandes d'absorption sont suffisamment éloignées (3700 cm^{-1} pour le chrysotile et 3672 cm^{-1} pour la trémolite) pour supprimer tout risque de confusion. Cependant, les positions des bandes d'absorption Raman étant susceptibles de varier en fonction de la chimie du minéral, une confusion apparaît possible entre le chrysotile et la trémolite sur la seule base du signal Raman dans cette région 3800-3600 cm^{-1} . Dans cette hypothèse, la confusion serait levée à l'aide des informations apportées par la région 1200-100 cm^{-1} qui permet de distinguer ces deux minéraux par la présence d'une bande d'absorption particulièrement intense vers 672 cm^{-1} et d'un triplet 416 cm^{-1} , 394 cm^{-1} et 366 cm^{-1} pour la trémolite.

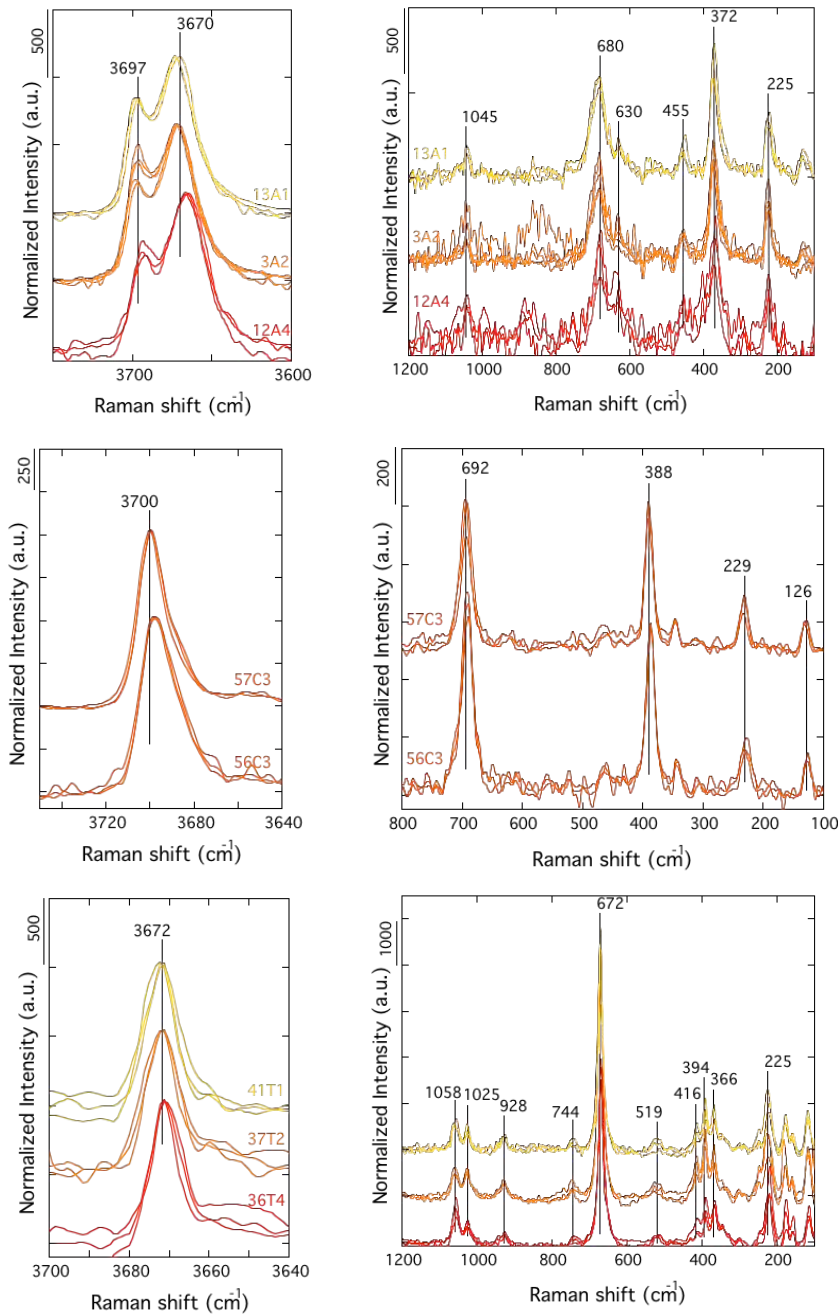


Figure 36 : Régions $3800-3600\text{ cm}^{-1}$ et $1200-100\text{ cm}^{-1}$ des spectres Raman des échantillons 13A1, 12A4, 3A1 (antigorite), 56C3, 57C3 (chrysotile), 36T4, 37T2 et 41T1 (trémolite).

3.2.1.3. Microscopie Electronique à Transmission

3.2.1.3.1. Protocole de préparation et d'analyse des échantillons

Les observations et analyses en microscopie électronique à transmission (MET) ont été réalisées sur le plateau MET-MEB (P2M) de l'Université de la Nouvelle-Calédonie. Avant ces

observations et analyses, les échantillons ont été préparés à partir des poudres broyées. Pour chaque échantillon, quelques grammes de poudre ont été dispersés dans une solution d'éthanol et soumis à des ultrasons pendant 5 mn. Quelques μl de cette dispersion ont ensuite été déposés sur une grille de microscopie électronique en cuivre et évaporés sous une hotte afin de ne laisser que le résidu solide sec sur la grille. Les observations et analyses MET ont été réalisées sur les grilles ainsi préparées à l'aide d'un microscope électronique JEOL JEM-1400plus qui fonctionne avec une tension d'accélération de 120 KV.

3.2.1.3.2. Imagerie à faible grandissement

La Figure 37 présente des clichés de MET obtenus avec le même grandissement (x4000) pour les échantillons 13A1, 12A4 (antigorite), 56C3, 57C3 (chrysotile), 37T2 et 41T1 (trémolite).

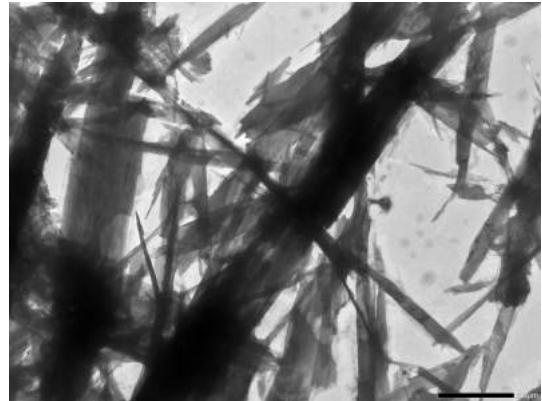
La Figure 37A (échantillon 13A1), montre des particules allongées dont la taille varie entre 3 et 14 μm en longueur et entre 550 nm et 1,4 μm en largeur. Pour cet échantillon, l'anisotropie (largeur/longueur) moyenne calculée sur une dizaine de particules est égale à 0,7, ce qui indique une morphologie de type "baguettes". Ces baguettes présentent une transparence aux électrons contrastée, certaines apparaissant denses aux électrons (sombres), alors que d'autres sont davantage transparentes (claires). Les baguettes présentant une chimie assez homogène, ces différences sont associées à des variations de leur épaisseur. La Figure 37B (échantillon 12A4) présente des particules allongées de taille et morphologie comparables à celles de l'image 5A. Pour ces deux échantillons, les baguettes observées en MET correspondent à l'**antigorite** identifiée par diffraction des rayons X (avec du quartz dans le cas de l'échantillon 12A4).

Les Figures 37C et 37D, correspondant respectivement aux échantillons 57C3 et 56C3, montrent des objets fins et très allongés. Des mesures réalisées sur une quinzaine d'échantillons indiquent des dimensions de l'ordre d'une dizaine de nanomètres d'épaisseur (valeurs variant entre 12 nm et 8 nm) et de plusieurs microns de longueur (valeurs variant entre 800 nm et 2.1 μm) pour ces particules, ce qui correspond à des anisotropies moyennes (largeur/longueur) de 0,031 et 0,026. Ces valeurs indiquent que les objets observés présentent une longueur au moins 30 fois supérieure à leur largeur. Ils peuvent donc être qualifiés de "fibreux", et ceci d'autant plus que leur broyage avant analyse a probablement diminué leur longueur. Pour ces deux échantillons, ces fibres correspondent au **chrysotile** identifié par diffraction des rayons.

Les Figures 37E et 37F présentent les images obtenues sur les échantillons 41T1 et 37T2 dans lesquels la **trémolite** a été identifiée. Ces images montrent des objets très contrastés aux électrons et dont les tailles sont de l'ordre de 10 μm de longueur et 1 μm de largeur. Ces dimensions indiquent que la trémolite ne se présente pas sous forme de baguettes ou de fibres, mais plutôt sous forme de "lattes". La grande taille de ces lattes ne permet d'observer que quelques particules par image pour un grandissement de x4000.

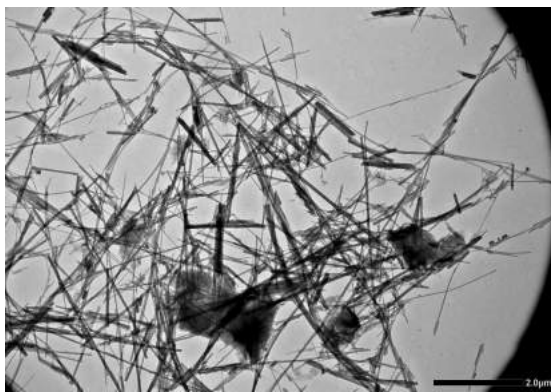


(A) Echantillon 13A1

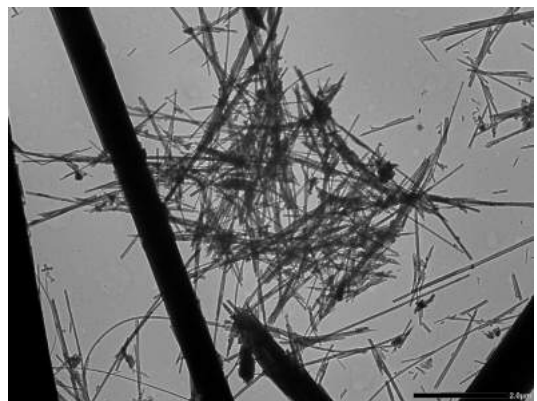


(B) Echantillon 12A4

2 μ m



(C) Echantillon 57C3

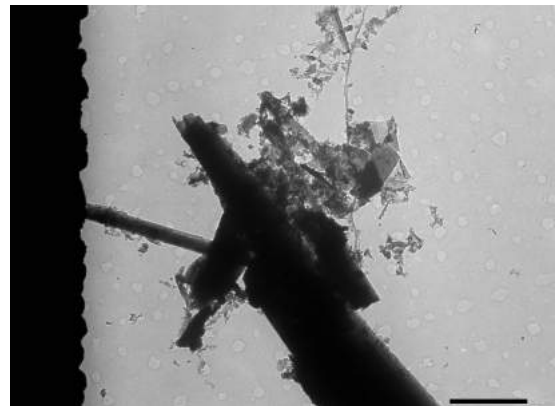


(D) Echantillon 56C3

2 μ m



(E) Echantillon 41T1



(F) Echantillon 37T2

2 μ m

Figure 37 : Clichés MET des échantillons 13A1, 12A4 (antigorite), 56C3, 57C3 (chrysotile), 37T2 et 41T1 (trémolite). La barre d'échelle sur chaque image correspond à une longueur de 2 μ m.

3.2.1.3.3. Imagerie à fort grandissement

La figure 38 (gauche) montre un cliché MET à fort grandissement (x80.000) de l'échantillon 13A1, identifié comme de l'antigorite par diffraction des rayons X. Sur ce cliché, il est possible d'observer des stries caractéristiques de la structure cristallographique de la phase minérale considérée. L'image de droite est le profil du signal, enregistré par la camera du microscope électronique dans le cadre rouge du cliché. Sur ce profil, on peut voir des maximums d'intensité qui sont caractéristiques de la présence de rangées d'atomes ou d'ions. La distance mesurée le long de 10 maxima est égale à 36,4 Å, ce qui correspond à une distance moyenne de 3,64 Å entre deux maxima (soit entre deux plans réticulaires). Cette distance est cohérente avec la famille de plans (102) de l'antigorite repérée sur le diffractogramme de rayon X par un maximum à 3,59 Å (Figures 32, 33 et 34), (Uehara, 1998, Bersania, 2015)

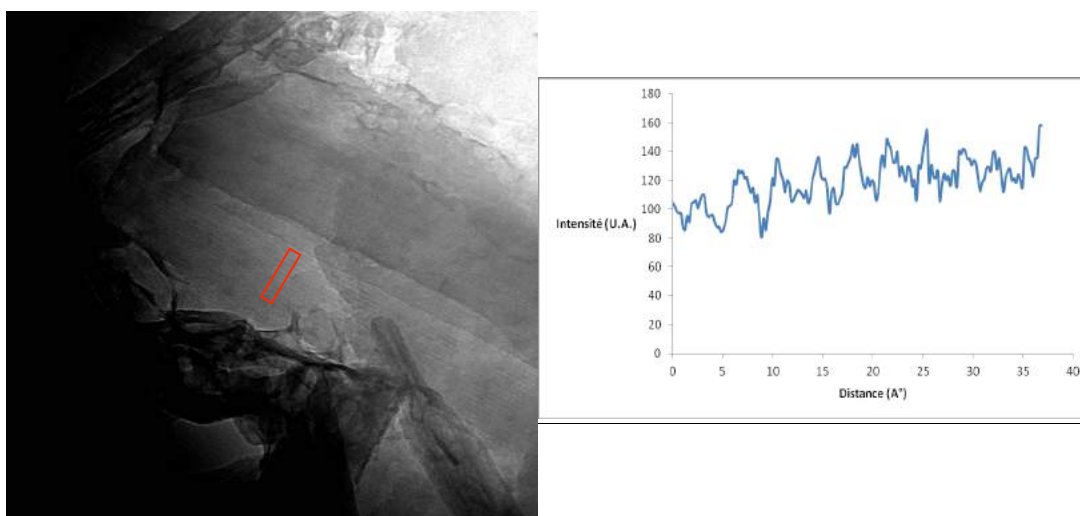


Figure 38 : Cliché MET à fort grandissement (x80.000) de l'échantillon 13A1 (antigorite) et profil d'intensité de la zone délimitée par le rectangle rouge (droite). La barre d'échelle sur l'image correspond à une longueur de 100 nm.

La figure 39 présente un cliché MET à fort grandissement (x200.000) de l'échantillon 56C3, identifié par diffraction de rayon X comme du chrysotile. Sur ce cliché, il est possible d'observer des particules allongées d'une largeur de l'ordre de 15 nanomètres. Ces particules présentent une zone claire au centre sur toute leur longueur qui contraste avec leur bord plus foncé. L'image étant observée en transmission, ces différences de contraste sont causées par la morphologie tubulaire caractéristique du chrysotile qui correspond à des feuillets enroulés comme une cigarette russe. La partie centrale de chaque tube correspond à du vide. Elle est donc moins dense et plus facilement traversée par les électrons, ce qui explique sa teinte plus claire sur les clichés MET.

La figure 40 correspond à un cliché MET à fort grandissement (x 40000) de l'échantillon 13A1 qui contient de l'antigorite. Ce cliché est particulièrement intéressant car il permet d'observer des tubes avec canal central de plusieurs microns de longueur et d'une centaine de nanomètre de longueur et d'autres d'une dizaine de nanomètres de largeur. Les tubes avec canal central d'une dizaine de nanomètres de longueur sont caractéristiques du chrysotile, ce qui suggère que ce minéral est présent dans cet échantillon. L'absence de détection de ce minéral par diffraction des rayons X indique une proportion très inférieure à l'antigorite. Les tubes avec canal central dont le diamètre est de l'ordre d'une centaine de nanomètre sont trop larges pour être associés à du chrysotile. En revanche, des structures enroulées possédant un canal central et dont le diamètre est de l'ordre d'une centaine de nanomètre ont déjà été identifiées dans la littérature comme de la serpentine polygonale (Evans et al., 2013, Andreani et al., 2008).

Le cliché MET de la figure 40 souligne également la présence de structures allongées ne comportant pas de tube central mais présentant des figures de stries dans l'échantillon 13A1. Par analogie avec les baguettes identifiées par MET dans les échantillons 13A1 et 12A4 (Figure 37), ces structures sont considérées comme de l'antigorite.

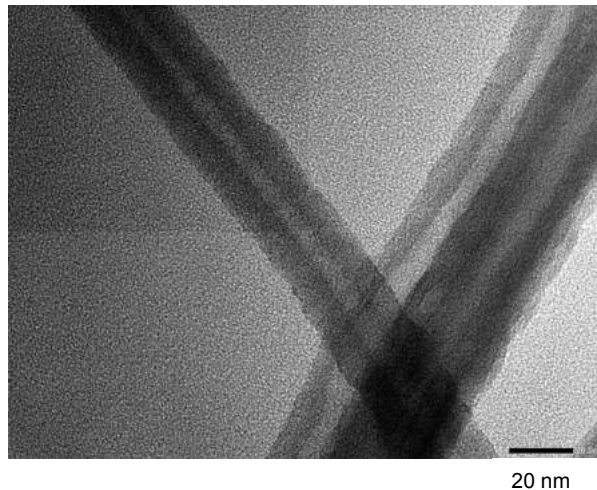
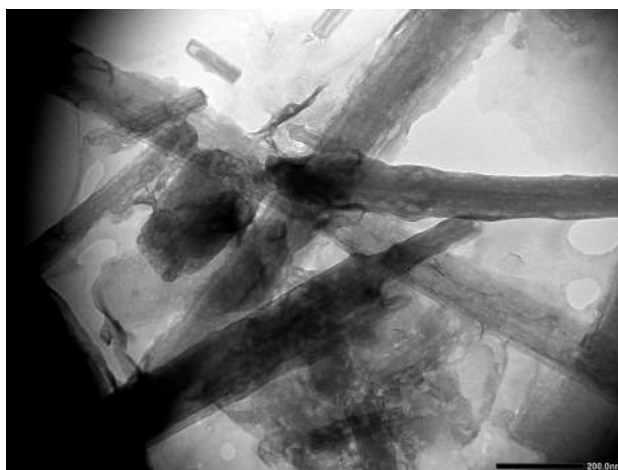


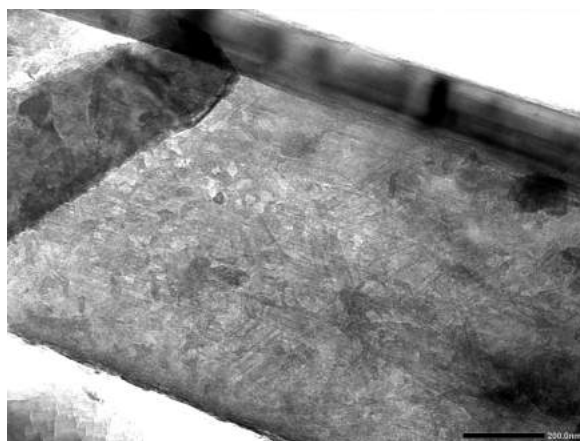
Figure 39 : Cliché MET à fort grandissement (x300.000) de fibres repérées dans l'échantillon 56C3 (chrysotile). La barre d'échelle sur l'image correspond à une longueur de 20 nm.



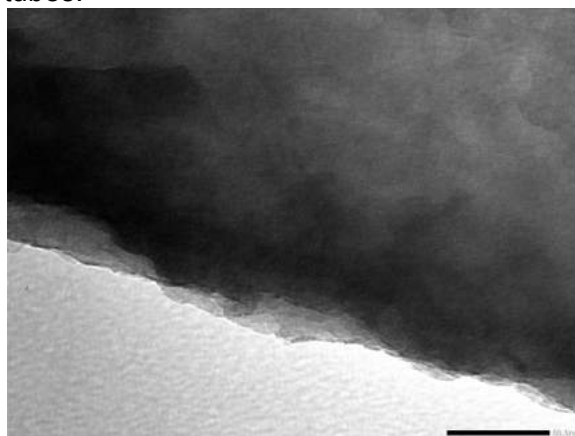
200 nm

Figure 40 : Cliché MET à fort grandissement (x40.000) de l'échantillon 13A1 (antigorite). La barre d'échelle sur l'image correspond à une longueur de 200 nm.

La figure 41 montre des clichés MET à fort grandissement (x40.000 pour l'image de gauche et x200.000 pour l'image de droite) de l'échantillon 41T1. Ces images soulignent l'absence de canal central et de stries sur ces structures qui présentent des morphologies plus proches de plaquette que de baguettes, de fibres ou de tubes.



200 nm



50 nm

Figure 41 : Cliché MET à fort grandissement (x40.000 gauche et x200.000 droite) de l'échantillon 41T1 (trémolite). La barre d'échelle sur l'image de gauche correspond à une longueur de 200 nm et celle sur l'image de droite correspond à une longueur de 50 nm.

3.2.1.3.4. Diffraction des électrons

Lorsqu'on sélectionne, au sein d'un échantillon d'antigorite (12A4), une particule à l'aide du diaphragme de sélection d'aire du microscope électronique et que l'on réalise une analyse par diffraction des électrons, on obtient une figure de diffraction constituée de points (Figure 42). Une telle Figure de diffraction électronique est caractéristique d'un monocristal, ce qui

indique que les particules d'antigorite sont constituées d'une seule phase minérale dont la taille atteint plusieurs centaines de nanomètres.

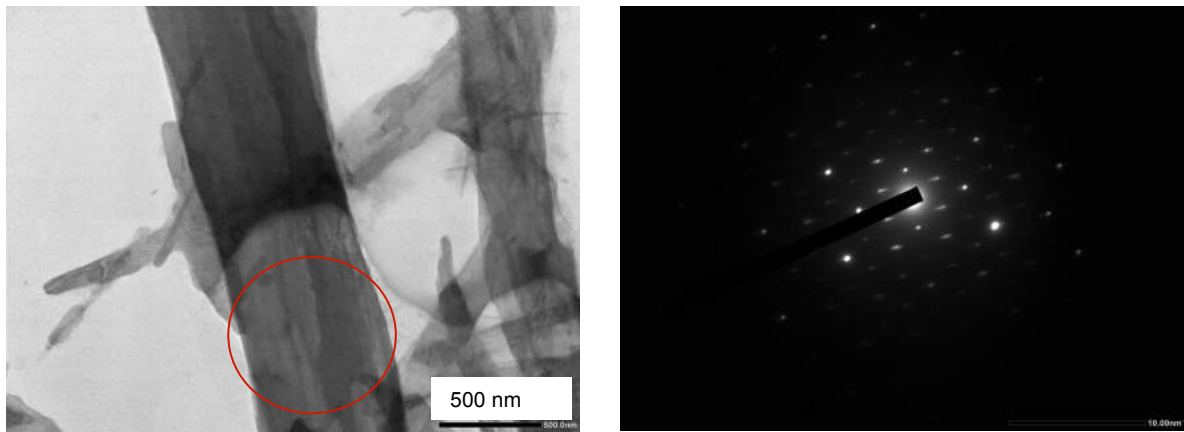


Figure 42 : Image MET d'une particule d'antigorite (échantillon 12A4) (gauche) et cliché de diffraction d'électrons (droite) de la zone représentée par le cercle rouge. La barre d'échelle sur l'image de gauche correspond à une longueur de 500 nm.

La figure 43A présente l'image MET d'un amas de fibres de l'échantillon 56C3 sur lequel un cliché de diffraction électronique a été réalisé. Ce cliché montre des anneaux qui sont caractéristiques de la diffraction d'électrons par un ensemble de particules orientées aléatoirement (Figure 43B).

Le diffractogramme d'électron associé à la figure de diffraction 43B a été retracé en fonction du vecteur de diffusion en $1/\text{Å}$ (Figure 43C), à l'aide du programme "diffraction Ring profiler" (Zhang et al., 2011). Ce diffractogramme montre des maximums d'intensité aux positions, exprimées en distances inter-réticulaires, $d=7,28 \text{ Å}$; $4,37 \text{ Å}$; $3,55 \text{ Å}$, $2,42 \text{ Å}$ et $2,41 \text{ Å}$. Des valeurs similaires ont également été obtenues pour l'échantillon 57C3. Elles sont comparables à celles obtenues à partir du diffractogramme de rayons X sur poudre de ces échantillons, ce qui confirme que les fibres observées sont bien des fibres de chrysolite.

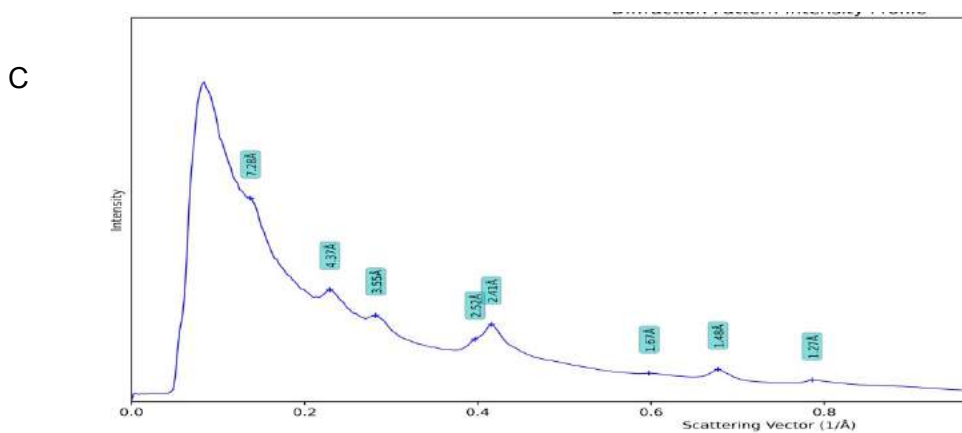
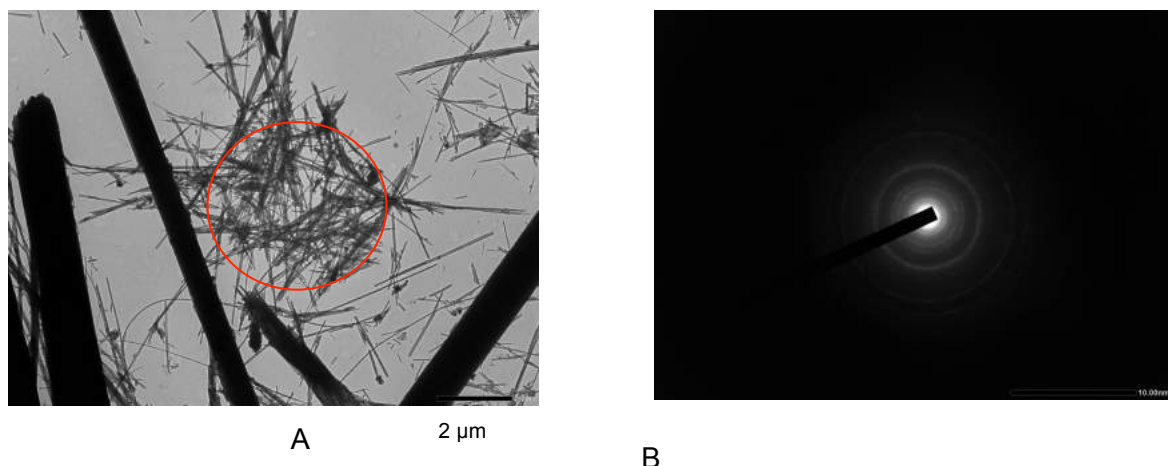
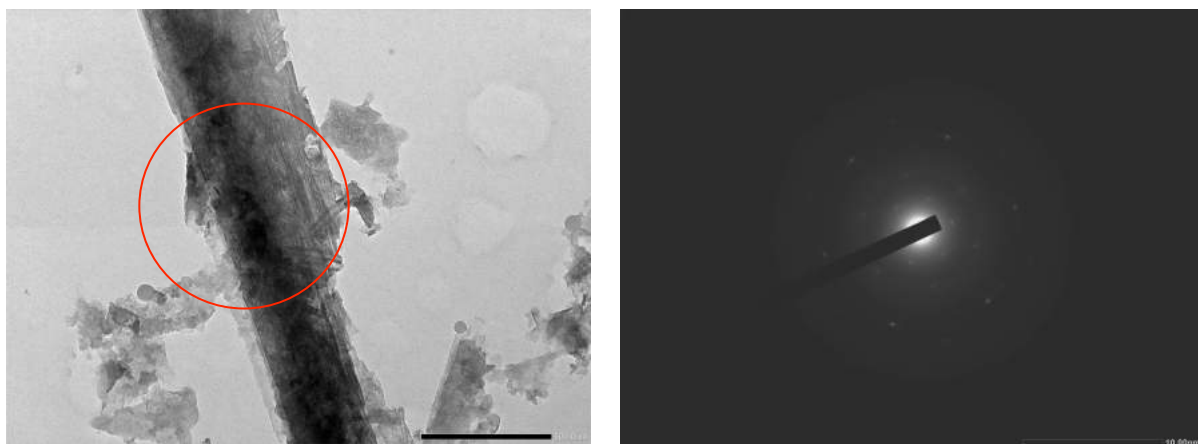


Figure 43 : Image MET (A), cliché de diffraction électronique (zone dans le cercle rouge) (B) et diffractogramme d'électrons (C) obtenus sur des fibres de chrysotile (échantillon 56C3). La barre d'échelle sur l'image de gauche correspond à une longueur de 2 μm .

Des clichés de diffraction électronique ont également été réalisés sur l'échantillon 37T2 identifié comme de la trémolite par diffraction de rayon X. Sur l'exemple présenté en Figure 44), le cliché de diffraction présente une figure de points, ce qui signifie que la particule à partir de laquelle la diffraction a été obtenue correspond plutôt à un monocristal. Cependant, la taille importante des particules de trémolite observées dans cet échantillon n'a pas permis d'obtenir une statistique significative pour étendre cette conclusion à l'ensemble des particules de trémolite de cet échantillon.



500 nm

Figure 44 : Image MET (gauche) et cliché de diffraction électronique (gauche) obtenus sur la zone définie par le cercle rouge sur une fibre de trémolite (échantillon 37T2). La barre d'échelle sur l'image de gauche correspond à une longueur de 500 nm.

3.2.1.4. Microscopie Electronique à Balayage

3.2.1.4.1. Protocole de préparation et d'analyse des échantillons

Les observations en microscopie électronique à balayage (MEB) et analyses EDS ont été réalisées sur le plateau MET-MEB (P2M) de l'Université de la Nouvelle-Calédonie. Avant ces observations et analyses, les échantillons ont été broyés comme décrits au paragraphe 4.2.1.1.1, puis collés sur un adhésif carboné, qui a été lui-même collé sur un porte échantillon en aluminium. L'ensemble de l'échantillon a ensuite été recouvert d'un film carboné, à l'aide d'un évaporateur Leica EM 600. L'épaisseur de la couche carbonée était de 10 nm. Le microscope électronique à balayage utilisé est un JEOL JSM-IT300. Le mode de pression, la tension d'accélération et le grossissement utilisés sont inscrits sur les clichés de microscopie électronique présentés ci-après.

3.2.1.4.2. Imagerie en microscopie électronique à balayage

La figure 45 présente les images MEB obtenues sur les échantillons 13A1 (gauche) et 12A4 (droite) qui sont constitués d'antigorite. Sur chacune des images, on peut observer des particules allongées dont l'épaisseur est de l'ordre du micromètre et la longueur de l'ordre de la dizaine de micromètres (anisotropie largeur/longueur de l'ordre de 0,1). Ces observations sont cohérentes avec celles réalisées en microscopie électronique à transmission (MET).

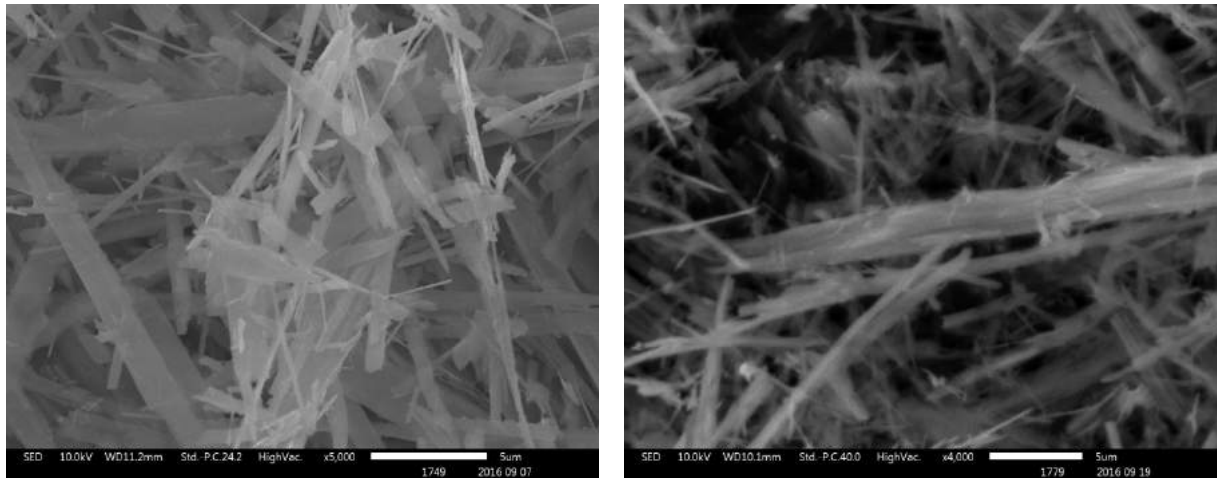


Figure 45 : Image MEB des échantillons 13A1 (gauche) et 12A4 (droite) constitués d'antigorite. La barre d'échelle sur les images correspond à une longueur de 5 µm.

Les images MEB obtenues sur les échantillons 56C3 et 57C3 (constitués de chrysotile) sont présentées sur la Figure 46. Sur ces images, on observe des structures allongées de plusieurs dizaines de micromètres de longueur et quelques micromètres de largeur qui sont en fait constituées de fibres plus fines. Certaines de ces fibres fines se détachent des structures de taille plus importante. L'anisotropie (largeur/longueur) de ces fibres est de l'ordre de 0,03 et elle peut être encore plus élevée car certaines d'entre elles présentent des longueurs qui peuvent s'étendre jusqu'à la longueur des plus grandes structures sous lesquelles elles sont assemblées. Il est important de noter que la largeur mesurée sur les images de microscopie à balayage (grandissement x4.000) pour une fibre (i.e. 100 nm) correspond à environ 10 fois celle mesurée pour une fibre en microscopie électronique à transmission à fort grandissement (i.e.10 nm). Ces fibres fines observées en microscopie électronique à balayage correspondent donc à un assemblage de plusieurs fibres de chrysotile.

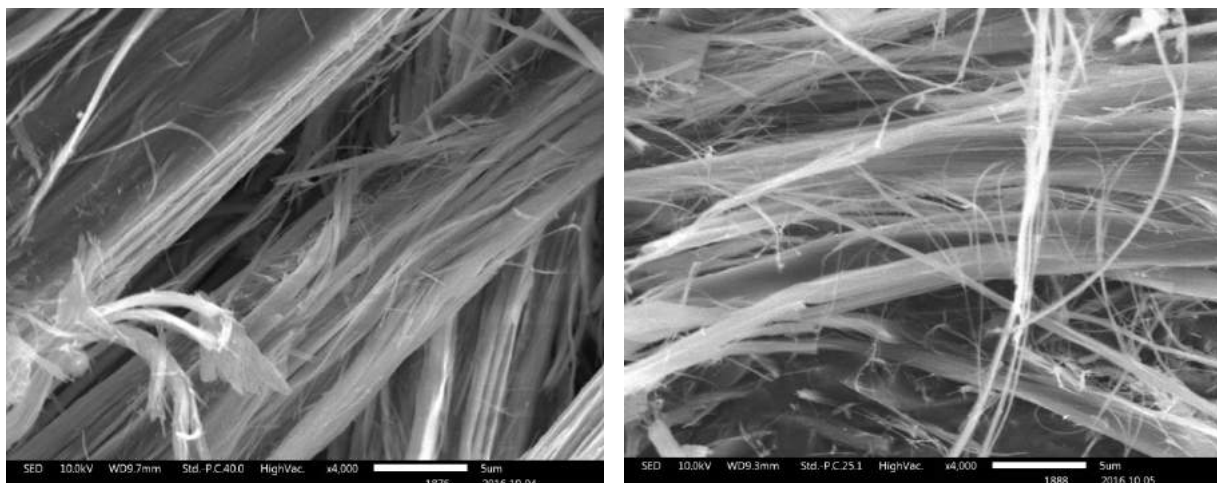


Figure 46 : Image MEB des échantillons 56C3 (gauche) et 57C3 (droite) constitués de chrysotile. La barre d'échelle sur les images correspond à une longueur de 5 µm.

Les images MEB obtenues sur les échantillons 41T1 (gauche) et 37T2 (droite) constitués de trémolite montrent de larges particules allongées (Figure 47). Ces particules allongées ont des largeurs de l'ordre d'un micromètre et des longueurs comprises entre 10 et 15 micromètres, ce qui est cohérent avec les observations faites au MET et confirme la morphologie de type "latte" de la trémolite.

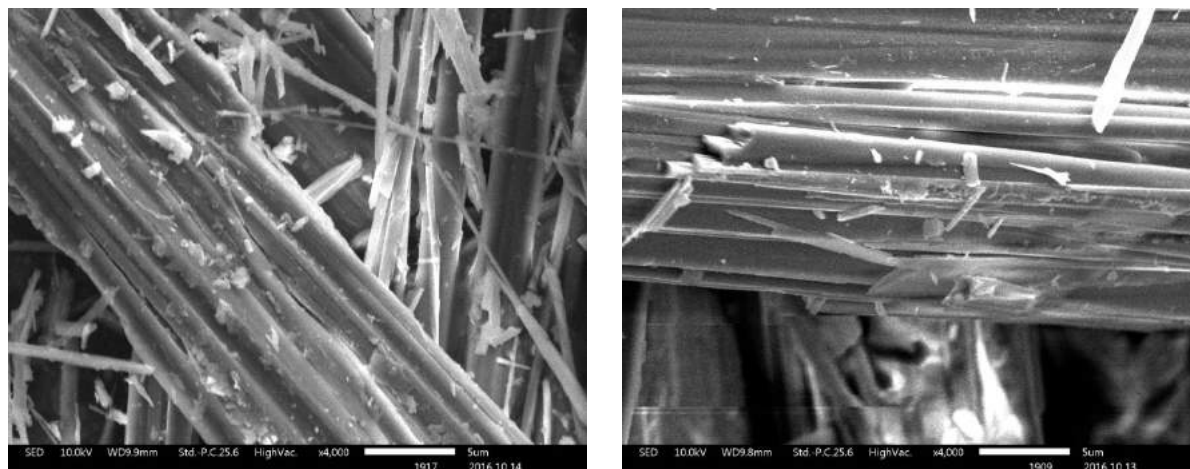


Figure 47 : Image MEB des échantillons 41T1 (gauche) et 37T2 (droite) constitués de trémolite. La barre d'échelle sur les images correspond à une longueur de 5 µm.

3.2.1.4.3. Caractérisation élémentaire par spectroscopie dispersive en énergie (EDS)

Les analyses MEB-EDS ont été réalisées sous forme de cartographies élémentaires à l'aide d'un détecteur Xmax (Oxford) doté de capteurs de 80 mm². Ces analyses ont été réalisées sur l'ensemble des échantillons, mais seuls les résultats obtenus pour un échantillon d'antigorite, de chrysotile et de trémolite sont présentés dans ce rapport.

Les proportions massiques des éléments obtenues par cette technique semi-quantitative sont reportées dans le Tableau 3. Les résultats obtenus montrent que Mg, Si et O sont majoritaires.

Ces pourcentages massiques d'éléments ont été utilisés pour re-calculer les nombres de moles des différents éléments de manière à reconstruire des formules structurales pour les différents minéraux analysés (en utilisant le nombre d'oxygènes attendu dans les différentes formules structurales considérées).

Le Tableau 4 présente les résultats de ces calculs pour un échantillon d'antigorite, de chrysotile et de trémolite. Dans le cas de l'échantillon 13A1 (antigorite) et de l'échantillon 57C3 (chrysotile), les valeurs obtenues permettent d'aboutir à la formule structurale $(\text{Mg,Fe,Ni})_3\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$, alors que dans le cas de l'échantillon 37T2 (trémolite), la formule structurale obtenue est $\text{Ca}_2\text{Mg}_5\text{Si}_8\text{O}_{22}(\text{OH})_2$. Ces formules structurales sont celles attendues pour ces deux familles de minéraux, ce qui signifie que les analyses MEB-EDS permettent de discriminer entre antigorites/chrysotiles, d'une part, et trémolites d'autre part.

	%masse		
	13A1	57C3	37T2
O	49,56	52,83	45,8
Mg	23,99	24,93	15,9
Si	21,66	21,3	26,96
Ca	0,03	0	8,1
Fe	2,13	0,94	2,57
Ni	2,64	0	0

Tableau 3 Pourcentages massiques des éléments mesurés dans les échantillons 13A1 (antigorite), 57C3 (chrysotile) et 37T2 (trémolite).

	13A1	57C3	37T2
MgO	2,69	2,86	5,25
SiO ₂	2,04	2,05	7,46
CaO	0	0	1,62
FeO	0,1	0,05	1,16
NiO	0,13	0,00	0,05

Tableau 4 Nombre de mol de cations re-calculés à partir des analyses EDS du Tableau 1 pour les échantillons 13A1 (antigorite), 57C3 (chrysotile) et 37T2 (trémolite).

3.2.2. CONCLUSIONS SUR LES POLES PURS

A l'issu de cette première partie de l'étude, nous pouvons résumer les résultats obtenus concernant les différents paramètres qui permettent la distinction de l'antigorite, du chrysotile et de la trémolite de la manière suivante :

Diffraction des rayons X sur poudre (PXRD)	Position des maximum d'intensité (Å): <u>Antigorite</u> : 7,38 Å, 3,63 Å, 2,52 Å, 2,41 <u>Chrysotile</u> : 7,38 Å, 4,5 Å 3,63 Å 2,52 Å, 2,41 1.52 Å et 1.30 <u>Trémolite</u> : 8.71 Å, 4.8 Å, 3.28 Å, 3.13 Différentiation chrysotile vs. antigorite délicate, mais différenciation chrysotile/antigorite vs. trémolite aisée
Spectrométrie Raman	Position des bandes d'absorption Raman (cm ⁻¹) <u>3800-3600 cm⁻¹</u> <u>Antigorite</u> : double bande d'absorption 3697 cm ⁻¹ et 3670 cm ⁻¹ <u>Chrysotile</u> : une seule bande 3700 cm ⁻¹ <u>Trémolite</u> : une seule bande 3672 cm ⁻¹ <u>1200-100 cm⁻¹</u> <u>Antigorite</u> : 1045 cm ⁻¹ , 680 cm ⁻¹ , 455 cm ⁻¹ , 372 cm ⁻¹ et 225 cm ⁻¹ <u>Chrysotile</u> : 692 cm-1, 388 cm-1 et 229 cm-1

	<p>Tremolite : 1058 cm⁻¹, 1025 cm⁻¹, 672 cm⁻¹, 416 cm⁻¹, 394 cm⁻¹, 366 cm⁻¹ et 225 cm⁻¹.</p> <p>Trois minéraux facilement différenciables</p>
<p>Microscopie Électronique à Transmission</p>	<p><i>Image à faible grandissement (x4000)</i></p> <p><u>Antigorite</u> : particules allongées longueur plusieurs µm vs. largeur de l'ordre 1 µm <u>Chrysotile</u> : particules allongées longueur plusieurs µm vs. largeur de l'ordre 10 à 20 nm <u>Trémolite</u> : particules allongées longueur plusieurs µm vs. largeur de l'ordre 1 µm (semblent opaques aux électrons)</p> <p>Morphologie caractéristique en fibres fines pour chrysotile. Morphologie plus large (en baguettes) pour antigorite, pas toujours bien discernable de la morphologie en latte pour trémolite.</p> <p><i>Image à fort grandissement (>x50000)</i></p> <p><u>Antigorite</u> : Structures allongées avec des stries caractéristiques <u>Chrysotile</u> : Structures allongées avec un canal central (10 à 20nm de diamètre) <u>Trémolite</u> : Structures allongées assez larges (pas de stries, pas de canal) <u>Serpentine polygonale</u> : Structures allongées avec un canal central, mais dont le diamètre est de plusieurs centaines de nm.</p> <p>Morphologie et détails (stries, canal, diamètre) caractéristiques pour chaque phase minérale</p> <p><i>Diffraction des électrons</i></p> <p><u>Antigorite</u> : Particules allongées sont des monocristaux. Clichés de diffraction plus complexes à analyser mais qui fournissent des informations sur la structure. <u>Chrysotile</u> : Répartition aléatoire des particules (car faible largeur) et donc possibilité de reconstruire diffractogramme d'électrons pour comparaison avec diffraction des rayons X. <u>Trémolite</u> : Particules allongées et larges sont des monocristaux. Clichés de diffraction plus complexes à analyser mais qui fournissent des informations sur la structure.</p> <p>Clichés de diffraction des électrons différents, et donc discriminant, pour chaque minéral.</p>
	<p><i>Image à faible grandissement (x4000)</i></p> <p><u>Antigorite</u> : particules allongées de plusieurs µm de longueur et de 1 µm de largeur</p>

Microscopie Électronique à Balayage	<p><u>Chrysotile</u> : fibres fines dont les plus larges sont de l'ordre de 100 nm (assemblages de fibres fines) de 10 nm.</p> <p><u>Trémolite</u> : particules allongées de plusieurs µm de longueur et de 1 µm de largeur</p> <p>Chysotile très différent des deux autres minéraux (assemblages de fibres en fuseaux).</p> <p><u>Spectroscopie dispersive en énergie.</u></p> <p><u>Antigorite</u> : Reconstruction de la formule structurale $(Mg,Fe,Ni)_3Si_2O_5(OH)_4$</p> <p><u>Chrysotile</u> : Reconstruction de la formule structurale $(Mg,Fe,Ni)_3Si_2O_5(OH)_4$</p> <p><u>Trémolite</u> : Reconstruction de la formule structurale $Ca_2Mg_5Si_8O_{22}(OH)_2$</p> <p>Distinction anitgorite vs. chysotile impossible, mais distinction trémolite vs. antigorite/chrysotile très aisée.</p>
--	---

3.2.3. RESULTATS OBTENUS SUR LES MELANGES BINAIRES D'ASBESTES

3.2.3.1. Préparation des melanges

Les analyses réalisées durant la première partie de l'étude ont permis d'identifier les échantillons 13A1 (antigorite), 57C3 (chrysotile) et 37T2 (trémolite) comme des pôles purs.

Plusieurs mélanges ont donc été réalisés en broyant manuellement différentes masses de ces pôles purs dans un bain d'éthanol dans un mortier en agate, puis en les laissant sécher à l'air. Ces mélanges sont détaillés dans le Tableau 3.

Tableau 5 : Masses d'antigorite (échantillon 13A1), de chrysotile (échantillon 57C3) et de trémolite (échantillon 37T2) pesées pour réaliser les mélanges binaires.

% théoriques	% réels	Antigorite/Chrysotile					
		13A1	57C3				
90/10	87,1/12,9	98,9	14,6				
75/25	75,2/24,8	73,9	24,4				
50/50	52,2/47,8	54,5	49,9				
25/75	28,9/71,1	29,4	72,2				
10/90	8,4/91,6	8,4	91,9				
				Antigorite/Trémolite			
				13A1	37T2		
90/10	91,6/8,4			86,3	7,9		
75/25	76,5/23,5			76,9	23,6		
50/50	50,3/49,7			52,2	51,5		
25/75	24,2/75,8			23,9	74,9		
10/90	10,0/90,0			10,1	90,5		
						Chrysotile/Trémolite	
						57C3	37T2
90/10	97,8/2,2					90,9	2,0
75/25	79,3/20,7					99,1	25,8
50/50	71,5/28,5					71,6	28,5
25/75	30,6/69,4					41,5	94,6
10/90	21,6/78,4					27,6	100,1

3.2.3.2. Capacité de la diffraction des rayons X à détecter et identifier les pôles purs dans des mélanges binaires d'asbestes

L'analyse par diffraction des rayons X a été réalisée sur tous les mélanges présentés dans le Tableau 5. Les diffractogrammes de rayons X sont présentés sur les Figures 48, 49 et 50.

Sur la figure 48, les diffractogrammes de rayons X des mélanges antigorite/trémolite montrent bien une évolution régulière de l'intensité des pics de diffraction associés à la trémolite ou à l'antigorite en fonction de la proportion de ces pôles purs dans le mélange. De la même manière, sur la figure 49, les diffractogrammes de rayons X des mélanges chrysotile/trémolite montrent bien une évolution régulière de l'intensité des pics de diffraction associés à la trémolite ou au chrysotile en fonction de la proportion de ces pôles purs dans le mélange. Dans le cas des mélanges antigorite/chrysotile (Figure 50), l'évolution relative de l'intensité des pics de diffraction associés à chaque pôle pur est moins visible. Ceci est lié au fait que ces pics de diffraction se chevauchent en grande partie pour ces deux phas

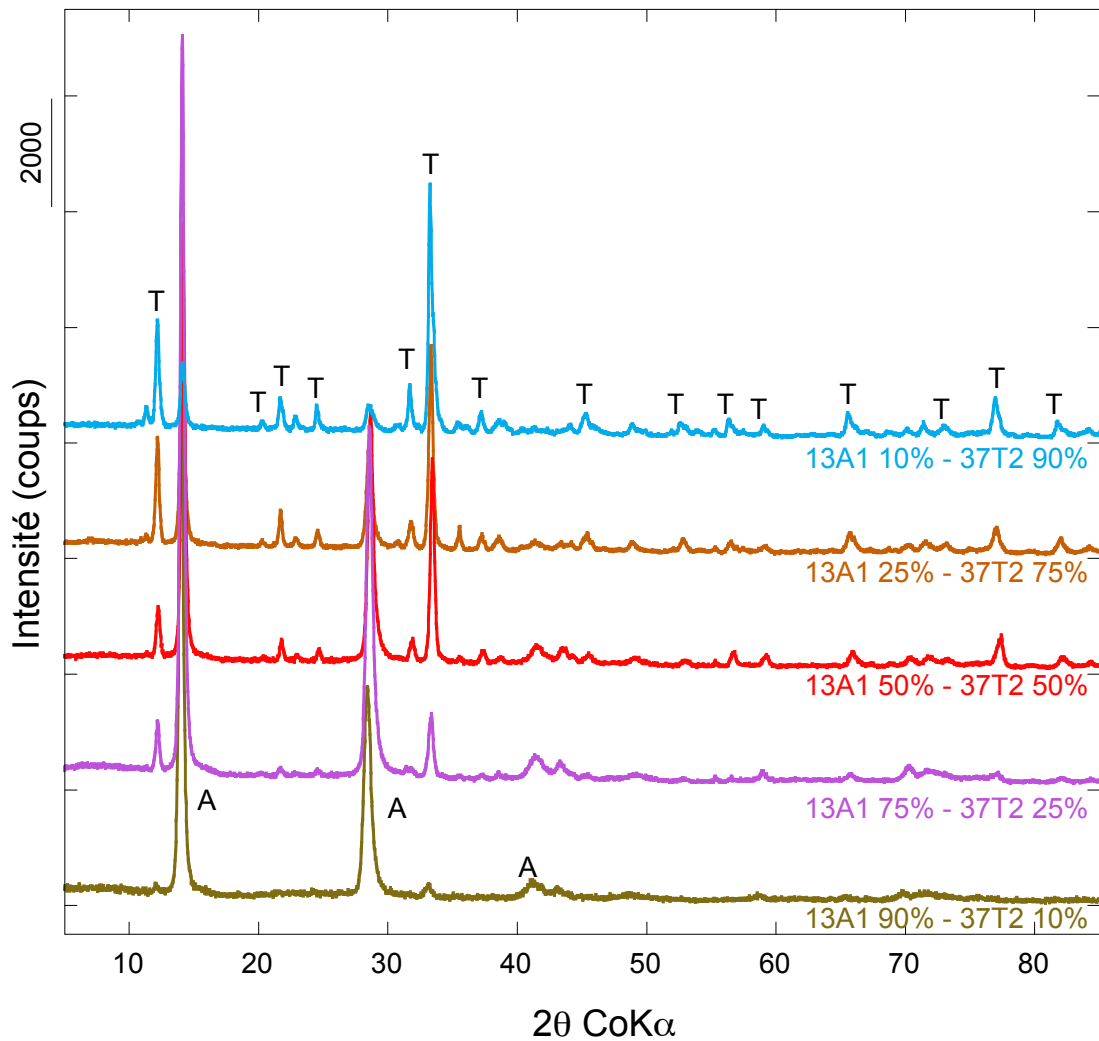


Figure 48 : Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges binaires antigorite/trémolite. Les pics indexés avec la lettre T correspondent à la trémolite et ceux indexés avec la lettre A correspondent à l'antigorite.

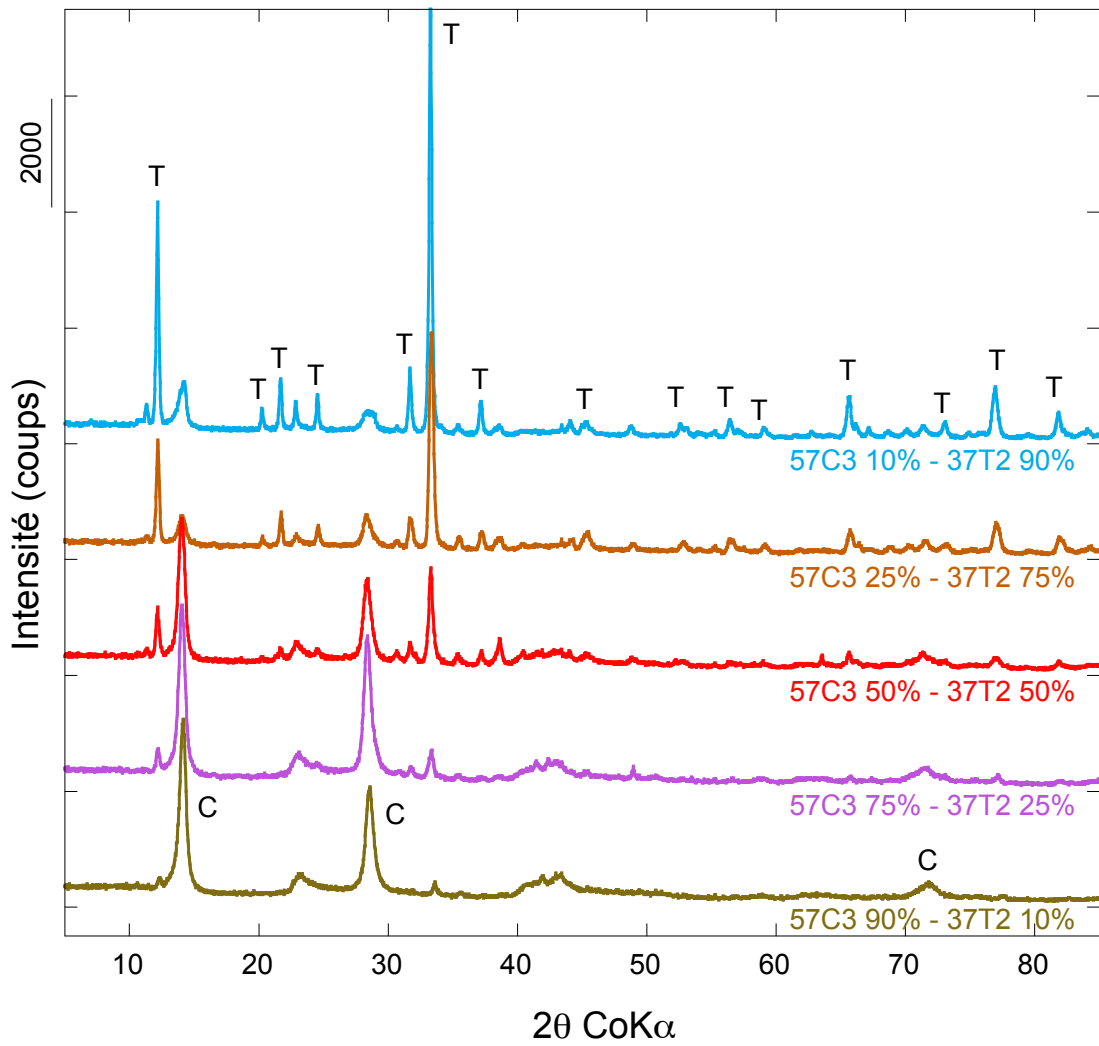


Figure 49 : Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges binaires chrysotile/trémolite. Les pics indexés avec la lettre C correspondent au chrysotile et ceux indexés avec la lettre T correspondent à la trémolite.

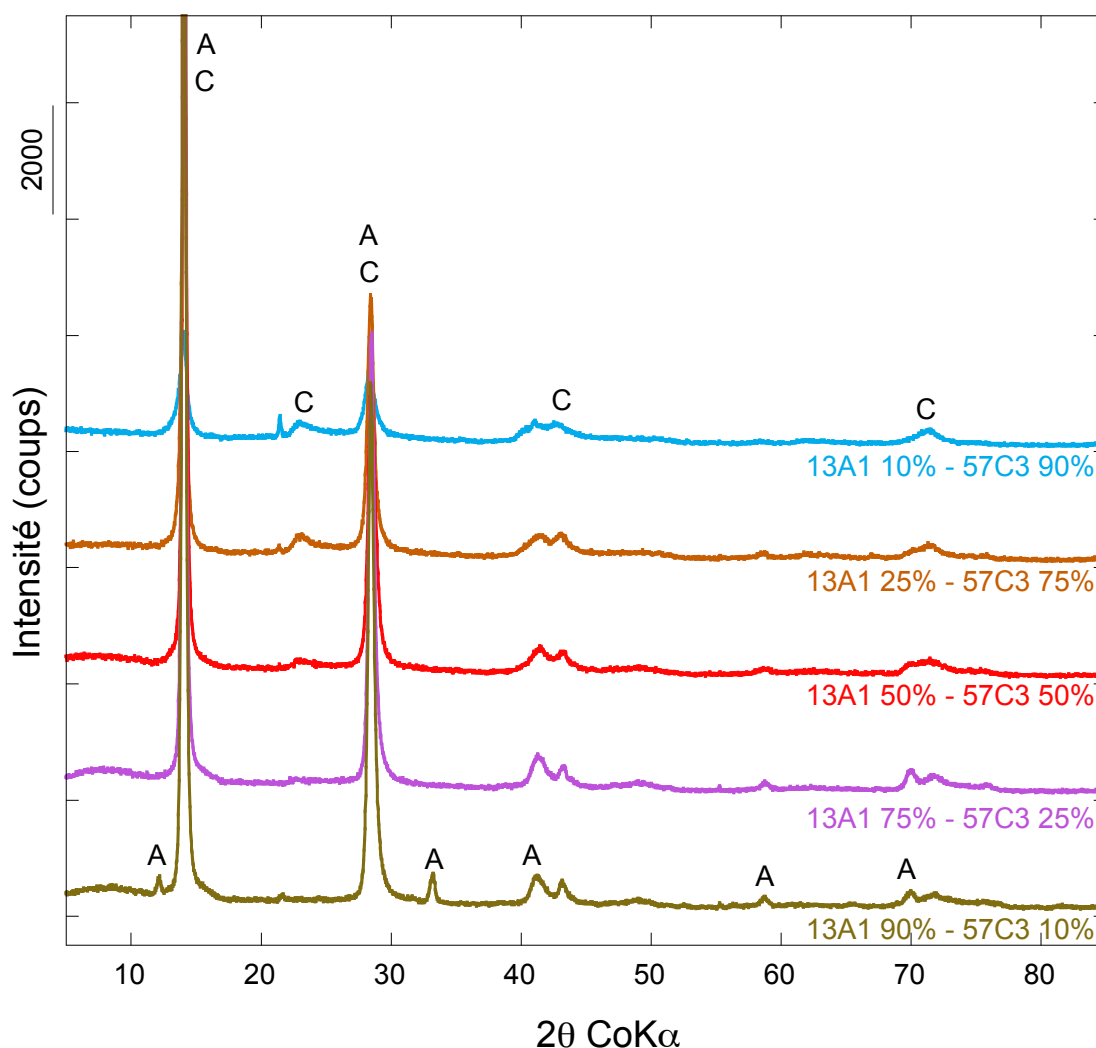


Figure 50 : Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges binaires antigorite/chrysotile. Les pics indexés avec la lettre A correspondent à l'antigorite et ceux indexés avec la lettre C correspondent au chrysotile.

3.2.3.3. capacité de la diffraction des rayons x à quantifier les proportions relatives des pôles purs dans des mélanges binaires d'asbestes

3.2.3.3.1. Etat de l'art

La diffraction des rayons X pour déterminer les proportions en masse de chrysotile, d'antigorite et de trémolite est utilisée depuis plusieurs dizaines d'années. Parmi les premiers travaux, nous pouvons citer les travaux de J. V. Crable et al ; 1966, sur des matériaux massifs ou des poussières. Au cours des années 80, H.W Dunn et JH Steward Jr ont rapporté des résultats sur la quantification des proportions de chrysotile au sein de matériaux de

construction. Nous pouvons également citer le travail de A.R. Rohl et A.M Langer, 1974, qui ont quantifié du chrysotile et de la trémolite dans du Talc. Les proportions recherchées étaient comprises entre 0,5% et 5 %, le but étant de préciser si le matériau contenant du chrysotile respectait ou non le seuil maximum de 1% fixé, à l'époque, par l'agence américaine de protection de l'environnement (Dunn et al., 1982). Plus récemment, la technique d'analyse quantitative par diffraction des rayons X a été utilisée pour déterminer des proportions d'amphibole dans des matrices de chrysotile. La méthode utilisée comprenait une phase de digestion du chrysotile, ce qui augmente d'un facteur 10 la précision des mesures pour atteindre une limite de détection des phases amphiboles de 0,01 à 0,05 % en masse (Addison et al., 1990). A partir du milieu des années 90, la quantification des phases minérales à partir des données de diffraction des rayons X a été améliorée à l'aide de l'approche par affinement Rietveld. Selon cette approche, un diffractogramme théorique est calculé en ajustant les paramètres de structures et les proportions des phases minérales dans le but d'obtenir la meilleure correspondance avec le diffractogramme expérimental. En utilisant cette approche numérique et la méthode RIR ou "Reference Intensity Ratio" (qui fait intervenir une phase minérale de référence au sein de l'échantillon), A. Gualtieri et G. Artioli, 1995, ont déterminé les proportions de chrysotile dans un matériau massif avec une précision comprise entre 0,5 et 1 %. La précision variait en fonction de paramètres tels que la statistique de comptage du signal ou l'absorption de la matrice dans laquelle la phase à étudier était incluse. Pour un diffractomètre enregistré sur un appareil de laboratoire conventionnel, le pourcentage en masse mesuré est précis à 1 % (erreur relative de 1 à 10 %). En utilisant la méthode RIR, L. de Stephano et col. ont montré qu'il est possible de diminuer cette erreur relative à 5 % en modifiant les conditions de préparation des échantillons (temps de broyage). Enfin, l'utilisation d'une méthode de préparation des échantillons utilisant un enrichissement par élutriation a permis de mesurer des quantités de chrysotile inférieures à 1 % en masse dans des sols argileux et sableux. Avec cette méthode de préparation, la limite de détection, par diffraction des rayons X, est de 0,05 % en masse (Foresti et al., 2003). Quelques études relatent des analyses quantitatives d'antigorite ou de trémolite par DRX, mais elles sont moins nombreuses que pour le chrysotile. Par ailleurs, peu d'études ont jusqu'à présent été consacrées à la difficulté de discriminer, par diffraction de rayon X, les proportions de chrysotile, d'antigorite ou de trémolite dans des mélanges de ces minéraux.

3.2.3.3.2. Principe et protocole de mesure

L'analyse quantitative des proportions de phases minérales par diffraction de rayon X est une technique couramment utilisée. Les trois méthodes qui ont bien été décrites dans la littérature sont :

- la méthode par **détermination directe**, pour laquelle une correspondance est établie entre l'intensité (l'aire) des pics de diffraction d'une structure et sa proportion dans l'échantillon.
- la méthode dite **RIR** ou "Reference Intensity Ratio", qui consiste à se référer à l'intensité des pics de diffraction d'une phase minérale étalon.
- la méthode par **affinement Rietveld** ou le diffractogramme de chaque phase minérale est recalculé à l'aide d'un modèle théorique.

Au cours de cette étude, nous avons opté pour les méthodes par détermination directe et par affinement Rietveld. La méthode par affinement Rietveld est la méthode la plus robuste car elle permet de déterminer les proportions des échantillons par un calcul et qu'elle prend en compte une majorité des paramètres liés à l'échantillon (coefficient d'absorption par exemple), ainsi que la configuration de l'appareillage. La méthode RIR ou "Reference

Intensity Ratio" permet de s'affranchir de ces paramètres, mais elle nécessite l'introduction d'une quantité connue d'un témoin dans chaque échantillon. Nos mesures ont été réalisées sur un même appareil (diffractomètre INEL), à partir de phases minérales dont la composition chimique est proche (du moins pour les mélanges antigorite/chrysotile/trémolite). Dans ce cas, la variabilité des paramètres liées à la nature chimique des phases minérales et à la configuration de l'appareillage est faible.

3.2.3.3.3. Détermination des proportions relatives des pôles purs dans les mélanges binaires d'asbestes par affinement Rietveld

Une première estimation des proportions relatives des pôles purs dans les différents mélanges analysés a été réalisée par affinement Rietveld des diffractogrammes de rayons X. Ces ajustements par affinement Rietveld ont été réalisés avec le Programme MAUD (Ferrari et al., 1994), en utilisant les paramètres déterminés pour chaque phase lors de l'affinement des diffractogrammes de rayons X des pôles purs.

Le protocole des affinements Rietveld était le suivant :

- intégration des paramètres des phases minérales des pôles ;
- blocage de l'ensemble des paramètres à ajuster ;
- ajustement des paramètres d'intensité du rayonnement et de décalage de surface de référence;
- ajustement du paramètre des proportions de phases ;
- ajustement avec l'ensemble des paramètres de structures libérés.

Cette approche présente l'avantage d'ajuster les proportions des phases avant l'ajustement des paramètres structuraux. On évite ainsi que le logiciel modifie les paramètres associés aux structures pour atteindre un meilleur qui serait alors fictif. Après chaque ajustement, une vérification des paramètres structuraux obtenus (notamment les paramètres de maille) a été réalisée pour chacune des phases. Lorsque les paramètres finaux étaient trop éloignés des paramètres initiaux, l'affinement n'était pas retenu et une nouvelle procédure était lancée.

A titre d'exemple, la Figure 51 présente les diffractogrammes de rayons X ajustés par affinement Rietveld pour les mélanges chrysotile/antigorite 50/50, chrysotile/trémolite 50/50 et antigorite/trémolite 50/50. Les diffractogrammes de rayons X de l'ensemble des mélanges binaires analysés et leurs ajustements Rietveld sont présentés en Annexe 3.

Ces Figures soulignent la qualité des ajustements par affinement Rietveld réalisés.

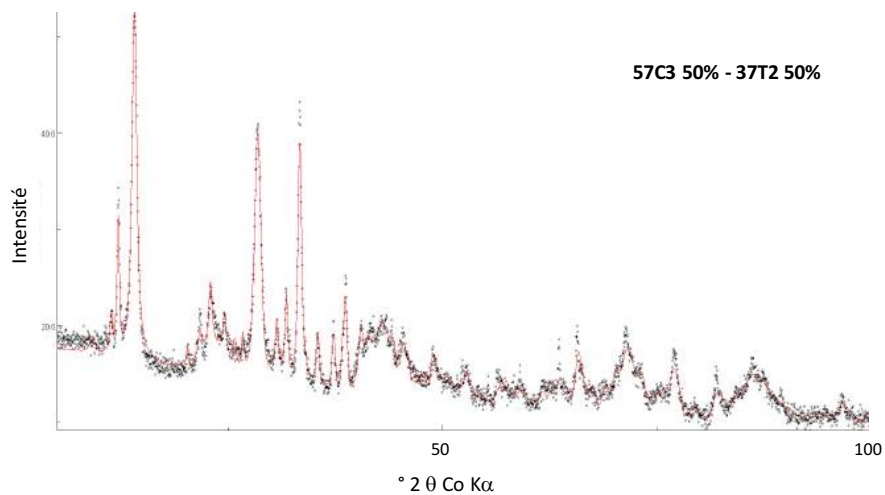
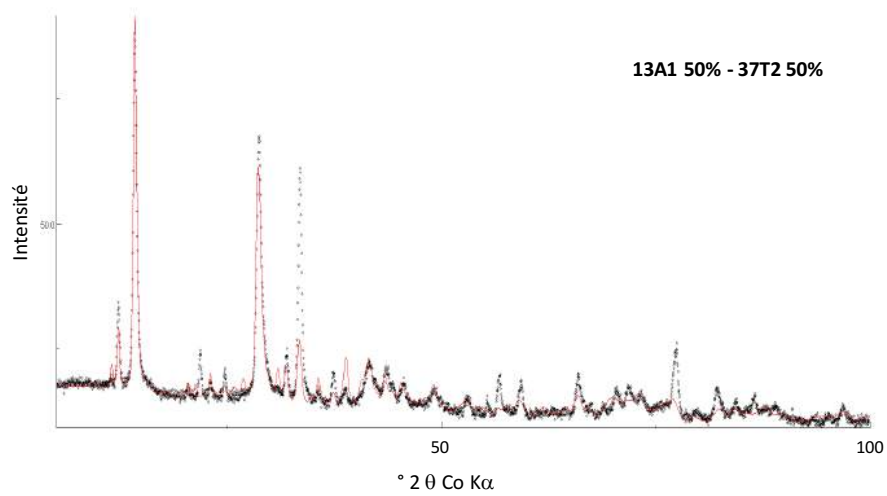
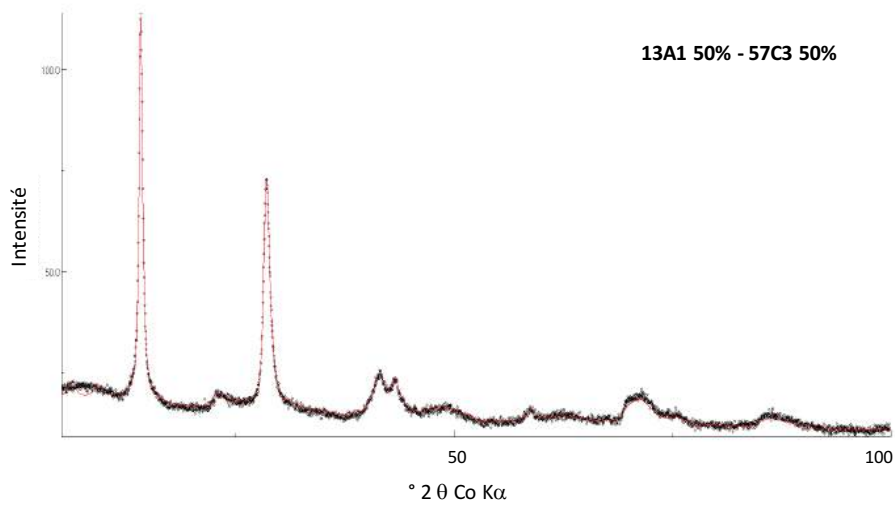


Figure 51 : Exemples des résultats d'ajustement par affinement Rietveld (rouge) des diffractogrammes de rayons X expérimentaux (noir) obtenus sur les mélanges 50/50 Antigorite/Chrysotile (haut), Antigorite/Trémolite (milieu) et Chrysotile/Trémolite (bas).

Les paramètres de ces différents ajustements ont permis d'estimer les proportions relatives des différentes phases dans chacun des mélanges binaires analysés. La Figure 52 récapitule l'ensemble des résultats ainsi obtenus en comparant les proportions réelles d'antigorite, de chrysotile et de trémolite dans chacun de ces mélanges aux proportions estimées par affinement Rietveld. Sur ces graphiques, une première droite de régression a été tracée en forçant le passage par l'origine (droites en rouge) et une seconde droite de régression a été tracée en autorisant une ordonnée à l'origine (droites en bleu).

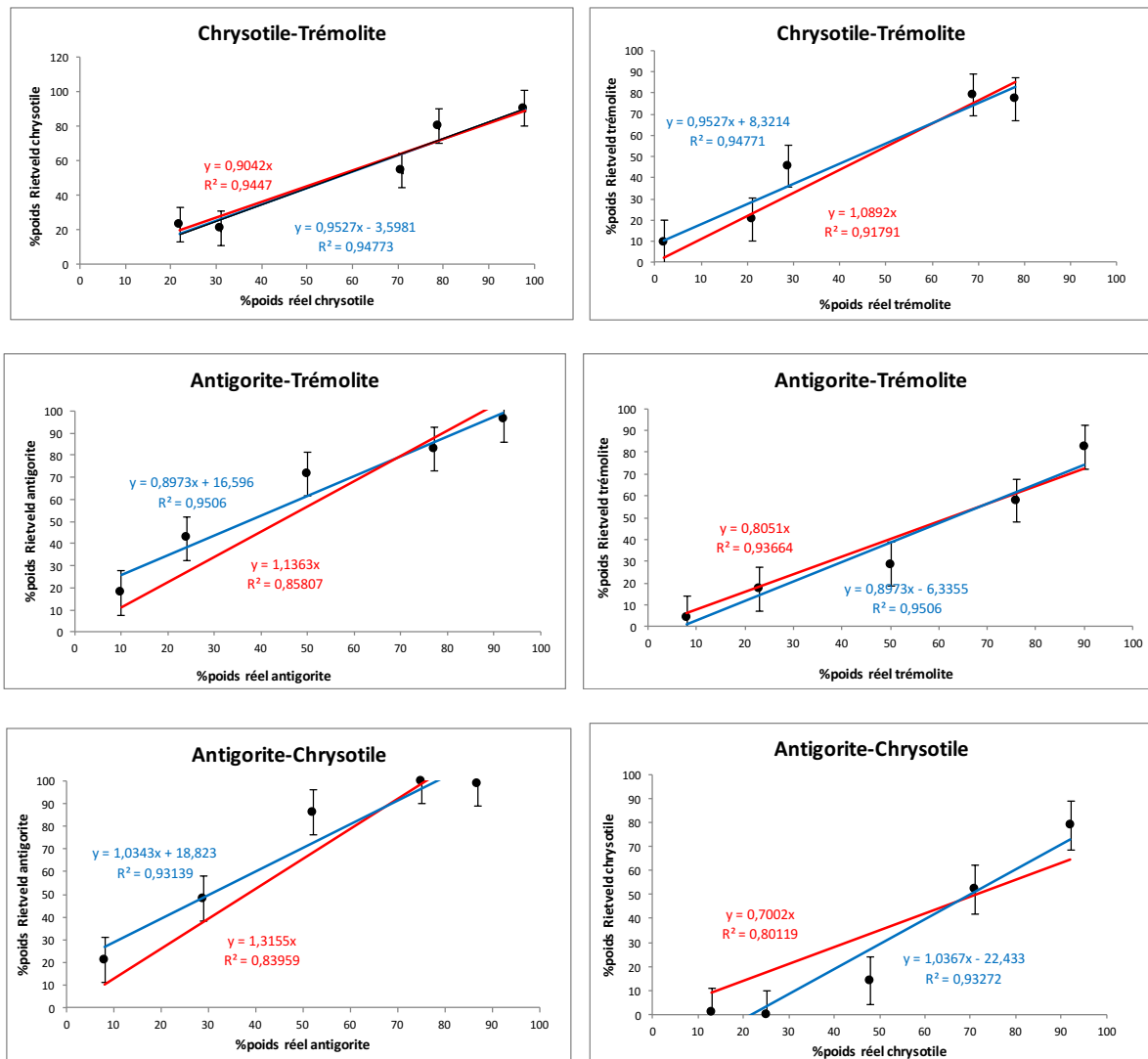


Figure 52 : Comparaison entre les proportions réelles et celles estimées par affinement Rietveld des diffractogrammes de rayons X pour l'antigorite, le chrysotile et la trémolite dans les différents mélanges de pôles purs.

Les pentes des droites passant par l'origine sont toutes relativement proches de l'unité et les coefficients de corrélation sont supérieurs à 0.80, ce qui indique un accord relativement satisfaisant entre les proportions réelles des différents minéraux asbestiformes et celles estimées par affinement Rietveld. On note toutefois des résultats moins satisfaisants pour les mélanges chrysotile/antigorite. Une explication possible est la forte similitude des

diffractogrammes de rayons X pour ces deux minéraux asbestiformes qui conduit à une plus grande incertitude, et donc une plus grande variabilité, dans les paramètres des ajustements.

De la même manière, les pentes des droites ne passant par l'origine sont toutes assez proches de l'unité et les coefficients de corrélation sont supérieurs à 0.90. En revanche, les valeurs parfois élevées des ordonnées à l'origine de ces régressions (jusqu'à 23 pour la proportion de chrysotile dans les mélanges chrysotile/antigorite) suggèrent que l'incertitude de la quantification selon cette approche augmente pour les pôles purs les moins abondants dans les mélanges les plus extrêmes. Cette perte de qualité dans la quantification est plus marquée pour les mélanges chrysotile/antigorite (probablement pour les mêmes raisons que celles évoquées ci-dessus).

3.2.3.3.4. Détermination des proportions relatives des pôles purs dans les mélanges binaires d'asbestes par la méthode dite "directe"

Les mélanges de phases ont été pesés à partir des fractions de pôles purs secs. Une fois ces fractions pesées un mélange et un nouveau broyage manuel des échantillons ont été effectués dans l'éthanol. Ces manipulations ont été effectuées soit en salle blanche sous hotte à flux laminaire et sous une sorbonne comportant des filtres HEPA.

L'intensité des rayons X obtenu après diffraction sur une structure cristalline est décrite par la relation suivante, pour un maximum d'intensité k d'une phase i .

$$I_{i,k} = K_e K'_{i,k} \left(w_i \frac{\rho_m}{\mu_m} \right)$$

ρ_m est la densité volumique du mélange, μ_m le coefficient d'absorption linéaire du mélange, K_e est un paramètre lié au montage expérimental, $K_{k,i}$ est un paramètre caractéristique du maximum d'intensité k . W_i est la fraction massique du composé i définie par la masse de i divisée par la masse totale.

Le coefficient d'absorption du mélange est égal à : $\mu_m = \phi_i \mu_i$ ou ϕ_i est la fraction volumique de la phase i et μ_i le coefficient d'absorption linéaire de la phase i .

Dans le cas des mélanges avec l'antigorite, le chrysotile et la trémolite, les coefficients d'absorption sont proches et le rapport $\left(\frac{\rho_m}{\mu_m} \right)$ varie peu. Nous pouvons donc nous en affranchir et considérer que l'intensité d'un pic de diffraction est proportionnelle à la fraction massique de la phase dans le mélange. Nous avons déterminé l'intensité des pics de diffraction à l'aide du programme PeakOC (Masson, 1998) qui détermine la surface des pics de diffraction en ajustant des fonctions pseudo-voigt (somme pondérée de fonctions Gaussiennes et Lorentziennes). Pour obtenir une valeur normalisée, nous avons généralement utilisée la valeur de l'intensité correspondant à 90 % de la phase majoritaire.

La détermination dite "directe" des proportions de phases minérales, présentée précédemment, ont été appliqués aux diffractogrammes obtenus pour les mélanges antigorite/trémolite, chrysotile/trémolite et antigorite/chrysotile pour différentes proportions de phases minérales. Cette méthode prévoit la détermination des fractions massiques des échantillons, à partir d'un ou plusieurs pics de diffraction associés à la structure analysée.

Dans notre cas, nous avons préféré déterminer les proportions des différentes phases en considérant un seul pic de diffraction à la fois. Pour certains mélanges (antigorite/chrysotile, par exemple), les recouvrements de certains pics de diffraction associés aux deux phases ont tendance à fausser les résultats.

Les proportions d'antigorite et de trémolite déterminées à l'aide de cette méthode dite "directe" dans le cas du mélange antigorite/trémolite sont présentées sur la Figure 53.

Les fractions massiques d'antigorite ont été déterminées à partir de la surface du pic de diffraction (102) ($d_{102}=3.6 \text{ \AA}$). Ces fractions massiques sont représentées en fonction de la fraction d'antigorite effectivement introduite dans l'échantillon (Figure 53, gauche). La pente de la droite de régression entre ces fractions massiques théoriques et réelles d'antigorite est très proche de 1 et le coefficient de cette régression est de 0,98, que l'on force ou non cette droite de régression à passer par l'origine du graphique. Dans le cas de la trémolite, c'est la surface du pic de diffraction (201) ($d_{201}= 3.1 \text{ \AA}$) qui a été utilisée et ces fractions massiques estimées sont présentées en fonction de la fraction de trémolite effectivement introduite dans l'échantillon (Figure 53, droite). La pente de la droite de régression entre ces fractions massiques théoriques et réelles de trémolite est comprise entre 1,06 et 1,09 avec des coefficients de régression proches de 0,90, que l'on force ou non cette droite de régression à passer par l'origine du graphique.

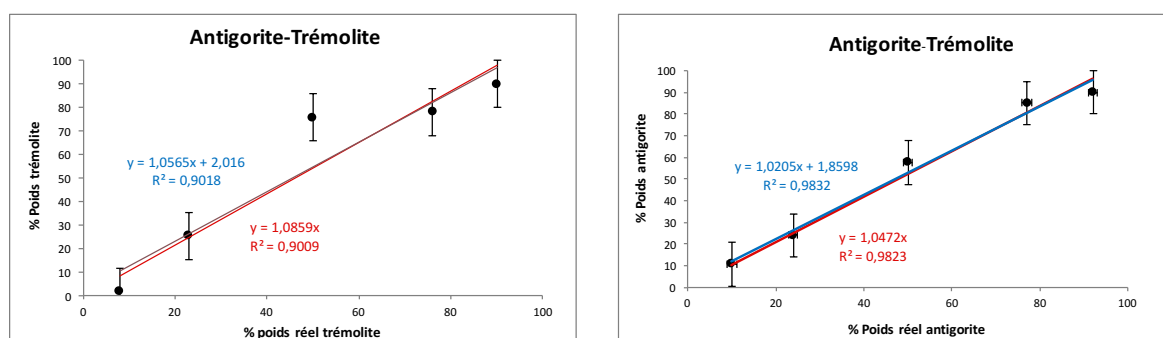


Figure 53 : (gauche) Relation entre la fraction massique d'antigorite estimée à partir de la surface du pic de diffraction (102) et la fraction massique réelle d'antigorite. (droite) Relation entre la fraction massique de trémolite estimée à partir de la surface du pic de diffraction (201) et la fraction massique réelle de trémolite.

Un travail similaire a été réalisé pour les mélanges chrysotile-trémolite. Sur la Figure 54 (gauche), les fractions massiques de chrysotile estimées à l'aide de l'intensité du pic de diffraction (002) ($d_{002}= 7,2 \text{ \AA}$) sont présentées en fonction des fractions massiques réelles. Dans le cas où la droite de régression passe par l'origine du diagramme (droite rouge), la pente est proche de 1 (1,04). Cependant, dans le cas où l'ordonnée à l'origine est laissée libre, la pente de la droite de régression (droite bleu) augmente pour atteindre une valeur de 1,19. Dans les deux cas, les coefficients de régression sont supérieurs à 0,94. Sur la Figure 54 (droite), les fractions massiques de trémolite estimées à l'aide de l'intensité des pics de diffraction (201) ($d_{201}= 3,1 \text{ \AA}$) sont présentées en fonction des fractions massiques réelles. Les deux droites de régression, passant ou non par l'origine du graphique, présentent des pentes de 1,12 et 1,18, respectivement, et des coefficients de régression proches de 0,93.

Ainsi, les résultats pour les mélanges antigorite/trémolite et chrysotile/trémolite indiquent que la méthode "directe" permet d'obtenir une estimation relativement fiable des proportions de pôles purs à partir de l'intensité de certains pics de diffraction.

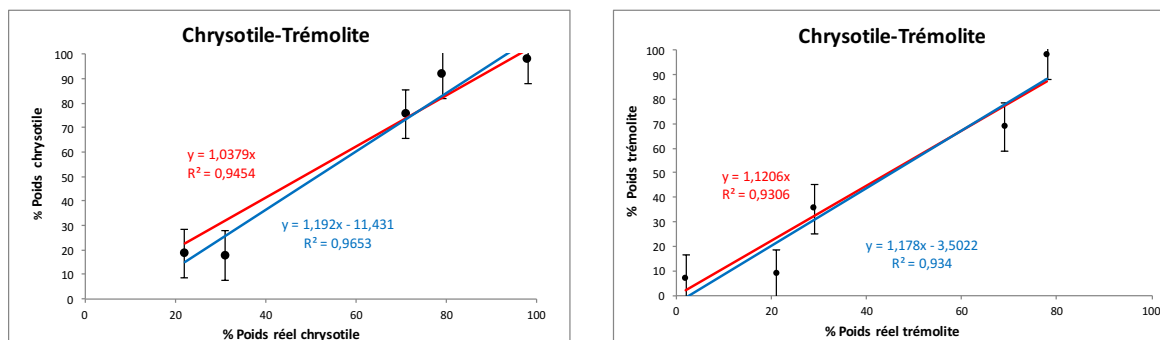


Figure 54 : (gauche) Relation entre la fraction massique de chrysotile estimée à partir de la surface du pic de diffraction (002) et la fraction massique réelle de chrysotile. (droite) Relation entre la fraction massique de trémolite estimée à partir de la surface du pic de diffraction (201) et la fraction massique réelle de trémolite.

Cette conclusion doit cependant être pondérée dans le cas des mélanges antigorite-chrysotile pour lesquels l'estimation des fractions massiques des pôles purs à partir de la méthode "directe" apparaît plus délicate.

A titre d'exemple, la Figure 55 (gauche) présente la fraction massique d'antigorite estimée à partir de l'intensité du pic de diffraction (001) ($d_{001}=7,2 \text{ \AA}$; $2\theta=14^\circ$ avec une source Co K_α) en fonction de la fraction massique réelle. La pente de la droite de régression passant par l'origine est proche de 1 (1,08) et son coefficient de corrélation est égal à 0,92. La droite de régression ne passant pas par l'origine présente quant à elle une pente légèrement inférieure à 1 (0,9), mais avec un très bon coefficient de corrélation (0,98). La correspondance entre les fractions massiques réelles d'antigorite et celles estimées est donc bonne pour ce mélange antigorite/chrysotile.

Cependant, lorsque l'on tente d'estimer les fractions massiques de chrysotile dans les mêmes mélanges à partir de l'intensité du pic (002) ($d_{001}=7,2 \text{ \AA}$; $2\theta=14^\circ$ avec une source Co K_α), la relation avec les fractions massiques réelles apparaît négative (Figure 55, droite).

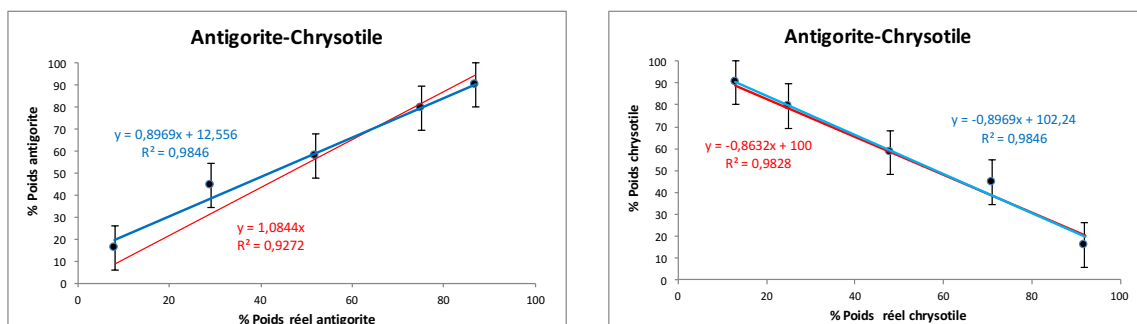


Figure 55 : (gauche) Relation entre la fraction massique d'antigorite estimée à partir de la surface du pic de diffraction (001) et la fraction massique réelle d'antigorite. (droite) Relation entre la fraction massique de chrysotile estimée à partir de la surface du pic de diffraction (002) et la fraction massique réelle de chrysotile.

Ces résultats obtenus à l'aide du pic de diffraction (002) du chrysotile localisé à $2\theta=14^\circ$ (source Co K $_{\alpha}$) suggèrent ainsi que la contribution de l'antigorite à ce pic de diffraction l'emporte sur celle du chrysotile, ce qui conduit à une estimation totalement erronée de la fraction massique de chrysotile. Ils démontrent ainsi qu'il existe une limitation à l'utilisation de la méthode "directe" pour quantifier les fractions massiques de chrysotile dans des mélanges binaires antigorite/chrysotile lorsque cette approche est appliquée à des pics de diffraction qui se chevauchent pour les deux pôles purs ($2\theta=14^\circ$ et 28° avec une source Co K $_{\alpha}$).

En revanche, l'approche dite "directe" peut être appliquée à des pics de diffraction non impactés par ces chevauchements.

A titre d'exemple, de nouvelles estimations des proportions de chrysotile dans les mélanges antigorite/chrysotile ont été réalisées à l'aide du pic de diffraction (020) ($2\theta= 23,5^\circ$ $d_{020}=4,44$ Å avec une source Co K $_{\alpha}$). Ce pic est asymétrique car il est en fait constitué de plusieurs pics entre $23,5^\circ$ et $24,5^\circ$ (source Co K $_{\alpha}$). Pour déterminer la surface de ce pic asymétrique, nous l'avons ajusté à l'aide de deux pics positionnés à $23,5$ et 24° . La somme des intensités mesurées pour ces deux pics est considérée comme représentative de la fraction massique de chrysotile dans les mélanges. La Figure 56 présente cette fraction estimée en fonction de la fraction massique réelle de chrysotile dans les différents mélanges. La droite de régression passant par l'origine du graphique présente une pente de 0,91 et un coefficient de corrélation de 0,93. La droite de régression ne passant pas par l'origine présente une pente plus élevée (1,07), mais toute aussi proche de 1, et un coefficient de corrélation de 0,96.

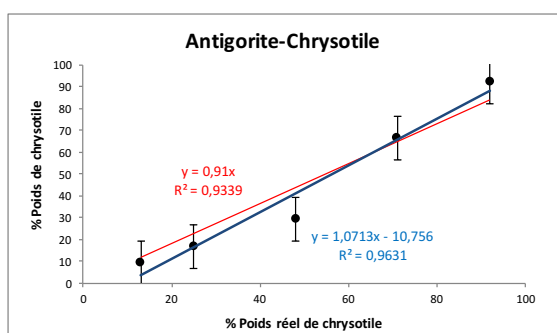


Figure 56 : Relation entre la fraction massique de chrysotile estimée à partir de la surface du pic de diffraction (020) et la fraction massique réelle de chrysotile.

Malgré les difficultés rencontrées par le chevauchement de certains pics de diffraction pour le chrysotile et l'antigorite, les résultats obtenus avec l'approche "directe" montrent ainsi qu'il est possible d'effectuer une quantification relativement fiable des fractions massiques d'antigorite et de chrysotile par diffraction des rayons X sur poudre dans des mélanges binaires de ces deux pôles purs.

3.2.3.4. Capacité de la microscopie Raman à détecter et identifier les minéraux asbestiformes dans des mélanges binaires

La microscopie Raman a démontré sa capacité à détecter et caractériser les pôles purs des minéraux asbestiformes dans des mélanges binaires, et ceci sur l'ensemble de la gamme de mélanges réalisés.

Ceci est illustré sur les Figures 57 et 58 pour le mélange antigorite/trémolite. la Figure 57 montre en effet que l'antigorite est identifiée sans ambiguïté grâce à une double bande d'absorption caractéristique vers 3675 et 3700 cm^{-1} . Dans cette même région, la trémolite est quant à elle identifiée par la présence d'une seule bande vers 3675 cm^{-1} . L'identification de la trémolite est confirmée par la présence d'une bande d'absorption particulièrement intense vers 672 cm^{-1} . Les bandes de plus faible intensité dans la région 1200-100 cm^{-1} permettent de confirmer la présence de ces deux minéraux asbestiformes dans les mélanges. De la même manière, la Figure 58 montre que l'antigorite est détectée sans ambiguïté dans le mélange antigorite/trémolite 10/90, et qu'à l'inverse, la trémolite est identifiée sans ambiguïté dans le mélange antigorite/trémolite 90/10.

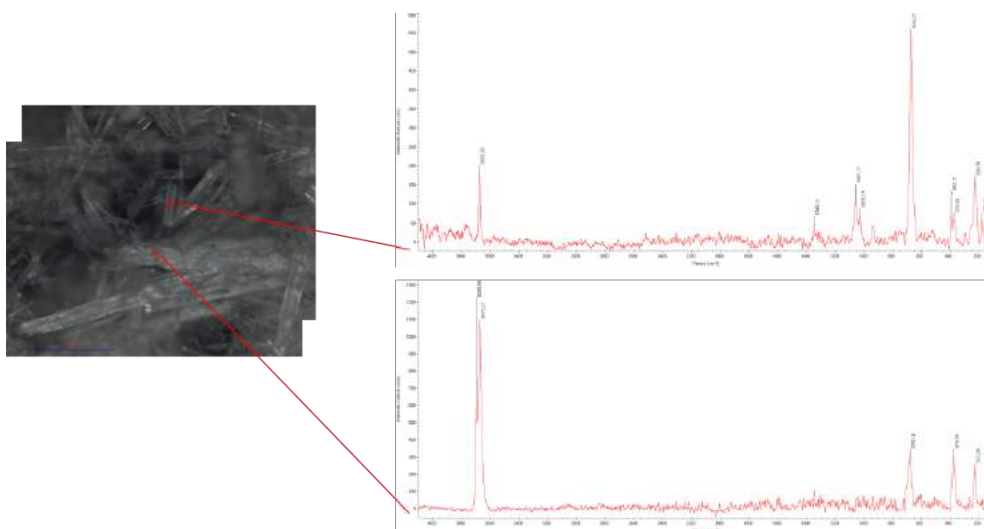


Figure 57 : Exemples de spectres Raman obtenus sur le mélange Antigorite/Trémolite 10/90. Le spectre du haut est caractéristique de la trémolite, alors que le spectre du bas est caractéristique de l'antigorite.

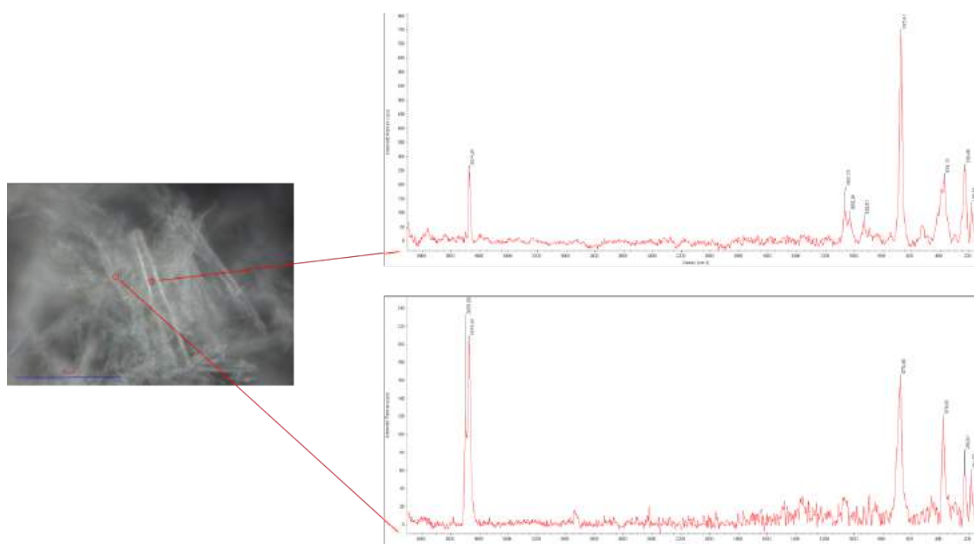


Figure 58 : Exemples de spectres Raman obtenus sur le mélange Antigorite/Trémolite 90/10. Le spectre du haut est caractéristique de la trémolite, alors que le spectre du bas est caractéristique de l'antigorite.

Cette capacité de la microscopie Raman à détecter et caractériser les pôles purs des minéraux asbestiformes dans des mélanges binaires sur l'ensemble de la gamme de mélanges réalisés a pu être démontrée pour les trois types de mélanges étudiés (antigorite/trémolite, antigorite/chrysotile et chrysotile/trémolite) (Annexe 4).

3.2.4. CONCLUSIONS SUR LES MELANGES BINAIRES D'ASBESTES

3.2.4.1. Diffraction des rayons X

Les données présentées dans ce paragraphe soulignent la capacité de la diffraction des rayons X à détecter et caractériser les minéraux asbestiformes étudiés dans le cadre de cette étude (antigorite, trémolite et chrysotile) lorsque ces minéraux sont présents en mélanges binaires.

Par ailleurs, les deux approches quantitative (affinement Rietveld et approche "directe") ont montré des résultats qui suggèrent que la diffraction des rayons X peut également être envisagée pour quantifier les minéraux asbestiformes dans les différents mélanges binaires de pôles purs analysés.

3.2.4.2. Microscopie Raman

Les données présentées dans ce paragraphe soulignent la capacité de la microscopie Raman à détecter et caractériser les minéraux asbestiformes étudiés dans le cadre de cette étude (antigorite, trémolite et chrysotile) lorsque ces minéraux sont présents en mélanges binaires.

En revanche, il n'a pas été possible de démontrer la capacité de la microscopie Raman à quantifier les minéraux asbestiformes dans les différents mélanges binaires de pôles purs analysés. Ceci tient au fait que les analyses réalisées sont résolues spatialement et qu'elles ne permettent donc pas d'analyser un volume d'échantillon suffisamment important pour être représentatif de la composition moyenne de l'échantillon. Dès lors, toute tentative de reconstitution des proportions relatives des minéraux identifiés dans les mélanges sur la base des analyses réalisées est vaine.

Une solution envisagée est de tester le potentiel de l'analyse Raman en mode *cartographie* pour accomplir cette tâche car le microscope Raman disponible au Centre IRD de Nouméa est équipé d'une platine motorisée autorisant ce mode d'analyse. Quelques essais préliminaires ont pu être réalisés dans le cadre de cette étude. Cependant, ces essais n'ont pas permis d'aboutir à une conclusion sur ce point car l'analyse Raman en mode *cartographie* nécessite une préparation particulièrement plane des échantillons étudiés du fait des effets importants de la topographie de surface sur la mise au point à chaque point d'analyse. Ce type de préparation des échantillons n'a pas pu être obtenu sur les différents mélanges car ces derniers sont constitués d'échantillons broyés en poudre et donc difficile à aligner sur un même plan d'analyse. La réflexion se poursuit néanmoins pour trouver un mode de préparation permettant de réaliser les analyses Raman en mode *cartographie* sur les différents mélanges réalisés et étudiés dans le cadre de cette étude.

3.2.5. RESULTATS OBTENUS SUR LES MELANGES ASBESTES/LATERITE

3.2.5.1. Préparation des melanges

Des mélanges asbestes/latérite ont également été réalisés avec les échantillons 13A1 (antigorite), 57C3 (chrysotile) et 37T2 (trémolite).

Plusieurs mélanges asbestes/latérite ont été réalisés par broyage manuel dans un mortier en agate dans un bain d'éthanol, puis séchage à l'air. Ces mélanges sont détaillés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Masses (g) d'antigorite (échantillon 13A1), de trémolite (échantillon 37T2), de chrysotile (échantillon 57C3) et de latérite (échantillon Tiebaghi 35-45) pesées pour réaliser les mélanges asbestes/latérite.

% poids	Antigorite/Latérite		Trémolite/Latérite		Chrysotile/Latérite	
	13A1	Tie35-45	37T2	Tie35-45	56C3	Tie35-45
1/99	0,1458	0,0015	0,1458	0,0015	0,1458	0,0015
2/98	0,147	0,003	0,147	0,003	0,147	0,003
3/97	0,1395	0,0045	0,1395	0,0045	0,1395	0,0045
5/95	0,1425	0,0075	0,1425	0,0075	0,1425	0,0075
10/90	0,135	0,015	0,135	0,015	0,135	0,015

La latérite utilisée pour ces mélanges correspond à un échantillon collecté dans l'horizon localisé entre 35 et 45 cm de profondeur le long d'un profil de colluvions à la base du massif de Tiebaghi (Province Nord). L'analyse par diffraction de rayons X de cet échantillon indique qu'il est principalement constitué d'hématite (Fe_2O_3) et de goéthite ($FeOOH$), avec une contribution minoritaire de quartz (SiO_2). Cette analyse par diffraction des rayons X souligne l'absence de minéraux asbestiformes dans cet échantillon de latérite (Figure 59).

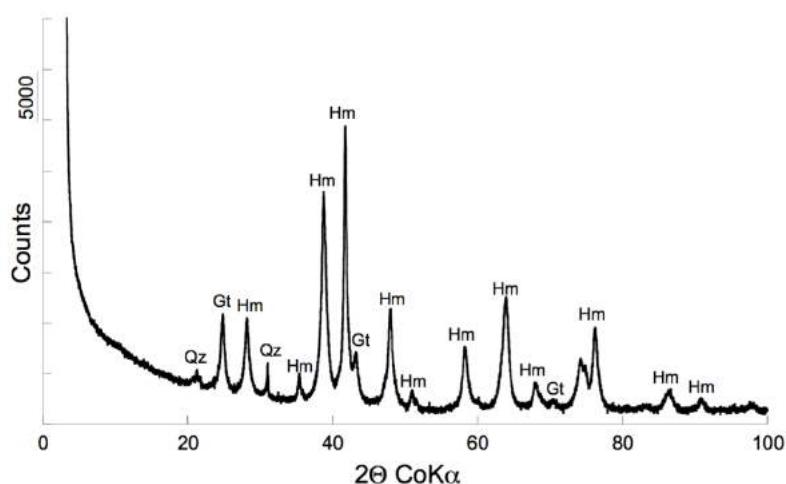


Figure 59 : Diffractogramme de rayons X de l'échantillon de latérite utilisé pour réaliser les mélanges asbestes/latérite. Hm : Hématite (Fe_2O_3). Gt : Goethite (FeOOH). Qz : Quartz (SiO_2).

3.2.5.2. Capacité de la diffraction des rayons X à détecter et identifier les minéraux asbestiformes dans des mélanges avec de la latérite

L'analyse par diffraction des rayons X a été réalisée sur tous les mélanges présentés dans le Tableau 6. Les diffractogrammes de rayons X sont présentés sur les figures 60 et 61.

Sur ces figures, les pics de diffraction caractéristiques de la trémolite ou de l'antigorite sont bien visibles, ce qui souligne la capacité de la diffraction des rayons X à identifier ces minéraux asbestiformes lorsqu'ils sont présents dans des mélanges avec de la latérite.

Par ailleurs, la figure 60 montre que la trémolite, peut être détectées dans les mélange et trémolite/latérite, même pour une proportion massique de l'ordre de 2%poids. Les mêmes résultats sont obtenus pour les mélanges antigorite/latérite. Cependant, l'intensité des pics de diffraction caractéristiques de ces minéraux asbestiformes ne montre pas une évolution régulière en fonction de la proportion de trémolite ou d'antigorite dans les mélanges.

Cet artéfact est probablement lié à une certaine inhomogénéité des échantillons qui ont été préparés par broyage manuel dans un mortier en agate. Du fait de cette inhomogénéité, les prélèvements de sous-échantillons utilisés pour les analyses par diffraction des rayons X sont susceptibles de ne pas avoir été représentatifs de la composition minéralogique réelle des échantillons (effet "pépite").

Ces résultats incitent à rester prudent quant à la capacité de la diffraction des rayons X à détecter de faibles fractions massiques d'antigorite et de trémolite dans les mélanges avec la latérite.

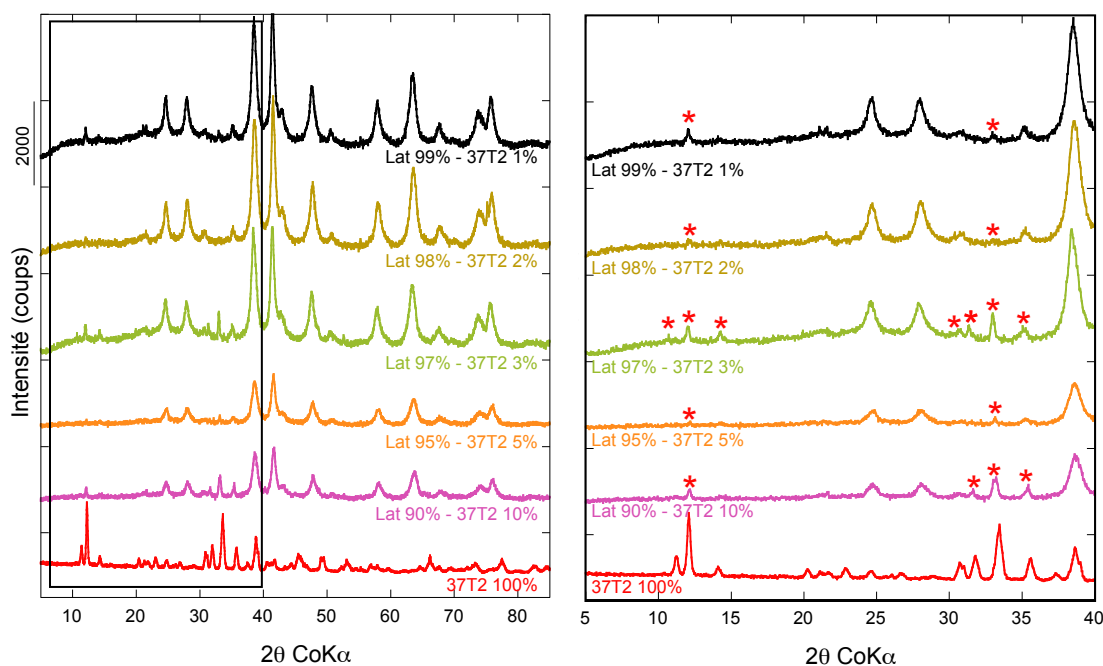


Figure 60 : Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges latérite/trémolite. Le diffractogramme de droite correspond à la partie encadrée du diffractogramme de gauche. Les étoiles sur le diffractogramme de droite indiquent les pics de diffraction caractéristiques de la trémolite.

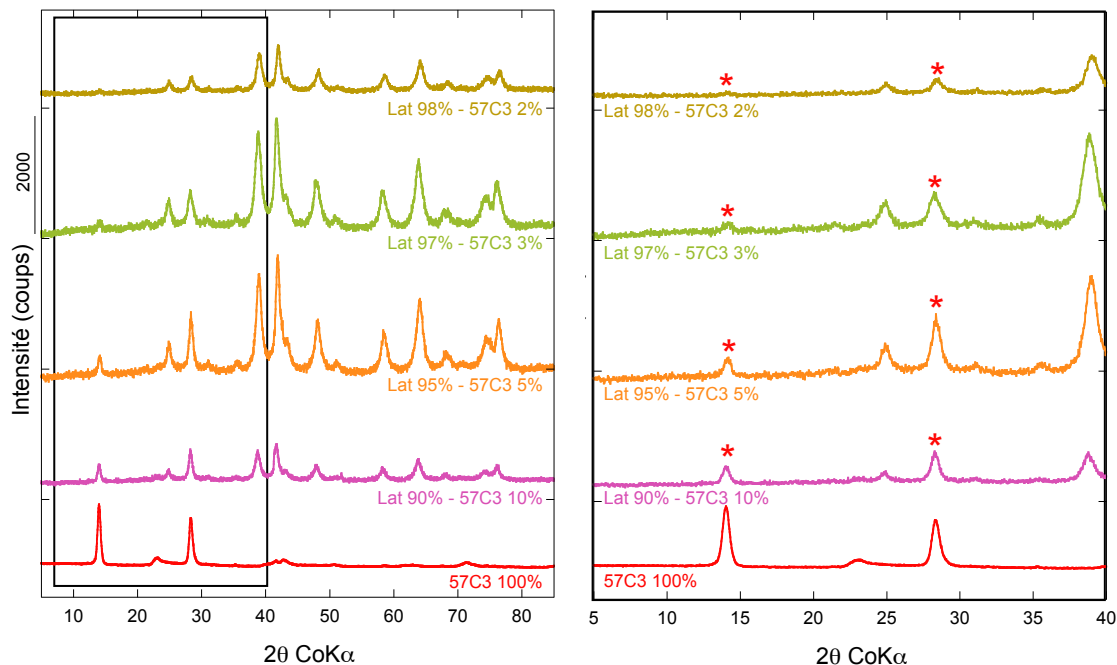


Figure 61 : Diffractogrammes de rayons X obtenus sur les mélanges latérite/chrysotile. Le diffractogramme de droite correspond à la partie encadrée du diffractogramme de gauche. Les étoiles sur le diffractogramme de droite indiquent les pics de diffraction caractéristiques du chrysotile.

Des mélanges chrysotile/latérite ont également été préparés dans le but de démontrer la capacité de la diffraction des rayons X à détecter et caractériser ce minéral asbestiforme dans des mélanges avec de la latérite, mais ces derniers n'ont pas encore été analysés à la date de rédaction de ce rapport.

3.2.5.3. Capacité de la microscopie Raman à détecter et identifier les minéraux asbestiformes dans des mélanges avec de la latérite

La microscopie Raman a également démontré sa capacité à détecter et caractériser l'antigorite et la trémolite lorsque ces minéraux amiantifères sont présents en mélanges avec de la latérite. Ceci est illustré sur les figures 62 et 63 pour les mélanges antigorite/latérite et trémolite/latérite.

La figure 62 montre en effet que l'antigorite est identifiée sans ambiguïté grâce à la double bande d'absorption caractéristique vers 3675 et 3700 cm^{-1} . Les deux larges bandes de forte

intensité dans la région 1100-1800 cm^{-1} visibles sur ces spectres Raman sont associées aux composants organiques du scotch double-face utilisé pour fixer les échantillons sur des lames minces avant analyse. Enfin, les bandes de faible intensité visibles dans la région 150-800 cm^{-1} sont associées à l'hématite (Fe_2O_3), le principal constituant minéral de la latérite, et éventuellement la goéthite (FeOOH).

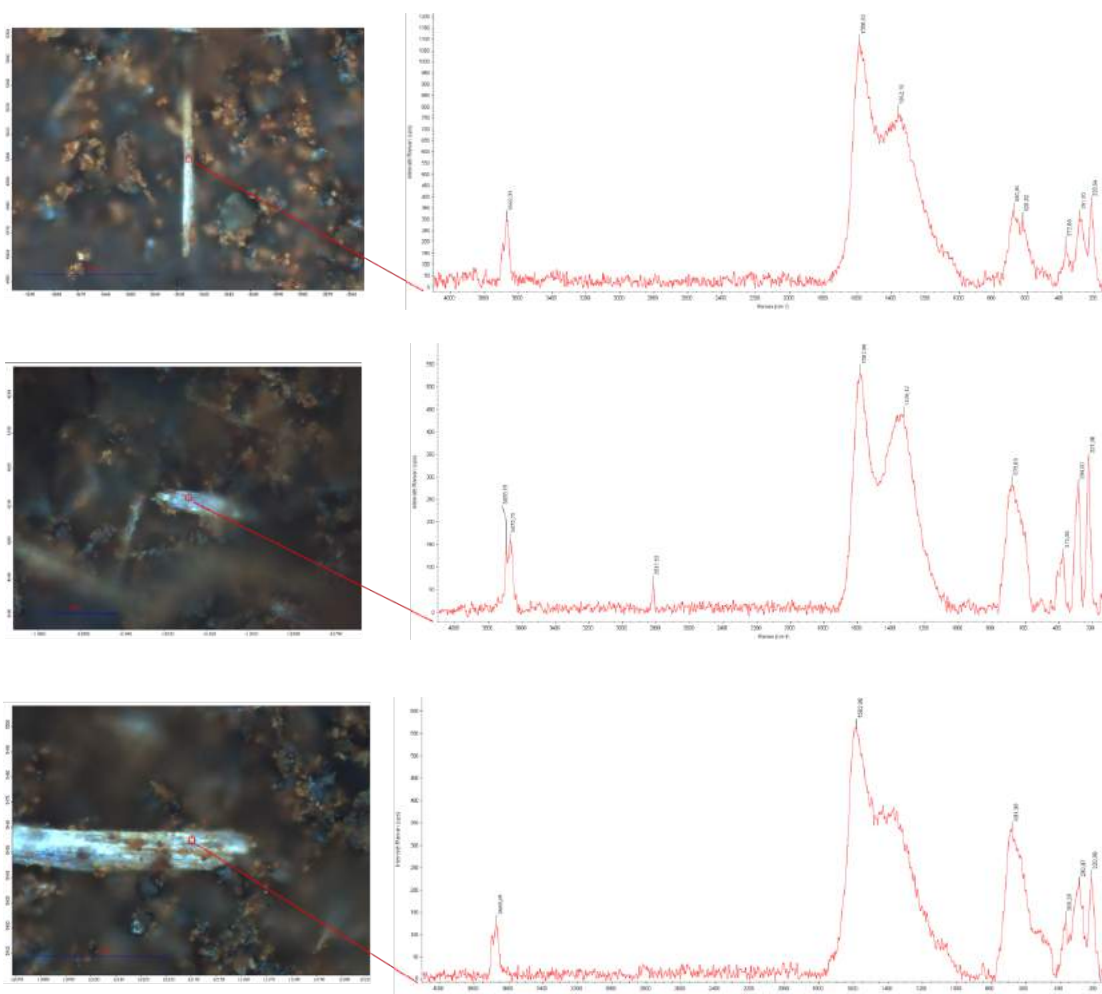


Figure 62 : Exemples de spectres Raman obtenus sur les mélanges Antigorite/Latérite à 1%poids (haut), 2%poids (milieu) et 3%poids (bas) d'antigorite. Chaque spectre présente la double bande d'absorption caractéristique de l'antigorite vers 3700 cm^{-1} .

La double bande d'absorption entre 1000 et 1800 cm^{-1} correspond aux constituants organiques du scotch utilisé pour fixer les échantillons. Les bandes d'absorption aux fréquences inférieures à 800 cm^{-1} correspondent à l'hématite (Fe_2O_3) et/ou la goéthite (FeOOH) qui constituent l'essentiel de la latérite utilisée pour réaliser les mélanges.

La figure 63 montre quant à elle que la trémolite est identifiée sans ambiguïté grâce au pic d'absorption de forte intensité vers 3700 cm^{-1} et à celui de plus faible intensité vers 675 cm^{-1} . Les deux larges bandes de forte intensité dans la région 1100-1800 cm^{-1} visibles sur certains

de ces spectres Raman sont associées aux composants organiques du scotch double-face utilisé pour fixer les échantillons sur des lames minces avant analyse. Enfin, les bandes de faible intensité visibles dans la région 150-800 cm^{-1} sont associées à l'hématite (Fe_2O_3), le principal constituant minéral de la latérite, et éventuellement la goéthite (FeOOH).

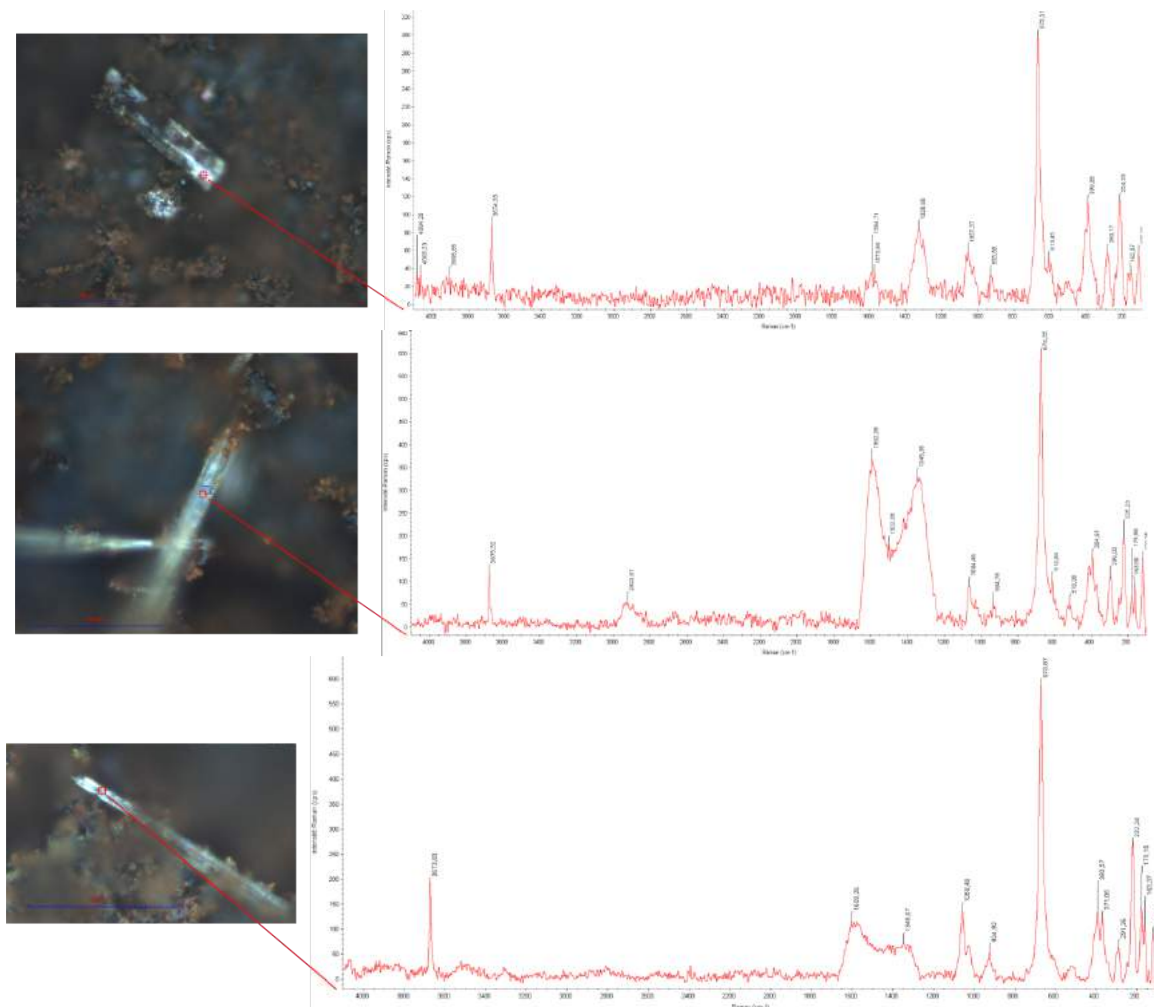


Figure 63 : Exemples de spectres Raman obtenus sur les mélanges Trémolites/Latérite à 1% poids (haut), 2% poids (milieu) et 3% poids (bas) de trémolite. Chaque spectre présente le pic d'absorption très intense vers 675 cm^{-1} et le pic d'absorption de plus faible intensité vers 3700 caractéristiques de la trémolite.

La double bande d'absorption entre 1000 et 1800 cm^{-1} correspond aux constituants organiques du scotch utilisé pour fixer les échantillons. Les bandes d'absorption aux fréquences inférieures à 800 cm^{-1} correspondent à la trémolite, ainsi qu'à l'hématite (Fe_2O_3) et/ou la goéthite (FeOOH) qui constituent l'essentiel de la latérite utilisée pour réaliser les mélanges.

La Figures 62 montre que l'antigorite est détectée sans ambiguïté dans le mélange antigorite/latérite, même pour une proportion massique de l'ordre de 1% poids.

Cette capacité de la microscopie Raman à détecter et caractériser les minéraux asbestiformes dans des mélanges avec de la latérite a pu être démontrée pour les mélanges antigorite/latérite et trémolite/latérite (Annexe 4). Des mélanges chrysotile/latérite ont également été préparés à cette fin, mais ces derniers n'ont pas encore été analysés à la date de rédaction de ce rapport.

3.2.5.4. Conclusions sur les mélanges asbestes/latérite

3.2.5.4.1. Diffraction des rayons X

Les données présentées dans ce paragraphe suggèrent la capacité de la diffraction des rayons X à détecter et caractériser l'antigorite et la trémolite lorsque ces minéraux sont présents en mélanges avec de la latérite. Bien que les analyses sur des mélanges latérites/chrysotile n'aient pas pu être réalisées dans le cadre de cette étude, il semble raisonnable de considérer que ces conclusions puissent être étendues à ce minéral.

En revanche, compte tenu d'artéfacts de préparation des échantillons destinés à l'analyse par diffraction des rayons X, il n'est pas possible d'affirmer que cette capacité s'applique jusqu'à de faibles proportions massiques en minéraux asbestiformes (1%poids).

Compte tenu de ces artéfacts de préparation des échantillons, l'estimation des fractions massiques d'antigorite ou de trémolite dans les différents mélanges par analyse quantitative des diffractogrammes de rayons X (affinement Rietveld) a été différée. Cette estimation sera réalisée sur des diffractogrammes de rayons X qui seront collectés prochainement sur de nouveaux échantillons homogénéisés mécaniquement.

Malgré des temps de comptage déjà relativement longs (jusqu'à 7 heures par échantillon) pour les diffractogrammes de rayons X présentés dans ce paragraphe, la qualité moyenne du rapport signal/bruit indique qu'un temps de comptage plus long sera certainement nécessaire pour une analyse quantitative fiable.

3.2.5.4.2. Microscopie Raman

Les données présentées dans ce paragraphe démontrent la capacité de la microscopie Raman à détecter et caractériser l'antigorite et la trémolite lorsque ces minéraux sont présents en mélanges avec de la latérite, et ceci jusqu'à de faibles proportions massiques en minéraux asbestiformes (1%poids).

Bien que les analyses sur des mélanges latérites/chrysotile n'aient pas pu être réalisées dans le cadre de cette étude, il semble raisonnable de considérer que ces conclusions puissent être étendues à ce minéral.

En revanche, comme pour les mélanges binaires de pôles, il n'a pas été possible de démontrer la capacité de la microscopie Raman à quantifier les minéraux asbestiformes dans les différents mélanges asbestes/latérite.

Comme déjà évoqué pour les mélanges binaires de pôles, le potentiel de la *cartographie* Raman pour accomplir cette tâche mériterait d'être testée.

3.3. SOUS TACHE 3 : ETUDE DU POTENTIEL DE LA DIFFUSION STATIQUE DE LA LUMIERE POUR LA CARACTERISATION DES MINERAUX FIBREUX

Ces travaux de recherche ont été menés au sein de l'ISEA. Ce chapitre inclut les résultats obtenus par Michael Meyer (MCF, ISEA), et Alexandre Fayard (stagiaire UNC)

3.3.1. DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE ET DES MODELES DE DIFFUSION STATIQUE DE LA LUMIERE

La diffusion statique de la lumière (Static Light Scattering, SLS) est une technique optique basée sur la mesure de l'intensité de la lumière diffusée par un échantillon (une particule minérale dans notre cas) pour des d'angles définis par rapport à la direction du faisceau incident (Figure 64).

Lors d'expériences de diffusion de la lumière un laser est utilisé pour éclairer une cuve contenant l'échantillon à analyser. Un ou plusieurs détecteurs sont utilisés pour mesurer l'intensité de diffusion en fonction de l'angle de diffusion θ . Ce dispositif permet donc d'obtenir l'intensité diffusée en fonction de l'angle de diffusion ($I=f(\theta)$). Lorsque la solution est diluée, cette donnée contient des informations sur la taille et la morphologie des particules diffusantes.

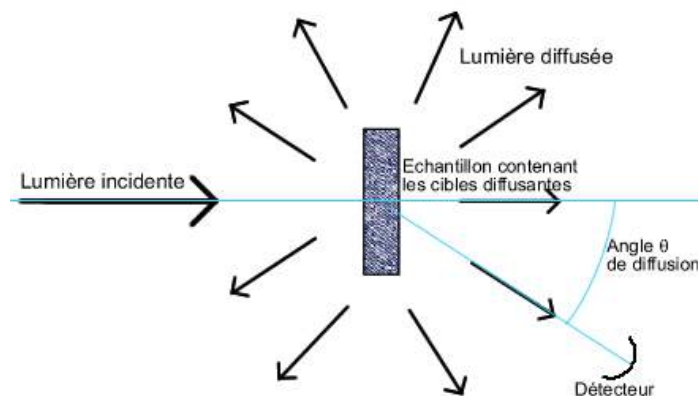


Figure 64 : Schéma de principe de la diffusion statique de la lumière.

Dans le cas des expériences réalisées dans le cadre de cette étude, le montage était constitué d'un dispositif avec un goniomètre et une photodiode. La source de lumière est un laser He-Ne de longueur d'onde égale à 632,8 nm de 5 mW.

Ce montage a été préalablement testé/calibré à partir d'un échantillon de particules de silice (SiO₂) de type ludox dont la granulométrie a été contrôlée sur le granulomètre laser Mastersizer 2000 Malvern du laboratoire (Métayer, 2004).

Plusieurs théories ont été établies pour modéliser la diffusion de la lumière par des particules dans une dispersion. Parmi ces théories, nous pouvons citer, la théorie de Rayleigh-Gans-Debye et la théorie de Mie.

Lorsqu'un faisceau incident interagit avec une particule, le faisceau obtenu est appelé faisceau diffusé. Le lien entre l'amplitude du faisceau incident et diffusé s'exprime par la relation :

$$\begin{pmatrix} E_{d\parallel} \\ E_{d\perp} \end{pmatrix} = \frac{e^{(ikR - ikz)}}{-ikR} \begin{bmatrix} S_2 & S_3 \\ S_4 & S_1 \end{bmatrix} \begin{pmatrix} E_{0\parallel} \\ E_{0\perp} \end{pmatrix}$$

Où k est le vecteur d'onde, $k = \frac{2\pi n}{\lambda}$ avec n l'indice du milieu, λ la longueur d'onde du rayonnement et R la distance entre l'objet et le détecteur. E_0 représente le champ incident et E_d le champ diffusé. Z est la direction de propagation et les paramètres S_i ($i=1, 2, 3, 4$) sont les coefficients de la matrice de diffusion.

L'intensité lumineuse est alors définie par :

$$I_s = \vec{E}_d \cdot \vec{E}_d^* = E_{d\parallel} \cdot E_{d\parallel}^* + E_{d\perp} \cdot E_{d\perp}^* \quad * \text{ représente le complexe conjugué.}$$

La **théorie de Rayleigh-Gans-Debye**, est utilisée quand les particules ont une taille plus petite que la longueur d'onde de la lumière.

Dans ce cas, l'intensité est proportionnelle au terme suivant :

$$I \propto \frac{I_0}{k^2 R^2} f(\theta, \phi)^2$$

avec I_0 qui représente l'intensité du faisceau incident, θ l'angle de diffusion et ϕ l'angle entre la direction du champ électrique et le plan contenant les axes z et y . La fonction $f(\theta, \phi)$ s'obtient en intégrant le champ électrique de la lumière diffusée par l'ensemble des diffuseurs (atomes ou ions qui composent la particule) en tenant compte des déphasages entre faisceaux lumineux.

Cette fonction est différente suivant la morphologie des particules.

Dans le cas de sphères, elle s'exprime de la manière suivante :

$$f(\theta) = \frac{3(\sin(qa) - qa \cos(qa))}{(qa)^3}$$

avec a le rayon des particules, q le vecteur de diffusion qui s'exprime par la relation

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin(\theta/2).$$

Dans le cas de cylindres de longueur L et de rayon a , la fonction $f(\theta, \phi)$ devient :

$$f(\theta, \phi) = \frac{2J_1(q.a.\sin\beta)}{q.a.\sin\beta} \cdot \left(\frac{\pi}{q.L.\cos\beta}\right)^{1/2} J_{1/2}\left(\frac{1}{2}q.L.\cos\beta\right)$$

avec J_x ($x=1, 1/2$) des fonctions de Bessel et β l'angle d'orientation du cylindre par rapport à la direction du champ électrique (direction de polarisation).

Dans le cas d'un cylindre fin, le terme en vert est proche 1, alors que pour un disque fin c'est au contraire le terme en bleu qui tend vers 1.

La théorie de Rayleïd–Gans-Debye a l'avantage de toujours présenter une solution analytique.

En revanche, cette théorie a une limite d'application car certaines conditions doivent être validées.

Tout d'abord, l'amplitude du champ électrique à l'intérieur du diffuseur doit être égale à l'amplitude de ce champ à l'extérieur du diffuseur. En d'autres termes, l'amplitude du champ électrique doit être identique lors de la réflexion à la surface d'une onde lumineuse à celle de la particule. Cela impose que $|m-1| \ll 1$ (ou $m=n_p/n_s$ ou n_p indice optique du milieu et n_s l'indice optique du solvant). L'indice optique du chrysotile n_{chryso} est égal à 1,569 et l'indice optique de l'eau n_{eau} est égal à 1,33. Le paramètre $|m-1| = 0,18$ ce qui conviendrait dans notre cas.

Ensuite, l'onde diffusée par un élément de volume de doit pas être modifiée par la présence des autres diffuseurs élémentaires. Cela impose que :

$$k \cdot 2a \cdot (n_p - n_s) \ll 1 \quad \text{et donc que} \quad a \ll \frac{\lambda}{4\pi(m-1)} .$$

Cette condition est définie par a (rayon des particules) $\ll 280$ nm. Nos échantillons d'antigorite, par exemple, peuvent être constitués de particules dont la taille est comprise entre 500 nm à 1 μm . Ce modèle n'est donc plus valide. Il faut utiliser un autre modèle moins contraint.

Pour ces raisons, la **théorie générale de Mie** est mieux adaptée à la mesure de la taille de particules sphériques de plus grandes tailles. Cette théorie est plus complexe car elle prend en compte, en plus des rayonnements diffusés par les centres diffuseurs d'une particule (théorie de Rayleigh), la diffusion due aux réflexions à l'intérieur et en surface des particules (Figure 65).

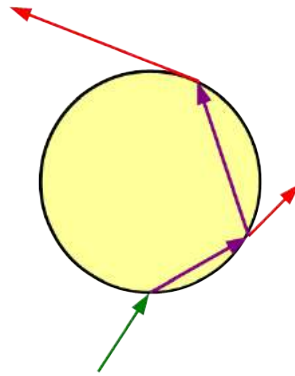


Figure 65 : Schéma du parcours d'un faisceau lumineux au sein d'une particule, phénomène pris en compte par la théorie de Mie.

Cette théorie est plus complexe sur le plan théorique. Les coefficients de la matrice de diffusion sont notamment définis par des séries mathématiques :

$$S_1(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} \{a_n \pi_n \cos(\theta) + b_n \tau_n \cos(\theta)\}$$

$$S_2(\theta) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n+1}{n(n+1)} \{b_n \pi_n \cos(\theta) + a_n \tau_n \cos(\theta)\}$$

avec a_n et b_n les coefficients de ces séries.

L'avantage de cette théorie est qu'elle n'a pas de limitation sur la taille des particules ou le contraste optique entre particules et solvant. Son inconvénient est qu'elle ne possède pas de solution analytique, mais uniquement des solutions numériques.

Notre objectif est de déterminer la taille de particules anisotropes d'antigorite, de chrysotile ou de trémolite. Dans ce but, nous avons utilisé un modèle dit de « T-matrice » basé sur le développement en séries mathématiques des coefficients de la matrice de diffusion (Mishchenko et Travis, 1994). Ce modèle qui s'applique à des particules anisotropes a été proposé par plusieurs auteurs et fait toujours aujourd'hui l'objet de plusieurs travaux (Rotstein et al., 2016).

Pour déterminer l'intensité diffusée par des particules anisotropes de chrysotile, d'antigorite ou de trémolite nous avons utilisé les codes matlab (MatScat) mis en œuvre par Jan Schäfer et al., 2012, à partir des modèles présentés dans l'ouvrage de Bohren et Huffman, 1998. Ce modèle calcule l'intensité diffusée par une particule cylindrique supposée infinie, de rayon a et en fonction de l'angle de diffusion θ . Ces valeurs sont obtenues pour une valeur de rayon a du cylindre et un angle φ entre l'orientation du cylindre et la direction du champ électrique de l'onde incidente $I(\theta, \varphi, a)$.

Notre objectif était de déterminer l'intensité diffusée en fonction de l'angle de diffusion par une distribution de cylindre de différents diamètres et orientés aléatoirement par rapport à la direction du champ électrique de l'onde incidente.

Pour obtenir ce résultat, nous avons donc calculé :

- dans un premier temps, pour une valeur de rayon a donnée, les intensités diffusées pour plusieurs valeurs d'orientation φ des cylindres comprises entre 0 et 45° ;
- ensuite, la moyenne de ces courbes de façon à obtenir l'intensité diffusée par des cylindres, de même rayon a , et orientés aléatoirement $I(\theta, a)$. Pour ce calcul, nous avons considéré que toutes les directions d'orientations étaient équiprobables ;
- enfin, l'intensité diffusée en fonction de l'angle θ par un système constitué de cylindres infinies, orientés aléatoirement et de tailles polydispersées (espérance d_0 et écart type σ).

Cette dernière fonction $I(d_0, \sigma, \theta)$ a été obtenue pour des diamètres de cylindres compris entre 50 nm et 5 μm à l'aide de la relation suivante :

$$I(d_0, \sigma, \theta) = \sum_d P(d) I(d, \theta)$$

$P(d)$ est la probabilité associée à l'intensité diffusée par une population de cylindre de diamètre $d=2a$. Pour définir cette probabilité nous avons choisi une distribution log normale :

$$P(d) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}d\sigma} e^{-((\ln d - \ln d_0)^2 / 2\sigma^2)} \quad \text{où } \ln d_0 \text{ est l'espérance et } \sigma \text{ l'écart type.}$$

Ces modèles ont été ajustés aux données expérimentales de façon à déterminer la valeur de d_0 et de σ , paramètres caractéristiques de la distribution en taille des particules.

3.3.2. PREMIERS RESULTATS DES MESURES REALISEES PAR DIFFUSION STATIQUE DE LA LUMIERE

Les mesures de diffusion statique de la lumière ont été réalisées par Alexandre Fayard dans le cadre d'un stage de L3 sur le montage de l'ISEA à l'UNC décrit au chapitre précédent. Ces mesures de diffusion statique de la lumière ont été effectuées sur trois échantillons : un échantillon d'antigorite (13A1), un échantillon de trémolite (37T2) et un échantillon de chrysotile (57C3). L'intensité de la lumière diffusée a été mesurée sur une gamme angulaire comprise entre 5 et 130°. Les résultats sont représentés sur le Figure 66.

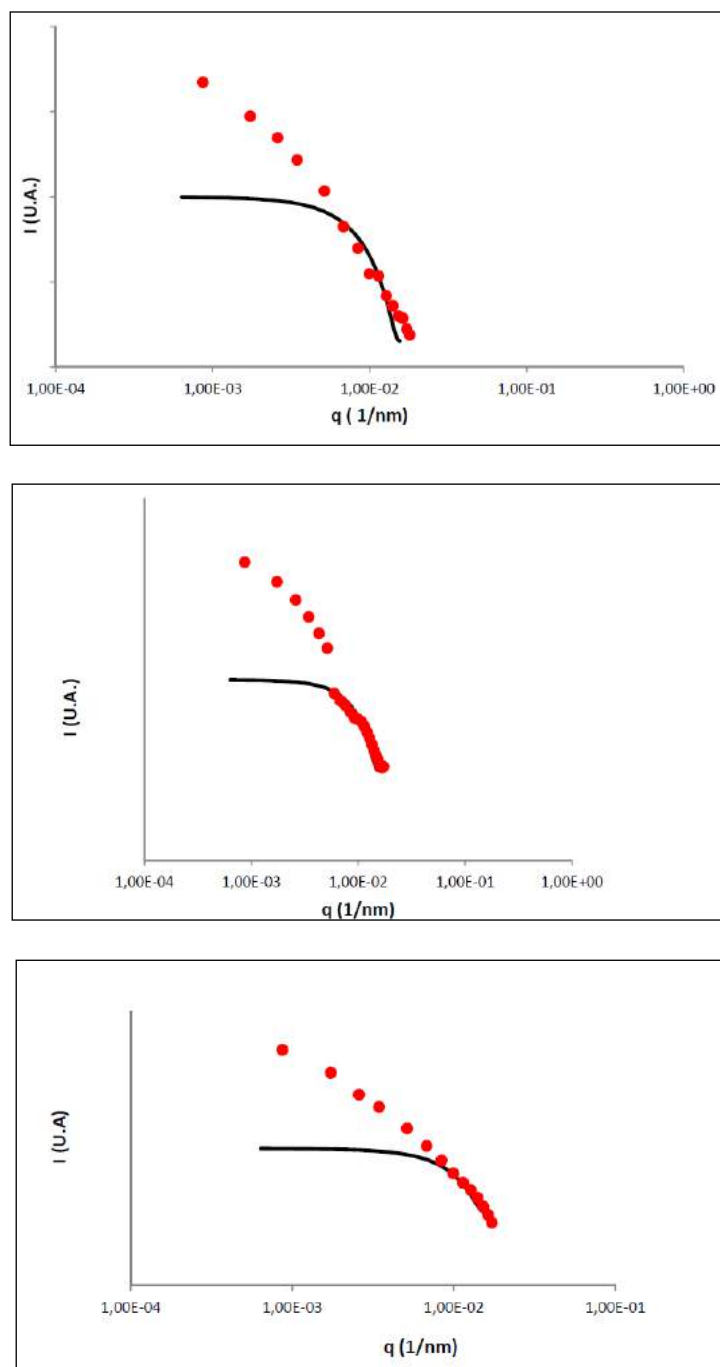


Figure 66 : Intensité de la lumière en fonction du vecteur de diffusion q ($q=(4\pi/\lambda)\sin(\theta/2)$) pour les échantillons 37T2 (haut), 13A1 (milieu) et 57C3 (bas). Les points rouges correspondent aux données expérimentales et les traits noirs correspondent aux valeurs théoriques.

Nous avons ajusté le modèle, décrit dans le chapitre précédent, aux données expérimentales. Dans les trois cas précédents ce modèle correspond bien aux données expérimentales pour les plus grandes valeurs du vecteur de diffusion. Au contraire, pour les faibles valeurs de q , les valeurs théoriques sont constantes et inférieures aux données expérimentales. Ce phénomène est très commun et intervient dès que des agrégats se forment au sein de la dispersion. Les agrégats, qui ont une taille plus importante vont provoquer une augmentation de l'intensité diffusée aux petits angles (faibles valeurs du vecteur de diffusion). Au contraire aux grands angles de diffusion (fortes valeurs du vecteur de diffusion), le signal obtenu est bien caractéristique de la diffusion de la lumière par les particules.

Le modèle donne les valeurs suivantes :

Tableau 7 : Valeurs de d_0 et σ pour les échantillons 13A1, 37T2 et 57C3.

Échantillon	d_0 (nm)	σ
13A1	100	0,9
37T2	2000	0,8
57c3	50	0,8

La valeur de d_0 pour les échantillons 13A1 et 57C3 est respectivement de 100 et 50 nm, alors qu'elle est de 2000 nm pour l'échantillon 37T2.

Dans le cas de l'échantillon 13A1 (antigorite), la valeur de d_0 est relativement faible par rapport aux observations faites en microscopie à balayage et transmission (taille des fibres de l'ordre de 500 nm à quelques microns). Cette différence n'est pas expliquée pour l'instant.

Dans le cas de l'échantillon 37T2 (trémolite), la valeur de d_0 (2000 nm) semble plus cohérente avec les observations MET (lattes d'environ 10 μm de longueur et 1 μm de largeur).

Dans le cas de l'échantillon 57C3 (chrysotile), la valeur de d_0 (50 nm) est la plus faible des valeurs obtenues. Pour ce minéral, le diamètre moyen des tubes estimé à partir des observations en microscopie électronique à transmission était de l'ordre de 10 nm. La valeur de 50 nm pourrait donc correspondre à la formation de fagots de quelques fibres.

Les valeurs de d_0 estimées doivent être considérées avec précaution car plusieurs approximations ont été effectuées pour mettre en œuvre ces modèles. Par exemple, les particules ont été considérées comme des cylindres pleins, alors que certaines particules sont plutôt en forme de lattes (trémolite). De plus, toutes les particules ont été considérées comme orientées aléatoirement au sein d'un échantillon dilué. Cette hypothèse pourrait ne pas être vérifiée si l'échantillon commence à sédimenter pendant la mesure. Enfin, malgré l'étape de

sonification de l'échantillon, les particules peuvent former des agrégats, ce qui aurait pour conséquence de modifier la taille des objets diffusants.

3.3.2.1. Conclusions de la sous-tâche 3

En dépit de ces limitations théoriques, il semble intéressant de noter que la diffusion statique de la lumière donne des résultats cohérents avec les observations microscopiques pour l'antigorite et la trémolite. Les résultats nécessitent d'être approfondis pour le chrysotile.

Il semble donc possible d'estimer la distribution de taille réelle des particules/fibres en suspension (après sonification pendant 5 minutes) à l'aide la diffusion statique de la lumière. Cette technique étant utilisée sur des suspensions, elle est susceptible d'apporter des informations intéressantes sur le comportement des minéraux asbestiformes en solution (dispersion vs. agrégation).

4. TACHE 2 : CARACTERISATION DES PROPRIETES CHIMIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DES MINERAUX ASBESTIFORMES

Responsable : Christine LAPORTE-MAGONI, Institut des Sciences Exactes et Appliquées (ISEA)

Organisme : ISEA

Objectifs :

Les minéraux asbestiformes affleurant sur mine présentent une capacité très différente à se déliter en fibres, plus ou moins fines. Dans la nomenclature descriptive utilisée sur mine, ce potentiel d'émission de fibres est directement associé au degré d'altération du minéral (Figure 5). Les professionnels de la mine rapportent la présence, sur des affleurements, à quelques mètres de distance, de minéraux asbestiformes de même minéralogie mais de degré d'altération très variable. Il est apparu donc nécessaire d'apporter une meilleure connaissance des paramètres impliqués dans ces processus d'altération et de leurs variabilités dans des conditions similaires à celles de l'affleurement minier.

Les processus chimiques jouent un rôle majeur dans l'altération exogène sous climat tropical. C'est essentiellement le résultat de l'abondance d'eau qui constitue un puissant agent chimique d'altération. Les réactions minéral/eau de surface, potentiellement mises en jeu, sont la dissolution, l'oxydo-réduction, l'hydratation, la décarbonatation, et enfin, sans doute la plus fréquente, l'hydrolyse. Ainsi au cours des processus d'altération chimique dans les conditions supergènes, l'eau de surface en ruisselant et pénétrant dans les roches, lessive les éléments les plus solubles, adsorbés à la surface des minéraux et les transportent sous forme dissoute ou complexée. Inversement, il est possible que certains éléments chimiques présents dans l'eau, se retrouvent au cours de l'altération dans des conditions physico-chimiques favorables à leur cristallisation. Ils forment ainsi des minéraux secondaires d'altération (oxydes-hydroxydes, argiles...) dans les roches altérées, modifiant progressivement la minéralogie de la roche saine initiale. Les minéraux primaires, composant la roche mère, seront d'autant plus sensibles aux processus de lessivage que le milieu d'altération dans lequel ils se trouvent, est éloigné des conditions physico-chimiques qui régissent leur cristallisation. Ainsi, l'olivine, minéral qui cristallise à forte pression et forte température s'altère très facilement à l'affleurement, alors que le quartz dont la cristallisation se déroule à faible température et faible pression demeurera quasi insensible à l'altération. La comparaison des concentrations en éléments chimiques des minéraux primaires puis des résidus solides graduellement formés, est une méthode performante pour la compréhension des processus d'altération chimique (Fiantis et al. 2010; Al-Khribash et al. 2014). Il existe très peu de travaux de recherche, traitant de l'altération de surface des minéraux

asbestiformes et plus particulièrement des serpentines (Critelli et al. 2014, 2015). Cette première étude des compositions chimiques des minéraux asbestiformes de degré d'altération différents, de la Nouvelle-Calédonie présente donc également un fort intérêt pour la communauté scientifique.

L'un des premiers objectifs de la tâche 2 du programme Amiante et Bonnes Pratiques est d'évaluer la variabilité des compositions chimiques en éléments majeurs et traces des minéraux de type amiante, présents en secteur minier. Il s'agit de constater quel peut être l'impact de l'altération dans des conditions exogènes sur les concentrations en éléments chimiques des minéraux asbestiformes. La toxicité des amiantes étant en partie liée à leur composition chimique et leur capacité à libérer certains éléments tel que le Fer, il est donc important d'établir un bilan des compositions chimiques des minéraux amiantifères.

Le milieu naturel est souvent très complexe et dépend d'un l'ensemble de paramètres très divers. Le travail expérimental de laboratoire permet de contrôler la variabilité des paramètres indépendamment les uns des autres, ce qui facilite l'interprétation. C'est une méthode essentielle pour progresser dans la connaissance des processus naturels. La constatation sur le terrain d'une variabilité très forte des degrés d'altération de certains minéraux asbestiformes, et l'étude des compositions chimiques associées ne permet pas d'accéder à la connaissance des cinétiques des réactions. L'altération de surface résulte de processus variés (lessivage par l'eau, contrainte mécanique, déshydratation/réhydratation...), dont il est difficile de dissocier à partir des affleurements, l'impact respectif. Les minéraux asbestiformes étant soumis sous climat tropical chaud à une forte pluviométrie, l'altération par lessivage peut être un facteur majeur d'altération à l'affleurement.

Dans le cadre de la tâche 2, du programme Amiante et Bonnes Pratiques, l'objectif est de vérifier par voie expérimentale, si l'altération chimique, en présence de liquide, des minéraux asbestiformes néo-calédoniens est associée à une plus forte capacité d'émission des fibres. Il s'agit également de quantifier les cinétiques associées à la production des fibres dans ces conditions expérimentales. Une ébauche est faite d'un premier travail de reconnaissance automatisée des morphologies et du nombre de fibres, à partir des filtres, tels qu'ils se présentent après la filtration.

La particularité des eaux de surface présentes sur substrats ultrabasiques, comme c'est le cas sur sites miniers néo-calédoniens, réside dans des valeurs de pH basiques (Boschetti and Toscani 2008). Le pH est un paramètre physico-chimique qui joue un rôle important dans les réactions de solubilisation/précipitation. Les minéraux asbestiformes de degré d'altération #4 présentent des caractéristiques physiques et morphologiques très différentes des minéraux de degré d'altération #1. Il est cependant possible que le stade #4 ne soit pas le degré ultime d'altération. De la même façon, les minéraux de degré#4 d'altération peuvent devenir plus réactifs et les cinétiques des réactions impliquées s'accélérer.

L'un des objectifs de la tâche 2 du programme Amiante et Bonnes Pratiques est de tester l'impact de la valeur du pH sur les échanges d'éléments chimiques entre phase solide et liquide, au cours du temps, pour les trois phases minérales antigorite, trémolite et chrysotile. La finalité est de caractériser les valeurs de pH, les plus favorables à l'altération chimique pour chacune de ces phases minérales. La totalité des degrés d'altération de chacun des minéraux asbestiformes sont intégrés dans les expériences de laboratoire. Il s'agit de tester la relation entre degré d'altération et cinétique des réactions.

Les membres de l'ISEA impliqués dans la tâche 2 sont : Peggy Gunkel-Grillon, Maître de conférences en chimie de l'environnement, Monika Lemestre, technicienne de laboratoire, Jasmine Rita Petriglieri, doctorante (co-tutelle avec université de Parme), Nazha Selmaoui-Folcher, Maître de conférences en Informatique. Ces travaux de recherche sont également le résultat de l'implication de Romane Guyonnet, étudiante post-licence et Nathaël Galantegras, étudiant post-deuxième année, école INP, Grenoble.

4.1. METHODOLOGIE ET ECHANTILLONNAGE

4.1.1. MESURE DES CONCENTRATIONS TOTALES EN ELEMENTS MAJEURS ET TRACES SUR POUDRE

Les concentrations en MgO wt%, FeO_{tot} wt%, Al₂O₃ wt%, Na₂O wt%, CaO wt%, P₂O₅ wt%, K₂O wt% et MnO wt% et les concentrations en éléments traces ont été mesurées sur l'ensemble des poudres des 47 échantillons déjà cités dans la tâche 1 (Annexe 1). Les analyses ont été réalisées à la plateforme AETE-ISO, OSU-OREME/Université de Montpellier, par madame Léa Causse (assistante ingénieur).

Les concentrations en éléments majeurs ont été mesurées, sur une ICP-OES ICAP 7400, thermo scientific & fusionneuse Katanax X600. Les concentrations en éléments traces ont été obtenues sur l'ICP-MS, Agilent 7700x.

Avant analyse, les minéraux ont été minéralisés, suivant un protocole d'attaques successives à l'HClO₄ et Hf, puis à l'HNO₃, appliqué à une masse de 100 mg d'échantillon. Plusieurs duplicata d'analyse aléatoire ont été réalisés, ainsi que la mesure de blanc d'acide et de standards internationaux pour correction des valeurs et évaluation des erreurs analytiques (standards internationaux de serpentines, SLRS, UBN, BEN).

(cf. <http://www.aete.univmontp2.fr/images/contents/ATTAQUE%20roches%20mantelliques.pdf>).

4.1.2. EXPERIENCES DE LIXIVIATION EN MODE BATCH

La lixiviation consiste à mettre en contact un composé avec un liquide, appelé extractant ou solvant. En fin d'expérience, le lixiviat (liquide surnageant) est constitué de l'extractant auquel se sont ajoutés les éléments chimiques lessivés, extrait du composé, généralement par des réactions de complexation et de solubilisation. Les expériences de lixiviation permettent donc d'évaluer la mobilité des éléments chimiques du solide vers le liquide. Il existe différents extractants, dont le choix pour une expérience donnée, dépend de l'objectif scientifique poursuivi (purification ou dépollution de sols, reconstitution de lessivage présent

en milieu naturel, évaluation de la résistance de matériau ...). Les propriétés d'un extractant varient en fonction des paramètres physico-chimiques, notamment du pH, et des éléments chimiques concernés. Les différents temps d'expérience sont choisis pour rendre compte des cinétiques des réactions mises en jeu.

Dans la tâche 2 du programme ABP trois types d'expériences de lixiviation ont été menées pour des objectifs distincts :

4.1.2.1. Lixiviation au MES (acide 2-morpholino Ethan sulfonique)

Le MES est reconnu comme ayant une capacité d'extraction relativement faible, notamment vis-à-vis des éléments métalliques tels que Fe, Mg, Ni... Dans le cadre du programme ABP, ces propriétés autorisent son utilisation pour reproduire les échanges en éléments chimiques entre les asbestes et l'eau de pluie, connue elle aussi pour ses faibles capacités d'extraction. Les lixiviations sous MES d'échantillons d'antigorite, chrysotile et trémolite, permettent d'estimer quels éléments chimiques métalliques sont préférentiellement lessivés au cours des échanges eau douce/phase minérale. L'action de l'eau douce (ruissellement, pluie) est majeure dans les processus d'altération de surface. À l'issue de ces expériences, il devrait donc être possible d'identifier les éléments chimiques mobiles, au cours du lessivage à l'eau et donc potentiellement associés à la désagrégation des asbestes, responsable de la libération des fibres pathogènes dans l'environnement. La valeur de pH initiale de la solution était ajustée à pH= 5,5.

4.1.2.2. Lixiviation au DTPA (acide diéthylène triamine pentaacétique)

Le DTPA est un extractant puissant, pour une valeur de pH initial fixée à pH= 7,3. Ce lixiviant est utilisé pour récupérer dans le lixiviat, les éléments métalliques dits mobiles, qui constituent notamment la fraction « biodisponible » du solide. En effet, le DTPA contrairement à des acides forts comme l'acide Fluorhydrique, ne permet pas la dissolution des phases minérales silicatées. Il n'y a donc pas, d'attaque ou de minéralisation, du solide initial. Seuls les éléments chimiques disponibles en surface et facilement extractibles seront sensibles à l'action du DTPA. Les concentrations mesurées dans le lixiviat obtenu après lixiviation au DTPA, représentent la fraction en éléments métalliques qui pourra être disponible dans l'environnement (assimilation par les organismes vivants, transports dans les profils d'altération...). Ces expériences de lixiviation au DTPA permettront d'évaluer la capacité réservoir en éléments métalliques mobiles des minéraux amiantifères néo-calédoniens. Ces propriétés chimiques servent à définir une partie du caractère pathogène des fibres inhalables. C'est particulièrement le cas pour le Fer, qui joue un rôle majeur dans les réactions cancérogènes au sein des tissus des voies respiratoires. Ces expériences de lixiviation au DTPA rendent compte également de l'impact de l'extraction forcée des éléments métalliques constituant la fraction « biodisponible » des minéraux asbestiformes, sur leur capacité à se déliter sous forme de fibres ou fibrilles potentiellement pathogènes.

Les temps d'expérience pour ces deux protocoles de lixiviation étaient t1 = 2 heures, t2 = 4 heures, t3 = 8 heures, t4 = 24 heures, t5 = 24 jours et t6 = 60 jours. L'expérience à 60 jours a été doublée, avec un échantillon en un seul morceau et un échantillon comprenant plusieurs fragments, pour chaque phase minérale asbestiforme. L'objectif était de tester l'impact éventuel de chocs entre fragments sur la quantité de matière en suspension produite. Des blancs d'expérience ont été réalisés pour les temps t3 à t6.

4.1.2.3. Lixiviation pour des valeurs de pH contrôlées

Les propriétés d'extraction des lixiviants dépendent du pH de la solution. Il est donc possible d'exploiter cette propriété pour évaluer l'impact du pH sur la mobilité des éléments métalliques issus des minéraux asbestiformes en milieu naturel. Pour chaque gamme de pH considérée d'intérêt, il s'agit de sélectionner un extractant dont les capacités sont cohérentes avec le pH désiré. Pour fixer au mieux la valeur du pH pour la durée totale de l'expérience, un tampon est ajouté, et il est sélectionné pour éviter de contaminer les concentrations en éléments métalliques des lixiviats. Dans nos expériences les lixiviants choisis ont été MES (acide 2-morpholino Ethan sulfonique), PIPES ((piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid)), HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid) et CHES (N-Cyclohexyl-2-aminoethanesulfonic acid), qui ont exercé un pouvoir tampon pour les valeurs de pH respectives, 5,5 ; 6,73 ; 8,29 ; 9 ; 74 ; 11,28. Les valeurs de pH initiales ont été ajustées avec NH_3 . L'écart maximum de pH mesuré entre la valeur de début et de fin d'expérience est de 0,72 unité pH. Les temps d'expérience pour ce protocole de lixiviation sont $t_1 = 8$ heures, $t_2 = 1$ jour ; $t_3 = 4$ jours et $t_4 = 24$ jours. Des blancs d'expérience ont été analysés pour chacun de ces temps.

4.1.2.4. Protocole expérimentaux commun à toutes les expériences de lixiviation

Dans une première étape, les échantillons d'asbestes ont été réduits à une masse proche de 10 g et mis en contact des solutions extractantes. Le volume de liquide ajouté respecte un ratio liquide/solide de 5, afin d'éviter une saturation de la solution et une re-précipitation des éléments sur le temps de l'expérience. Chaque expérience de lixiviation a suivi un socle commun au cours du protocole analytique (Figure 67). Les paramètres qui ont été modifiés, en fonction des expériences, sont les extractants utilisés et la durée des expériences.

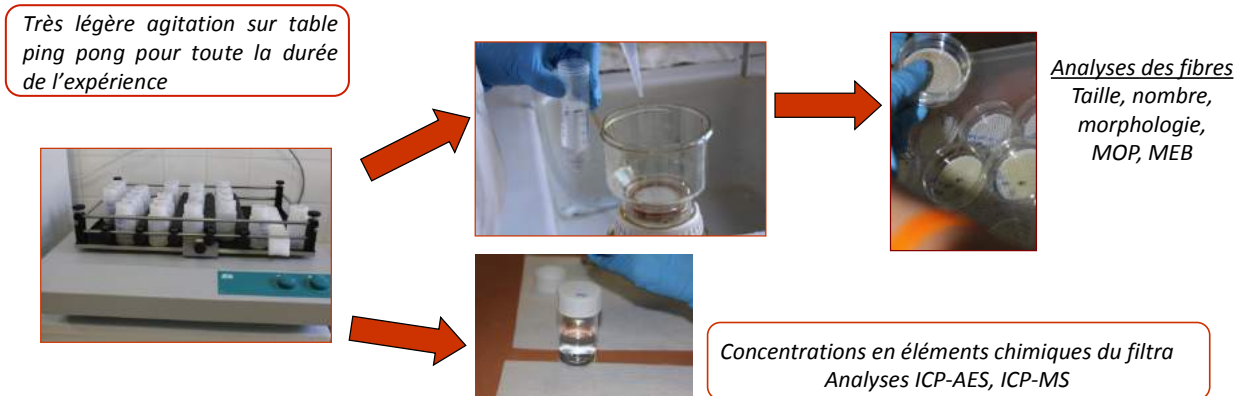


Figure 67 : Socle commun du protocole de toutes les expériences de lixiviation de la tâche 2

Pour chaque expérience, des fragments d'environ 10g sont prélevés à partir du même échantillon initial. Les filtrats sont donc issus, pour un échantillon donné, de plusieurs fragments, plongés dans un volume équivalent de la même solution (mode batch), et non pas d'un seul fragment avec prélèvements successifs, au cours du temps, dans une seule solution de lixiviation. Ce choix est justifié par l'hétérogénéité minérale de nos échantillons. Utiliser une seule expérience, avec prélèvements successifs au cours du temps dans une

seule solution, nécessite une masse d'échantillon relativement importante afin de garantir un volume de solution suffisant pour la totalité des temps de prélèvement. Cet autre protocole aurait donc impliqué d'accroître l'hétérogénéité minéralogique de l'échantillon lixivié, et donc d'obtenir des résultats non représentatifs d'un minéral asbestiforme donné.

Autant que possible, les fragments de 10g ont été sélectionnés pour être les plus homogènes possibles pour une minéralogie et une altération données (formes proches, pour obtenir une surface de contact échantillon/liquide similaire, pas de veinules pour garder une minéralogie la plus pure possible ...). La surface de contact entre le liquide et le minéral est un paramètre qui influence le passage en solution des éléments chimiques. Les fragments d'un même échantillon utilisés pour deux temps d'expérience, peuvent avoir le même poids mais des surfaces de contact très différentes. Pour s'affranchir de cette variabilité qui peut « parasiter » l'information recherchée, pour les expériences de lixiviation sous MES et DTPA, les empreintes des faces des fragments, exposées au liquide ont été dessinées et leur surface calculée automatiquement par l'utilisation d'un algorithme d'analyse d'image, afin de pouvoir appliquer un facteur correctif. Cependant, malgré toutes les précautions prises, les fragments utilisés pour un échantillon d'asbeste, ne sont pas totalement similaires. Cela peut expliquer que parfois, l'évolution des concentrations au cours du temps n'est pas parfaitement linéaire.

L'agitation sur la table ping pong est minimum. Elle ne sert qu'à garantir un renouvellement du liquide au contact de l'échantillon d'asbeste, afin de ne pas saturer les réactions de surface. À la fin de la durée de l'expérience, les lixiviats sont prélevés et filtrés à 0.45 µm, afin de séparer la matière en suspension, de la fraction dissoute. Le filtrat a été ensuite analysé pour obtenir les concentrations en éléments chimiques majeurs et traces.

Pour les lixiviations sous MES et DTPA, les échantillons utilisés dans chacune des expériences ont été préalablement lavés pour enlever toutes les particules/fibres présentes initialement en surface. La matière en suspension en fin de protocole était donc exclusivement celle produite par l'expérience. Le résidu de filtration a ainsi permis de quantifier la masse de particules émises au cours de la simulation de l'altération chimique.

Le tableau 8 récapitule les différentes expériences de lixiviation qui ont été menées.

Les expériences de lixiviation, les filtrations et les mesures des paramètres physico-chimiques, ont été effectuées par Jasmine Rita Petriglieri (doctorante, ISEA/Parme). Les analyses des concentrations en éléments majeurs (ICP-AES) et en éléments traces (ICP-MS), des expériences N° 1.1.2.1 et 1.1.2.2 ont été réalisées à la plateforme régionale AETE-ISO – OSU – OREME, Université Montpellier II par Léa Causse (assistante ingénieur). Cela représente un total de 60 échantillons analysés (filtrats + blancs expérimentaux).

Les analyses par ICP-AES de l'expérience de lixiviation N°1.1.2.3 ont été réalisées au LAMA, centre IRD de Nouméa par Romane Guyonnet (stage post-licence SVT parcours environnement, 10/2016 au 11/2016) et Monika Lemestre (technicienne, ISEA). En comptant les blancs expérimentaux, les concentrations en éléments chimiques de 115 échantillons ont été analysées.

Tableau 8 : Récapitulatif des expériences de lixiviation menées dans le programme ABP. Les expériences de lixiviation 1 et 2 ont été réalisées par Jasmine Petriglieri (travaux de thèse) et la totalité des autres expériences par Romane Guyonnet (stage post-licence SVT), au laboratoire ISEA. Ces expériences représentent 152 filtrats analysés.

Numéro d'analyse	Extractant/solution tampon pH	Echantillons	Durées <i>(h= heure ; j= jour)</i>	Analyses du filtrat
1	MES	13A1, 41T1, 57C3	2h, 4h, 8h, 24h, 24j, 60j	Éléments majeurs (ICP-AES et traces (ICP-MS)
2	DTPA	13A1, 41T1, 57C3	2h, 4h, 8h, 24h, 24j, 60j	Éléments majeurs (ICP-AES et traces (ICP-MS)
3	MES (pH=5.5)	19A1, 9A2, 1A4, 41T1, 36T4, 57C3	8h, 1j, 4j, 24j	Éléments majeurs et de transition (ICP-AES)
4	PIPES (pH=6.73)	19A1, 9A2, 1A4, 41T1, 36T4, 57C3	8h, 1j, 4j, 24j	Éléments majeurs et de transition (ICP-AES)
5	HEPES (pH=8.29)	19A1, 9A2, 1A4, 41T1, 36T4, 57C3	8h, 1j, 4j, 24j	Éléments majeurs et de transition (ICP-AES)
6	CHES (pH=9.74)	19A1, 9A2, 1A4, 41T1, 36T4, 57C3	8h, 1j, 4j, 24j	Éléments majeurs et de transition (ICP-AES)
7	CHES (pH=11.28)	19A1, 9A2, 1A4, 41T1, 36T4, 57C3	8h, 1j, 4j, 24j	Éléments majeurs et de transition (ICP-AES)

4.1.2.5. Quantification et description morphologique des fibres émises au cours des expériences de simulation de l'altération (lixiviations MES/DTPA, 13A1, 41T1 et 57C3)

Pour chaque filtration des lixiviats, un résidu solide de filtration est obtenu. La matière solide accumulée sur les filtres est composée d'un mélange de fragments de minéraux et de fibres. Afin de comprendre quelle peut être la relation entre altération chimique et capacité d'un minéral asbestiforme à émettre des fibres, il est important de pouvoir compter, définir la morphologie et la taille des fibres déposées.

Il s'agit d'un travail extrêmement chronophage. Pour ces deux expériences de lixiviation nous avons obtenu un nombre de filtre supérieur à 100. Étant donné la quantité de filtres récoltés, il était impossible de les traiter en totalité. Nous avons donc décidé de tenter d'automatiser les analyses des filtres, par l'utilisation de méthode de traitement d'image et de reconnaissance de formes. Ces développements d'algorithme ont fait l'objet des travaux de master I de Nathaël Galantegras encadré par Nazha Selmaoui-Folcher (ISEA). L'avantage de cette approche est le gain de temps d'analyse par son automatisation et une plus grande objectivité et donc reproductibilité des résultats, le facteur humain étant réduit. La reconnaissance de la taille et de la morphologie des fibres à partir d'images de microscopie optique a déjà fait l'objet de publications (H. Kumagai et al., 2008, Kuniaki Kawabata et al., 2009) mais les images traitées représentaient généralement un prélèvement de quelques fibres représentatives de l'échantillon à traiter. Dans le cadre du programme Amiante et Bonnes Pratiques, les supports analysés sont des images de filtres de prélèvements de particules, bruts, sans aucune préparation préalable de l'échantillon. Ces images ont été acquises sous microscope optique non polarisant. L'une des difficultés majeures est la reconnaissance individuelle des fibres alors que la quantité de matière en suspension peut être importante avec formation d'amas de particules.

La Figure 68 montre les résultats obtenus après un prétraitement et une extraction des formes par morphologie directionnelle (échantillon 41T1, après 24 h de lixiviation sous MES). L'image obtenue permet d'identifier les particules comme des objets. Cependant la reconnaissance des fibres au milieu des particules n'est pas encore effective à ce stade. L'application d'un tri statistique et d'une restauration des formes permet d'individualiser plus finement les particules et d'éliminer les informations non recherchées de l'image (Figure 69).

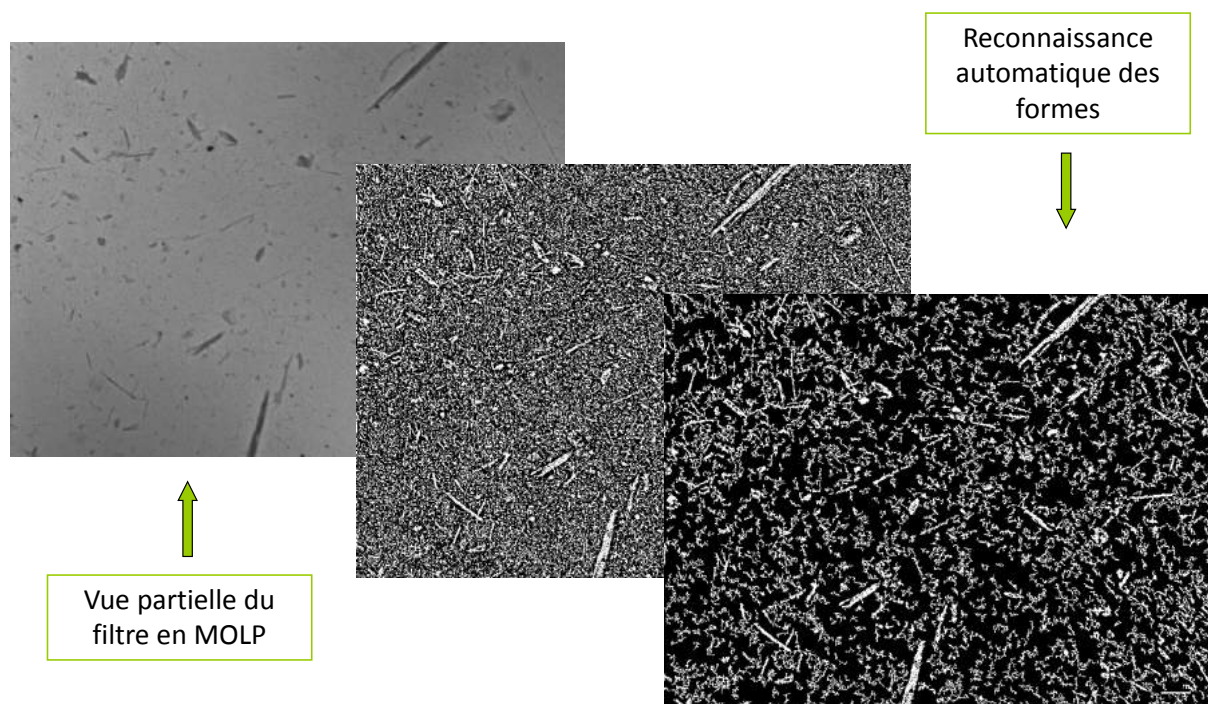


Figure 68 : Résultats du traitement d'une image des dépôts obtenus sur le filtre, après filtration du lixiviat de l'échantillon 41T1 (trémolite de niveau d'altération 1), soumis pendant 24h au MES.

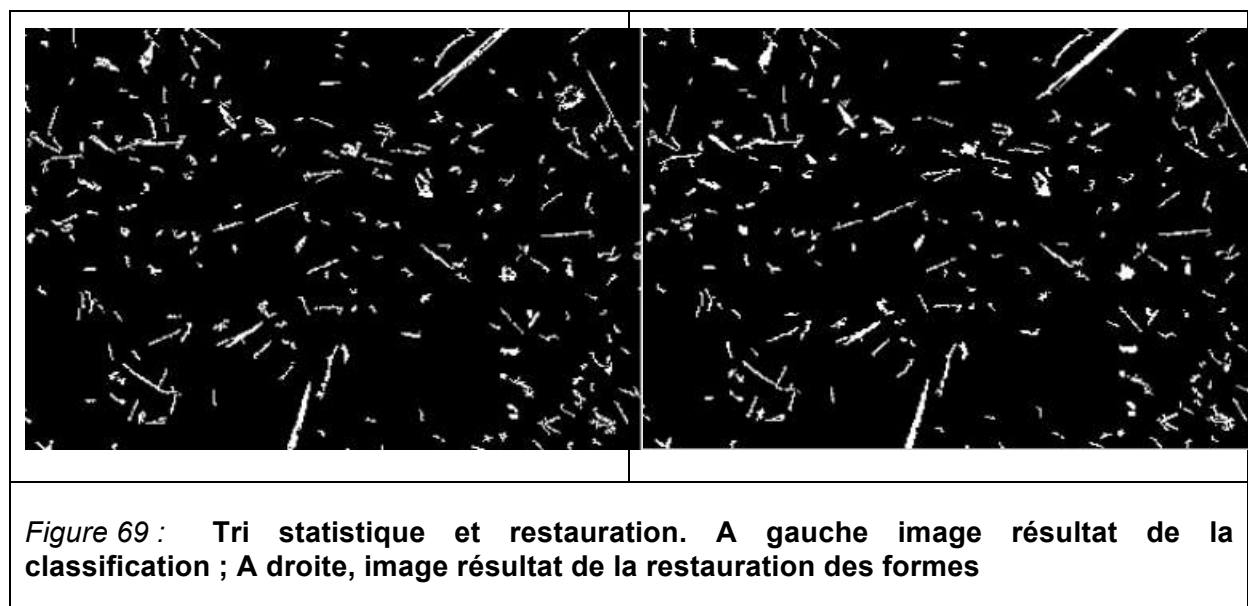


Figure 69 : Tri statistique et restauration. A gauche image résultat de la classification ; A droite, image résultat de la restauration des formes

A ce stade, les objets présents dans l'image d'origine sont individualisés. Parmi eux se trouvent des fibres, seules ou juxtaposées à d'autres objets. Si l'on peut identifier une fibre seule, il faut séparer des objets se touchant, pour reconnaître les fibres dans les

superpositions et amas de particules. Cette étape ultime est réalisée par les méthodes de segmentation des objets. Plusieurs méthodes de segmentations ont été testées. Celle qui a permis d'obtenir les meilleurs résultats et qui paraît la plus prometteuse est celle utilisant les algorithmes de Wang.

⇒ *Ces premiers résultats très prometteurs demandent à être consolidés par l'analyse de davantage d'images de filtre qui permettra l'affinement des algorithmes.*

A noter que pour les échantillons 13A1 et 9A2, les morphologies des fibres issues des expériences de lixiviation à pH = 11,28 ont été observées par microscopie électronique à balayage (MEB) pour comparer les effets de la simulation expérimentale de l'altération chimique sur les fibres d'antigorite libérées.

4.2. SOUS TACHE 1 : ANALYSE DES CONCENTRATIONS EN ELEMENTS MAJEURS ET TRACES DES MINERAUX ASBESTIFORMES POUR DES DEGRES D'ALTERATION DIFFERENTS

Les analyses des concentrations totales en éléments majeurs et traces des minéraux asbestiformes, antigorite, trémolite et chrysotile, pour les différents degrés d'altération disponibles dans l'échantillonnage initial, offrent la possibilité d'identifier le lien entre le comportement des éléments chimiques au cours de l'altération dans les conditions exogènes, et la capacité des asbestes à libérer des fibres dans l'environnement. Pour rappel, l'évaluation du degré d'altération in situ, repose, dans les nomenclatures utilisées en secteur minier, sur la capacité du minéral à se déliter sous forme de fibres et fibrilles (*Cf. Tâche 1, de ce rapport*). Les travaux menés dans cette sous-tâche 1 cherchent à identifier si la désagrégation des minéraux asbestiformes est corrélée à une modification de leur composition chimique et s'il peut exister des indicateurs chimiques de ce processus. Il s'agit de définir s'il existe un lien entre la modification des concentrations en éléments chimiques et la plus forte capacité à émettre des fibres des échantillons les plus altérés.

Il est reconnu que la toxicité des amiantes résulte à la fois de leur taille et de leur morphologie fibreuse, responsables de leur inhalation et de leur pénétration dans les tissus pulmonaires, mais également de leur composition chimique qui influence leur réactivité (caractérisation physico-chimiques, effets cellulaires, stress oxydatif...*Cf. Tâche 3 de ce rapport*). La caractérisation des modifications des compositions chimiques des minéraux asbestiformes au cours de l'altération dans les conditions exogènes, permet d'apporter les premières informations, en amont de l'étude toxicologique des minéraux asbestiformes calédoniens.

4.2.1. LES ELEMENTS MAJEURS

Les éléments majeurs composent la grande majorité des roches et la répartition de leurs concentrations caractérise les phases minérales. Cependant, les éléments majeurs possèdent des valeurs spécifiques de solubilité qui dépendent de leurs propriétés chimiques, des conditions physico-chimiques du milieu, du pH des eaux...La comparaison pour une même phase minérale asbestiforme, des concentrations en éléments majeurs dans les différents niveaux d'altération est une approche permettant de décrire les mécanismes de l'altération chimique dans les conditions exogènes.

4.2.1.1. Antigorite et serpentinites à antigorite

Les identifications minéralogiques par méthodes analytiques (Cf. Tâche 1 de ce rapport) ont montré que sur 33 minéraux asbestiformes reconnus comme des antigorites « pures » sur la base d'une démarche descriptive, 14 se composaient d'un mélange d'antigorite et de chrysotile, pour leurs phases principales. Il s'agit donc de serpentinites à antigorite. Par contre, 16 échantillons correspondent bien à de l'antigorite caractérisée comme pure par les analyses en DRX et spectrométrie Raman. Les échantillons contenant majoritairement de l'antigorite se répartissent suivant les degrés d'altération de niveau #1, #2 et #4.

Tous les échantillons, de serpentinites à antigorite, et d'antigorite, montrent de fortes concentrations en MgO wt% (27,73 à 30,71 %) et en FeO_{tot} wt% (1,7 à 15,6 %) par rapport aux autres éléments majeurs. Viennent ensuite, l'aluminium (Al₂O₃ wt% compris entre 0,03 et 0,5 %), MnO wt% (0,04 à 0,2 %) et enfin CaO wt% et Na₂O wt% avec des concentrations respectivement inférieures à 0,07 % et 0,03 %. Ces résultats sont cohérents avec les proportions relatives des éléments majeurs déjà observées dans les serpentinites à antigorite (Apollaro et al. 2011; Deschamps et al. 2013; Critelli et al. 2015).

Cependant, il est à noter, que les échantillons à antigorite néo-calédoniens possèdent des concentrations en MgO wt% systématiquement plus faibles et en FeO_{tot} wt% plus élevées que les échantillons de serpentinites à antigorite décrits dans la littérature (MgO wt% de 35 à 45%, FeO_{tot} wt% de 2 à 5%). De plus, les échantillons calédoniens montrent une beaucoup plus grande disparité des valeurs (Cannaò et al. 2016; Critelli et al. 2015; Deschamps et al. 2013), (Figure 70).

Cette particularité des échantillons calédoniens est observée quel que soit leurs degrés d'altération.

Le magnésium est un cation soluble et donc « migrateur », au cours des processus de lessivage des serpentinites par les eaux de surface. Une diminution des concentrations en MgO wt% est donc attendue pour des degrés croissants d'altération exogène. À l'inverse, le fer, qui peut être bivalent (Fe²⁺), ou trivalent (Fe³⁺), possède des propriétés de solubilité qui vont dépendre de sa spéciation. Le fer bivalent est généralement plus soluble que le fer trivalent. Le profil d'altération des roches ultrabasiques calédoniennes, encaissantes des affleurements des serpentinites à antigorite ou antigorites, a démontré une cristallisation croissante d'oxyde/hydroxyde de fer au cours de la formation du régolithe. Les conditions physico-chimiques du milieu semblent donc favorables à la concentration du fer dans le résidu de l'altération. Critelli et al., 2015 ont établi un modèle simulant la dissolution des serpentinites, pour des température et pression de surface, et confirment la solubilisation rapide du magnésium ainsi que la très faible solubilité du fer (Figure 71).

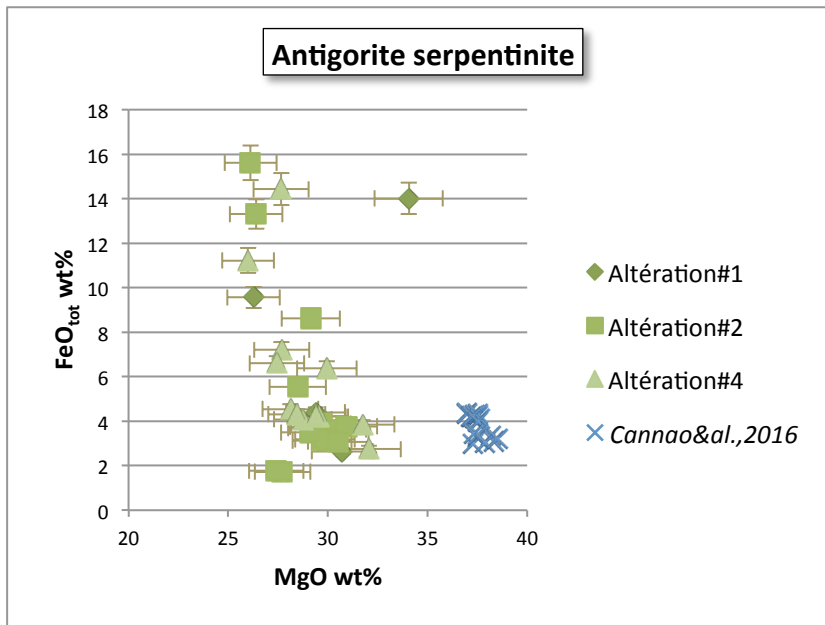


Figure 70 : FeO_{tot} wt% versus MgO wt% pour tous les échantillons identifiés comme antigorite sur le terrain. Pour comparaison, sont reportées les concentrations des minéraux d'antigorite du Voltri Massif (Alps, Italy), (Cannao et al., 2016).

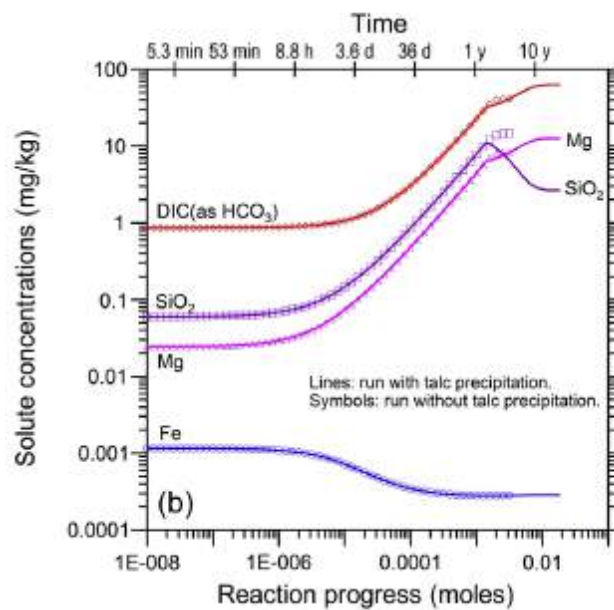


Figure 71 : Résultats de deux simulations de dissolution de serpentinites à 25°C réalisées par l'utilisation de EQ3/6, version 8.0 software. Critelli et al. (2015)

Les concentrations faibles en MgO wt% et élevées en FeO_{tot} wt% des serpentinites à antigorite et antigorites calédoniennes sont donc probablement la conséquence du lessivage récurrent par les eaux de surfaces, particulièrement intense sous climat tropical chaud, ce qui les différencie des serpentinites à antigorite disponibles dans la littérature. Le fait que les échantillons calédoniens de niveau d'altération#1 présentent déjà de faibles teneurs en oxyde de magnésium démontre que l'ensemble des échantillons, constitue le résidu

d'altération de surface, y compris les asbestes montrant un aspect relativement cohésif et classifié de niveau d'altération #1. Ces données géochimiques sont cohérentes avec l'observation, en microscopie électronique à balayage (MEB), de fibres individualisées pour des échantillons d'antigorite de niveau d'altération #1 (Figure 72, pour rappel le degré d'altération est évalué sur le terrain par la capacité des minéraux asbestiformes à libérer des fibres pathogènes).

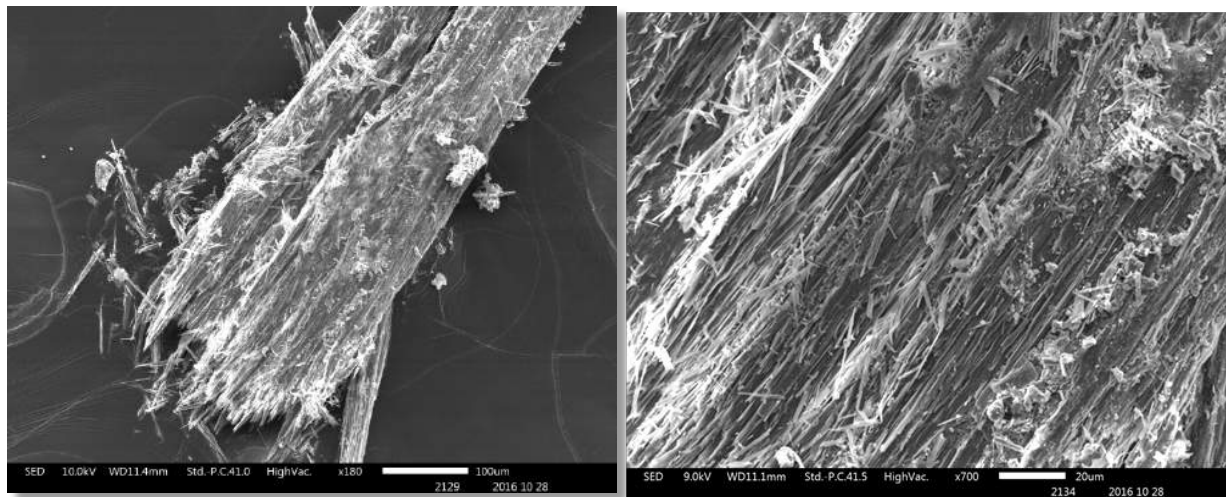


Figure 72 : Image MEB de l'échantillon 19A1, identifié comme antigorite « pure » par DRX et spectrométrie Raman, et de degré d'altération #1 via la nomenclature utilisée en secteur minier.

Cependant, dans le diagramme de la figure 70, où sont représentées à la fois les concentrations des serpentinites à antigorites et des antigorites « pures », il ne semble pas exister de corrélation entre le degré d'altération et la diminution des concentrations en MgO wt% ou l'augmentation des concentrations en FeO_{tot} wt%. En effet, les concentrations les plus élevées en Fer concernent aussi bien des échantillons de degrés d'altération #1, #2 que #4 ; idem pour les concentrations les plus faibles en MgO wt%. Il faut cependant se rappeler que les serpentinites à antigorite sont constituées de mélanges minéralogiques, avec, entre autre, la présence de chrysotile. Les proportions des phases minérales constituant ces roches sont forcément variables. Or les concentrations en éléments chimiques des serpentinites sont le résultat des contributions respectives de ces minéraux. Cela entraîne une hétérogénéité géochimique initiale qui peut expliquer, à elle seule, l'absence de corrélation entre le degré d'altération et l'évolution des concentrations en fer et magnésium de ces roches et la grande disparité des concentrations obtenues.

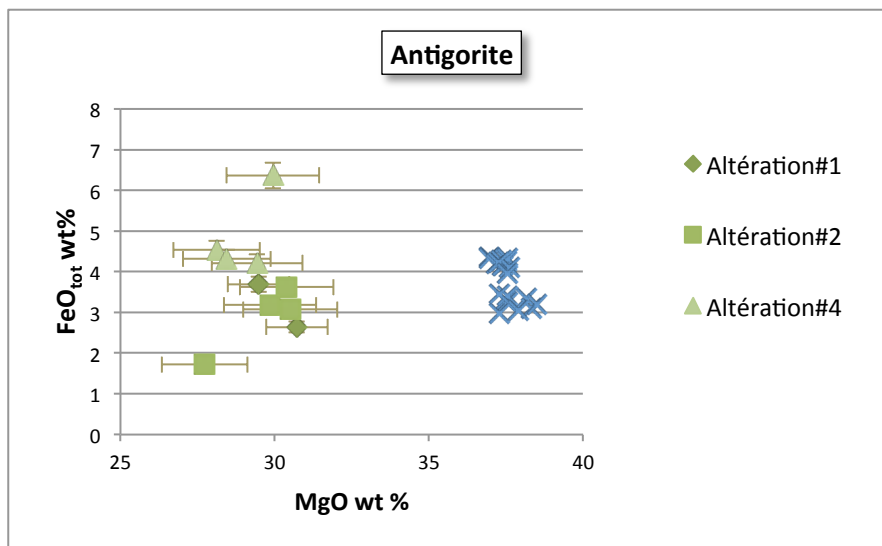


Figure 73 : Diagramme $\text{FeO}_{\text{tot}} \text{ wt\%} = f(\text{MgO wt\%})$ des antigorites de cette étude. Sont reportées pour comparaison les concentrations des antigorites du Mt Reventino (Italie), issues de Canna et al. 2016.

Le diagramme $\text{MgO wt\%} = f(\text{FeO wt\%})$ limité aux concentrations des antigorites « pures » confirme cette conclusion. Les concentrations les plus élevées en fer sont bien associées à un degré d'altération maximum (niveau #4). De plus, il existe une corrélation entre l'augmentation des concentrations en Fer et la croissance du degré d'altération (Figure 73). Enfin, les concentrations en MgO wt%, les plus faibles sont majoritairement obtenues pour les antigorites les plus altérées, soit de niveau #4.

Il faut cependant souligner que ces premiers résultats devront être confirmés par l'analyse des concentrations en éléments majeurs d'un plus grand nombre d'antigorites « pures ».

4.2.1.2. Serpentinites à chrysotile

Les échantillons identifiés comme des minéraux de chrysotile via la nomenclature descriptive utilisée en secteur minier sont des serpentinites à chrysotile (majoritairement des intercroissances lizardite + chrysotile), incluses sous forme de filons dans des serpentinites issues de la semelle serpentineuse de l'ophiolite. De plus, la totalité de ces échantillons de chrysotile sont décrits de niveau #3 d'altération. Les échantillons 23A1 et 33A1, initialement identifiés comme des antigorites, ont été reconnus comme du chrysotile après analyses au DRX et en spectroscopie Raman. Ce sont les seuls échantillons massifs de chrysotile. Ils sont décrits de degré d'altération #1 et proviennent des occurrences de serpentinites disséminées dans le profil d'altération formant le régolithe (Figure 74).

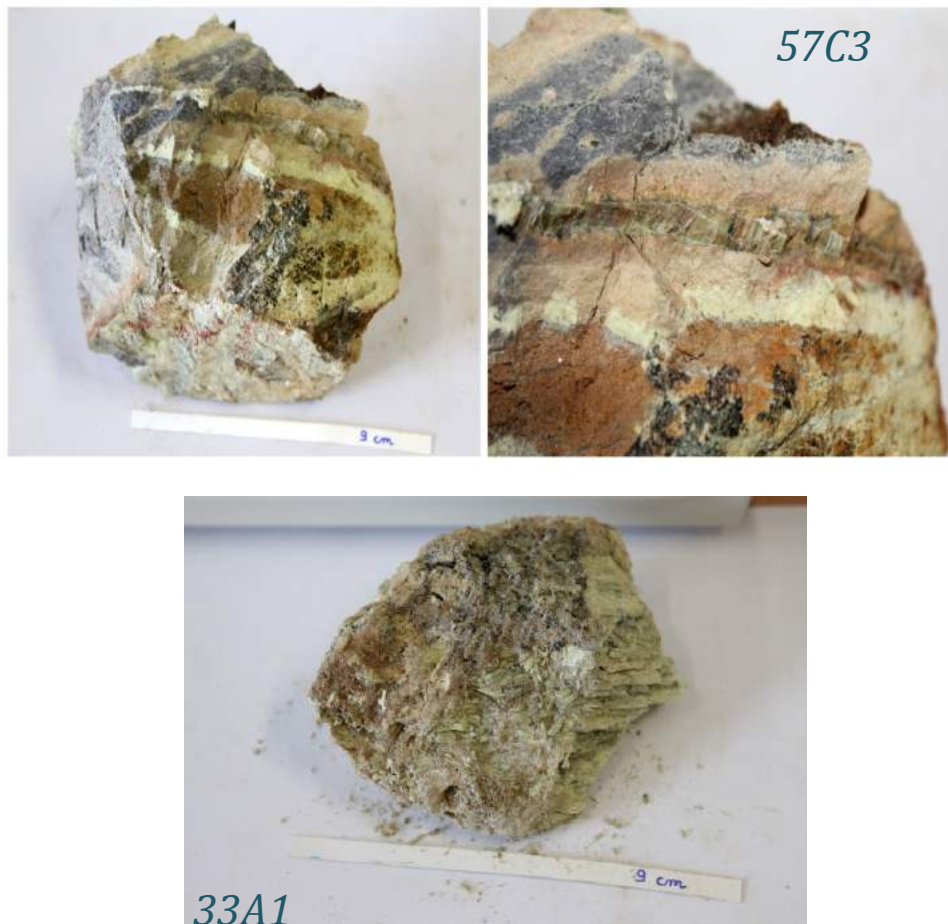


Figure 74 : En haut, photographie de l'échantillon 57C3, illustrant la morphologie de la majorité des échantillons de chrysotile, sous forme de veines très fines (partie supérieure). En bas, photographie de l'échantillon 33A1, qui avec l'échantillon 23A1, constituent les seuls exemples de chrysotile massif.

Ces contraintes font que l'échantillonnage des chrysotiles néo-calédoniens n'était pas suffisamment représentatif pour mener une réelle discussion de l'effet de l'altération exogène sur la composition chimique des asbestes de type chrysotile.

Cependant, les analyses des concentrations en éléments majeurs de trois échantillons d'asbeste de type chrysotile ont été réalisées. Il s'agit de l'échantillon 23A1, 33A1 et 57C3. L'ordre d'importance des éléments majeurs ainsi obtenu est similaire aux résultats acquis sur les échantillons de type antigorite (Figure 75). Les échantillons de chrysotile possèdent notamment, de faibles concentrations en MgO wt% (27 à 29%) et élevées en FeO_{tot} wt% (2 à 7%). Ces concentrations en MgO wt% montrent des valeurs inférieures aux résultats précédemment obtenus sur les serpentinites néo-calédoniennes dont la moyenne est de 34,11wt% dans la semelle serpentineuse et 39,15 wt% dans le profil d'altération (Audet, 2008, Ulrich, 2010, Ulrich et al., 2014), enfin, les compositions en éléments majeurs des chrysotiles présents dans les dunites du massif de Vavouto montrent des valeurs de MgO wt% comprises entre 44,75 et 44,84 wt%, et en FeOwt% entre 1,77% et 2,44% (Audet, 2008). Ces variabilités des compositions en éléments majeurs des serpentinites à chrysotile calédoniennes peuvent s'expliquer par l'hétérogénéité minéralogique de ces roches. Le chrysotile est majoritairement présent sous forme de veines centimétriques à millimétriques, en inter-croissance avec d'autres serpentines telles que la lizardite et l'antigorite.

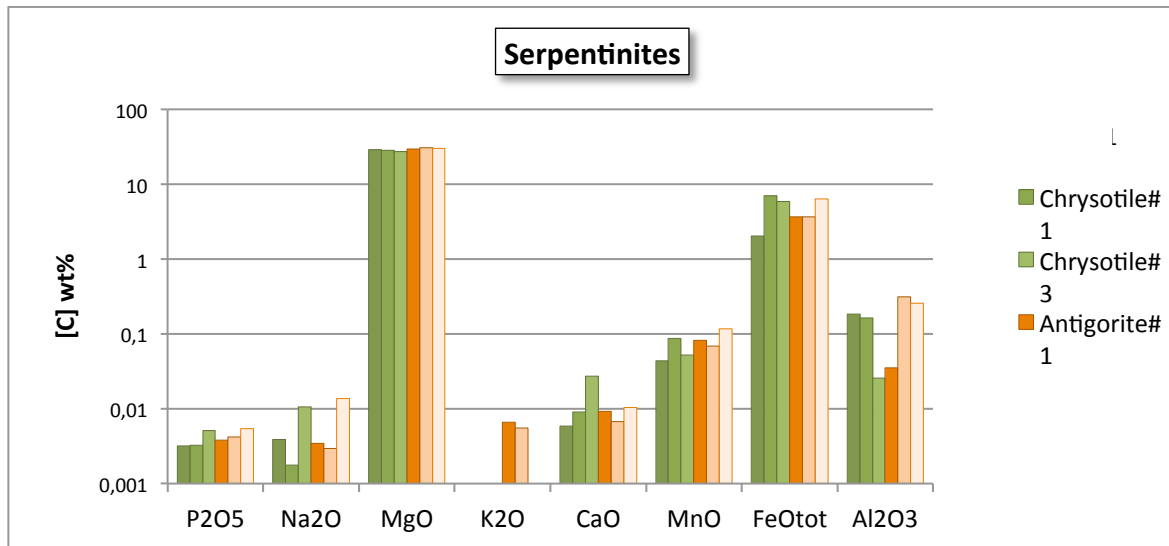


Figure 75 : Comparaison des concentrations en éléments majeurs des échantillons de chrysotile (dans l'ordre 23A1, 33A1 et 57C3) et d'antigorite calédoniens, pour différents degrés d'altération exogène.

Les deux échantillons de chrysotile massif, 23A1 et 33A1, d'altération#1, possèdent des concentrations en éléments majeurs similaires à celles des serpentines à chrysotile formant les veines dans les roches de la semelle serpentineuse de l'ophiolite. Il est nécessaire pour confirmer cette conclusion d'étayer le nombre d'échantillon traités.

4.2.1.3. Echantillons de "serpentinite à Trémolite"

Les compositions en éléments majeurs de dix échantillons identifiés comme des minéraux de trémolite, via la nomenclature de terrain utilisée en secteur minier, ont été déterminées. Malheureusement les analyses par diffractométrie des rayons X et spectroscopie Raman ont démontrées que ces échantillons sont constitués de mélanges minéralogiques complexes entre de la trémolite et des serpentines, majoritairement représentées par de l'antigorite et du chrysotile. De plus, parmi ces 10 échantillons, les échantillons 38T2 et 48T2 n'ont révélé aucune présence de trémolite lors de ces mêmes analyses, mais uniquement des mélanges d'antigorite et de chrysotile. Il faut ajouter enfin, que l'altération de niveaux #1 et niveau #4 ne sont représentés que par un échantillon chacun.

Les trémolites sont des silicates magnésiens et calciques très peu stables dans les conditions de surface et reconnus comme source majeure de calcium et de magnésium lors de lessivage (Clayton, 1986, Rozalen et al., 2014). Les concentrations CaO wt% des « trémolites » calédoniennes s'échelonnent de 5,08% (55T2) à 12,49% (37T2), contre des valeurs proches de 12 à 16% disponibles dans la littérature (Pacella et al., 2010). Par contre, les concentrations en MgOwt%, mesurées sur les échantillons calédoniens, comprises entre 23,6% et 20,2 wt% sont similaires aux données de la littérature (Pacella et al., 2010).

Compte tenu du lessivage potentiel du calcium lors de la dissolution des trémolites au cours de l'altération de surface, la grande variabilité des concentrations et les parfois, faibles valeurs de CaOwt% mesurées sur les trémolites calédoniennes auraient pu être considérées

comme résultant des processus exogènes. Cependant, il n'existe pas de relation entre les variations des concentrations en calcium des trémolites et le niveau d'altération identifié, ce qui ne permet pas d'apporter de conclusion certaine (les concentrations extrêmes appartiennent toutes les deux à des trémolites de niveau d'altération #2). De plus, la présence d'antigorite ou de chrysotile, dans des quantités variables, associés à la trémolite dans les échantillons calédoniens peut, à elle seule, rendre compte de cette variabilité des concentrations en CaOwt%, les serpentines montrant des concentrations beaucoup plus faibles (Figure 76)

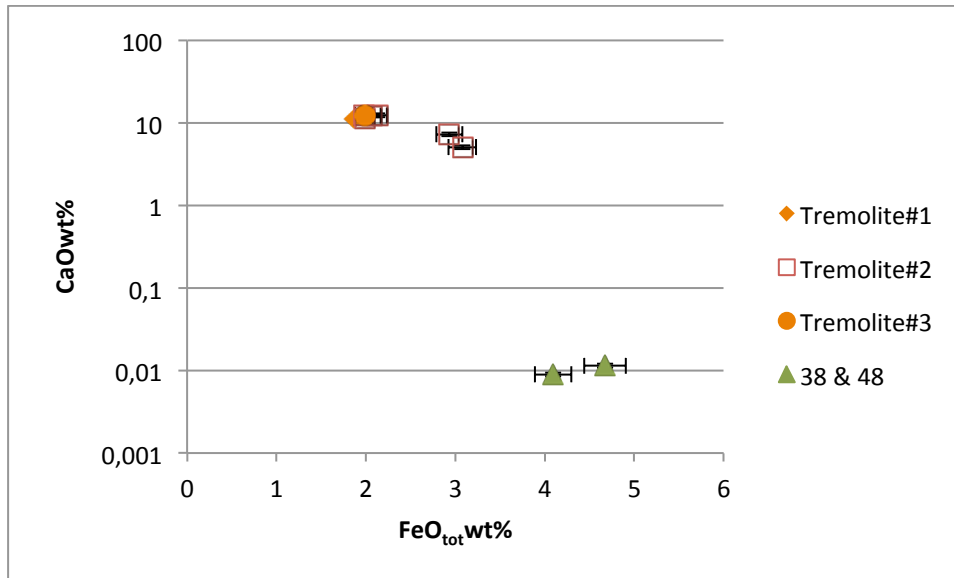


Figure 76 : CaOwt% versus FeO_{tot}wt% pour l'ensemble des échantillons identifiés comme de la trémolite via la nomenclature utilisée en secteur minier.

Les échantillons 38T2 et 48T2 ont été identifiés par DRX et spectroscopie Raman respectivement comme un mélange minéralogique d'antigorite/chrysotile et du chrysotile.

4.2.2. ELEMENTS TRACES

Les concentrations en éléments traces ont été mesurées sur les minéraux asbestiformes calédoniens, en complément des analyses en éléments majeurs décrites précédemment. La démarche scientifique demeure comparative entre les différents niveaux d'altération pour une même phase minérale asbestiforme. Il s'agit de caractériser le comportement des éléments traces au cours de l'altération chimique de surface, afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués et leurs impacts sur la composition chimique des asbestes.

4.2.2.1. Les compositions en éléments Terres Rares des minéraux asbestiformes calédoniens

Les éléments Terres Rares (REE, Rare Earth Element) appartiennent aux mêmes familles chimiques lanthanides et actinides, ce qui leur confère des propriétés chimiques très similaires. En fonction de leur rayon ionique décroissant, les REE sont classés en LREE (Light Rare Earth Element) ou Terres Rares Légères et en HREE (Heavy Rare Earth Element) ou Terres Rares Lourdes. Ces dernières décennies de nombreuses études scientifiques ont exploité les concentrations en REE comme traceurs des mécanismes d'altération par lessivage, notamment au cours de processus de latérisation (Braun et al., 1993, 1998, Viers and Wassenburg, 2004, Salah Al-Khirbash, 2013). La comparaison des compositions en REE des roches mères et des altérites ont ainsi démontré que le lessivage provoque une redistribution des éléments Terres Rares, notamment sous l'effet des modifications des conditions d'oxydo-réduction du milieu.

Dans le programme Amiante et Bonnes Pratiques, nous avons analysé les concentrations en REE des différents niveaux d'altération dont nous disposons pour chacune des phases minérales asbestiformes calédoniennes, et dont nous disposons des compositions chimiques en éléments majeurs. L'objectif scientifique demeure de mieux caractériser les modifications de la composition chimique des asbestes lors de l'altération chimique exogène.

Il est classique de représenter les concentrations en éléments REE sous forme de diagrammes étendus, appelés spectres. Pour faciliter les comparaisons des spectres, il est nécessaire de « lisser » les spectres en s'affranchissant des différences d'abondances relatives des éléments, via leurs normalisations. Classiquement, les concentrations en REE sont normalisées aux valeurs de chondrites de référence.

Les spectres des concentrations de REE normalisées aux chondrites des **antigorites « pures »** calédoniennes sont reportés Figure 77. L'ensemble des serpentines présentent des concentrations relativement faibles, inférieures aux valeurs chondritiques. Les spectres obtenus sont de même allure, avec un léger enrichissement en LREE par rapport aux HREE et un appauvrissement des concentrations en REE intermédiaires. Cette forme en U des spectres est similaire à celle généralement observée pour les péridotites (Gruau et al., 1998). Il faut noter également que le cérium (Ce) et l'euprium (Eu), présentent des anomalies négatives, à l'exception de l'échantillon 26A4, pour lequel Ce est en anomalie positive et l'échantillon 11A1 pour lequel Eu est en anomalie positive. Ces anomalies proviennent du fait que contrairement aux autres REE, qui sont trivalents, Eu peut devenir bivalent en milieu réducteur et Ce tétravalent en milieu oxydant. Ces modifications de valence expliquent leur comportement distinct des autres REE au cours des processus de lessivage leur solubilité étant modifiée. Il faut ajouter que la valeur du pH joue également un rôle majeur.

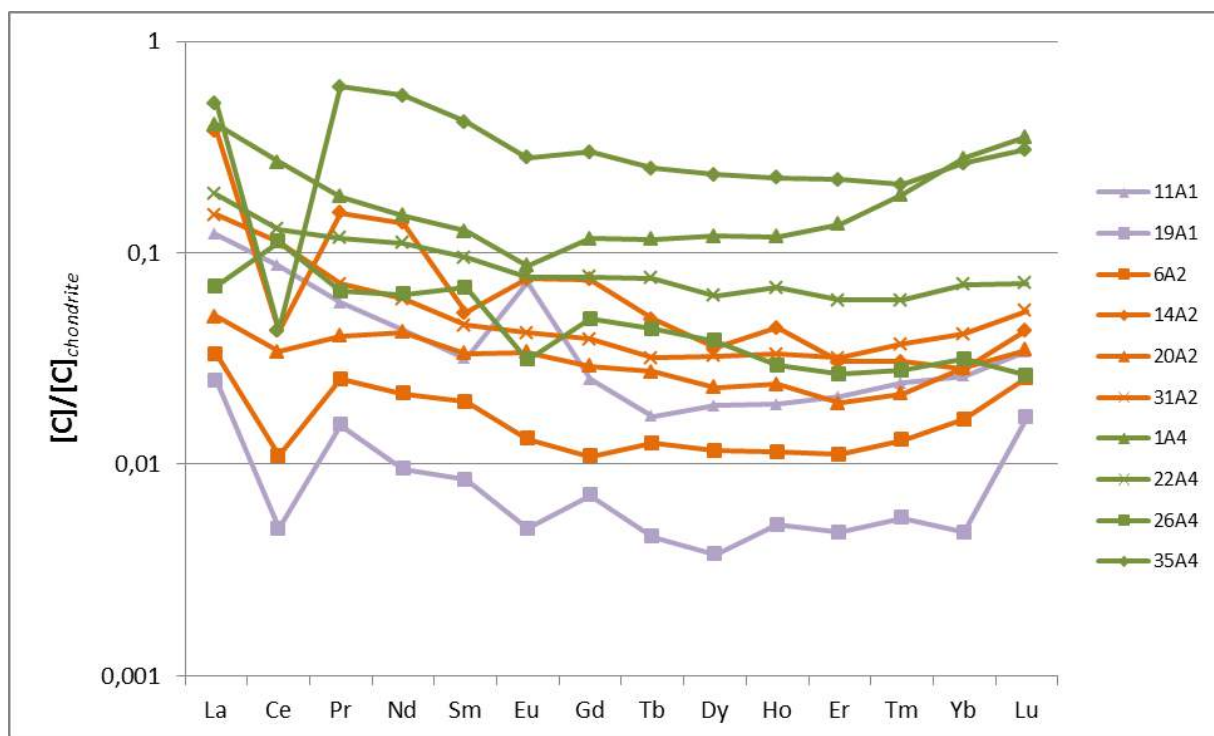


Figure 77 : Spectres étendus des REE des échantillons d'antigorites « pures ». Valeurs de normalisation d'après Evensen, 1978.

La comparaison des spectres de REE des antigorites calédoniennes de niveaux d'altération différents, montre que les éléments Terres Rares tendent à s'accumuler dans le minéral résiduel. Cette accumulation semble plus marquée pour les HREE que pour les LREE. Si ces résultats sont associés à ceux obtenus précédemment à partir des concentrations en éléments majeurs, alors il apparaît que l'augmentation des concentrations en REE dans les antigorites d'altération niveau #4, et de fortes anomalies négatives en Ce, sont contemporaines de l'augmentation des concentrations en FeO_{tot} wt%. Ces facteurs peuvent indiquer que lors de l'altération le milieu devient plus fortement oxydant, favorisant la fixation des REE par la précipitation d'oxydes de fer.

Les spectres des éléments Terres Rares, normalisés aux chondrites des échantillons de **serpentinites à chrysotile** montrent des allures très différentes (Figure 78). L'échantillon 57C3, représentant des filons fins de chrysotile présents dans une serpentinite de la semelle de l'ophiolite, montre des valeurs en LREE supérieures à celle de la chondrite de référence, un enrichissement en LREE par rapport aux HREE, et une très forte anomalie négative en cérium. Les échantillons 23A1 et 33A1, constitués de chrysotile massif, échantillonnés dans le profil d'altérites, présentent, eux, des spectres similaires de concentrations en REE et très proches de ceux obtenus sur antigorite, pour lesquels on retrouve un appauvrissement en REE intermédiaires par rapport aux LREE et HREE, et un léger enrichissement en LREE par rapport aux HREE. Ces différences très marquées entre ces spectres de REE traduisent certainement la composition minéralogique hétérogène de l'échantillon 57C3. Il est impossible de décrire à partir de ce peu d'information, l'impact de l'altération exogène sur les concentrations en REE des minéraux de chrysotile calédoniens.

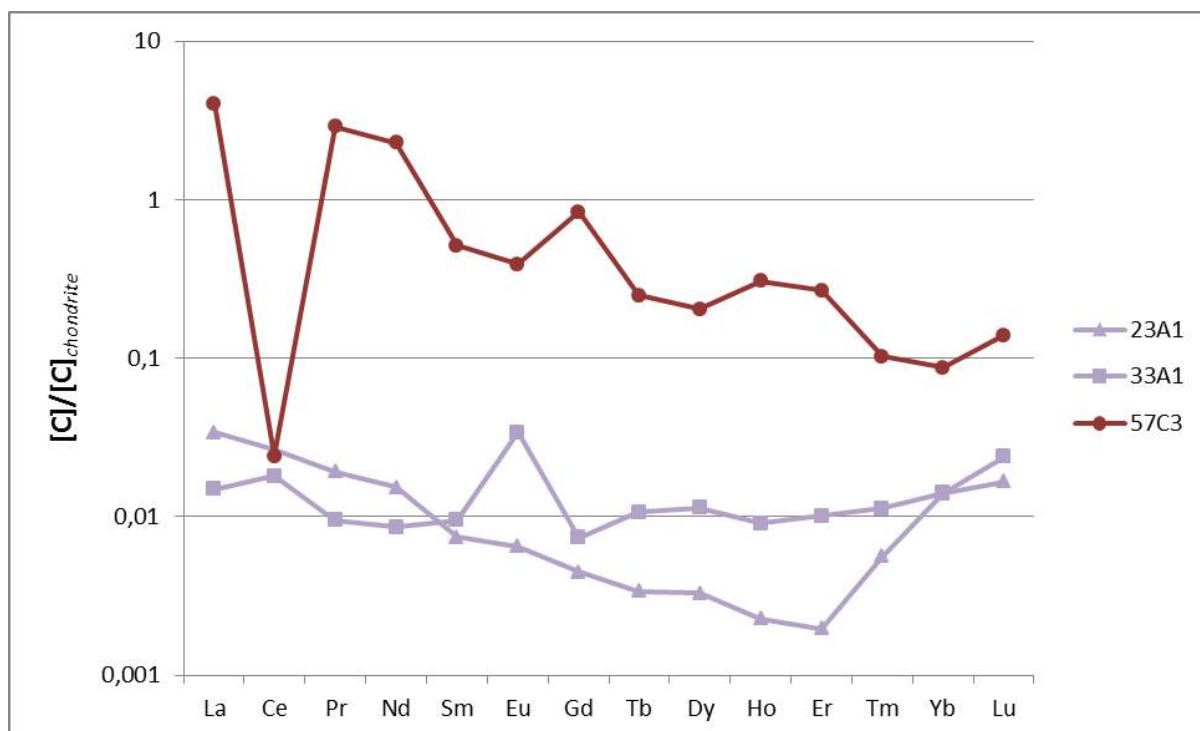


Figure 78 : Spectres étendus des REE des échantillons de chrysotile. Valeurs de normalisation d'après Evensen, 1978.

Les spectres des concentrations en éléments Terres Rares des «trémolites» calédoniennes montrent des valeurs supérieures aux valeurs chondritiques et un enrichissement en LREE par rapport aux HREE. L'euprium et le cérium présentent des anomalies positives sur une partie des spectres. Le nombre limité d'échantillon par niveau d'altération (1 seul échantillon pour niveau #1 et #4), ne permet malheureusement pas de décrire avec rigueur le comportement des REE au cours de l'altération des « trémolites » (Figure 79). Les spectres distincts des échantillons 47T2 et 55T2, peuvent résulter de la complexité minéralogique de ces échantillons qui ne sont pas des trémolites « pures » mais des associations de trémolite, antigorite et chrysotile dans des proportions indéterminées.

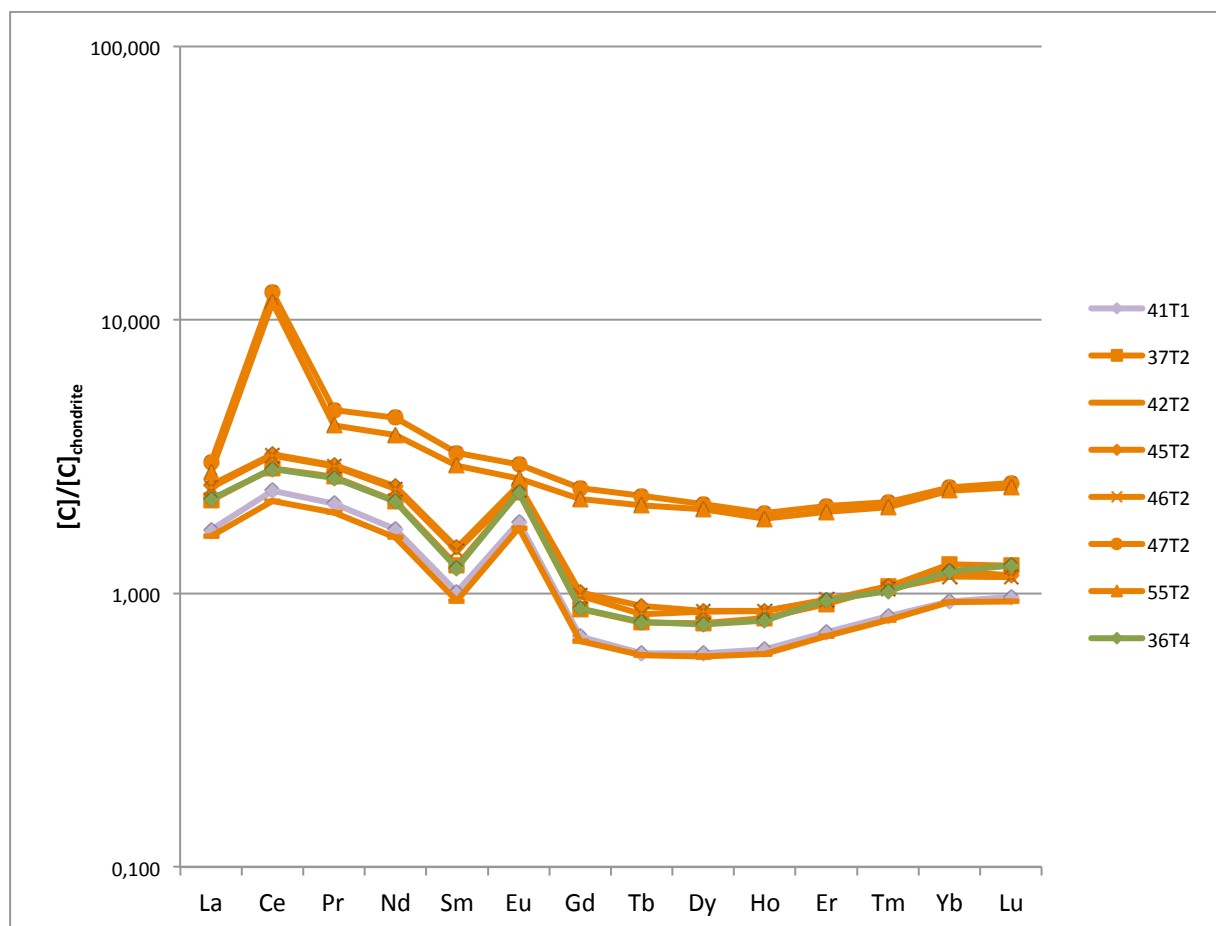


Figure 79 : Spectres étendus des REE des échantillons de « trémolite ». Valeurs de normalisation d'après Evensen, 1978.

4.2.2.2. Compositions en éléments traces des minéraux asbestiformes calédoniens

Les éléments traces possèdent des propriétés chimiques très variables, notamment en termes de solubilité. Les comparaisons des variations des concentrations d'éléments traces de propriétés chimiques distinctes participe à la caractérisation des équilibres ou déséquilibres chimiques mis en jeu au cours des processus d'altération. Certains éléments, tels que Sr, Rb, Ba sont des cations qualifiés de particulièrement solubles, généralement lessivés, transportés et de concentrations décroissantes dans les sols résiduels. D'autres, tels que Cr, Mn, Ni et Co, très présents dans les altérites des péridotites calédoniennes, ont des propriétés d'accumulation dans les sols résiduels qui sont directement liées à la typologie et cristallinité des oxydes/hydroxydes de fer (Dublet et al., 2015).

Les analyses en éléments majeurs des antigorites « pures » calédoniennes ont permis d'identifier une augmentation des concentrations en FeO_{tot} wt% pour des niveaux d'altération croissants. Les comparaisons entre les concentrations Cr, Mn, Ni et Co et les concentrations en FeO_{tot} wt% des antigorites impactées par l'altération n'ont pas permis de mettre en évidence de fortes corrélations, ou anti-corrélations. Les données du cobalt et du nickel ne montrent aucun lien entre les concentrations de ces éléments et celles du fer. Seules les concentrations en Mn sont les plus élevées pour les antigorites de niveau d'altération #4,

tout comme FeO_{tot} wt%. Cependant, il n'existe pas de corrélation nette entre l'augmentation des concentrations de ce élément trace et, un degré d'altération croissant. (Figures 80, 81) Si les plus fortes concentrations en chrome ont bien été mesurées sur des antigorites de niveaux #4 d'altération, les valeurs les plus basses sont mesurées également sur les antigorites les plus altérées. Il n'y a donc pas de lien déterminable entre altération croissante et augmentation ou diminution des concentrations du Cr.

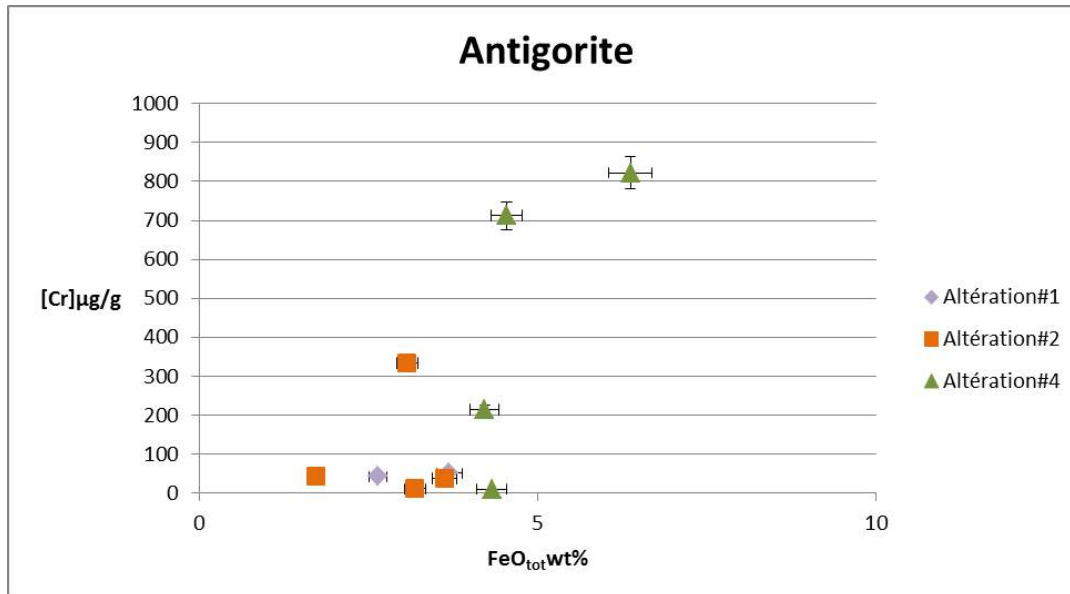


Figure 80 : Diagramme $[\text{Cr}] = f(\text{FeO}_{\text{tot}} \text{ wt}\%)$ pour les antigorites « pures » calédoniennes.

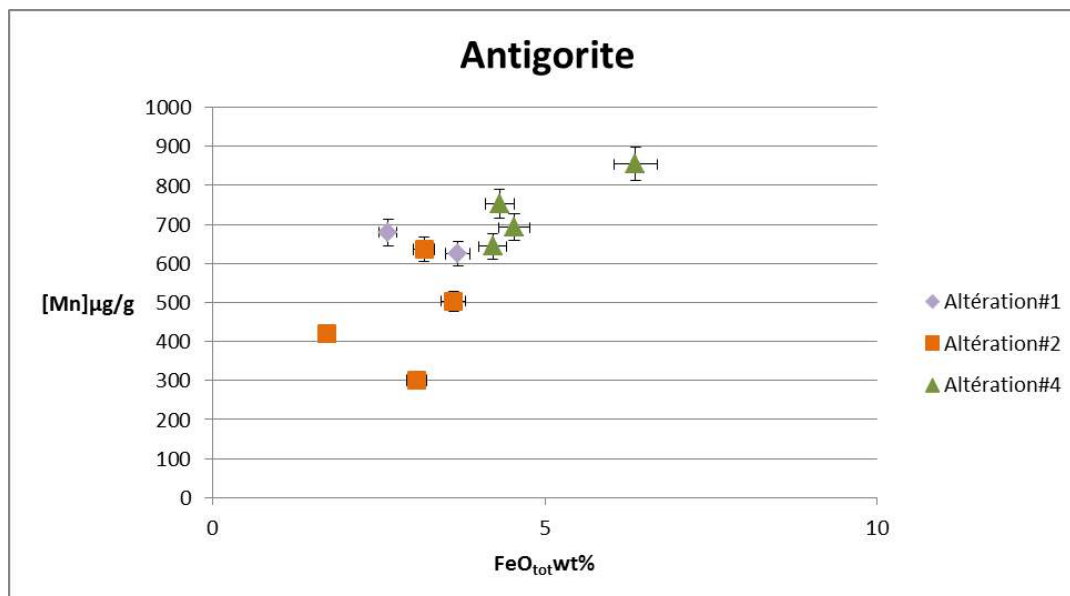


Figure 81 : Diagramme $[\text{Mn}] = f(\text{FeO}_{\text{tot}} \text{ wt}\%)$ pour les antigorites « pures » calédoniennes.

Il est connu que la présence de certain d'oxydes/hydroxydes de fer peut être favorable à l'adsorption du Mn (Dublet et al., 2015). Il a également été démontré que le manganèse est peu influencé par les processus de lessivage lorsqu'il demeure captif des oxydes primaires très peu déstabilisés par l'altération (Kierczak et al., 2007). Les observations en microscopie optique polarisante des échantillons d'antigorites calédoniennes ont montré la présence de minéraux opaques associés aux serpentines, qui pourraient étayer cette dernière hypothèse. Pour investiguer plus avant le comportement du Cr, Ni, Co et Mn au cours de l'altération des antigorites calédoniennes, il est nécessaire de compléter les analyses pour obtenir une meilleure représentativité et de tester le comportement de ces éléments expérimentalement. Une étude similaire n'a pu être menée pour les serpentinites à chrysotile et les échantillons identifiés comme des « trémolites » sur le terrain, faute d'un échantillonnage suffisant pour poser des interprétations.

De la même façon que pour les éléments REE, il est commun de représenter les concentrations en éléments traces sous forme de diagrammes étendus après normalisation. Il est alors possible de classer ces éléments en fonction de leur solubilité et de leur incompatibilité vis-à-vis des phases solides (valeurs de $K_d < 1$). La figure 82 montre les spectres obtenus à partir des concentrations normalisées des échantillons d'antigorite « pures » calédoniennes. Ce diagramme semble montrer que les antigorites de niveau d'altération #4 possèdent les concentrations en éléments traces les plus élevées. De façon cohérente, cet enrichissement des concentrations au cours de l'altération est particulièrement vrai pour les éléments traces peu solubles. Il y a une accumulation des éléments traces peu solubles, dans les minéraux résiduels au fur et à mesure de l'altération exogène.

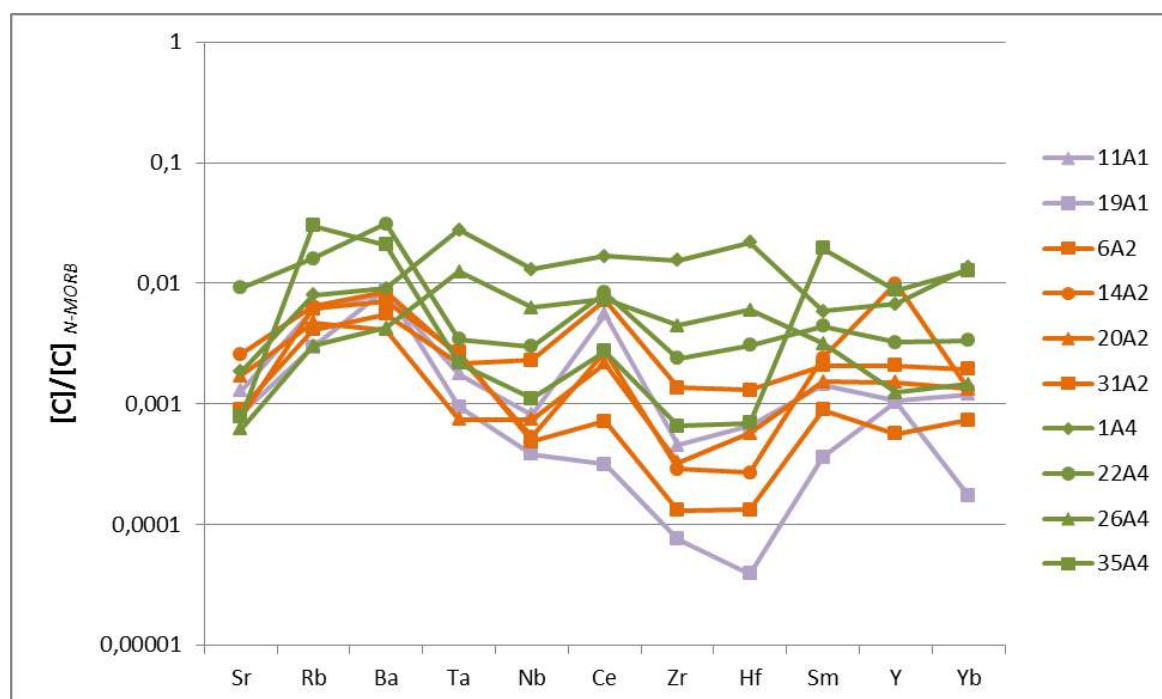


Figure 82 : Spectres des éléments traces des échantillons d'antigorites « pures ». Valeurs de normalisation d'après Pearce, 1983

Il faut noter également que les spectres des échantillons 1A4 et 26A4 (altération #4) qui possèdent les concentrations les plus élevées en éléments traces peu solubles (Ta à Yb), montrent également les plus faibles concentrations en éléments solubles (Sr à Ba). A l'inverse, si l'échantillon 19A1 (altération #1) possède les plus faibles valeurs en éléments traces peu solubles, il est caractérisé par le plus fort enrichissement en éléments traces solubles par rapport aux éléments peu solubles, faiblement incompatibles. Ces deux catégories de spectres soulignent l'impact du lessivage croissant sur les concentrations des éléments traces.

La figure 83 présente les spectres des éléments traces normalisés, des échantillons identifiés comme des « trémolites » via la nomenclature des professionnels de la mine. Les analyses minéralogiques de ces échantillons ont révélé la présence de trémolite mais également de serpentines, pour les phases principales.

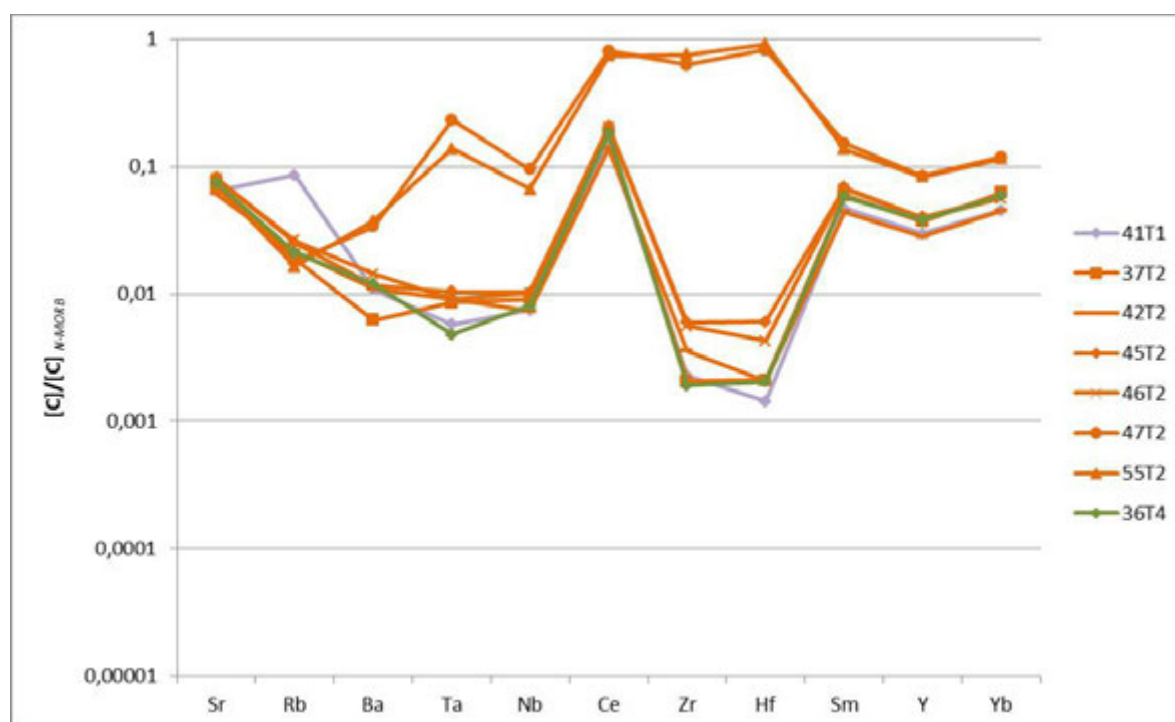


Figure 83 : Spectres des éléments traces des échantillons de « trémolites ». Valeurs de normalisation d'après Pearce, 1983

Les signatures chimiques de ces « roches à trémolites » diffèrent, en toute logique, de ceux observés pour les antigorites « pures », de par leur différence de minéralogie. Les concentrations en Sr sont supérieures aux concentrations en Rb et Ba. Les deux échantillons 47T2 et 57T2 qui présentaient des spectres en REE distincts de ceux des autres roches à trémolite, conservent des spectres en éléments traces différents, avec des valeurs élevées en Zr et Hf. Les autres échantillons de roches à trémolites, indépendamment du degré d'altération, présentent des spectres de profils similaires avec une forte anomalie positive en Ce, et un enrichissement en Sr, Sm, Y et Yb, ce qui donne une allure en U. Cette variabilité des spectres en éléments traces des trémolites est difficilement exploitable en terme d'impact de l'altération de surface, puisqu'il est quasi impossible de quantifier par ailleurs l'influence de l'hétérogénéité minéralogique.

Conclusion de la sous-tâche 1 :

- ✓ Les analyses en éléments majeurs des antigorites « pures » néo-calédoniennes ont montré que l'altération exogène a impacté les concentrations en MgO wt% et FeO_{tot} wt% de tous les degrés d'altération, y compris du niveau #1. Cela confère une composition chimique en éléments majeurs très spécifique aux échantillons calédoniens.
- ✓ La toxicité des asbestes étant en partie liée au comportement du fer biodisponible, l'augmentation des concentrations en FeO_{tot} wt% pour une altération croissante est une information majeure. Une augmentation de la toxicité des antigorites pour des degrés d'altération croissants n'est pas à exclure.
- ✓ L'altération de surface modifie les compositions en éléments traces et en REE des antigorites calédoniennes. Le Mn semble s'accumuler dans les phases minérales résiduelles, tout comme les éléments HREE.
- ✓ Il est nécessaire de compléter l'échantillonnage en phase pure de chrysotile et de trémolite calédoniens, aux différents niveaux d'altération, pour réellement caractériser les modifications géochimiques résultantes de l'altération exogènes sur ces minéraux asbestiformes.

4.3. SOUS TACHE 2 : RECONSTITUTION EXPERIMENTALE DE L'ALTERATION DE SURFACE- EXPERIENCES DE LIXIVIATION

Les comparaisons des compositions chimiques des minéraux asbestiformes calédoniens pour des niveaux d'altération croissants ont permis d'identifier une augmentation des concentrations en fer pour de faibles concentrations en magnésium. Il a par contre été difficile de dégager un lien entre l'altération et les variations des concentrations en Ni et Co des asbestes, par contre il pourrait y avoir une augmentation des concentrations en Mn et Cr dans les phases minérales résiduelles.

Cette démarche comparative des compositions chimiques d'échantillons naturels, caractérisés par des degrés d'altération différents, a cependant ses limites. Ainsi, il semble très difficile d'obtenir un échantillonnage homogène minéralogiquement pour les asbestes de type chrysotile et trémolite, ce qui rend quasi impossible tout traçage de l'influence progressive de l'altération. Il est impossible à partir des échantillons issus du milieu naturel d'estimer l'ordre de grandeur du temps nécessaire pour obtenir les différents degrés d'altération pour une même phase asbestiforme. Enfin, il est également difficile d'obtenir l'influence relative des différents paramètres physico-chimiques du milieu sur l'altération des minéraux amiantifères. A l'inverse, les expérimentations en laboratoire apportent les compléments de connaissance indispensables. Les expériences de lixiviations en mode batch offrent l'opportunité de simuler l'altération chimique de surface, pour des temps contrôlés. Le comportement des éléments chimiques peut être ainsi suivi individuellement au cours de simulation du lessivage de surface. L'influence de chacun des paramètres physico-chimiques sur le comportement des éléments chimiques composant les asbestes peut également être estimée.

Les questions posées par les expérimentations de laboratoire menées dans cette sous-tâche 2 sont :

- ✓ évaluer si l'altération chimique seule de minéraux asbestiformes, en l'absence de contrainte mécanique, peut générer la libération de fibres pathogènes.
- ✓ estimer les cinétiques mise en jeu au cours de l'altération chimique des asbestes calédoniens.
- ✓ parmi les paramètres physico-chimiques capables d'influencer les processus de lessivage en surface, évaluer l'influence du pH du liquide de lixiviation sur l'altération des minéraux asbestiformes.

4.3.1. SIMULATION DE L'ALTERATION CHIMIQUE DES MINERAUX ASBESTIFORMES CALEDONIENS SANS CONTROLE DE PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES

Trois échantillons caractérisés comme très peu altérés et cohésifs par la description de terrain ont été sélectionnés pour représenter les phases minérales asbestiformes calédoniennes : l'antigorite 13A1, la serpentinite à trémolite 41T1, et la serpentinite à chrysotile 57C3. Les concentrations en éléments majeurs et traces des solutions surnageantes ont été mesurées pour les différents temps d'expérience. Les concentrations des éléments dissous dans la solution surnageante représentent la fraction issue du minéral asbestiforme et libérée dans la phase liquide. Pour les mêmes temps d'expérience échelonnés de 2 heures à 60 jours, deux solutions extractantes ont été choisies : le MES

(acide 2-morpholino Ethan sulfonique) et le DTPA (acide diéthylène triamine pentaacétique). Le MES simule le pouvoir extractant relativement faible des eaux de surfaces, afin de représenter l'impact des lessivages en milieu naturel. Le DTPA provoque une extraction forcée des éléments métalliques et métalloïdes composant la fraction biodisponible. Il s'agit d'amplifier au maximum les effets de l'altération chimique des asbestes. Les quantités des éléments chimiques solubilisés dépendent de la surface de contact entre le liquide et le minéral. Pour s'affranchir d'une variabilité consécutive aux différences de morphologie des fragments minéraux utilisés dans les expériences de lixiviation, les concentrations ont été normalisées à une surface spécifique de 100 cm² (voir le chapitre 1.1 méthodologie et échantillonnage).

Le **magnésium** est rapidement libéré en solution à partir de tous les asbestes, y compris pour les solutions de MES (Figure 84). Dès 2 heures d'expériences, Mg est solubilisé dans la solution de MES, et de façon croissante avec le temps. Les concentrations maximales sont atteintes à partir de la serpentinite à trémolite. Les concentrations de magnésium solubilisé dans le DTPA sont évidemment supérieures, mais montrent sans ambiguïté une croissance de la lixiviation de Mg au cours du temps, avec des valeurs maximums fournies à nouveau par la serpentinite à trémolite. Les expériences de lixiviation ont montré que le silicium fournit des résultats similaires à ceux obtenus pour le magnésium, avec une solubilité accrue pour la serpentinite à trémolite.

Le **fer** n'est pas dissout au cours des expériences de lixiviation au MES pour la totalité des minéraux asbestiformes testés. Cela confirme la faible solubilité du fer contenu dans les minéraux d'antigorite, chrysotile et trémolite. Il faut le fort pouvoir extractant du DTPA pour que le fer soit solubilisé et de façon croissante avec le temps. Il faut attendre 4 jours pour que le fer soit extrait de façon significative de la serpentinite à trémolite vers la solution de DTPA (Figure 85).

Les résultats des expériences de lixiviation en mode batch des trois éléments dominants des minéraux asbestiformes calédoniens que sont le magnésium, le silicium et le fer sont totalement cohérents avec les interprétations des concentrations en éléments majeurs des asbestes pour des niveaux d'altération croissants (sous-tache 1). Au cours de l'altération exogène, le magnésium et le silicium sont lessivés alors que le fer, très peu soluble s'accumulera dans les phases minérales résiduelles. La solubilisation du magnésium et du silicium interviennent très rapidement à l'échelle de quelques heures.

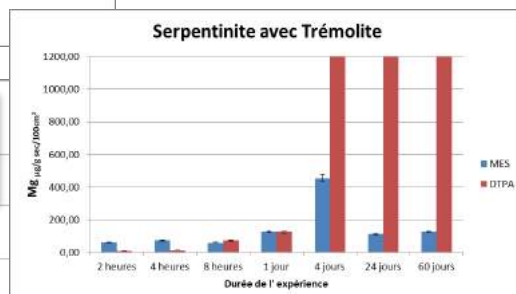
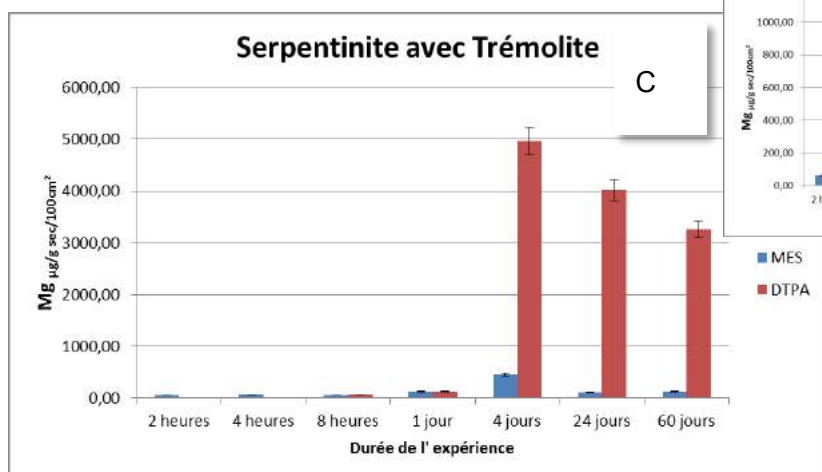
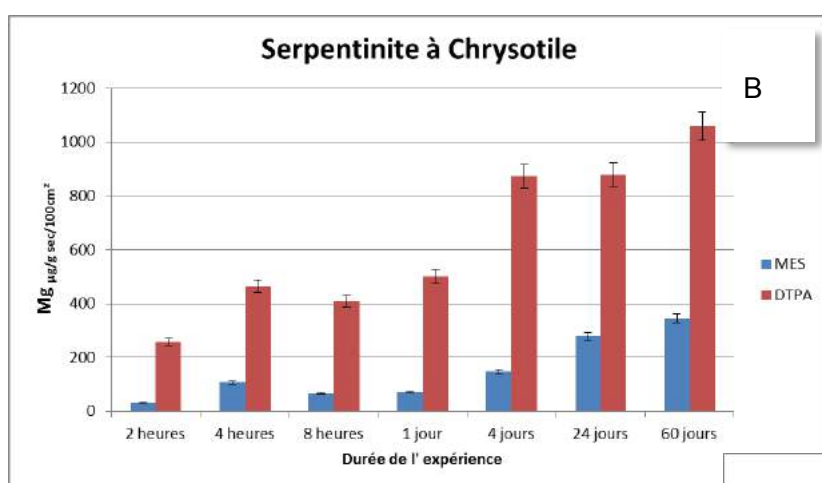
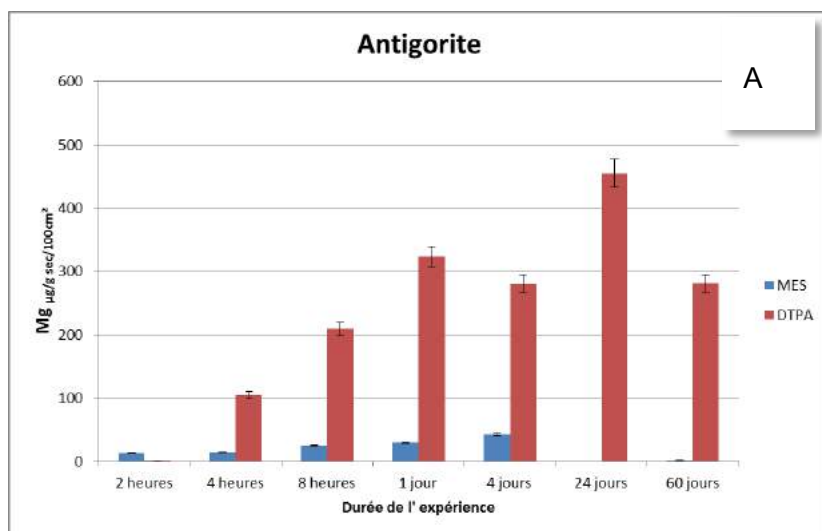


Figure 84 : Diagrammes des concentrations de Mg dissous au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C)

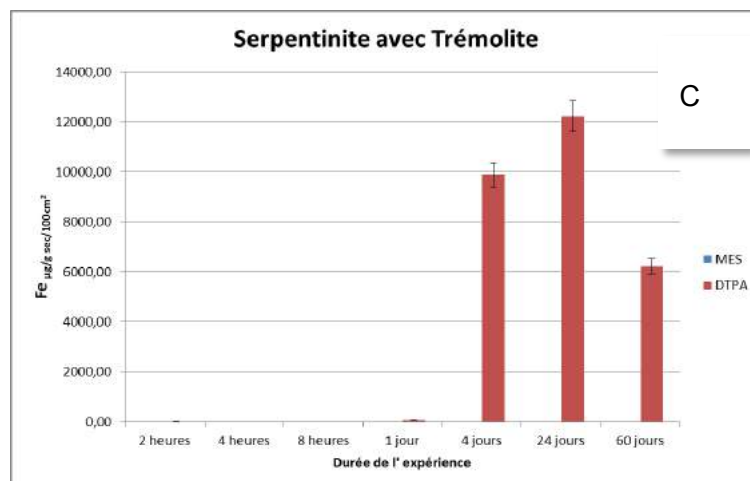
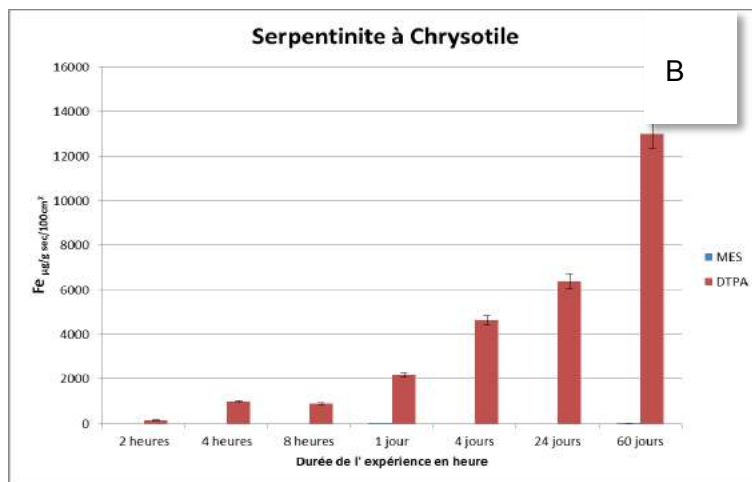
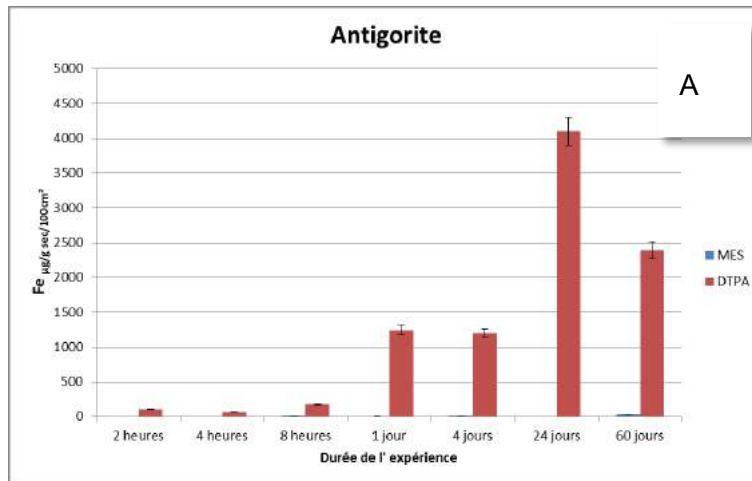


Figure 85 : Diagrammes des concentrations de Fe dissous au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C)

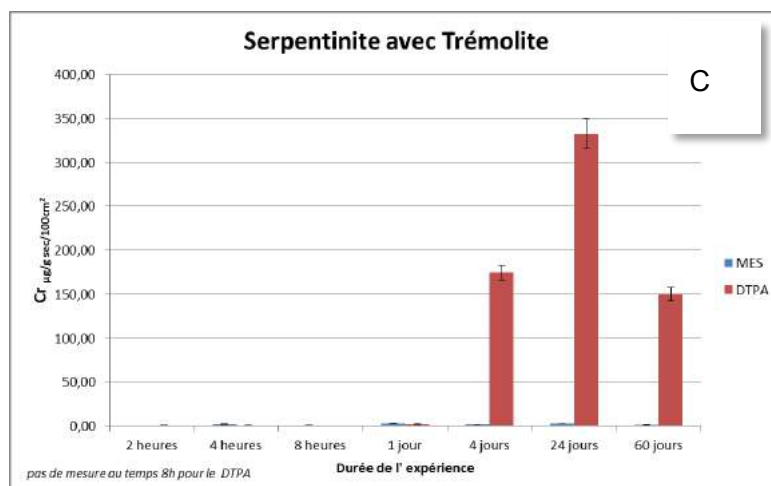
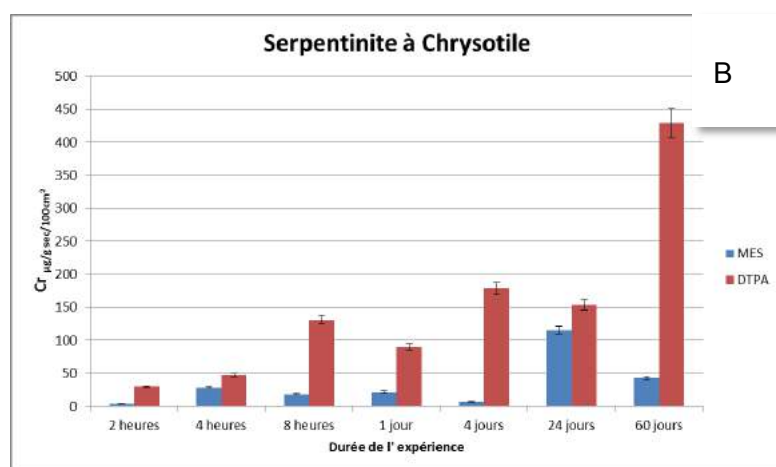
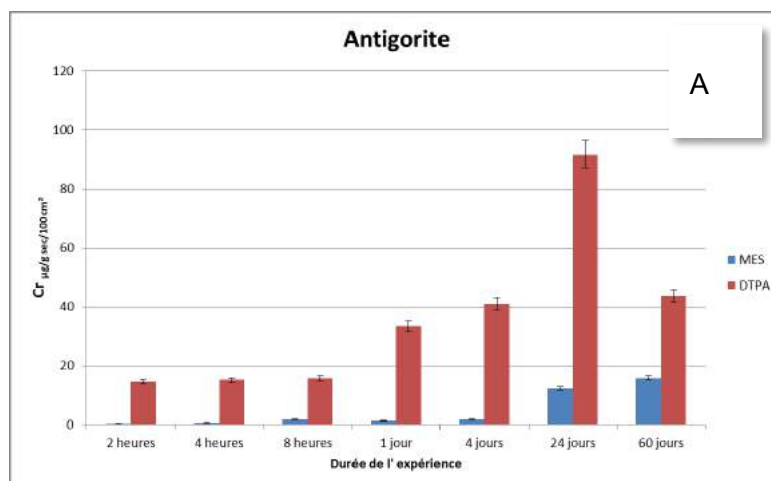


Figure 86 : Diagrammes des concentrations de Cr dissous au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C)

Les plus fortes concentrations en **chrome** mesurées sur les antigorites calédoniennes appartiennent aux échantillons 1A4 et 35A4. Cependant, il n'existe pas de corrélation entre la croissance des concentrations en Cr et le degré d'altération. Les échantillons 22A4 et 26A4, bien que de degré d'altération #4, possèdent des concentrations en Cr similaires aux antigorites d'altération #1 et #2. Les expériences de lixiviation menées sur l'antigorite et la serpentinite à chrysotile, montrent que le chrome est solubilisé dans le MES dès 2 heures d'expérimentation et de façon croissante avec le temps (Figure 86). Ces résultats indiquent que dans les conditions de surface, au cours des processus de lessivage, le Cr des serpentines est partiellement dissous. Les lixiviations par les solutions de DTPA pour les serpentinites montrent que la fraction biodisponible du chrome, susceptible d'être mobilisable dans l'environnement est nettement supérieure à celle lixiviée par le MES. Les expériences de lixiviation révèlent également que le chrome issu de l'échantillon de serpentinite à trémolite est très peu soluble, et uniquement à partir de 4 jours d'expérience, soit une cinétique de réaction lente.

Au cours des expériences de lixiviation le **nickel** et le **cobalt** montrent les mêmes capacités de solubilisation que le chrome pour l'ensemble des minéraux asbestiformes.

Les expériences de lixiviation confirment que le **manganèse** n'est pas soluble dans le MES (Figure 87). Ces résultats attestent du comportement similaire de Mn et de Fe lors des processus de lessivage des minéraux asbestiformes calédoniens et notamment des serpentines, comme le donnait à penser les analyses des concentrations en éléments majeurs et traces des asbestes pour les différents degrés d'altération. Cependant, les serpentines et les serpentinites à trémolites possèdent une fraction biodisponible de Mn, comme le révèle les extractions au DTPA, dont la solubilisation devient maximale pour un temps d'expérience de 4 jours.

Les concentrations des éléments REE mesurées dans les différentes expériences de lixiviation permettent de confirmer les conclusions sur leurs comportements au cours des processus d'altération, obtenues à partir des concentrations totales des différents asbestes calédoniens.

Les tableaux 9, 10 et 11 synthétisent les informations recueillies à l'issue des différentes expériences de lixiviation pour chacun des minéraux asbestiformes et pour les principaux éléments chimiques.

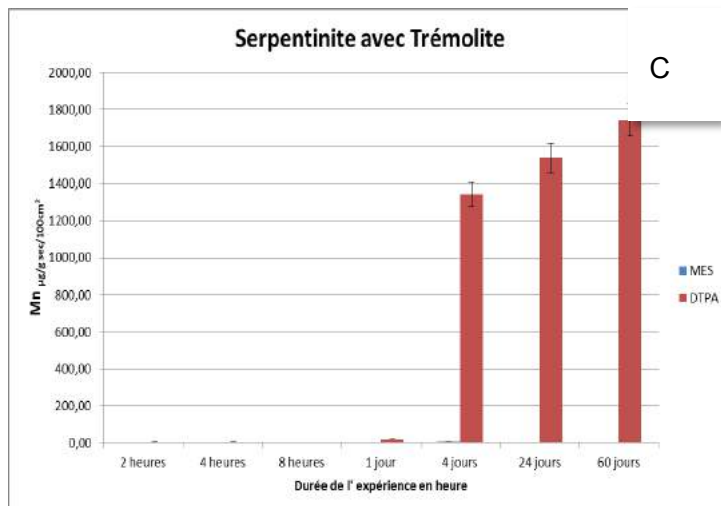
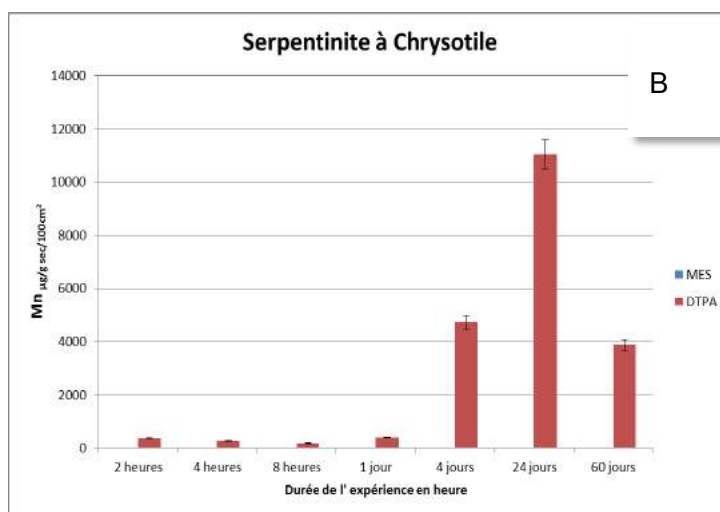
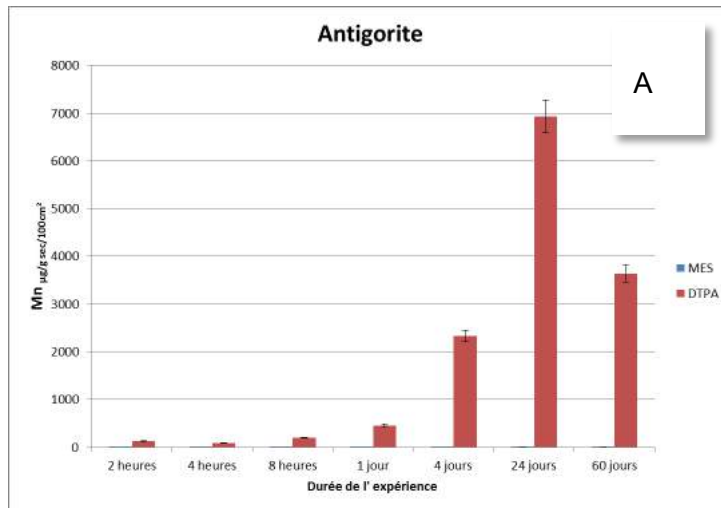


Figure 87 : Diagrammes des concentrations de Cr dissous au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C)

Tableau 9 : Synthèse des résultats obtenus à l'issue des expériences de lixiviation pour le minéral d'antigorite (échantillon 13A1)

Minéral asbestiforme	Eléments	Solubilité MES (temps de début de solubilisation)	Solubilité DTPA (temps de début de solubilisation)
Serpentinite à antigorite	Fe	Non	Oui (t = 2h)
	Al	Non	Oui (t = 60 jours)
	Ca	Non	Oui (t=8h, reprécipitation t=24 jours)
	K	Oui (t = 2h)	Oui (t=8h à 4 jours, puis reprécipitation)
	Na	Oui (t= 1 jour)	Oui (t = 24 jours)
	Mg	Oui (t= 2h)	Oui (t= 4h)
	Cr	Oui (t = 2h)	Oui (t = 2h)
	Ni	Oui (t = 2h)	Oui (t = 2h)
	Mn	Non	Oui (t = 2h)
	Co	Oui (t = 2h)	Oui (t = 2h)
	Rb	Oui (t= 2h)	Oui (t= 2h)

Tableau 10 : Synthèse des résultats obtenus à l'issue des expériences de lixiviation pour la serpentinite à chrysotile (échantillon 57C3)

Minéral asbestiforme	Eléments	Solubilité MES (temps de début de solubilisation)	Solubilité DTPA (temps de début de solubilisation)
Serpentinite à chrysotile	Fe	Non	Oui (t = 2h)
	Al	Non	Oui (t = 24 jours)
	Ca	Oui (t = 2h)	Oui (t=2h)
	K	Oui (t = 2h)	Résultat incohérent
	Na	Oui (t= 4h)	Oui (t = 2h)
	Mg	Oui (t= 2h)	Oui (t= 2h)
	Cr	Oui (t = 2h)	Oui (t = 2h)
	Ni	Oui (t = 2h)	Oui (t = 2h)
	Mn	Non	Oui (t = 2h)
	Co	Oui (t = 2h)	Oui (t = 2h)
	Rb	Oui (t= 2h)	Oui (t= 2h)

Tableau 11 : Synthèse des résultats obtenus à l'issue des expériences de lixiviation pour la serpentinite à trémolite (échantillon 41T1)

Minéral asbestiforme	Eléments	Solubilité MES (temps de début de solubilisation)	Solubilité DTPA (temps de début de solubilisation)
Serpentinite à trémolite	<i>Fe</i>	Non	Oui (t = 4 jours)
	<i>Al</i>	Non	Oui (t = 24 jours)
	<i>Ca</i>	Oui (t = 4h)	Oui (t=2h)
	<i>K</i>	Oui (t = 2h)	Résultat incohérent
	<i>Na</i>	Oui (t= 1 jour)	Oui (t = 1 jour)
	<i>Mg</i>	Oui (t= 2h)	Oui (t= 2h)
	<i>Cr</i>	Oui (t = 2h)	Oui (t = 2h)
	<i>Ni</i>	Oui (t = 2h)	Oui (t = 2h)
	<i>Mn</i>	Oui (t= 4 jours)	Oui (t = 4 jours)
	<i>Co</i>	Non	Oui (t = 4h)
	<i>Rb</i>	Oui (t= 2h)	Oui (t= 2h)

Pour rappel, avant chaque expérience de lixiviation, les échantillons de minéraux asbestiformes ont été lavés pour éliminer les particules et les fibres susceptibles de les recouvrir. Ce protocole garantit que les particules et fibres produites à chaque étape résultent de la solubilisation des éléments chimiques. Cela revient à vérifier expérimentalement, si en milieu naturel, l'altération chimique, (lessivage par les eaux de surface), est à l'origine de la désagrégation des minéraux et de la libération dans l'environnement de fibres potentiellement pathogènes, et ce, en l'absence de contraintes

mécaniques. Les masses de particules libérées au cours de chacune des expériences de lixiviation ont donc été quantifiées (Figure 88).

Le principal résultat est qu'il y a bien production de matières en suspension pour chacune des expériences de lixiviation (exemple Figure 89). La simple immersion de minéraux asbestiformes dans un liquide, sans contrainte mécanique extérieure, suffit à provoquer la libération de particules et de fibres. Le liquide agit au contact du minéral asbestiforme de plusieurs façons. D'une part, l'infiltration du liquide dans le minéral via sa porosité, peut être responsable d'une dilatation qui facilite la désagrégation du minéral et la désolidarisation des fibres et des fibrilles. Jasmine Petriglieri, 2017, indique que l'altération exogène provoque une augmentation de la porosité des asbestes calédoniens. D'autre part, les extractions des éléments chimiques qui composent les fractions biodisponibles issues des différents minéraux asbestiformes, et leur solubilisation dans le lixiviat, peuvent également favoriser la fragmentation des minéraux et la libération des fibres. Au cours de nos expériences de lixiviation, l'infiltration du liquide via la porosité des asbestes et l'extraction par le liquide des éléments chimiques sont deux processus systématiquement présents. En effet, la figure 88 montre qu'il y a production de matière en suspension dans les solutions de MES et dans les solutions de DTPA au cours des différentes expériences de lixiviation. Il est alors possible d'expliquer ce résultat par le simple effet de dilatation consécutif à l'infiltration de chacun de ces liquides dans le fragment minéral. Cependant, les masses de particules et de fibres produites par les expériences impliquant les solutions de DTPA sont systématiquement plus importantes que celles récoltées dans les solutions de MES. Or, les concentrations en éléments majeurs et traces des lixiviats sont systématiquement supérieures dans les solutions de DTPA que dans celles de MES, quel que soit le temps d'expérience. Le DTPA possède, en effet, un pouvoir extractant nettement plus élevé que le MES. Ces résultats prouvent que l'augmentation de l'extraction des éléments chimiques, donc de l'altération chimique, accroît la capacité de libération de fibres des minéraux de type amiante. Le corollaire est que l'altération chimique par lessivage des minéraux asbestiformes à l'affleurement, sans aucune contrainte mécanique, suffit à provoquer une libération croissante de fibres et fibrilles potentiellement pathogènes à une échelle de temps très rapide, de quelques heures.

Pour chacune des expériences de lixiviation, les valeurs de pH du lixiviat après filtration à 0,45 µm ont été mesurées. La Figure 90 montre l'exemple des valeurs de pH des lixiviats filtrés, obtenues au cours des lixiviations impliquant l'échantillon de serpentinite à trémolite. Des résultats identiques ont été obtenus pour les deux autres échantillons de minéraux asbestiformes 13A1 et 57C3. Les valeurs de pH augmentent de plusieurs unités en fonction du temps d'expérience. Comme nous l'avons déjà vu dans ce chapitre, les concentrations des éléments chimiques solubles, augmentent également en fonction du temps des expériences. La valeur du pH de la solution de lessivage pourrait donc influencer les propriétés de solubilité des éléments chimiques qui composent les minéraux asbestiformes calédoniens. Nous venons de conclure également que plus l'extraction des éléments chimiques est importante et plus il y a production de particules et de fibres d'amiante. Il pourrait donc exister un lien entre l'augmentation de la valeur du pH de la solution de lessivage, l'augmentation de la capacité extractante du liquide et l'augmentation de la quantité de fibres libérables dans l'environnement. En milieu naturel les eaux de surface (pluie, ruissellement...) possèdent des valeurs de pH qui peuvent fluctuer entre des valeurs légèrement acides vers des valeurs basiques.

Afin de vérifier l'existence d'une relation entre le pH et la capacité de libération de fibres potentiellement pathogènes des expériences de lixiviation à pH contrôlé ont été réalisées. Les résultats sont présentés dans le chapitre suivant.

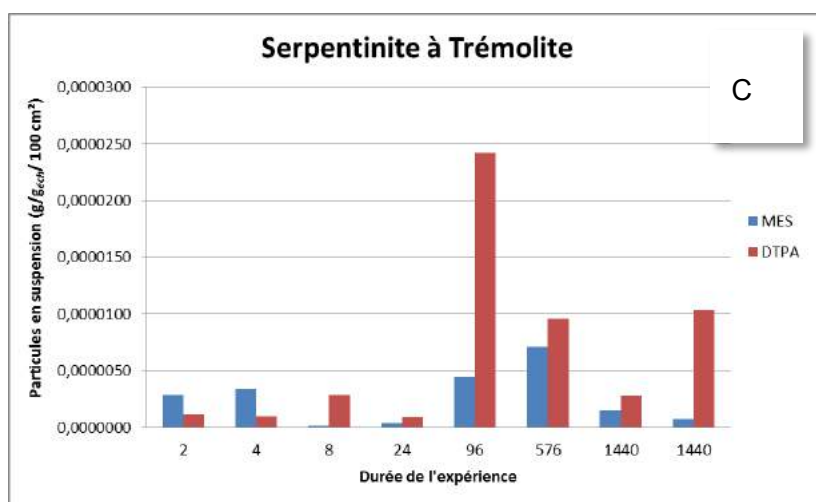
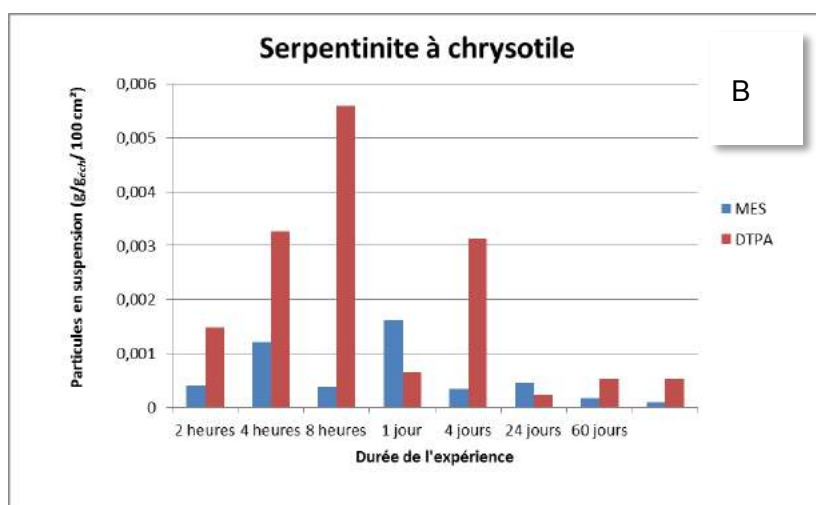
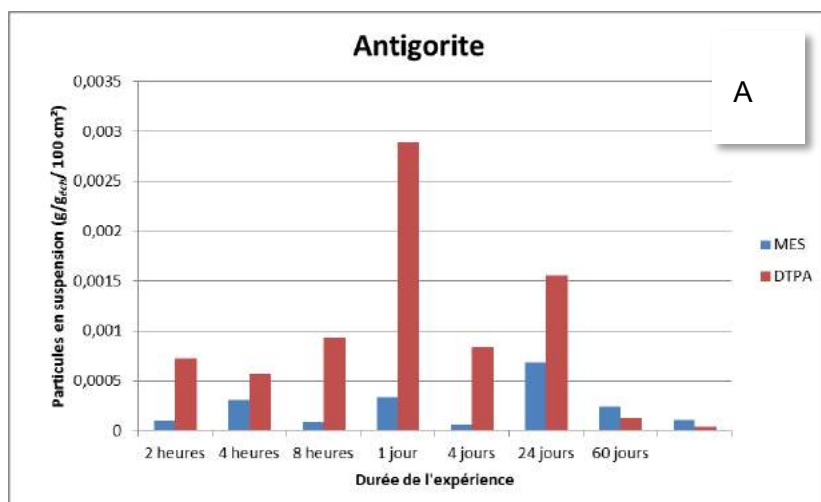


Figure 88 : Diagrammes représentant les masses de matière en suspension produites au cours des expériences de lixiviations en mode batch pour les échantillons 13A1 (A), 57C3 (B) et 41T1 (C)

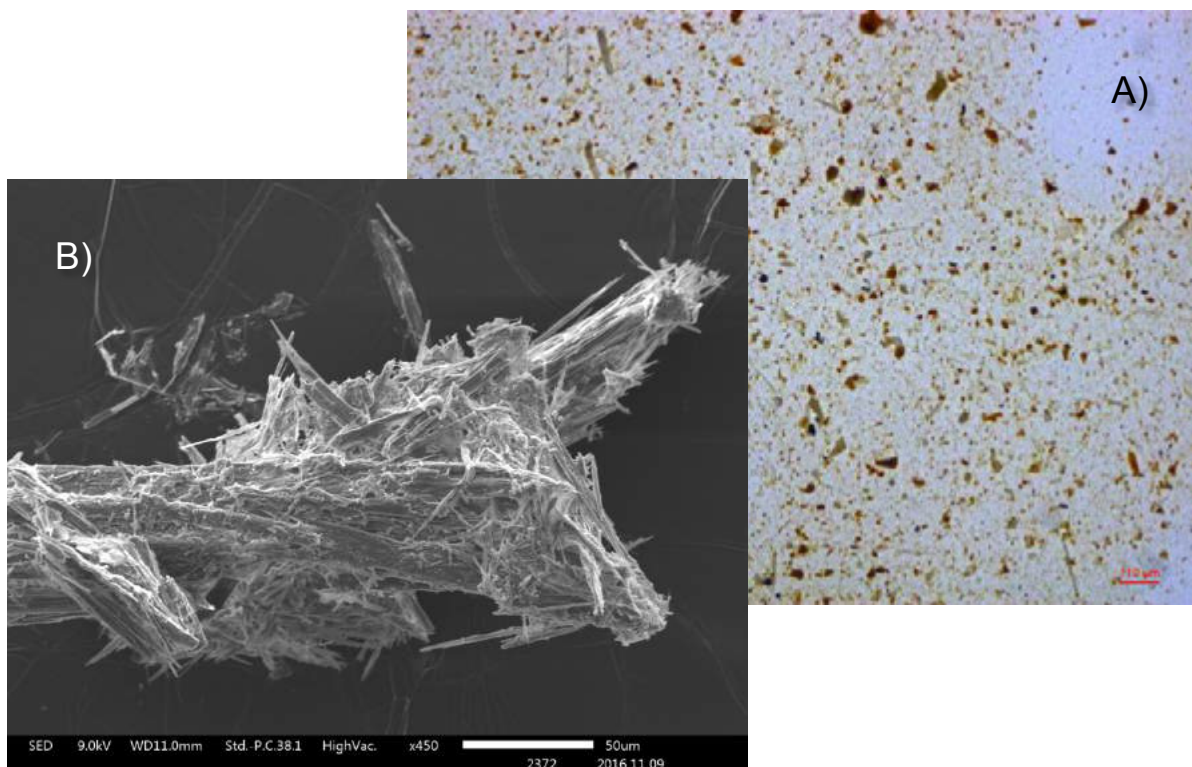


Figure 89 : A) image au microscope optique du filtre, après filtration de la solution de lixiviation DTPA, de l'échantillon d'antigorite 13A1, au temps 1 jour. B) image en microscopie électronique à balayage des fibres mise en suspension par lixiviation de l'échantillon 13A1, dans la solution de MES, au temps 60 jours.

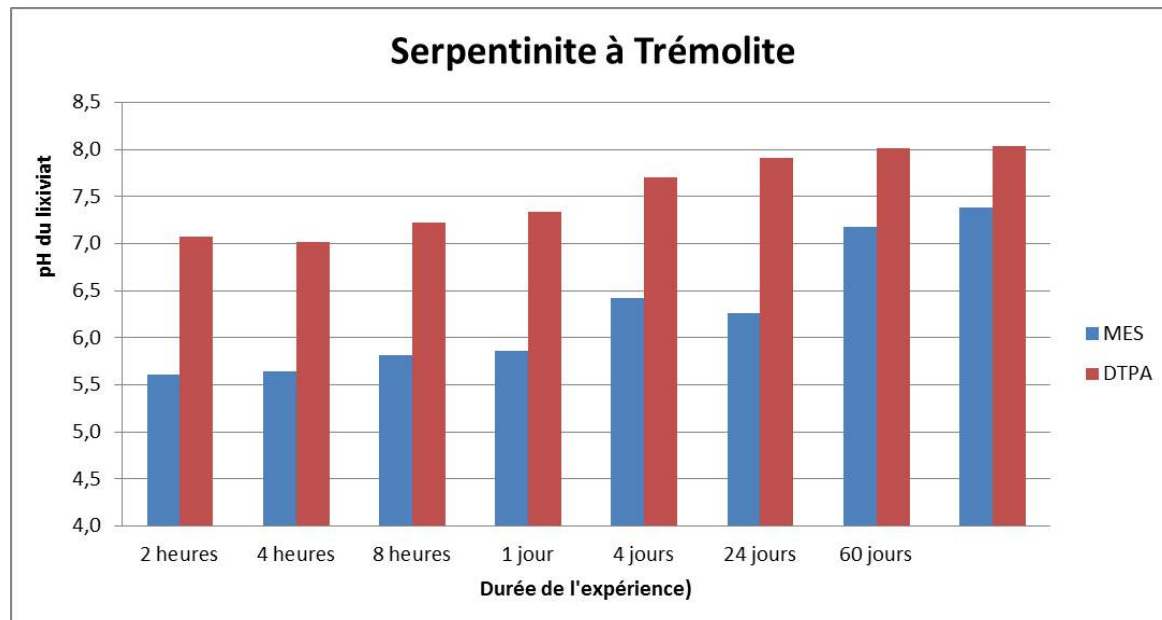


Figure 90 : Exemple de l'augmentation de la valeur du pH pour des durées croissantes de lixiviation (échantillon 41T1).

4.3.2. SIMULATION DE L'ALTERATION CHIMIQUE DES MINERAUX ASBESTIFORMES CALEDONIENS A PH CONTROLE

Le pH est un paramètre physico-chimique reconnu comme impactant les capacités de solubilité des éléments chimiques. Ainsi, les diagrammes potentiel-redox/pH, pour une concentration donnée, définissent les domaines de stabilité des différentes formes de l'élément chimique (ion, complexe, oxyde...) qui possèdent leur propre propriété de solubilité.

Il est possible de contrôler les valeurs de pH dans les solutions au cours des expériences de lixiviation en mode batch, par l'utilisation de solution tampon. Les valeurs de concentrations des éléments chimiques, pour un même échantillon et les mêmes temps de lixiviation, mais des pH de la solution extractante différents, peuvent être comparées afin d'identifier les valeurs de pH les plus favorables à la solubilisation de l'élément. Ces données du pH peuvent être confrontées aux valeurs des eaux de surface présentes à l'affleurement, afin de caractériser les capacités de mobilisation, en milieu naturel, de chaque élément chimique, issu des phases minérales asbestiformes. De plus, si un élément chimique est reconnu d'intérêt pour l'évaluation du caractère toxique des fibres de minéraux asbestiformes, ces expériences de lixiviation peuvent offrir une première évaluation de la biodisponibilité de cet élément aux valeurs de pH régissant les réactions dans l'organisme.

La solubilisation des éléments chimiques au cours du lessivage de minéraux dépend également de la surface de contact entre le solide et le liquide. Or, le degré d'altération des minéraux asbestiformes est évalué en fonction de la capacité du minéral à se déliter, d'après la nomenclature descriptive, utilisée en secteur minier. Il est donc raisonnable de supposer que la mobilisation, au cours du lessivage, d'un élément chimique soluble sera amplifiée pour une même phase minérale, suivant un degré d'altération croissant. Afin de vérifier cette hypothèse, les mêmes expériences de lixiviation en mode batch, sous valeurs de pH contrôlées, ont été réalisées pour chaque famille d'asbeste sur des individus représentant des degrés d'altération croissants (voir le chapitre 1.1 méthodologie et échantillonnage). Pour l'antigorite, il s'agit des échantillons 19A1, 9A2 et 1A4, de degré d'altération respectif de #1, #2 et #4. Les serpentinites à trémolites sont représentées par les échantillons 41T1 et 36T4, de degré d'altération respectif #1 et #2. Les lixiviations avec contrôle de la valeur du pH n'ont été réalisées que sur un seul échantillon de serpentinite à chrysotile, 57C3, puisque pour le chrysotile, un seul niveau d'altération, niveau #3, est représenté dans l'échantillonnage réalisé par les professionnels de la mine.

Pour la majorité des expériences de lixiviation le **fer** est absent du lixiviat. Seul l'échantillon 1A4, (antigorite #4), libère légèrement du fer pour des pH inférieurs à 11,28, contrairement aux échantillons d'antigorite de niveau d'altération inférieur (Figure 91). Il y aurait donc une capacité légèrement plus élevée de libération du fer pour une altération plus forte des antigorites.

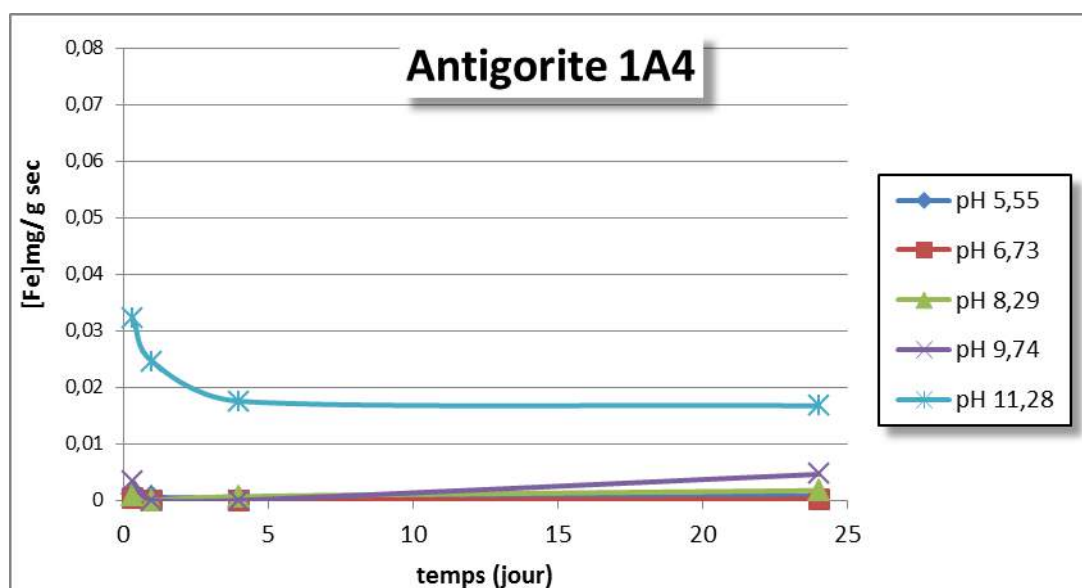


Figure 91 : Évolution des concentrations en Fer au cours du temps, pendant les expériences de lixiviation en mode batch sous pH contrôlés, pour l'échantillon 1A4, antigorite de niveau d'altération #4

Pour un pH=11,28, très basique, le fer est légèrement solubilisé jusqu'au temps de 1 jour au-delà duquel, la concentration du fer solubilisé chute quasi instantanément pour quasiment à zéro. Ce comportement du fer est observé pour tous les échantillons de minéraux asbestiformes indépendamment du degré d'altération. Pour la valeur de pH de 11,28, les valeurs de E, potentiel rédox, comprises entre 0,15 et 0,012 Volts pourraient être compatibles avec la précipitation du fer sous forme d'hydroxyde, principalement $\text{Fe}(\text{OH})_3$, alors que pour des pH inférieurs à 9,74, ces mêmes valeurs sont cohérentes avec les formes ioniques du fer, principalement Fe^{2+} , soluble. Il ne s'agit que de premières estimations qui doivent être confirmées par des calculs précis des limites de formes chimiques du fer adaptés aux concentrations de nos expériences.

Le **chrome**, le **cobalt**, comme le fer, montrent les concentrations les plus élevées dans le lixiviat pour des valeurs de pH de 11,28 et 9,74, donc basiques, et croissantes au cours du temps, pour l'ensemble des serpentinites. La figure 92 montre l'exemple des données de lixiviation des serpentinites à chrysotile pour le chrome, aux différentes valeurs de pH.

Les concentrations en **nickel** et **manganèse** au cours des expériences de lixiviation à valeurs de pH contrôlées, sont très faibles (de l'ordre de $2 \cdot 10^{-3}$ mg/g sec), donc très proches des limites de détection par spectrométrie d'absorption atomique, et extrêmement hétérogènes. La seule conclusion possible est que, quelle que soit la valeur du pH, ces deux éléments sont très peu lessivables à partir des minéraux asbestiformes calédoniens.

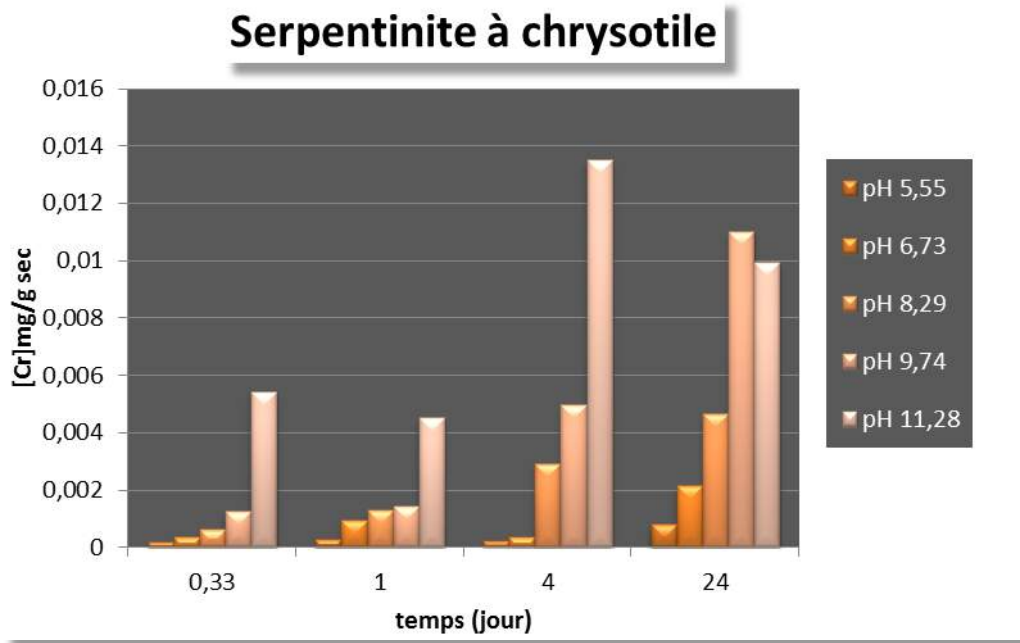


Figure 92 : Évolution des concentrations en Cr au cours du temps, pendant les expériences de lixiviation en mode batch sous pH contrôlés, pour l'échantillon 57C3, serpentine à chrysotile de niveau d'altération #3

Les concentrations du lixiviat en **magnésium** montrent que contrairement au fer, les solubilisations maximales sont obtenues à pH = 6, 73 et pH = 5,5, donc plutôt acides. C'est le cas quelle que soit la minéralogie des asbestes expérimentés. Ces valeurs sont compatibles avec les estimations des pH des eaux de pluie calédoniennes modélisées à pH=5,6 (Myagkiy et al., 2017). A l'affleurement en secteur minier, le magnésium des minéraux asbestiformes possède un caractère soluble, ce qui est compatible avec les conclusions obtenues dans la sous tâche 1, de la tâche 2.

La comparaison des concentrations en magnésium des antigorites de degré d'altération #1, #2 et #4, pour des valeurs de pH de 5,5 et 6,73, montre qu'il y a systématiquement une augmentation des valeurs de Mg solubilisé pour une altération croissante (Figure 93).

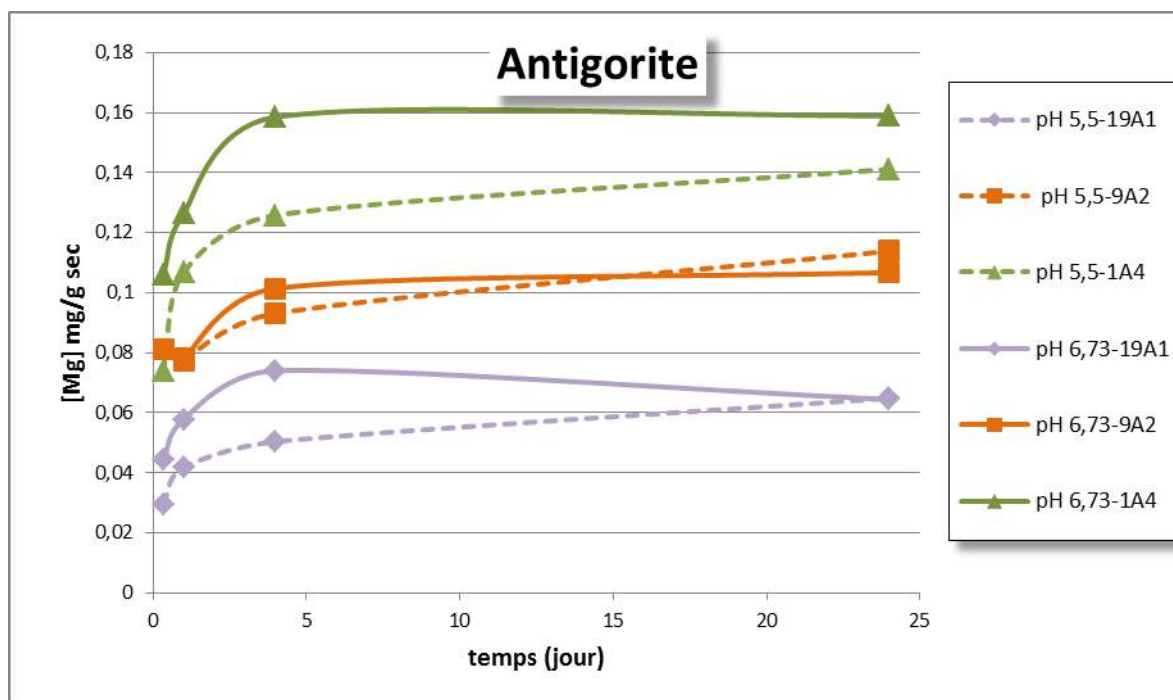


Figure 93 : Evolution des concentrations en Mg au cours des expériences de lixiviation en mode batch pour des valeurs de pH de 5,5 et 6,73, pour les échantillons d'antigorite 19A1 (altération #1), 9A2 (altération #2) et 1A4 (altération #4)

Des résultats similaires aux Mg sont obtenus pour le **silicium** (Figure 94), pour le **calcium**, et pour le **potassium**. Ces éléments montrent les plus fortes concentrations dans le lixiviat pour des valeurs de pH de 5,5 et 6,73. Ces concentrations sont d'autant plus importantes que le degré d'altération de l'antigorite est élevé. Les concentrations lixiviées demeurent relativement faibles, notamment par rapport aux teneurs totales des antigorites, mais il faut rappeler que les solutions tampons utilisées dans ces expériences possèdent un pouvoir extractant relativement faible vis-à-vis de ces cations.

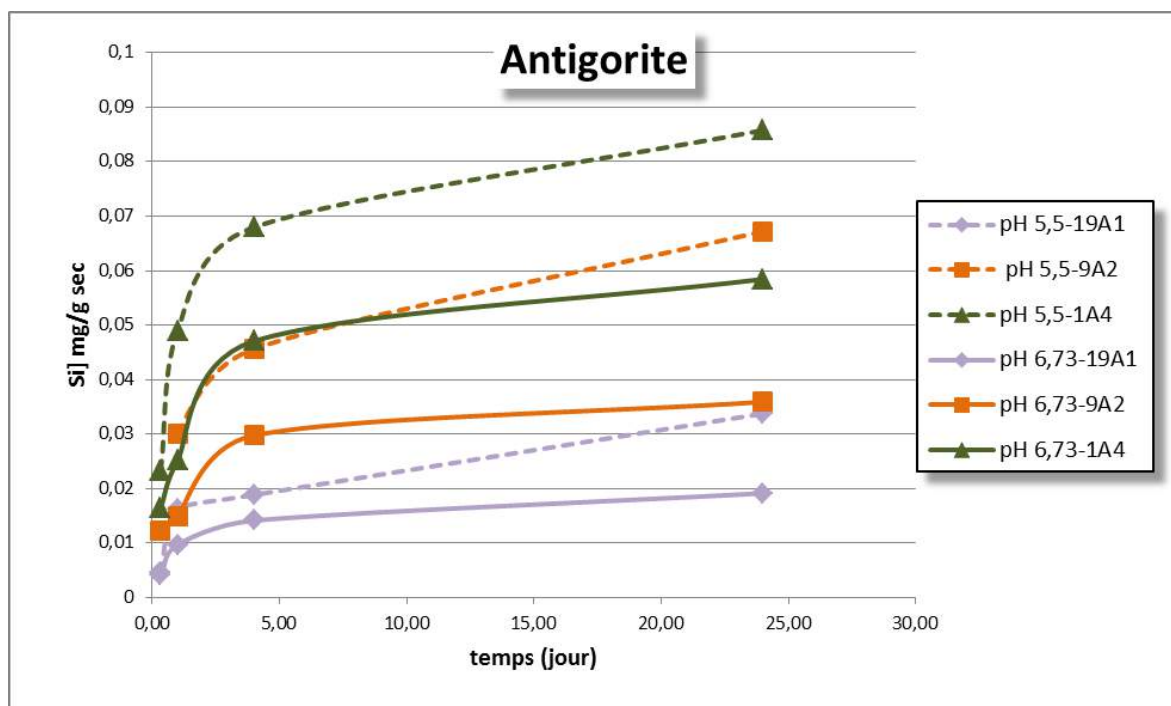


Figure 94 : Evolution des concentrations en Si au cours des expériences de lixiviation en mode batch pour des valeurs de pH de 5,5 et 6,73, pour les échantillons d'antigorite 19A1 (altération #1), 9A2 (altération #2) et 1A4 (altération #4)

Il est difficile d'établir le même type de comparaison pour les deux échantillons de serpentinite à trémolite puisqu'elles représentent des mélanges, dans des proportions variables, de minéraux de propriétés chimiques différentes (hétérogénéité de la biodisponibilité des éléments chimiques).

Ces premiers résultats confirment que dans les conditions de pH des eaux de pluie calédoniennes (modélisation à pH = 5,6), le fer n'est légèrement dissous que pour un degré d'altération élevé, alors que les cations Si, Mg, Ca et K sont dans des conditions de pH favorables à leur solubilisation et donc lessivage, et ce d'autant plus que le niveau d'altération de l'antigorite est fort. Les résultats de la tâche 1 du programme ABP ont démontré que l'altération exogène des minéraux asbestiformes calédoniens ne modifie pas les résultats obtenus par diffraction des rayons X. Les spectres restent identiques pour une même phase minérale, quel que soit le degré d'altération. Le lessivage de Si, Mg et Ca au cours de l'altération exogène, ne modifie donc pas l'organisation structurale des serpentinites et de la trémolite.

Les antigorites très altérées, parce qu'elles représentent un réservoir plus important en fer (Cf. sous tâche 1, tâche 2) et qu'elles ont la capacité de relarguer le fer biodisponible plus facilement que les antigorites moins altérées, sembleraient posséder une réactivité plus importante pour ce qui est des propriétés de toxicité liées au fer.

La perte d'éléments chimiques par lessivage est maximum pour le pH = 11,28 puisque ce sont les éléments Si et Mg qui sont les plus fortement lessivés, et qu'ils représentent les deux éléments qui montrent les plus fortes concentrations dans le lixiviat, comparativement à tous les autres éléments chimiques.

La figure 95 montre les images en microscopie électronique à balayage de la surface de fibres de l'échantillon d'antigorite de niveau d'altération #2, 9A2, à l'état naturel et après lixiviation à pH=11,28, pour les temps de 4 et 24 jours. Ces images montrent clairement une individualisation beaucoup plus marquée de fibres après lixiviation à pH = 11,28, et croissante avec le temps de lixiviation. Ce résultat a été confirmé par les images MEB réalisées avant et après lixiviation à pH = 11, 28 de l'échantillon 19A1.

Les expériences de lixiviation, simulant l'altération chimique par lessivage de surface des minéraux asbestiformes calédoniens, ont permis de mettre en évidence une augmentation de la masse des particules libérées (sous tâche 1, tâche 2). Les expériences de lixiviation simulant l'altération avec contrôle du pH des solutions de lessivage, confirment ces résultats et semblent démontrer que lorsque les conditions de solubilisation sont maximales pour les principaux cations Si et Mg qui composent les minéraux asbestiformes calédoniens, alors il y a individualisation de fibres et fibrilles de façon croissante au cours du temps. Ces premiers résultats devront être confirmés par le traitement d'autres échantillons de minéraux asbestiformes calédoniens pour une meilleure représentation statistique.

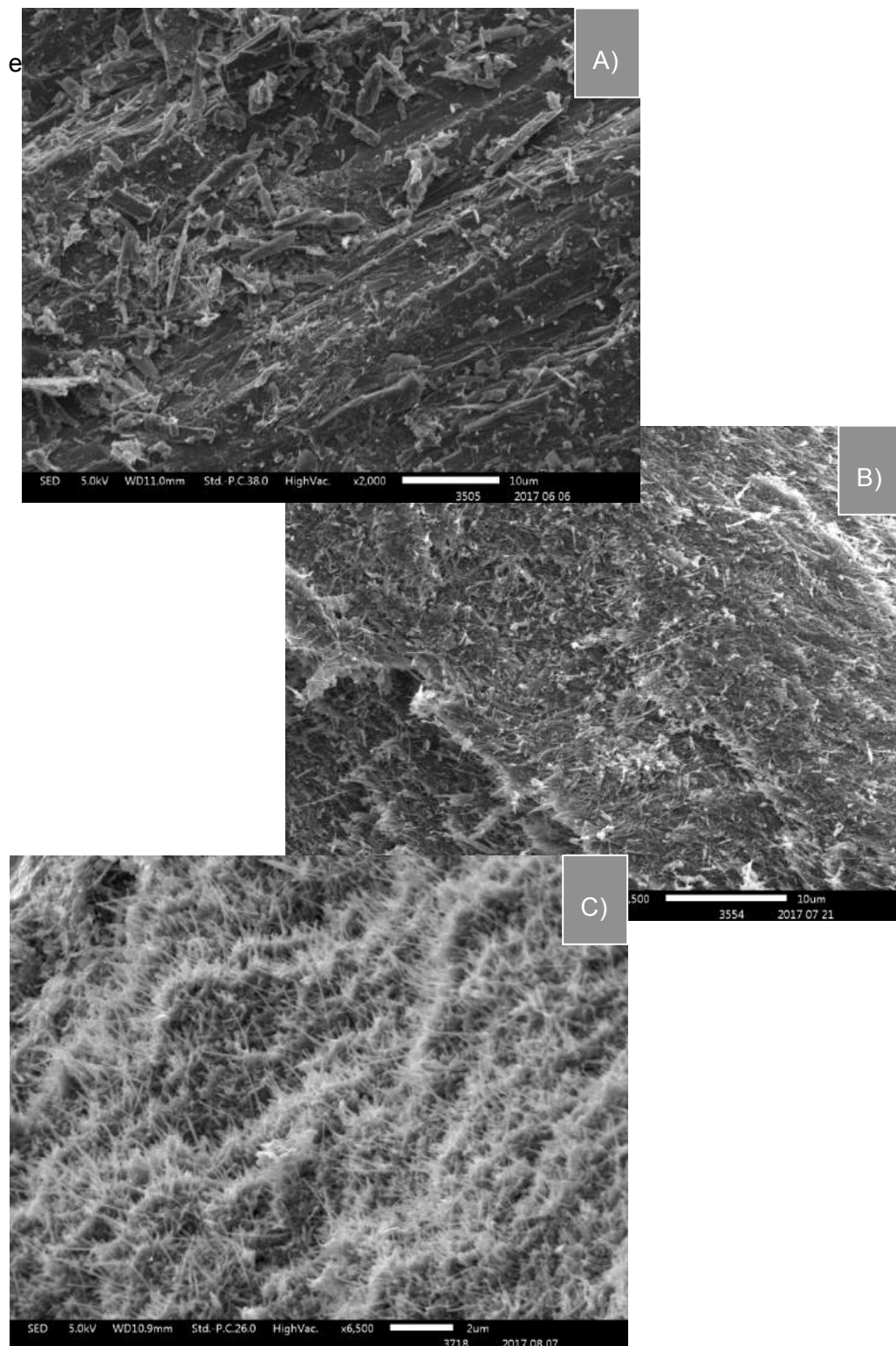


Figure 95 : Image de microscopie électronique à balayage de l'échantillon 9A2 : A) surface de fibre de l'échantillon naturel ; B) surface de fibre de l'échantillon après 4 jours de lixiviation à pH = 11,28 ; C) surface de fibre de l'échantillon après 24 jours de lixiviation à pH = 11,28

Conclusion de la sous-tâche 2 :

- ✓ Les expériences de lixiviation ont confirmé la solubilité du magnésium et la non solubilité du fer lors des processus de lessivage des eaux de surface (simulation par utilisation de solution de MES)
- ✓ Les antigorites de degré d'altération élevé (#4) ont une plus forte capacité à libérer une fraction de fer biodisponible, que les antigorites peu altérées. Le fer jouant un rôle dans les propriétés de toxicité des asbestes, ce résultat peu présager d'une réactivité différente en fonction du degré d'altération.
- ✓ Les expériences de lixiviation ont démontré que l'altération chimique, seule sans apport de contrainte mécanique génère la libération de fibres et fibrilles.
- ✓ Les cinétiques de libération de matière en suspension sous l'effet de l'altération chimique seule sont à l'échelle de quelques heures. La description à l'affleurement du degré d'altération de minéraux asbestiformes ne donne qu'une image ponctuelle, susceptible d'évoluer rapidement sous l'effet de l'altération exogène.
- ✓ La solubilisation dominante au cours des processus de lessivage du Si et du Mg semble jouer un rôle majeur au cours de l'altération chimique, responsable de la libération des fibres.
- ✓ Etant donné la rapidité des cinétiques mises en jeu pour la libération de fibres lors des simulations de l'altération par les eaux de surface, il est probable que l'arrosage régulier des affleurements, s'il protège à un instant t de la dispersion des poussières, amplifie sur le plus long terme la dispersion des fibres et le risque d'exposition.

5. TACHE 3 : TOXICOLOGIE DES MINERAUX AMIAANTIFERES DE LA NOUVELLE CALEDONIE: FOCUS SUR L'ANTIGORITE

Responsable : Maura TOMATIS Centre Scansetti, Université de Turin et Pr Bice FUBINI, académie des sciences de Turin

Organisme : Centre Scansetti, Université de Turin

SYNTHESE

Les échantillons d'antigorite analysés proviennent de la mine de Tontouta et se distinguent par leur niveau d'altération (6A2, 13A1 et 35A4). Ils se présentent sous forme d'amas fibro-lamellaires, qui suite à des sollicitations mécaniques se fracturent facilement, en libérant des fragments de clivage fibriformes, dont la plupart possède les caractéristiques dimensionnelles des fibres respirables selon les critères de l'OMS. Soumis à un broyage, ces fragments se fracturent encore davantage, en formant des particules aciculaires ou isométriques. Toutefois, l'étude conduite sur 6A2 a montré qu'après 20 min sous vibro-broyeur l'échantillon contient encore une quantité importante (27% environ) de structures fibreuses respirables. 6A2 et 35A4 montrent une réactivité comparable tant au niveau physico-chimique qu'au niveau cellulaire, surtout dans les cellules épithéliales alvéolaires. Les deux échantillons produisent des radicaux $\bullet\text{OH}$ en milieu acellulaire en quantité comparable au chrysotile UICC. Par contre, au contraire du chrysotile ils ne catalysent pas la génération de radicaux $\text{CO}_2^{\bullet-}$, libèrent une plus petite quantité de fer lorsqu'ils sont incubés en solution aqueuse et ont une plus faible réactivité envers de molécules antioxydantes. Ils induisent des effets cytotoxiques dose dépendants dans les cellules épithéliales alvéolaires (A549), les cellules bronchiques (BEAS-2B) et les macrophages alvéolaires (MH-S). À forte dose (4 fois supérieure à la dose, mesurée en masse, de chrysotile capable de déclencher les mêmes effets cellulaires), ils induisent un stress oxydant (production d'espèces réactives de l'oxygène, diminution du glutathion intracellulaire, dommages aux lipides des membranes), stimulent la production d'oxyde nitrique (NO), un messager intracellulaire cytotoxique et pro-inflammatoire, et endommagent l'ADN dans les cellules alvéolaires. Ils activent les macrophages, dans ce cas aussi, mais seulement pour la dose la plus élevée.

Par contre, 13A1 ne déclenche aucun effet cellulaire. Il contient une quantité de fragments fibreux respirables comparable à celle de 6A2 et 35A4, mais un pourcentage un peu plus élevé de fragments fibreux non respirables et a une très faible réactivité de surface (quasi-absence de fer bio-disponible, très faible réactivité dans la génération de radicaux libres et

dans l'interaction avec molécules antioxydantes), ce qui pourrait expliquer l'absence de réponses cellulaires.

Les échantillons néo-calédoniens ont été comparés à un échantillon d'antigorite italienne. La réactivité dans la génération d'espèces radicalaires est comparable, mais les échantillons de la Nouvelle-Calédonie sont beaucoup plus actifs dans l'induction des réponses cellulaires. La principale différence entre l'échantillon italien et ceux néo-calédoniens est le pourcentage de particules fibreuses (rapport d'allongement > 3). Les échantillons calédoniens en contiennent 40-55% environ, contre 12-15% pour l'échantillon italien, qui contient surtout des particules prismatiques.

Objectifs :

- **Caractériser les propriétés physico-chimiques associées à la toxicité de l'antigorite de la Nouvelle-Calédonie et établir un comparatif avec les caractéristiques de l'antigorite italienne et du Chrysotile UICC**
- **Qualifier et quantifier les effets cellulaires de l'antigorite calédonienne**
- **Vérifier dans quelle mesure l'antigorite se maintient sous forme fibreuse suite à des sollicitations mécaniques**
- **Acquérir les premières données sur la toxicité in vitro de l'antigorite calédonienne**

Parmi les principales caractéristiques physico-chimiques qui rendent compte de la toxicité des fibres d'amiante, on trouve i) les dimensions (Stanton et al., 1981), ii) la composition chimique, en particulier la présence de métaux de transition redox actifs qui peuvent être relâchés dans le milieu cellulaire (Hardy et Aust, 1995) et iii) la réactivité de la surface dans la production d'espèces radicalaires (Kamp et al., 1999, Mossman et al., 1983) qui jouent un rôle important (Fubini et al., 1999).

Les dimensions des fibres régulent les capacités de pénétration et de déposition dans le poumon. Les fibres de diamètre (D) < 3 µm (fibres respirables), peuvent se déposer dans le poumon profond (zone alvéolaire) tandis que les fibres de diamètre > 3 µm restent dans les voies respiratoires supérieures (zones nasa-pharyngée et trachéo-bronchique). Les fibres qui se déposent dans le poumon sont susceptibles d'être internalisées par les macrophages, cellules qui constituent la première ligne de défense face aux particules inhalées, ainsi que par les cellules épithéliales et mésothéliales. Les fibres internalisées par les macrophages alvéolaires sont épurées mécaniquement par le système muco-ciliaire. Cependant, l'efficacité de l'épuration dépend de la longueur des fibres (Searl et al., 1999). Les fibres courtes (L < 5 µm) sont efficacement épurées au contraire des fibres longues, qui ne sont pas complètement internalisées par les macrophages. Cette phagocytose incomplète conduit à la libération d'enzymes lysosomales, d'espèces oxydantes ainsi que de cytokines, chimokines, facteurs de croissance, et pro-inflammatoire, qui peuvent endommager les cellules environnantes et sont responsables d'une réponse inflammatoire persistante (Manning et al., 2002).

Sur la base de ces considérations, le projet prévoit la caractérisation physico-chimique (dimensions, morphologie, réactivité de surface) d'échantillons d'antigorite néo-calédonienne et l'évaluation de la cytotoxicité, de la capacité d'induire un stress oxydatif, de l'activité pro-inflammatoire et de la capacité d'endommager l'ADN dans des cellules du poumon (cellules épithéliales et macrophages).

Puisque dans un rapport sur la toxicité de l'antigorite, l'ANSES souligne que « Les données existantes de toxicité spécifique à l'antigorite sont très insuffisantes et ne permettent ni d'affirmer, ni d'infirmer son potentiel toxique, qu'elle soit sous forme fibreuse ou non fibreuse » (Avis de l'ANSES, 2012, SA-0199), on a choisi de tester des échantillons contenant un mélange de fibres et de poussières. Ces échantillons représentent bien l'exposition des travailleurs sur les sites miniers calédoniens, en particulier au cours des travaux d'excavation, d'autant plus que l'antigorite à cause de sa structure minéralogique adopte une morphologie lamellaire plutôt que fibreuse. Les tests cellulaires ont été effectués en fonction de la masse d'échantillon, ce qui permettra de comparer les résultats obtenus au cours de cette étude avec les données en littérature, où la masse est largement utilisée comme unité de mesure de la dose. Toutefois, étant donné le rôle de la forme fibreuse dans la toxicité des amiantes, les résultats de certains tests cellulaires seront également présentés en fonction de la quantité de fibres (en nombre et en masse).

Les membres du Centre Scansetti et de l'université de Turin impliqués dans la tâche 4 sont: Elisabetta ALDIERI, biochimiste ; Pr Dario GHIGO, biochimiste, Fransesco TURCI, toxicologue et Elena GAZZANO, toxicologue.

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons proviennent de la mine de Tontouta et se distinguent par leur niveau d'altération (6A2, 13A1 et 35A4).

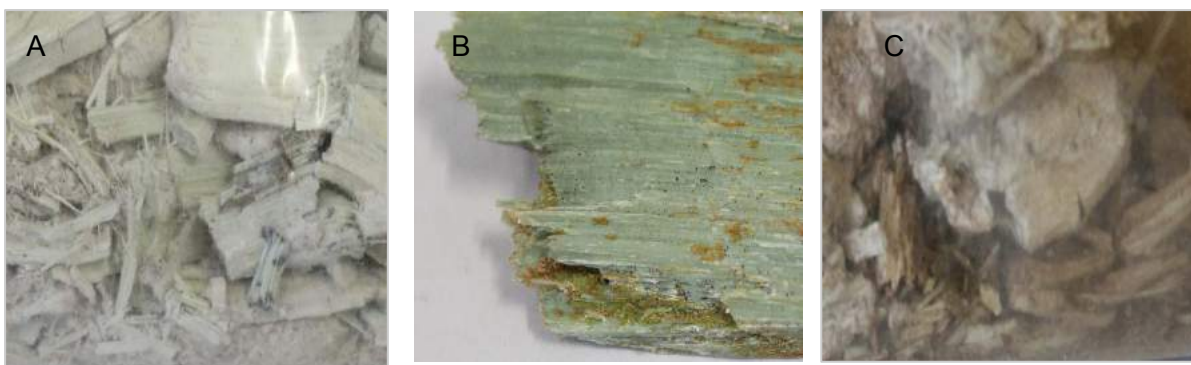


Figure 96 : Images des échantillons d'antigorite : A) 6A2, B) 13A1 et C) 35A4

Ceux-ci sont constitués d'un mélange de fragments rigides de forme fibreuse, pour la plupart de dimensions non respirables, et d'amas fibro-lamellaires, de couleur blanchâtre (6A2), verdâtre (13A1) ou rougeâtre (35A4), de dimensions millimétriques à centimétriques (Figure 96), qui soumis à des sollicitations mécaniques, se fracturent facilement.

Les échantillons ont été broyés afin de réduire la taille des particules et les rendre plus homogènes et donc plus adaptés aux tests cellulaires. Ce premier broyage a pour but de retenir un certain nombre de particules de forme allongée et constitue la première étape. Une série d'opérations de broyage supplémentaires ont été conduites sur 6A2 afin de vérifier dans quelle mesure l'antigorite se maintient sous forme fibreuse suite à des sollicitations mécaniques, comme celles qui peuvent se produire au cours d'excavations.

Les échantillons néo-calédoniens ont été comparés au chrysotile UICC (nommé ici Ctl) et à une antigorite des Alpes italiennes (Atg I). Le chrysotile a été choisi comme témoin positif car il appartient à la même famille minéralogique des serpentines et à ce titre, présente de fortes similitudes chimiques et structurales avec l'antigorite. L'antigorite des Alpes italiennes a été choisie, à l'inverse, parce qu'elle se présente principalement sous forme prismatique et qu'elle contient seulement une petite quantité de structures allongées.

5.1. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES ASSOCIEES A LA TOXICITE

5.1.1. DIMENSION ET MORPHOLOGIE

La figure 97 montre la comparaison des caractéristiques dimensionnelles des échantillons néo-calédoniens et de l'échantillon italien. Pour chaque échantillon on a vérifié la présence de particules de forme fibreuse (rapport longueur sur diamètre > 3) et on a quantifié la fraction de fibres respirables selon les paramètres suggérés par l'Organisation Mondiale de la Santé (longueur $L > 5 \mu\text{m}$ et $D < 3 \mu\text{m}$) (Figure 97, colonne de gauche). Les pourcentages indiqués sur la figure sont en nombre (nombre de fibres/nombre de [fibres+ particules]*100). La distribution des longueurs des fibres a également été évaluée (Figure 97, colonne de droite).

Les trois échantillons calédoniens diffèrent de celui italien principalement par la quantité de particules de forme allongée. 6A2, 13A1 et 35A4 en contiennent une quantité importante (40 - 60 %). Par contre, dans l'échantillon italien on observe surtout des fragments prismatiques (fraction fibreuse $< 15\%$). Les fragments fibreux observés dans les échantillons calédoniens présentent souvent des formes irrégulières et des bords non parallèles, typiques des fragments de clivage des minéraux non asbestiformes. Toutefois, un bon nombre de ces structures a les caractéristiques dimensionnelles des fibres respirables selon les critères de l'OMS. C'est pour cette raison que, ci-dessous, on emploiera le terme « fibre » pour indiquer les fragments de clivage ayant $L/D > 3$. La quantité de fibres respirables ($D < 3 \mu\text{m}$) est comparable dans les trois cas et peut représenter jusqu'à 30-40% des particules totales. Tous les échantillons contiennent des fragments ayant $L/D > 3$, mais $L < 5 \mu\text{m}$. Ces fibres courtes représentent environ le 20% des fibres totales dans les échantillons calédoniens et le 50% dans l'échantillon italien. La plupart des fibres respirables a une longueur comprise entre 5 et 15 μm . Les fibres ayant $L > 20 \mu\text{m}$ ne dépassent pas le 10% de la fraction respirable, alors qu'elles sont les plus nombreuses ($> 20\%$) dans la fraction de fibres ayant $D > 3 \mu\text{m}$.

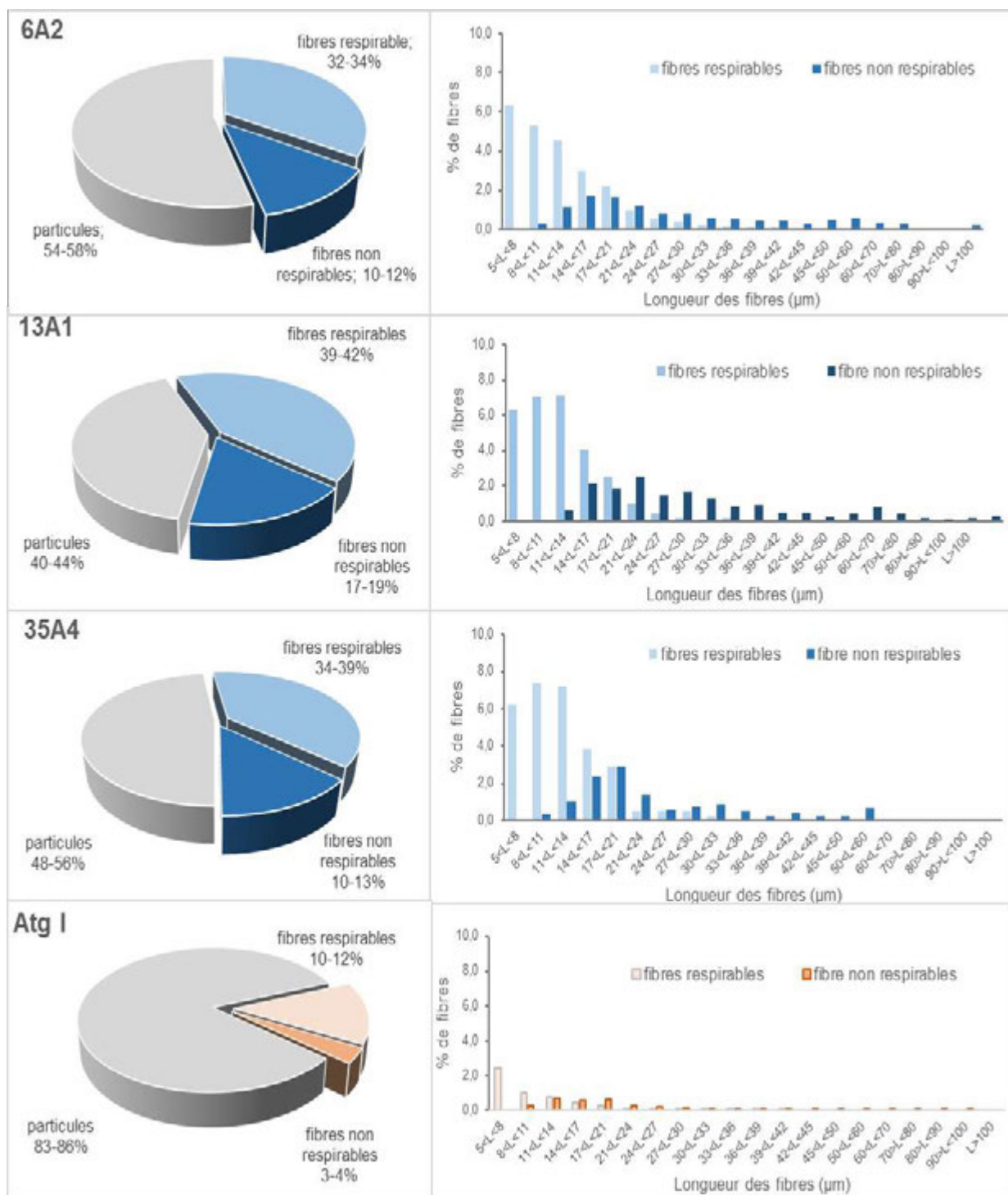


Figure 97 : Dimensions des échantillons d'antigorite. Colonne de gauche: % en nombre de particules avec L/D >3 (forme fibreuse) et de particules avec L/D <3 (forme non fibreuse). Colonne de droite: distribution des fibres (% de fibres respirables, D<3 µm, et non respirables, D>3 µm) en fonction de la longueur. L'analyse a été conduite par un système automatique d'analyses d'images (FPIA 3000; Malvern)

5.1.2. PRODUCTION D'ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE

Les effets délétères des radicaux libres et leur rôle dans l'apparition des maladies liées à l'inhalation de fibres d'amiantes sont bien connus (Kamp et al., 1999). Les espèces radicalaires peuvent être originaire du niveau cellulaires, par ex. dans les macrophages alvéolaires lorsque la fibre est phagocytée (Kamp et al., 1999), ou au niveau de la surface de la fibre, par action de métaux de transition, essentiellement le fer isolé et en faible état de coordination (Martra et al., 2003 ; Turci et al., 2011). Dans cette étude, on a évalué en milieu acellulaire la réactivité de surface de l'antigorite pour la génération de deux espèces radicalaires:

- radicaux hydroxyles ($\bullet\text{OH}$), suite à la réaction avec l'eau oxygénée. La libération de $\bullet\text{OH}$ ne se produit que dans des milieux contenant H_2O_2 , comme les phagolysosomes des macrophages alvéolaires

- radicaux carboxyle ($\text{CO}_2^{\bullet-}$) suite à la rupture homolytique de la liaison C-H dans une molécule cible (formiate de sodium). Il s'agit d'un mécanisme qui peut avoir lieu aussi dans les liquides extracellulaires, par ex. avant l'internalisation des fibres dans les cellules.

La capacité de l'antigorite à stimuler la production de ROS a également été évaluée par des tests cellulaires (voir ci-dessous)

Tous les échantillons, sauf 13A1, sont capables de catalyser la formation de radicaux $\bullet\text{OH}$ (Figure 98), mais pas celle du radical carboxyle. La réactivité des échantillons néo-calédoniens est similaire à celle du chrysotile et faiblement supérieure à celle de l'antigorite italienne. La réactivité est soutenue dans le temps. Après 1 semaine d'incubation dans un milieu contenant H_2O_2 la réactivité a juste un peu diminué.

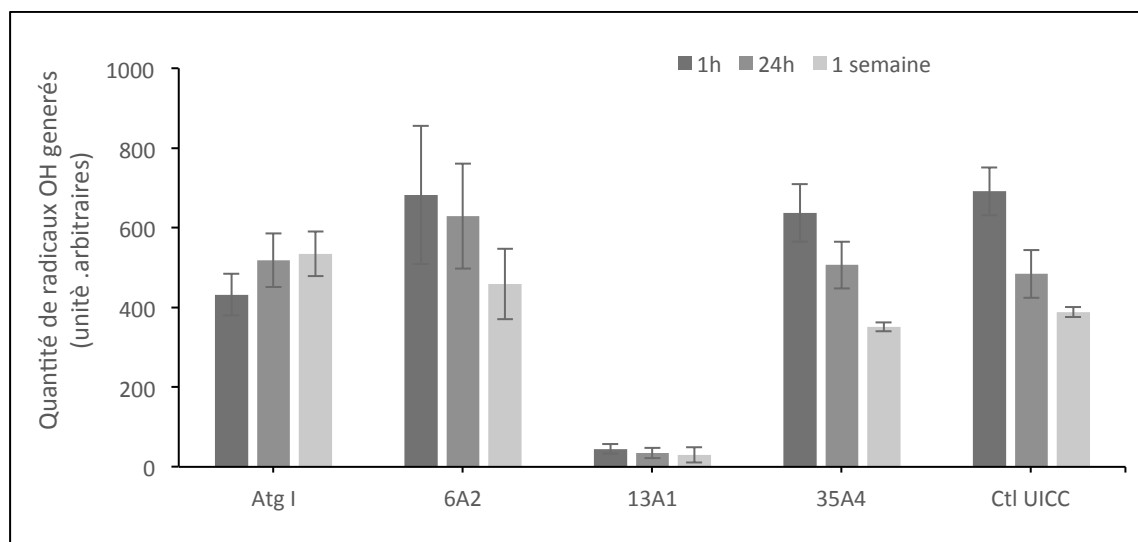


Figure 98 : Réactivité dans la production de radicaux •OH. Quantité (en unités arbitraires) de radicaux générée après 1h, 24 h et 1 semaine d'incubation avec H₂O₂. Les échantillons ont été comparés par unité de masse. L'activité radicalaire a été évaluée en milieu acellulaire avec la technique du spin trapping associée à la spectroscopie de résonance paramagnétique électronique (RPE) (Fubini et al., 1995)

Le fer(II) comme le fer(III) sont capables d'entraîner la formation des radicaux •OH, alors que seul le fer(II) est capable de catalyser la formation de radicaux carboxyle (Tomatis et al., 2002 ; Turci et al., 2011). La réactivité responsable de la génération de radicaux CO₂^{•-} a, donc, été évaluée en ajoutant dans le milieu de réaction un agent réducteur, l'acide ascorbique. Sous ces conditions le chrysotile acquiert la capacité de relâcher des radicaux CO₂^{•-}. Une très faible réactivité a été observée pour l'échantillon italien. Les échantillons d'antigorite néo-calédoniens demeurent eux inactifs.

5.1.3. LIBERATION DE FER

La figure 99 montre la quantité de fer qui peut être libérée dans le milieu cellulaire par les fibres (fer biodisponible). Le rôle du fer dans les mécanismes de toxicité des amiantes a été largement étudié. Le fer présent en surface est responsable du potentiel oxydo-réducteur des fibres. Le fer libéré en solution, lorsqu'il est complexé par des chélateurs de petites dimensions, peut se diffuser dans le cytoplasme et arriver jusqu'au noyau des cellules. Certains complexes présentent une activité redox, qui peut conduire à la formation d'espèces radicalaires et au dommage de l'ADN (Hardy and Aust, 1995). En plus, la concentration intracellulaire du fer régule la transcription de la NOS inducible (iNOS), une des enzymes responsables de la synthèse de NO, un agent cytotoxique (Aldieri et al., 2001).

Tous les échantillons d'antigorite contiennent du fer biodisponible, bien qu'en quantité moindre par rapport au chrysotile. En milieu acide, tel que celui qui se trouve dans les phagolysosomes des macrophages alvéolaires, le fer est rapidement libéré en solution et l'extraction se poursuit pendant plusieurs jours (Figure 99A). Ce processus est

particulièrement évident pour 6A2, 35A4 et Atg I, tandis que 13A1 libère seulement une petite quantité de fer au cours des premières 24h. A pH proche de la neutralité (représentatif des milieux extracellulaires comme les sécrétions tapissant les voies aériennes) la biodisponibilité du fer est bien plus faible. Cette différence est probablement due à la dissolution en environnement acide (voir ci-dessous).

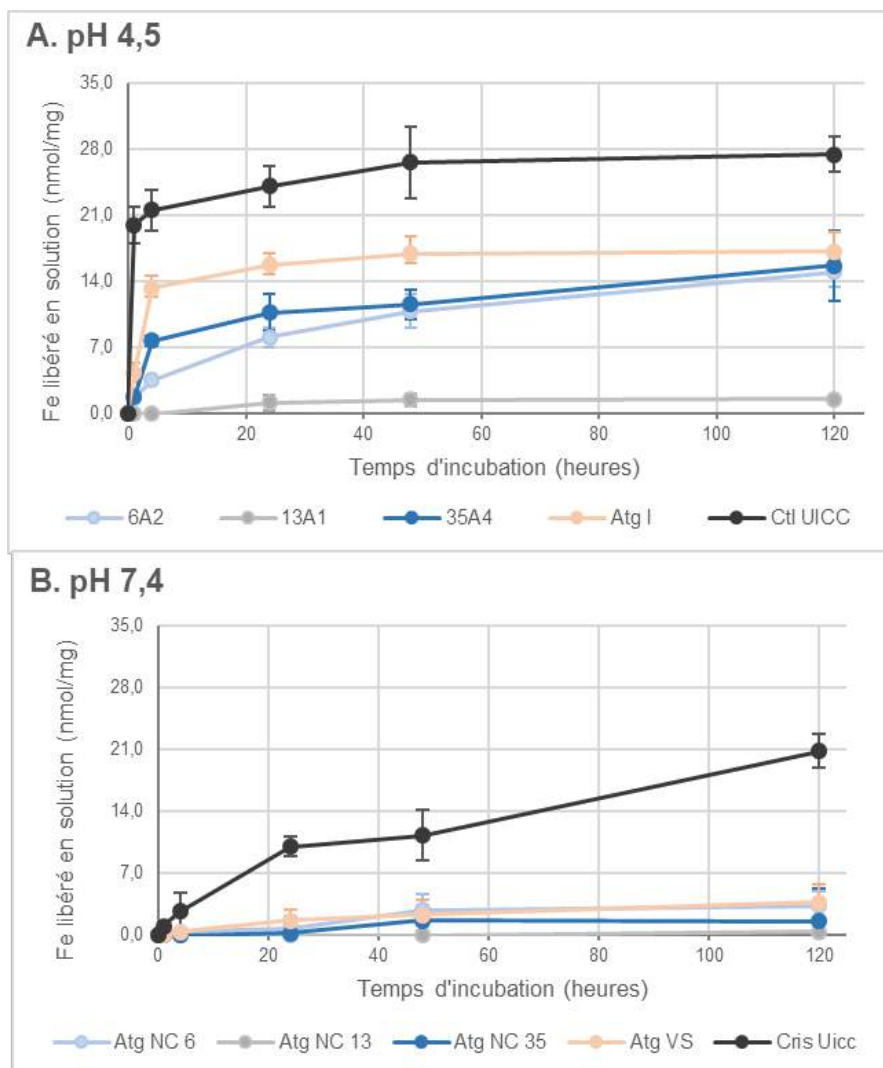


Figure 99 : Quantité de fer libérée en solution après incubation des échantillons en milieu acide (A) et en milieu neutre (B). Le dosage du fer a été effectué par voie spectrophotométrique ($\lambda=562$ nm) sur le surnageant obtenu après incubation des fibres avec un agent chélateur (ferrozine) à pH 4.5 ou à pH 7.4

5.1.4. INTERACTION AVEC DES ANTIOXYDANTS

L'organisme possède des mécanismes de défense contre les radicaux libres qui comprennent des enzymes et de petites molécules, comme l'acide ascorbique (AA) ou le glutathion (GSH), avec lesquelles les fibres peuvent interagir directement. L'interaction qui consiste soit à l'adsorption sur la surface des fibres de ces molécules soit à leur oxydation, entraîne une diminution de leur biodisponibilité et peut conduire à une réduction des défenses antioxydants. La figure 100 montre la réactivité des échantillons d'antigorite face à GSH et AA, évaluée en mesurant la réduction de la concentration d'antioxydant après incubation avec les fibres. D'autres études ayant le but d'évaluer la capacité de l'antigorite d'interférer avec le système de défense antioxydant ont été effectués sur les cellules (voir ci-dessous)

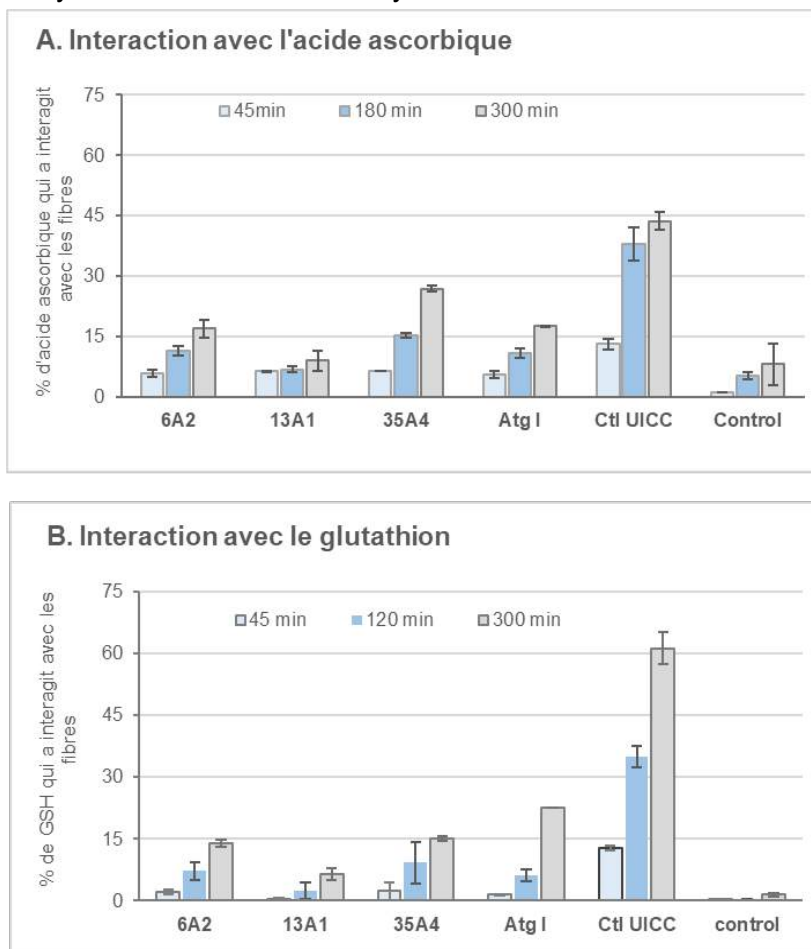


Figure 100 : Pourcentage de molécules antioxydantes qui interagissent avec la surface des fibres : A) acide ascorbique (AA) et B) glutathion (GSH). Le dosage a été effectuée par voie spectrophotométrique en évaluant la diminution de l'absorbance d'une solution de AA ($\lambda=265$ nm) ou de GSH ($\lambda=412$ nm en présence du réactif d'Eilman) à pH 7.4 après incubation avec les échantillons

L'antigorite provoque seulement une faible réduction de la quantité d'acide ascorbique et de GSH, alors que le chrysotile cause une importante diminution de 45% de l'AA et de 60% de GSH après 5h d'incubation. 6A2 et 35A4 montrent une réactivité similaire face au GSH, tandis que 35A4 est un petit peu plus réactif face au AA. La réactivité de 13A1 est très faible dans les deux cas.

5.2. DISSOLUTION IN VITRO DANS DES FLUIDES BIOLOGIQUES SYNTHETIQUES

La solubilité d'une fibre en milieu biologique influe directement sur sa biopersistance (capacité d'être retenue dans le corps à la suite de processus de dissolution et mécanismes d'épuration). La biopersistance, à son tour, influe sur la toxicité.

La dissolution de l'antigorite a été étudiée dans deux modèles de fluides biologiques: une solution simulant le fluide phagolysosomal à pH acide et la solution de Gamble, à pH neutre, qui reproduit la composition des fluides broncho-alvéolaires. Dans ces deux fluides l'antigorite apparaît plus résistante que le chrysotile à la dissolution (Figure 101). La dissolution est 4-5 fois plus élevée dans le fluide phagolysosomal que dans la solution de Gamble.

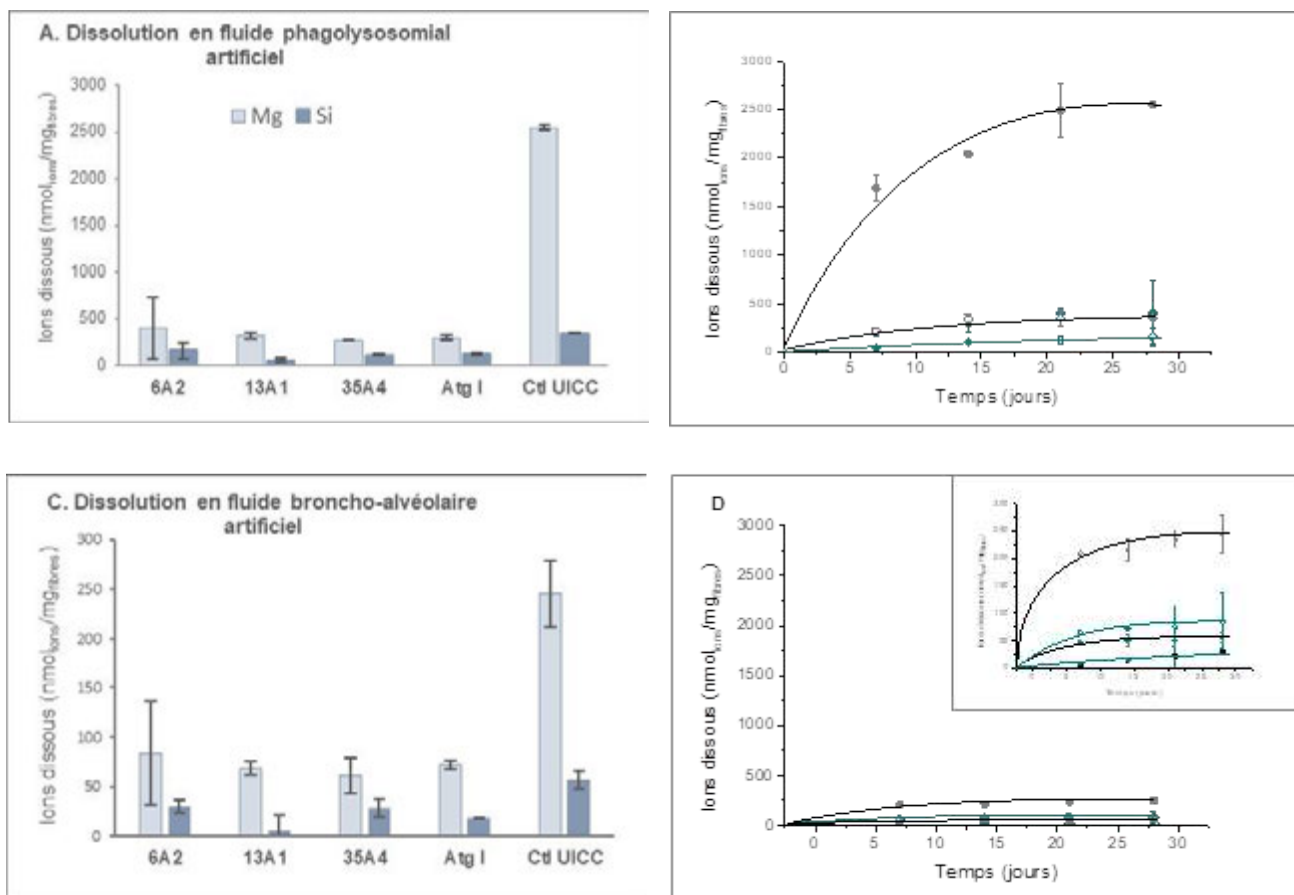


Figure 101 : Dissolution dans des solutions qui simulent les fluides biologiques. Colonne à gauche: quantité de ions (Si et Mg) dissous après 28 jours d'incubation dans A) fluide phagolysosomal (PSF) et C) solution de Gamble. Colonne à droite: courbes de dissolution de 6A2 (losanges) et du chrysotile (cercles) dans B) PSF et D) solution de Gamble (symboles pleins=Mg, symboles vides= Si).

La solubilisation a été évaluée en essais statiques, où les fibres sont en suspension dans le milieu biologique simulé à 37°C. La quantité d'ions en solution a été mesurée par ICP après 7, 14, 21 et 28 jours d'incubation

Dans les deux fluides la concentration de silicium (Si) dissous est inférieure (2 et 10 fois respectivement pour l'antigorite et le chrysotile) à celle du magnésium (Mg) mais tandis que le rapport Si/Mg est 1/10 pour le chrysotile, il est seulement 1/2 pour l'antigorite. Cela indique la libération préférentielle du Mg par le chrysotile, due à la différence de réactivité du Mg octaédrique dans les feuilles de brucite par rapport au Si tétraédrique (Park and Fan, 2004). Ce phénomène peut conduire à la déstabilisation de la structure du chrysotile. Au contraire, le faible ratio Mg/Si observé dans le surnageant après incubation de l'antigorite semble indiquer une dissolution congruente associée à une plus grande stabilité de la structure.

Les effets de la dissolution sur la réactivité de surface de l'antigorite ont été étudiés en évaluant la génération de radicaux hydroxyles après incubation dans les deux fluides

biologiques artificiels. La figure 102 montre, en tant qu'exemple, les spectres RPE des radicaux OH générés par 6A2 incubé pendant 7 et 28 jours dans PSF (Figure 102 A) et dans une solution de Gamble (Figure 102 B). Malgré la dissolution observée dans le fluide phagocytosomial, tous les échantillons d'antigorite conservent leur réactivité, tandis que la réactivité diminue significativement déjà après une semaine d'incubation dans la solution de Gamble. Le chrysotile se comporte de la même manière que l'antigorite.

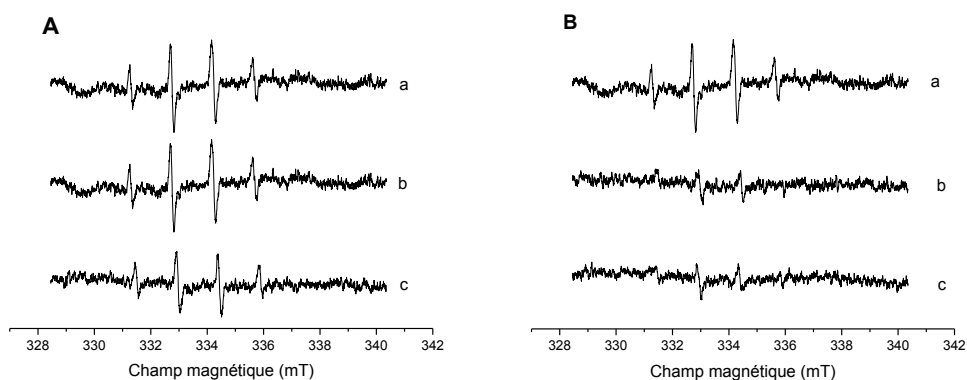


Figure 102 : Effet de l'incubation dans des fluides biologiques artificiels sur la réactivité de 6A2 face à la génération de radicaux OH. Spectres RPE de radicaux générés après 7 (spectres b) et 28 (c) jours d'incubation dans A) PSF et B) solution de Gamble comparés avec 6A2 non incubée (spectres a). L'activité radicalaire a été évaluée en milieu acellulaire avec la technique du spin trapping associée à la spectroscopie RPE. Les quatre raies identifient le radical hydroxyle. Leur intensité est proportionnelle à la quantité de radicaux générés. Le comportement de 6A2 est représentatif du comportement de tous les autres échantillons.

5.3. TEST CELLULAIRES

La cytotoxicité, la capacité d'induire un stress oxydatif et le potentiel inflammatoire ont été étudiés *in vitro* sur des cellules épithéliales pulmonaires humaines (les cellules épithéliales alvéolaires, A549) et sur une lignée de macrophages alvéolaires (MH-S). La génotoxicité (dommage à l'ADN) a été évaluée sur les A549. La cytotoxicité a aussi été estimée sur un autre modèle de cellules pulmonaires humaines, les cellules bronchiques (BEAS-2B). Les cellules épithéliales sont des acteurs clés dans l'inflammation (Saffiotti et al., 1996), elles jouent un rôle dans le développement de la fibrose pulmonaire et ont été décrites comme des cellules cibles dans le développement du carcinome du poumon associé à l'amiante (Yuan et al. 2004). Les macrophages sont responsables de l'épuration des particules inhalées. Une phagocytose incomplète peut entraîner d'une part, un dommage du macrophage avec libération de facteurs oxydants, cytokines, facteurs de croissance ainsi que conduire à des processus inflammatoires et d'autre part diminuer ou annuler l'élimination des fibres du poumon.

Les cellules ont été incubées avec 4 concentrations différentes de 6A2, 13A1 et 35A4, (15, 30, 60, 120 µg/ml, correspondant à 3, 6, 12.5, 25 µg/cm²) pendant 24h. En tant que témoin positif on a employé le chrysotile UICC à une concentration de 30 µg/ml. Cette concentration

induit à la fois cytotoxicité et stress oxydatif dans les cellules pulmonaires humaines (Gazzano et al., 2005 ; Gazzano et al., 2007). En tant que témoin négatif on a employé un échantillon de fibres de verre (MMVF10) à une concentration de 120 µg/ml

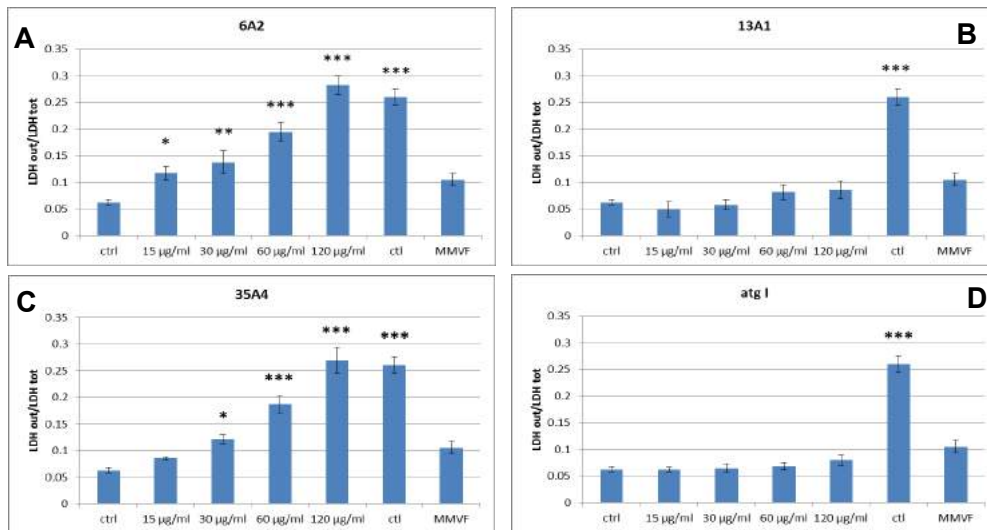


Figure 103 : Cytotoxicité: quantité de LDH relevé dans le milieu de culture de cellules épithéliales alvéolaires (A549) après incubation avec 6A2, 13A1, 35A4 et Atg I. Le chrysotile UICC (Ctl) et les fibres de verre MMVF10 ont été employés respectivement comme témoin positif et négatif. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl) : * p<0.05, ** p<0.003, * p<0.0001**

5.3.1. CYTOTOXICITE

La cytotoxicité a été évaluée en quantifiant la lactate déshydrogénase (LDH), une enzyme cytosolique libérée dans le milieu de culture suite à la rupture de la membrane cellulaire.

Des effets cytotoxiques ont été observés sur les deux lignées cellulaires exposées au 6A2 et 35A4. Les cellules épithéliales alvéolaires (A549) (Figure 103) se sont montrées plus sensibles à l'antigorite que les cellules bronchiques (BEAS-2B) (Figure 104). Pour cette raison, les cellules épithéliales alvéolaires ont été utilisées pour d'autres tests. L'activité de la LDH extra-cellulaire augmente de façon significative en fonction de la concentration des deux échantillons, ce qui indique une relation dose-effet. 6A2 et 35A4 ont un effet comparable sur les cellules épithéliales alvéolaires (Figure 103A et C) alors qu'à la dose la plus élevée (120 µg/ml), 6A2 est plus cytotoxique que 35A4 sur les cellules bronchiques (Figure 104A et C). Les deux types d'antigorite sont moins cytotoxiques que le chrysotile (voir effet à la même dose, 30 µg/ml). Par contre 13A1 et l'échantillon italien ne montrent aucun effet y compris à 120 µg/ml (Figure 103 et 104, B).

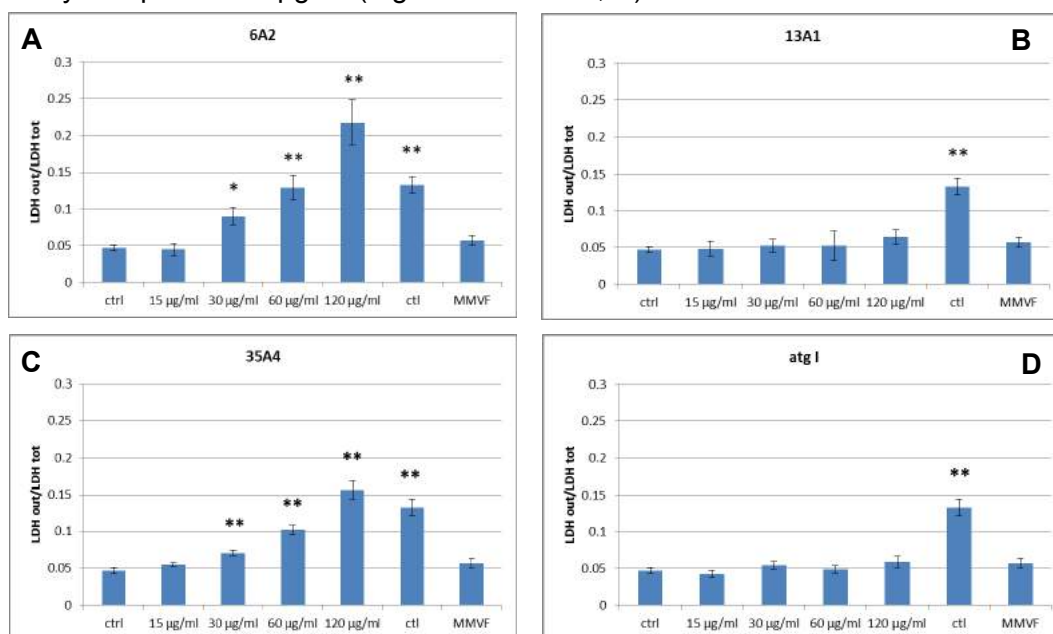


Figure 104 : Cytotoxicité : quantité de LDH relevé dans le milieu de culture de cellules bronchiques, BEAS-2B après incubation avec 6A2, 13A1, 35A4 et Atg I. Le chrysotile UICC (Ctl) et les fibres de verre MMVF10 ont été employés respectivement comme témoin positif et négatif. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): * $p < 0.001$, ** $p < 0.0001$

13A1 et Atg I demeurent inactives et ce également dans les macrophages alvéolaires (Figure 105B et D). Au contraire, un effet cytotoxique a été observé pour 6A2 (Figure 105A) et pour 35A4 (Figure 105C), mais si 6A2 ne montre une faible cytotoxicité qu'à la dose la plus élevée, 35A4 induit déjà des effets cytotoxiques à 30 µg/ml.

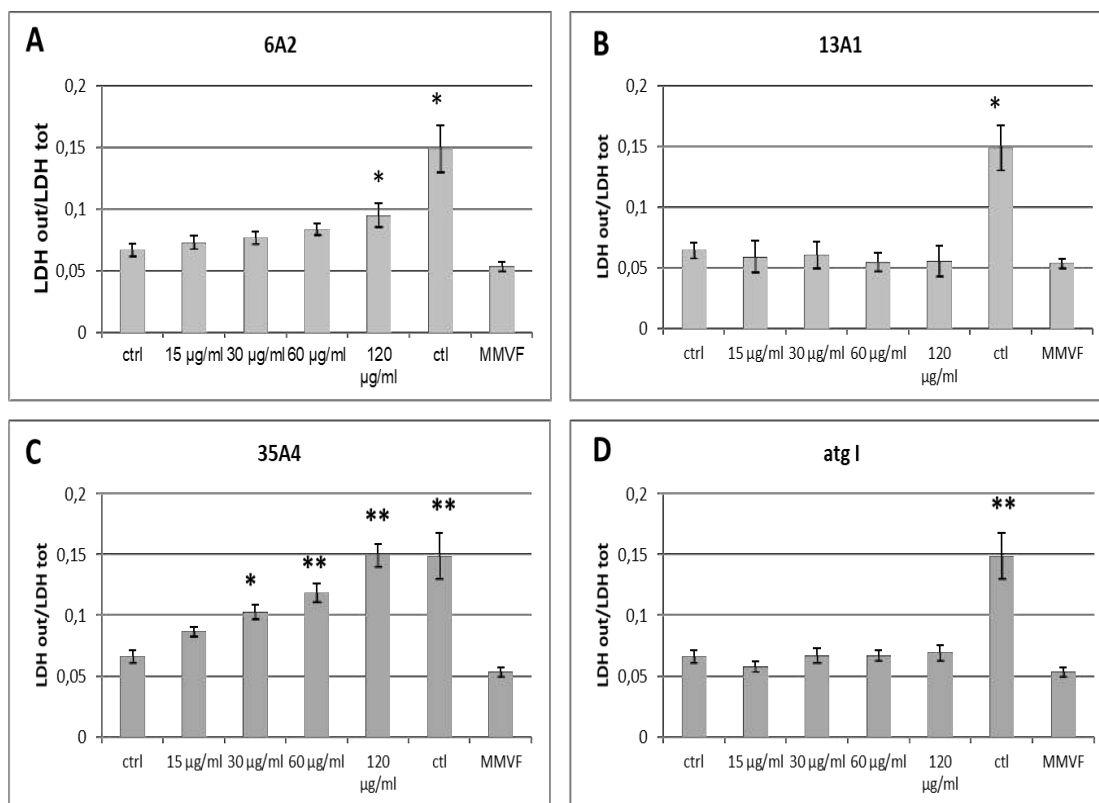


Figure 105 : Cytotoxicité: quantité de LDH relevé dans le milieu de culture de macrophages alvéolaires MH-S après incubation avec 6A2, 13A1, 35A4 et Atg I. Le chrysotile UICC (Ctl) et les fibres de verre MMVF10 ont été employés respectivement comme témoin positif et négatif. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$

5.3.2. STRESS OXYDANT

Le stress oxydant est un état de déséquilibre entre la production d'espèces réactives pro-oxydants (peroxyde d'hydrogène, oxygène singulet et radicaux libres tels que l'anion superoxyde et le radical hydroxyle) et les défenses antioxydantes (enzymes ayant la capacité d'inhiber directement la production de ces espèces, ou molécules capables de limiter leur propagation ou de les détruire) en faveur des premiers. Ce déséquilibre peut conduire à des dommages cellulaires irréversibles.

La capacité de l'antigorite d'induire un stress oxydant a été évaluée en mesurant la génération intracellulaire d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et la diminution de la concentration intracellulaire de glutathion réduit (GSH). Les dommages oxydatifs ont été estimés par dosage des produits de dégradation des lipides des membranes cellulaires.

Les résultats montrés se réfèrent à la dose de 120 µg/ml pour les échantillons d'antigorite, car aucune réponse cellulaire n'a été observée pour des dosages inférieurs.

5.3.2.1. Production d'espèces oxydantes (ROS)

Le dosage des espèces réactives de l'oxygène a été effectué à l'aide de la sonde DCFH-DA. Cette molécule pénètre dans les cellules et s'accumule en majorité dans le cytoplasme ou elle peut être convertie par les ROS en un produit fluorescent. L'intensité de fluorescence est directement proportionnelle à la quantité de ROS présente dans la cellule.

Une augmentation du niveau intracellulaire d'espèces oxydantes a été observée dans les cellules épithéliales après incubation avec 6A2 (Figure 106A) et dans les macrophages alvéolaires après incubation avec 35A4 (Figure 106B). La quantité de ROS produite est cependant plus faible que celle produite dans les deux types de cellules exposées au chrysotile.

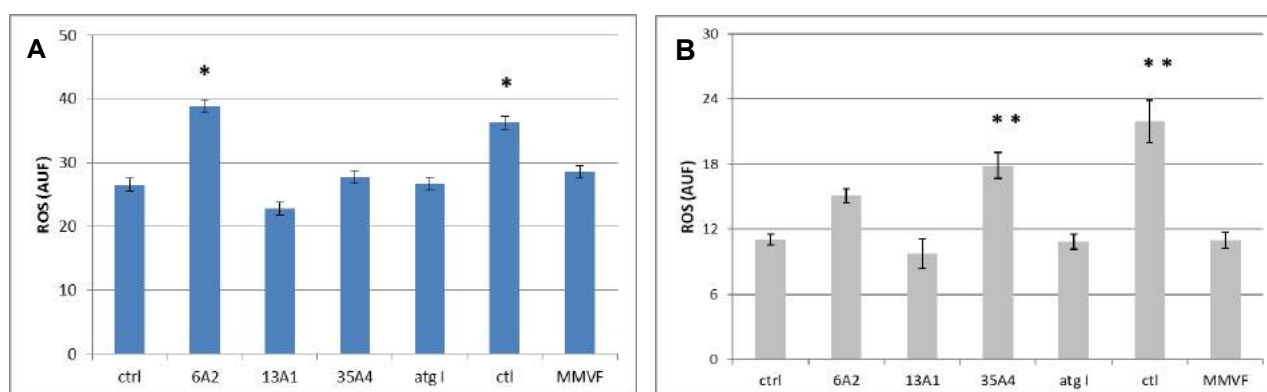


Figure 106 : Niveau intracellulaire de ROS après exposition de cellules épithéliales alvéolaires A549 (A) et de macrophages alvéolaires MH-S (B) à antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I, 120 µg/ml), chrysotile (ctl, 30 µg/ml) et fibres de verre (MMVF, 120 µg/ml). Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05, **p<0.01

5.3.2.2. Peroxydation lipidique

La production d'espèces oxydantes au cours d'un stress oxydatif peut entraîner un dommage des lipides des membranes cellulaires. Ce processus, connu comme peroxydation lipidique, peut induire une diminution de la fluidité et une altération de la perméabilité des membranes. De plus, un des produits de la peroxydation lipidique, le malondialdéhyde (MDA), a un potentiel mutagène et cancérigène, puisque capable de former des adduits sur l'ADN.

La peroxydation (Figure 107) a été évaluée par dosage spectrophotométrique ($\lambda=532$ nm), des substances résultantes de la dégradation des acides gras polyinsaturés réagissant avec l'acide thiobarbiturique (TBA).

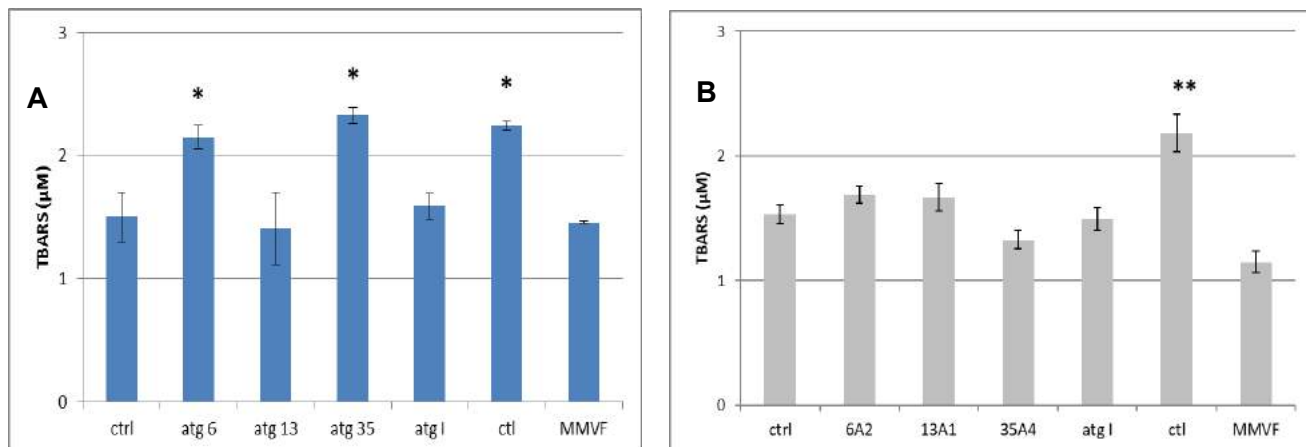


Figure 107 : Peroxydation lipidique: quantité de produits de dégradation des lipides (TBARS = substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique) après exposition pendant 24h de cellules épithéliales alvéolaires A549 (A) et de macrophages alvéolaires MH-S (B) à antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I, 120 µg/ml), chrysotile (ctl, 30 µg/ml) et fibres de verre (MMVF, 120 µg/ml). Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05, **p<0.01

6A2 et 35A4 induisent une peroxydation de lipides dans les cellules épithéliales (Figure 107A) tandis que ne provoquent aucun effet chez les macrophages (Figure 107B). 13A1 e Atg I sont inactives dans les deux lignées cellulaires. Le taux de peroxydation induit dans les cellules épithéliales par 120 µg/ml de 6A2 et 35A4 est comparable à celui résultant de 30 µg/ml de chrysotile.

5.3.2.3. Réduction du glutathion intracellulaire

Le glutathion (GSH) est le principal reductant intracellulaire. Il intervient dans le maintien du potentiel redox de la cellule et dans la lutte contre les espèces réactives de l'oxygène. Une réduction du taux intracellulaire de GSH peut être le signe d'un stress oxydant plus ou moins important. Le niveau intracellulaire de GSH a été mesuré par une méthode spectrophotométrique.

6A2 et 35A4 provoquent une réduction du GSH soit dans les cellules épithéliales (Figure 108A) que dans les macrophages (Figure 108B). Cette réduction est comparable à celle induite par le chrysotile. Il faut toutefois remarquer que la dose de 6A2 et 35A4 administrée aux cellules est 4 fois plus grande de celle du chrysotile. 13A1 et Atg I n'induisent aucune altération du taux intracellulaire de GSH.

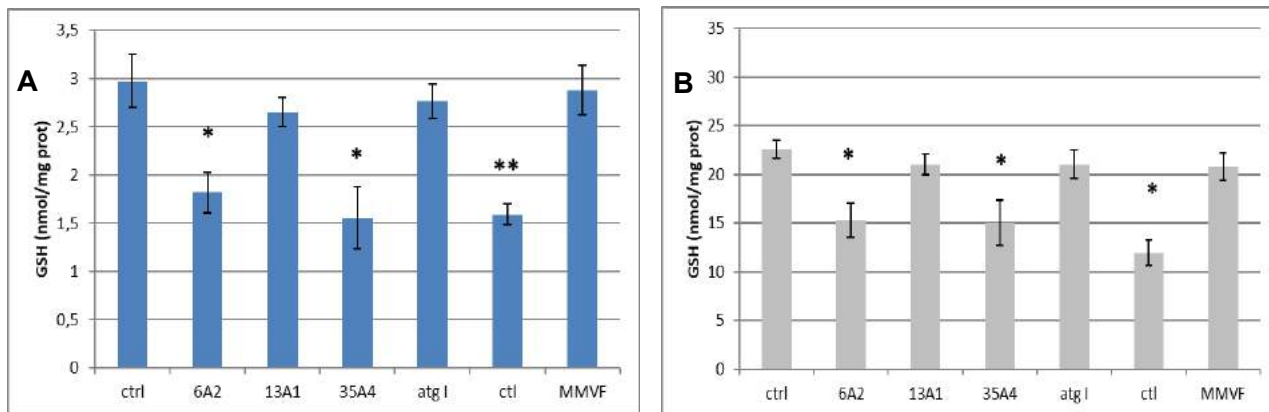


Figure 108 : Effet de l'antigorite sur les niveaux intracellulaires de glutathion: (A) cellules épithéliales alvéolaires A549 et (B) macrophages alvéolaires. Les cellules ont été incubées pendant 24h avec 120 µg/ml d'antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), ou 30 µg/ml chrysotile (ctl) ou 120 µg/ml de fibres de verre (MMVF) Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05, **p<0.01

5.3.2.4. Inactivation de la voie des pentoses phosphates

Le cycle des pentoses phosphates (PPP) est l'une des voies métaboliques les plus sensibles au stress oxydatif. Le PPP est la principale voie par laquelle la cellule régénère GSH à partir du glutathion oxydé (GSSG) et est généralement activée par l'exposition des cellules à des molécules oxydantes. Toutefois, les amiantes (crocidolite, amosite, chrysotile), malgré leur capacité d'induire un stress oxydant, provoquent une inhibition du PPP (Riganti et al., 2002 ; 2033 ; Gazzano et al., 2005a, 2005b).

L'activité de PPP a été évaluée en mesurant l'activité de la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD), la première enzyme de la voie des pentoses, dont elle est l'étape limitante et dont elle contrôle la vitesse. On a également mesuré l'activité de la 6-phosphogluconate déshydrogénase (6PGD), une autre enzyme de cette voie métabolique.

L'activité de la G6PD diminue après incubation des cellules avec le chrysotile, tandis que l'incubation avec les fibres d'antigorite, quel que soit le type d'échantillon, ne produit aucun effet (Figure 109 A et B).

L'activité de la 6PGD, au contraire, n'est pas modifiée, ce qui confirme un effet spécifique du chrysotile sur la première enzyme de la voie métabolique.

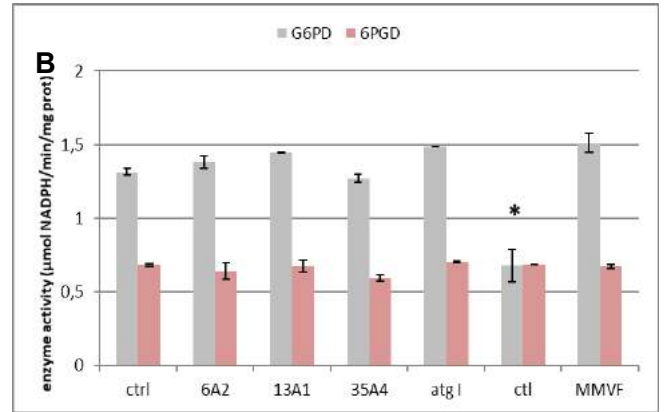
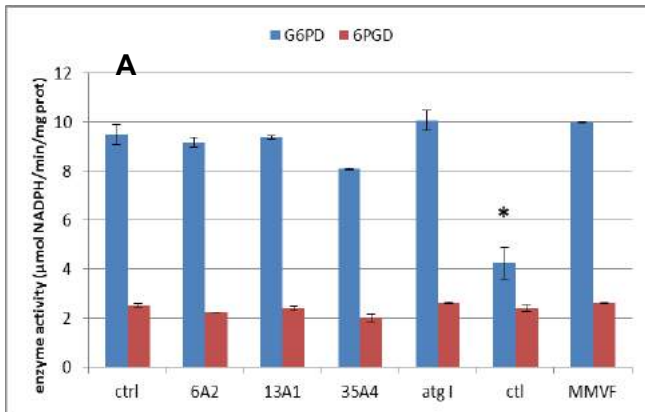


Figure 109 : Inactivation de la voie des pentose phosphates: effet de l'antigorite sur l'activité des enzymes G6PD et 6PGD dans: (A) cellules épithéliales alvéolaires A549 et (B) macrophages alvéolaires MH-S. Les cellules ont été incubées pendant 24h avec 120 µg/ml de antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), ou 30 µg/ml chrysotile (ctl) ou 120 µg/ml de fibres de verre (MMVF) Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.01.

5.3.2.5. Expression de l'hème oxygénase 1 (HO-1)

L'hème oxygénase (HO) est un système enzymatique impliqué dans le catabolisme de l'hème. Il existe trois isoformes de l'hème oxygénase. L'hème oxygénase 1 (HO-1) est l'isoforme induit en réponse à divers stimuli qui entraînent une modification de l'état redox cellulaire, comme la production de ROS ou l'affaiblissement des défenses antioxydants. L'expression de HO-1 peut donc être employée comme marqueur sensible d'un stress oxydant.

Le contenu intracellulaire de HO-1 a été évalué par Western Blot, en utilisant des anticorps spécifiques.

On observe (Figure 110) une augmentation significative de l'expression de la HO-1 dans les cellules A549 après exposition à 6A2 et au chrysotile. Une légère augmentation, mais pas significative, a été observée même dans les cellules traitées avec 35A4, tandis que les cellules incubées avec 13A1 ne montrent aucune augmentation.

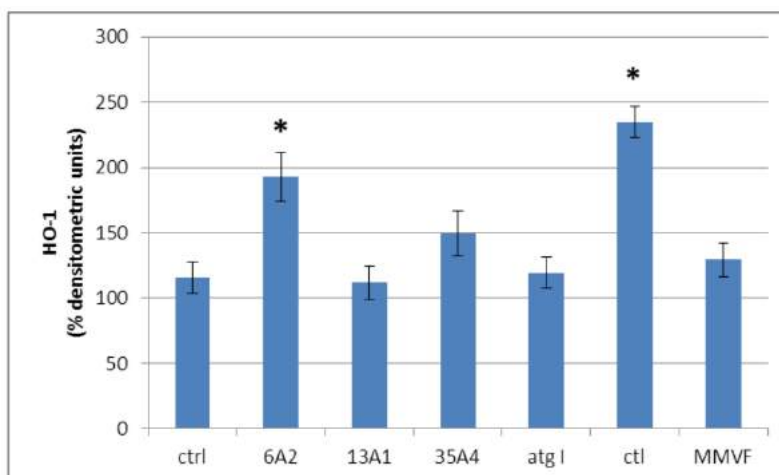


Figure 110 : Expression de l'hème oxygénase 1 (HO-1) dans cellules épithéliales alvéolaires A549 incubées pendant 24h avec 120 µg/ml d'antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), ou 30 µg/ml de chrysotile (ctl) ou 120 µg/ml de fibres de verre (MMVF). L'analyse densitométrique de l'expression de HO-1 a été réalisée à l'aide du logiciel Image J (<http://rsb.info.nih.gov/ij/>). Les résultats sont présentés sous forme de moyenne de trois expériences et exprimés en unités arbitraires. Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.01

5.3.3. ACTIVITE PRO-INFLAMMATOIRE

Plusieurs études réalisées in vivo, chez l'animal, ont montré que l'inhalation de fibres d'amiante s'accompagne d'une activation de la réponse inflammatoire caractérisée par la libération de facteurs pro-inflammatoires et le recrutement de cellules inflammatoires (Jaurand, & Levy, 1999).

Le potentiel pro-inflammatoire de l'antigorite a été évalué par dosage de NO et TNF-α

5.3.3.1. Production de NO

L'oxyde nitrique (NO), synthétisé par une famille d'enzymes appelées NO synthases, est un messager intracellulaire cytotoxique et pro-inflammatoire. Ces propriétés cytotoxiques résultent de la réaction avec l'anion superoxyde qui produit du peroxynitrite, capable de nitroser les protéines et l'ADN, lorsque l'effet pro-inflammatoire est relié à l'afflux de neutrophiles dans le liquide broncho-alvéolaire, qui se déroule en réponse à l'augmentation des niveaux du NO (Quinlan et al., 1998). Les amiantes (crocidolite, chrysotile et amosite) sont des activateurs puissants de la production de NO dans les macrophages alvéolaires et les cellules épithéliales pulmonaires (Castranova, 2008).

La synthèse de l'oxyde nitrique a été évaluée par une méthode spectrophotométrique indirecte consistant à mesurer la quantité de nitrite, un dérivé stable de NO (méthode de Griess).

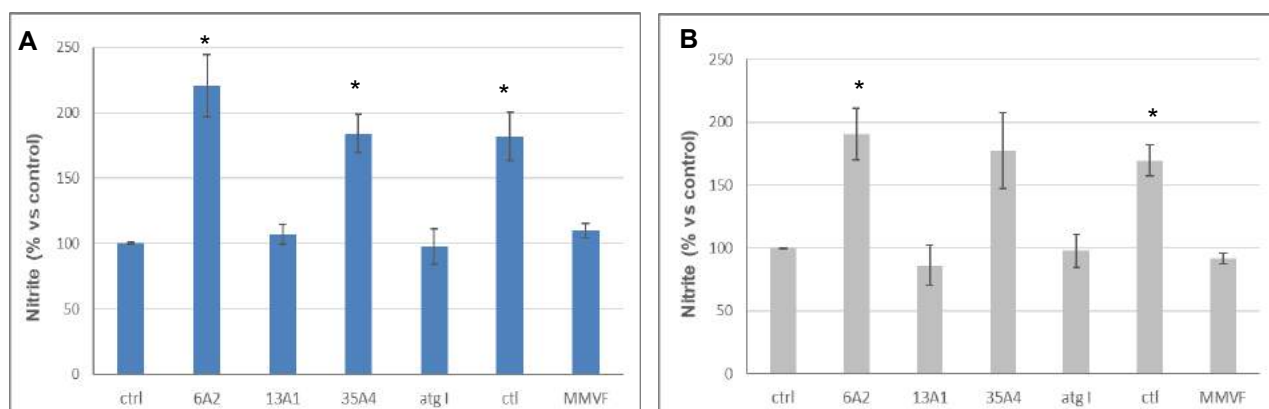


Figure 111 : Activité pro-inflammatoire de l'antigorite: quantité de NO produite dans (A) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (B) macrophages alvéolaires MH-S après 24 h d'incubation avec 120 µg/ml d'antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), 30 µg/ml de chrysotile (ctf) ou 120 µg/ml de fibres de verre (MMVF, 120 µg/ml) Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05.

13A1 et Atg I ne stimulent pas la production de NO, au contraire du chrysotile. 6A2 et 35A4 montrent une faible activité sur les cellules épithéliales alvéolaires (Figure 111A): la quantité de NO générée après incubation avec 120 µg/ml de 6A2 et 35A4 est comparable à celle produite par les cellules exposées à 30 µg/ml de chrysotile. 6A2 montre aussi une activité sur les macrophages, et toujours à la dose plus élevée (Figure 111B).

5.3.3.2. Production de TNF-α

Le TNF-α (facteur de nécrose tumorale) fait partie d'un groupe de cytokines impliquées dans l'inflammation systémique et en phase de réaction aiguë. Les amiantes sont capables d'augmenter la sécrétion de TNF-α in cellules mésothéliales humaines (Yang et al., 2006), probablement suite à la production de radicaux libres, puisque chélateurs du fer ou piègeurs de radicaux en bloquant la libération, alors que l'inhibition de la catalase intracellulaire l'augmente (Simeonova et al., 1995).

Ni les échantillons d'antigorite ni le chrysotile ne stimulent la libération de TNF-α dans les cellules épithéliales (Figure 112A), alors que chez les macrophages on observe une production de TNF-α après 24 h d'incubation avec 120 g/ml de 35A4 et 30µg/ml de chrysotile (Figure 112B).

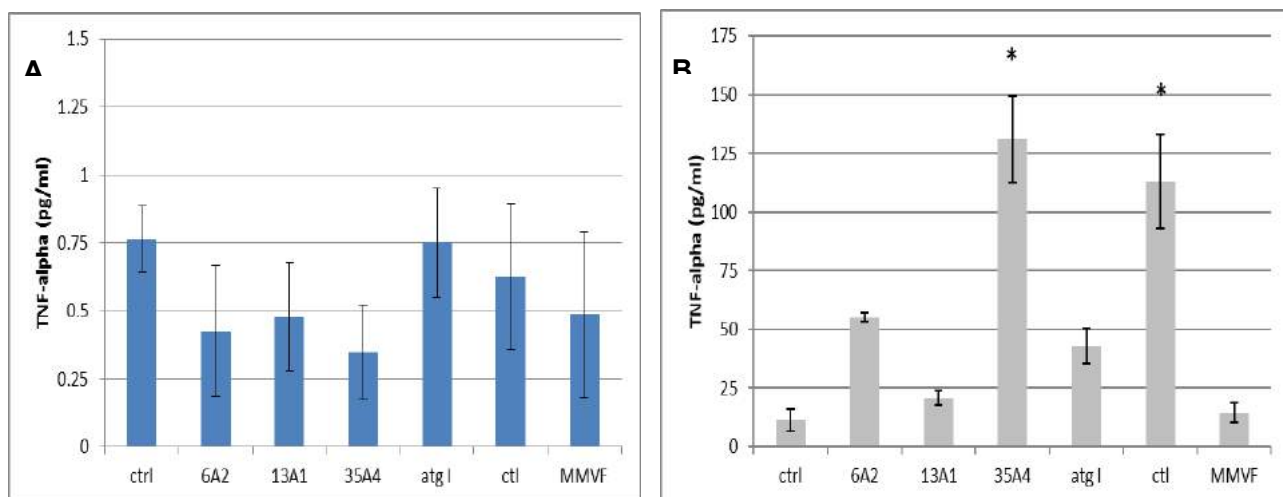


Figure 112 : Activité pro-inflammatoire de l'antigorite: quantité de TNF- α libéré dans (A) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (B) macrophages alvéolaires (MH-S) après 24 h d'incubation avec antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), chrysotile (ctl, 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ou fibres de verre (MMVF, 120 $\mu\text{g}/\text{ml}$) Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): * $p < 0.01$ -

5.3.4. GENOTOXICITE

La génotoxicité est l'un des événements clés de la cancérogenèse (Jaurand, 1997) et le dommage à l'ADN est une étape clé dans la génotoxicité. Au cours des deux dernières décennies, des nombreuses études ont démontré le potentiel de fibres d'amiante à agir comme un agent génotoxique et induire des dommages à l'ADN dans les cellules du poumon (Huang et al., 2011)

Le potentiel génotoxique des fibres d'antigorite a été évalué en mesurant le dommage de l'ADN à l'aide du test des comètes. Ce test est une technique d'électrophores qui permet de mesurer les cassures induites, directement ou indirectement, sur l'ADN par des agents génotoxiques. Si l'ADN n'a pas été endommagé, il sera révélé sous forme d'une sphère compacte, au contraire s'il a été endommagé, il présentera des fragments de tailles différentes qui migreront en dehors de cette sphère produisant des structures ressemblant à des comètes (Figure 113).

Un dommage à l'ADN a été induit par 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de 6A2 et 35A4 et par 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de chrysotile, alors qu'aucun effet n'a été mis en évidence dans les cellules exposées à 13A1 et Atg I. Les dégâts produits par 6A2 sont comparables à ceux induits par 35A4, mais inférieurs à ceux du chrysotile.

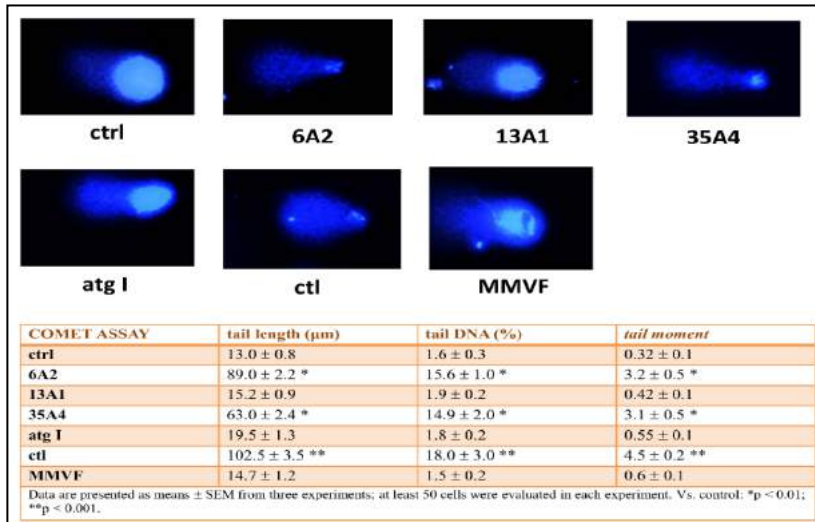


Figure 113 : Génotoxicité de l'antigorite: dommage à l'ADN dans cellules épithéliales alvéolaires (A549) exposées pendant 24 h à 60 µg/ml antigorite (6A2, 13A1, 35A4 et Atg I), chrysotile (ctl, 30 µg/ml) ou fibres de verre (MMVF, 120 µg/ml). Paramètres déterminés: Longueur de la queue de la comète (tail length), pourcentage d'ADN dans la tête et dans la queue par rapport à l'ADN total (tail DNA), moment de la queue de la comète = longueur de la queue x % d'ADN (tail moment). Les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.01, **p<0.001

Les tableaux 12 et 13 suivants synthétisent les résultats obtenus dans l'ensemble des tests cellulaires pour chacune des lignes cellulaires employées

Tableau 12 : Synthèse des réponses cellulaires induites par les échantillons d'antigorite sur les cellules épithéliales alvéolaires humaines (A549) : Doses comparées : 120 µg/ml d'antigorite et 30 µg/ml de chrysotile

A549		13A1	6A2	35A4	Atg I	Ctl UICC	MMVF
	Cytotoxicité	-	**	**	-	**	-
stress oxydatif	Génération de ROS	-	**	-	-	*	-
	Réduction du GSH	-	**	**	-	**	-
	Inactivation du PPP	-	-	-	-	**	-
	Induction de HO-1	-	*	-	-	**	-
Inflammation	Production de NO	-	**	**	-	**	-
	Production de TNF-α	-	-	-	-	-	-
Domage aux biomolécules	Domage au ADN	-	*	*	-	**	-
	Peroxydation des lipides	-	*	*	-	*	-

Tableau 13 : Synthèse des réponses cellulaires induites par les échantillons d'antigorite sur les macrophages alvéolaires (MH-S). Doses comparées : 120 µg/ml d'antigorite et 30 µg/ml de chrysotile

MH-S		13A1	6A2	35A4	Atg I	Ctl UICC	MMVF
	Cytotoxicité	-	*	**	-	**	-
stress oxydatif	Génération de ROS	-	-	*	-	**	-
	Réduction du GSH	-	**	**	-	**	-
	Inactivation du PPP	-	-	-	-	**	-
	Induction de HO-1	-	-	-	-	**	-
Inflammation	Production de NO	-	**	**	-	**	-
	Production de TNF-α	-	-	**	-	**	-

5.4. ETUDE DU ROLE DE LA FRACTION FIBREUSE DANS LA TOXICITE DE L'ANTIGORITE

La forme a été le premier critère physico-chimique mis en relation avec la pathogénicité des fibres d'amiante. Elle joue un rôle important en termes d'épuration (et donc de biopersistance) et de translocation dans le poumon (Donaldson et al., 2011). Les amiantes soumis à des contraintes mécaniques se clivent longitudinalement en libérant des fibres plus fines (amphiboles) ou un grand nombre de fibrilles (chrysotile). Les minéraux tels que l'antigorite, qui généralement adoptent une morphologie lamellaire plutôt que fibreuse, au contraire, se fracturent transversalement en donnant des fragments plus courts, mais de diamètre presque inchangé ou légèrement diminué. Etant donné le rôle critique de la forme dans les mécanismes de toxicité des amiantes, on a i) mesuré le nombre de fibres dans chaque échantillon et réélaboré les réponses cellulaires en fonction de la quantité des fibres et ii) vérifié dans quelle mesure l'antigorite retient la forme fibreuse suite à des contraintes mécaniques.

5.4.1. EFFET DE LA FORME FIBREUSE SUR LES REPONSES CELLULAIRES

Comme déjà remarqué en avance, les échantillons examinés sont constitués par un mélange complexe de fibres, cristaux prismatiques et fragments de clivage en quantité variable. Les effets cellulaires observés pourraient être attribués à l'antigorite dans sa complexité (fractions fibreuse et non fibreuse) ou seulement à la fraction fibreuse ou, encore, seulement aux fibres les plus longues. Pour clarifier le rôle de la fraction fibreuse on a réélaboré les données cellulaires en fonction de la quantité de fibres (en nombre et en

masse). Il faut toutefois souligner que, alors qu'il est possible d'établir un comparatif parmi les échantillons d'antigorite sur la base du nombre de fibres car elles ont des caractéristiques morphométriques similaires, la comparaison directe avec le chrysotile s'avère plus délicate. En effet, les fibres de chrysotile, au contraire de celles d'antigorite, sont longues, flexibles et incurvées et sont constituées par des faisceaux de fibrilles très fines qui se séparent facilement sous l'effet de chocs, de frottements, de vibrations etc. en donnant un nombre différent de fibrilles. En plus, le nombre de fibres/fibrilles de chrysotile par unité de masse varie énormément (ordre de grandeur) selon la technique de mesure et les conditions d'analyse employées. Par conséquent, il n'est pas possible de comparer les réponses cellulaires induites par le chrysotile avec celles de l'antigorite en fonction du nombre de fibres. Donc, dans cette étude, la comparaison a été effectuée parmi les trois échantillons d'antigorite (Figure 114 et 115). Par contre, la comparaison par masse de fibres a également été effectuée avec le chrysotile (Figure 116) Le nombre de fibres par μg d'échantillon d'antigorite et de fibres de verre a été mesuré par analyse automatique d'images en dynamique. Cette technique permet d'évaluer la taille et la forme des particules en suspension, grâce à une caméra qui capture les photos des particules et à un logiciel qui analyse les images. Les trois échantillons contiennent une quantité similaire de fibres par unité de masse ($1.3-1.8 \cdot 10^4$ fibres/ μg), mais l'échantillon moins altéré est un peu plus riche ($1 \cdot 10^3$ ff/ μg) en fibres longues ($L > 20\mu\text{m}$) que les autres deux ($6-7 \cdot 10^2$ ff/ μg).

Les figures suivantes présentent, à titre d'exemple, les courbes dose-effet pour cytotoxicité (Figure 114) et capacité de stimuler la génération de NO (Figure 115) dans les cellules épithéliales (A et B) et les macrophages (C et D) en fonction du nombre des fibres « totales » ($L > 5 \mu\text{m}$) ou de celles ayant une longueur supérieure à $20 \mu\text{m}$.

L'échantillon 13A1, le moins altéré, est à nouveau complètement inactif dans cette représentation, Les autres deux échantillons montrent, à parité de nombre de fibres, une cytotoxicité un peu différente. Cela est particulièrement évident sur les macrophages, alors que dans les cellules épithéliales quantités de 35A4 et 6A2 qui contiennent le même nombre de fibres longues ($> 20 \mu\text{m}$) engendrent une cytotoxicité très similaire. Ce dernier effet a également été observé sur les macrophages pour la génération de NO, bien qu'en général les différences dans la production de NO entre 6A2 et 35A4 soient moins perceptibles que les différences dans la cytotoxicité sur les deux types de cellules.

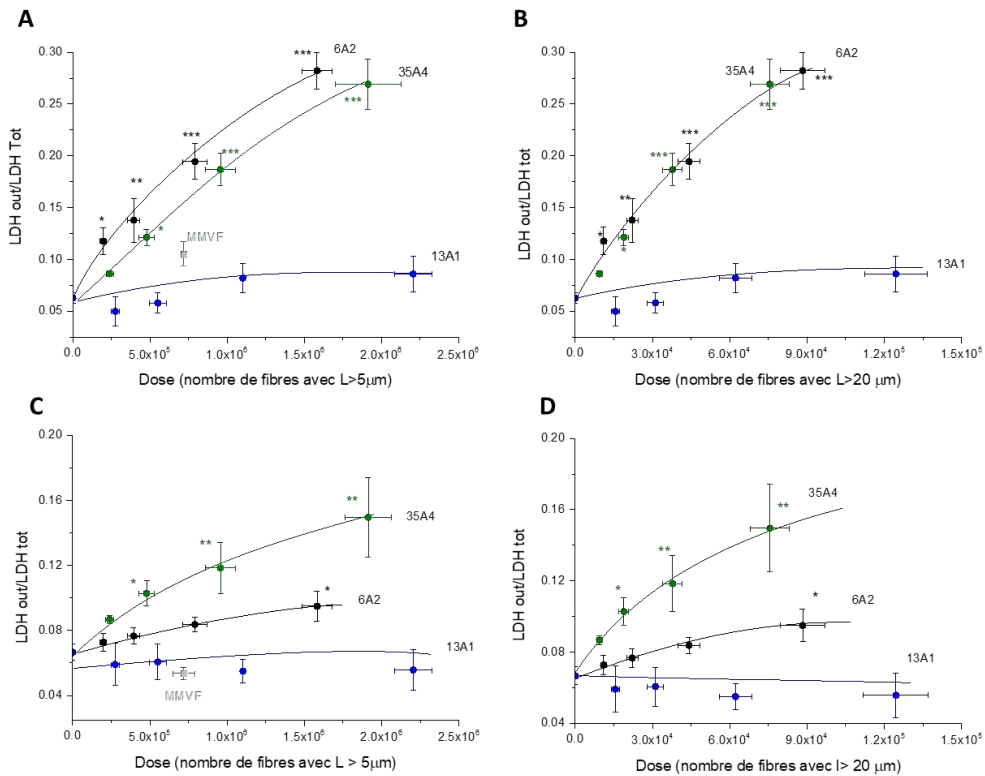


Figure 114 : Cytotoxicité rapportée au nombre des fibres: quantité de LDH (moyenne \pm SEM) dans le milieu de culture de (A et B) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (C et D) macrophages alvéolaires (MH-S) après 24h d'incubation avec 13A1, 6A2 et 35A4 en fonction du nombre de fibres ayant (A et C) $L > 5 \mu\text{m}$ et (B et D) $L > 20 \mu\text{m}$: * $p < 0.05$, ** $p < 0.003$, * $p < 0.0001$**

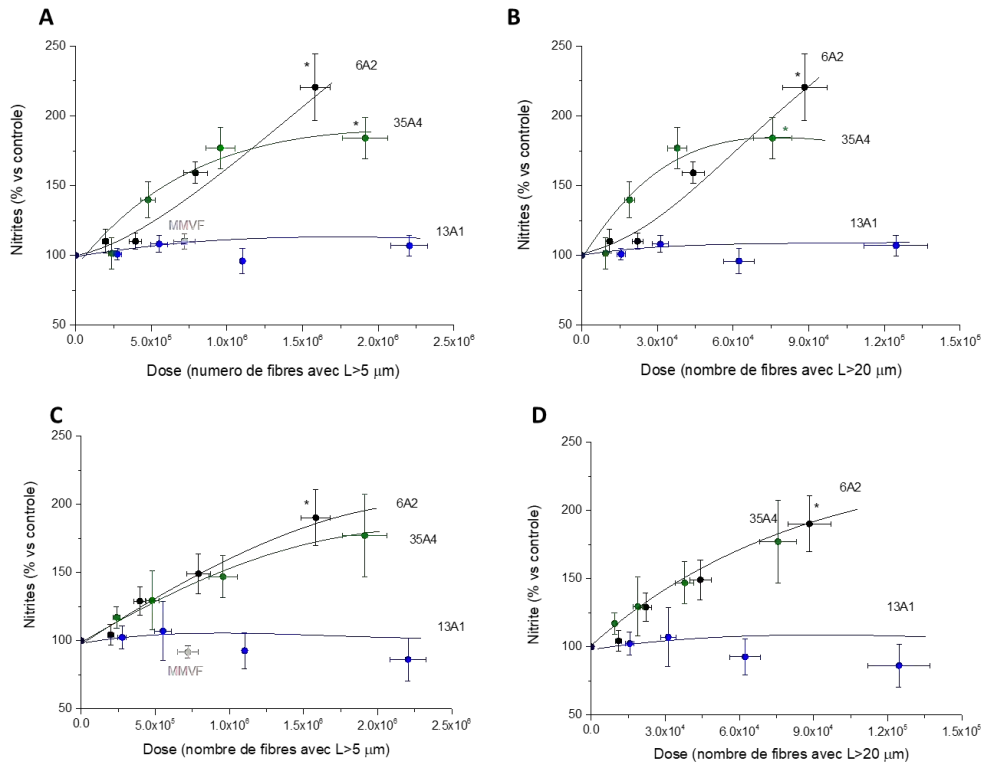


Figure 115 : Activité pro-inflammatoire rapportée au nombre des fibres: quantité de NO produite dans (A et B) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (C et D) macrophages alvéolaires (MH-S) après 24 h d'incubation avec 13A1, 6A2 et 35A4 en fonction du nombre de fibres ayant (A et C) L > 5 μm et (B et D) L > 20 μm : * p < 0.05

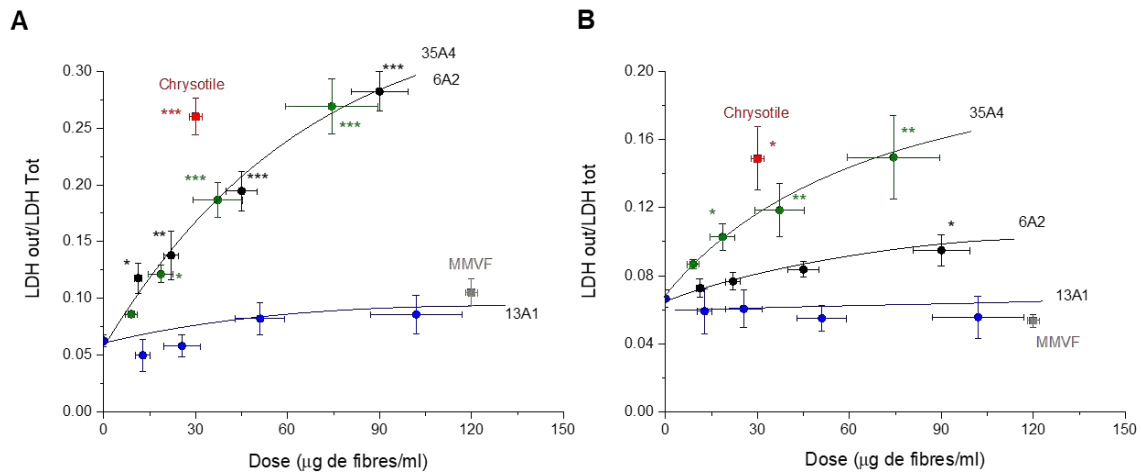


Figure 116 : Cytotoxicité rapportée à la masse de fibres: quantité de LDH (moyenne ± SEM) dans le milieu de culture de (A) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (B) macrophages alvéolaires (MH-S) après incubation avec 13A1, 6A2 et 35A4 en fonction de la masse de fibres ayant L > 5 μm: * p < 0.05, ** p < 0.003, *** p < 0.0001

La figure 116 montre, à titre d'exemple, les courbes dose-effet pour la cytotoxicité en fonction de la masse de fibres dans chaque échantillon.

La masse de fibres a été évaluée selon la méthode conseillée par le Ministère de la Santé Italienne (DM 6/9/94) pour la mesure de la teneur en amiante d'échantillons massifs. Il s'agit de calculer le poids d'amiante à partir des paramètres dimensionnels des fibres détectées dans les échantillons (fournis par le logiciel de l'analyse automatique des images) et la densité (pour l'antigorite 2.6 g/cm³).

La masse de fibres ainsi calculée, bien qu'affectée par une erreur importante, est comparable pour les trois échantillons (75% ± 9 pour 6A2, 62% ± 17 pour 35A4 et 85% ± 12 pour 13A1).

Cette représentation met peut être également en évidence une différence, dans la morphologie ou dans les propriétés de surface, de 6A2 et 35A4, qui est détectée par les macrophages, mais pas par les cellules épithéliales, et qui mériterait d'être investiguée. En effet, 6A2 et 35A4 ont des effets comparables sur les A549, alors qu'on observe des différences remarquables sur les MH-S.

La cytotoxicité de ces deux échantillons est inférieure à celle du chrysotile sur les deux types de cellules. En effet, arriver aux mêmes effets cytotoxiques requiert une masse de fibres d'antigorite environ deux fois supérieure

Enfin, 6A2 et 35A4 induisent un stress oxydant (production d'espèces réactives de l'oxygène, diminution du glutathion intracellulaire, dommage aux lipides des membranes) seulement à la dose la plus élevée qui correspond à environ 90 µg/ml de fibres pour 6A2 et 75 µg/ml pour 35AA, alors qu'il suffit de 30 µg/ml de chrysotile pour déclencher les mêmes effets.

5.4.1.1. Comportement de l'antigorite à la suite de sollicitations mécaniques

L'étude a été conduite sur l'échantillon 6A2 qui est un des plus actifs dans l'induction d'effets cellulaires. 6A2 a été soumis à des opérations de broyage pour des périodes de temps croissants (de 0.5 à 20 min). Les temps de broyage courts (30 secondes et 5 minutes) ont pour but de reproduire les sollicitations mécaniques qui pourraient se produire au cours d'excavations. Les temps plus longs (20 min) sont nécessaires pour réduire la quantité de fragments fibriformes afin de comparer la réactivité de surface et les effets cellulaires d'échantillons de forme diverse mais de composition chimique identique.

La réactivité de surface a été évaluée en terme de capacité à catalyser la production de radicaux hydroxyle, à réagir avec le glutathion et vis-à-vis de la quantité de fer biodisponible. La cytotoxicité et la capacité de stimuler la production de ROS et de NO dans les macrophages alvéolaires ont été aussi étudiées.

La figure 117 montre l'évolution de la quantité de fibres et de particules en fonction du temps de broyage.

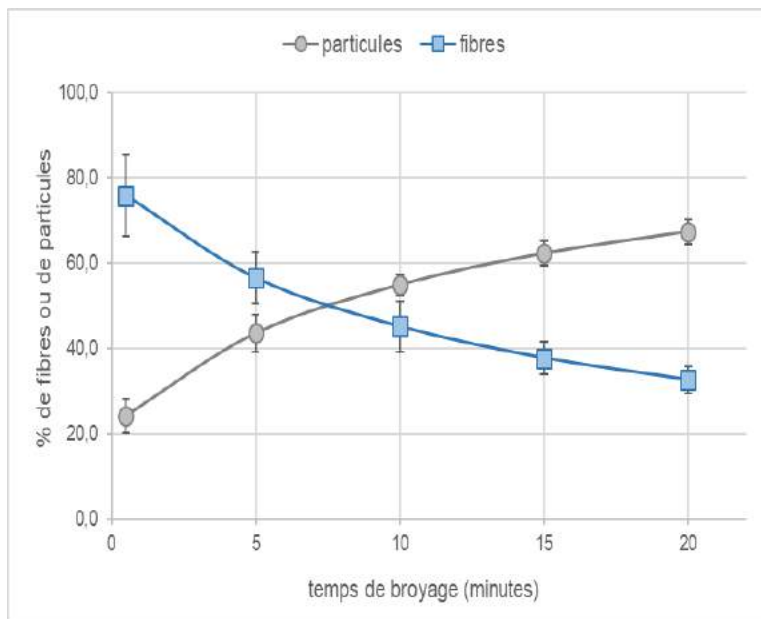


Figure 117 : Evolution de la quantité de fibres et de particules en fonction du temps de broyage. Le broyage a été conduit dans un vibro-broyeur (MM200; Retsch). L'analyse dimensionnelle a été effectuée par un système automatique d'analyses d'images (FPIA 3000; Malvern)

Comme prévu, la quantité de fibres diminue sensiblement au cours du broyage. L'échantillon broyé pendant quelques secondes contient 75% de particules de forme fibreuse. Ce pourcentage tombe à 45% environ après 5 minutes (Figure 117) et diminue encore lorsqu'on prolonge la durée du broyage. Toutefois, même après 20 min l'échantillon contient encore un pourcentage important de structures allongées (environ 27%) ayant les caractéristiques dimensionnelles des fibres respirables au sens de l'OMS. Le broyage entraîne une forte réduction de la quantité de fibres avec $L > 10 \mu\text{m}$, qui représentent environ 60% de l'échantillon broyé pendant un court laps de temps et seulement 25% de celui broyé pendant 5 min. Cette diminution est accompagnée d'une augmentation des fragments fibreux très courts ($L < 5 \mu\text{m}$) ainsi que des particules (Table 14), alors que la fraction ayant $5 < L < 10 \mu\text{m}$ demeure presque inchangée. Le broyage provoque une diminution des quantités de fibres non respirables et respirables, ce qui confirme qu'à la suite de contraintes mécaniques l'antigorite se fracture transversalement.

Tableau 14 : Distribution des structures de forme allongée dans les différentes classes dimensionnelles

		L<5	5<L<10	10<L<20	L>20	Totale
Broyé 30 sec	Totale	3.5	13	32	27	75.5
	<i>Respirable</i>	3.5	13	24	7	47.5
	<i>Non respirable</i>	0	0	8	20	28
Broyé 5 min	Totale	10.5	12	14	10	46.5
	<i>Respirable</i>	10.5	12	10	3	35.5
	<i>Non respirable</i>	0	0	4	7	11
Broyé 10 min	Totale	13	11	12	9	45
	<i>Respirable</i>	13	11	7	1.5	32.5
	<i>Non respirable</i>	0	0	5	6.5	11.5
Broyé 15 min	Totale	10.5	11	11	5.5	38
	<i>Respirable</i>	10.5	11	7	1	29.5
	<i>Non respirable</i>	0	0	4	4.5	8.5

Broyé 20 min	Totale	12	9.5	8	3	32.5
	<i>Respirable</i>	12	9.5	5	0.5	27
	<i>Non respirable</i>	0	0	3	2.5	5.5

Les échantillons broyés montrent une réactivité similaire face à la production de radicaux hydroxyle (Figure 118), alors que la quantité de fer bio-disponible augmente surtout en milieu acide et pour longs temps de broyage (Figure 119). Un accroissement de la réactivité envers le GSH est aussi perceptible (Figure 120). Ces derniers effets sont probablement liés à l'augmentation de la surface exposée, ce qui facilite l'interaction avec les molécules environnantes.

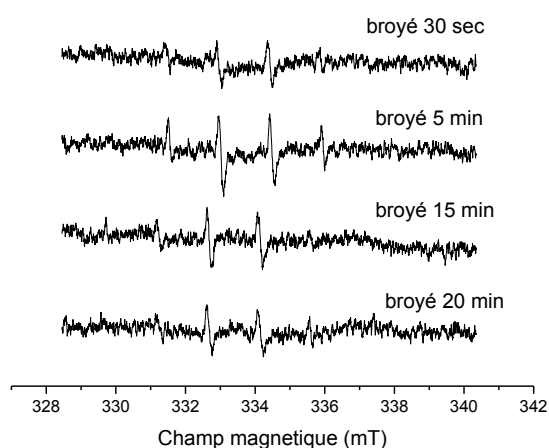


Figure 118 : Réactivité de l'antigorite broyée face à la génération de radicaux OH. L'activité radicalaire a été évaluée en milieu acellulaire avec la technique du spin trapping associée à la spectroscopie RPE. Les quatre raies identifient le radical hydroxyle. Leur intensité est proportionnelle à la quantité de radicaux générés

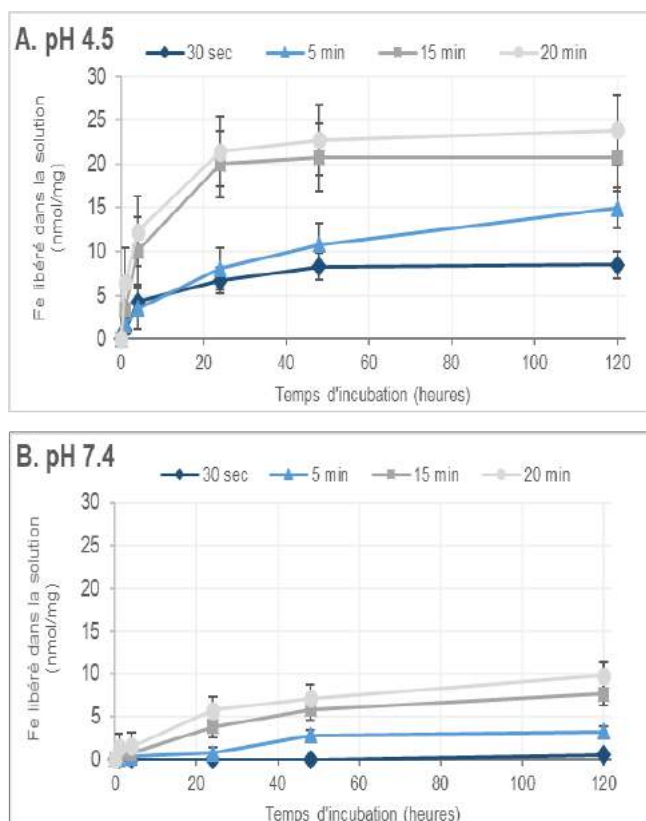


Figure 119 : Quantité de fer libéré en solution (Fe biodisponible) après incubation des échantillons broyés en milieu acide (A) et en milieu neutre (B). Le dosage du fer a été effectué par voie spectrophotométrique ($\lambda=562$ nm) sur le surnageant obtenu après incubation des fibres avec un agent chélateurs (ferrozine) à pH 4.5 ou à pH 7.4

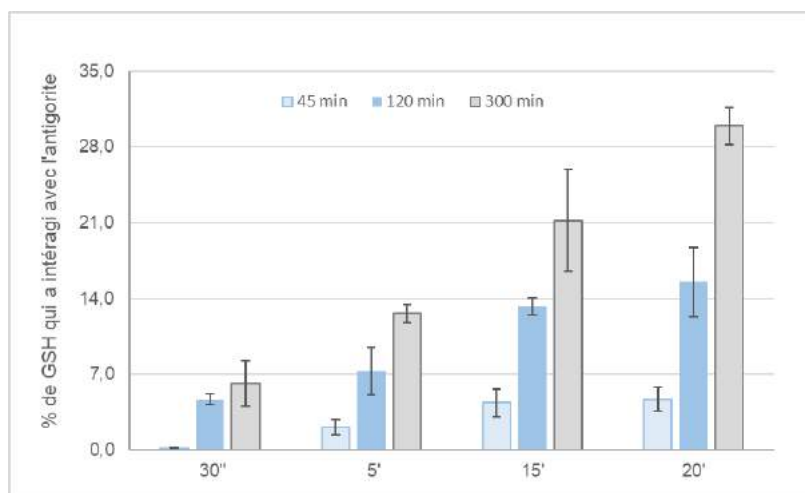


Figure 120 : % de glutathion (GSH) qui a interagit avec la surface des fibres. Le dosage a été effectué par voie spectrophotométrique en évaluant la diminution de l'absorbance d'une solution de GSH ($\lambda=412$ nm en présence du réactif d'Ellman) à pH 7.4 après incubation avec les échantillons

En dépit de la différence de quantité de fragments de forme fibreuse, les échantillons ne diffèrent pas 1) dans la cytotoxicité (Figure 121) sur les cellules épithéliales alvéolaires et les macrophages, 2) dans la capacité de stimuler la production de ROS (Figure 122) et 3) d'induire des effets pro-inflammatoires (production de NO) dans les macrophages (Figure 123).

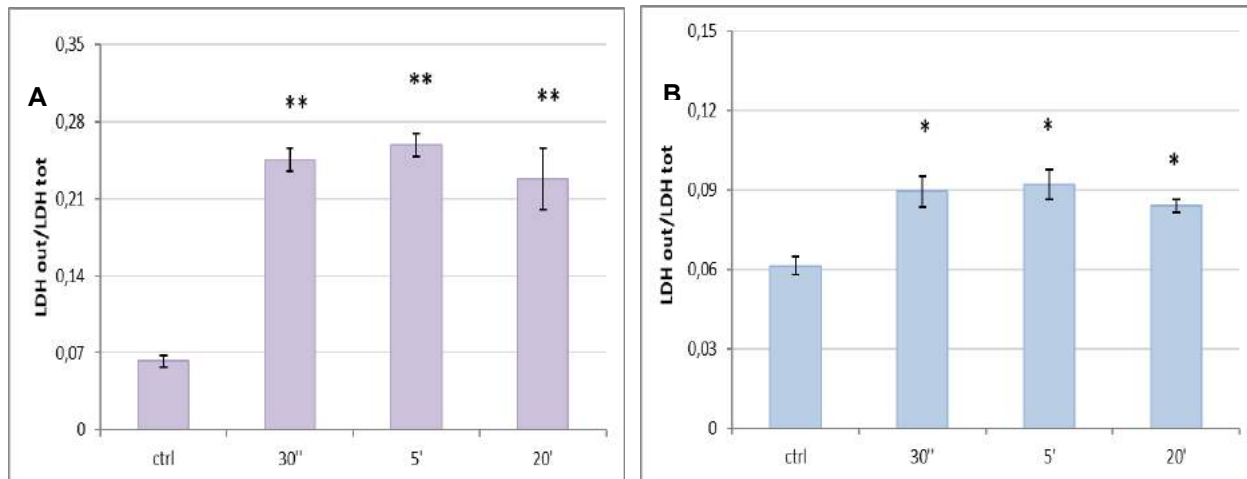


Figure 121 : Effet du broyage sur la cytotoxicité de l'antigorite: quantité de LDH relevé dans le milieu de culture de (A) cellules épithéliales alvéolaires (A549) et (B) macrophages alvéolaires (MH-S) après incubation pendant 24h avec 120 $\mu\text{g/ml}$ d'antigorite 6A2 broyée pendant 30 secondes, 5, ou 20 minutes.

Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne \pm SEM ($n = 3$). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl) : * $p < 0.05$, ** $p < 0.0001$

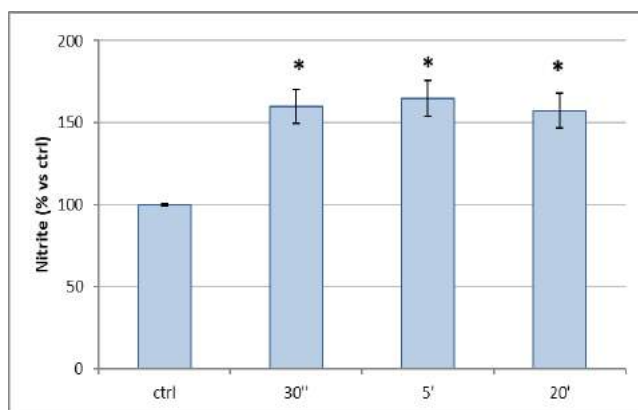


Figure 122 : Effet du broyage sur l'activité pro-inflammatoire de l'antigorite: quantité de NO produite dans macrophages alvéolaires (MH-S) après 24 h d'incubation avec 120 µg/ml d'antigorite 6A2 broyée pendant 30 secondes, 5, ou 20 minutes. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3). Les astérisques indiquent que les moyennes sont significativement différentes de celle des cellules non incubées (ctrl): *p<0.05

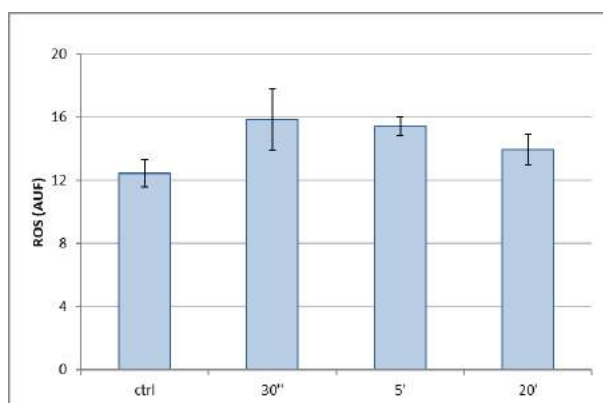


Figure 123 : Effet du broyage sur la production de ROS chez de macrophages alvéolaires (MH-S) exposés pendant 24h à 120 µg/ml d'antigorite 6A2 broyée pendant 30 secondes, 5, ou 20 minutes. Les mesures ont été effectuées en double et les données sont présentées sous forme de moyenne ± SEM (n = 3).

CONCLUSION TACHE 3

L'impression qui se dégage de cette étude est assez complexe, surtout à cause d'une importante variabilité des effets cellulaires résultant des 3 échantillons d'antigorite calédonienne. Deux sont actifs pour certains tests et l'autre demeure complètement inactif. Les trois échantillons, qui diffèrent par leur niveau d'altération, sont constitués par un mélange complexe de structures fibreuses et de cristaux prismatiques, mais contiennent presque le même nombre de fibres.

Les deux plus altérés (6A2 et 35A4, contenant environ la moitié de fibres) sont cytotoxiques, induisent un stress oxydant ainsi que la libération d'agents cytotoxiques et pro inflammatoires (NO), endommagent l'ADN dans les cellules épithéliales alvéolaires et activent les macrophages. La plupart de ces effets est provoqué seulement par une quantité élevée d'échantillon (4 fois plus élevée que la dose, mesurée par masse, de chrysotile). D'ailleurs, au contraire du chrysotile, ils ne sont pas actifs dans certains tests. Ils ne catalysent pas la formation de radicaux carboxyles dans les tests cell-free et ils ne sont pas capables d'altérer certaines voies métaboliques comme celles des pentose phosphates, ce qui peut être mis en relation avec l'activité inférieure dans la production intracellulaire de ROS (reactive oxydant species). L'échantillon le moins altéré (13A1), au contraire, ne déclenche aucune réaction dans les cellules, mais cette inactivité ne peut pas être associée à une absence de fibres. En effet, 13A1 contient une fraction importante (57% environ) de fragments avec rapport d'allongement >3, mais est caractérisé par une très faible réactivité de surface. La quasi-absence de fer biodisponible, la très faible réactivité dans la génération de radicaux libres et dans l'interaction avec les molécules antioxydantes peuvent expliquer l'absence d'effets cellulaires. De la même façon, les fibres de verre, employées comme témoin négatif, ont une faible réactivité de surface (Tomatis et al., 2010) et ne produisent pas d'effet chez les cellules pulmonaires, en dépit de leur morphologie.

Il convient de rappeler, à propos du rôle de la forme fibreuse dans la toxicité, que des paramètres clairement très importants dans les tests in vivo, ne sont pourtant pas aussi primordiaux dans certains tests in vitro. En effet, le comportement aérodynamique des particules de forme allongée est plus complexe que celui des particules isométriques. L'efficacité de dépôt des fibres dans la région nasale est généralement inférieure à celle des particules sphériques avec un diamètre aérodynamique comparable. Cela augmente la probabilité de pénétration des fibres dans le poumon. En plus, les fibres, surtout les fibres longues, sont moins aisément phagocytées par les macrophages (phagocytose frustrée) et donc peuvent rester pour longtemps au contact des cellules cibles. À ce niveau les caractéristiques de la surface jouent un rôle très important. Dans les tests cellulaires les fibres ne doivent pas pénétrer dans le poumon pour entrer en contact avec les cellules cibles. Les effets que l'on observe sont vraisemblablement le résultat des réactions qui ont lieu à l'interface fibre-cellule, et qui sont principalement réglées par les caractéristiques de la surface, et le phénomène de phagocytose frustrée.

Pour clarifier le rôle de la fraction fibreuse dans les réponses cellulaires observées, on a soumis l'échantillon 6A2 à un broyage à des temps croissants.

A la suite du broyage on observe une réduction progressive de la quantité de fibres, surtout de celles longues, soit respirables ($D < 3 \mu\text{m}$) ou non respirables, ce qui confirme que l'antigorite se fracture transversalement et perd le caractère fibreux.

Cependant, après 20 min de broyage le pourcentage de structures allongées répondant aux caractéristiques morphométriques des fibres au sens de l'OMS, reste significatif (environ 30% par rapport au 75% dans l'échantillon peu broyé). Le changement dans la quantité de fibres ne produit aucun effet sur les réponses cellulaires. Au contraire, la quantité de fer biodisponible et la capacité de réagir avec des molécules antioxydantes augmentent lorsque 6A2 est broyé, probablement à cause d'une augmentation de la surface exposée.

Enfin, après incubation dans des solutions qui simulent les fluides biologiques, au contraire du chrysotile pour lequel il y a une large libération sélective des ions Mg par rapport au Si, qui amène à une progressive déstabilisation de la structure, les antigorites montrent une faible dissolution congruente liée à une plus grande stabilité de la structure.

En synthèse, l'ensemble de tests cellulaires et acellulaires effectués au cours de cette étude, montrent que :

-) « le potentiel toxique in vitro » varie d'une source d'antigorite à l'autre
-) deux antigorites sont actives dans la plupart des tests
-) dans les tests où les deux antigorites sont actives pour atteindre les effets déclenchés par le chrysotile, il est nécessaire d'utiliser une dose en masse d'antigorite, dont la moitié en fibres, 4 fois supérieure
-) « le potentiel toxique in vitro » ne dépend pas seulement de la présence de fibres puisqu'il y a des sources d'antigorite fibreuse qui n'induisent pas d'effets cellulaires
-) la faible dissolution dans des solutions qui simulent les fluides biologiques pourrait contribuer à une biopersistence in vivo plus élevée pour l'antigorite par rapport au chrysotile

Enfin, il faut souligner qu'il est nécessaire de tester d'autres échantillons afin de vérifier si l'absence de réactivité, observée soit dans les tests cell-free soit dans les tests cellulaires, de l'échantillon fibreux 13A1 est une caractéristique commune aux antigorites peu altérées, de degré d'altération#1.

6. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le programme CNRT Amiante et Bonnes Pratiques a permis d'acquérir une quantité très importantes de données scientifiques particulièrement novatrices. Plus de 1200 analyses ont été réalisées, au travers de 12 techniques analytiques différentes, et ce pour une durée de programme de 18 mois. Les valorisations scientifiques déjà réalisées montrent l'intérêt de la communauté scientifique pour ces résultats.

Le programme Amiante et Bonnes Pratiques apporte de nombreuses données novatrices qui permettront de progresser vers une meilleure évaluation du risque sanitaire lié à la présence d'amiante environnemental sur sites miniers néo-calédoniens.

L'utilisation de la nomenclature descriptive pour l'identification de la minéralogie et du degré d'altération, donc du potentiel d'émission des fibres dans l'environnement, n'est pas suffisamment performante. Une approche analytique est indispensable.

Parmi les techniques analytiques de détermination de la minéralogie des asbestes testées dans le programme ABP, la spectrométrie Raman portable est performante pour individualiser chaque espèce, quel que soit le degré d'altération. Son utilisation sur mine, directement à l'affleurement est simple, rapide et ne requiert pas une grande qualification de l'utilisateur.

La microscopie optique en lumière polarisée sous contraste de phase, apparaît comme complémentaire de la spectrométrie Raman portable, et apporte à la fois une identification minéralogique ainsi que des informations morphologiques sur les fibres. Cette technique n'est pas une technique de terrain, mais l'installation d'un poste de microscopie optique en lumière polarisée sous contraste de phase sur mine (et non à l'affleurement) est relativement simple (espace dans un container).

La diffraction des rayons X est une technique qui est disponible sur le territoire calédonien. Les premiers tests réalisés dans le programme Amiante et Bonnes Pratiques sur les asbestes néo-calédoniens semblent indiquer qu'elle pourrait apporter une information quantitative sur les mélanges de phases de minéraux asbestiformes. Les premiers essais par diffusion statique de lumière ouvrent des perspectives pour l'obtention des paramètres de distribution en taille.

Il faut noter également que les analyses en diffraction de rayon X et les images en microscopie électronique à balayage de minerais de Nickel (latérites, standards calédoniens) identifient une contamination par des serpentines sous forme fibreuse (chrysotile/antigorite).

L'altération chimique, liée à la circulation d'eau, dans les conditions de surface, influence la quantité de fibres émises par les minéraux asbestiformes, même en l'absence de toute contrainte mécanique. Les réactions mises en jeu sont rapides, à l'échelle de quelques heures et durables dans le temps. Ces résultats permettent de conclure que l'état d'altération d'un affleurement de minéraux asbestiformes évolue dans le temps, indépendamment de toute manipulation, et à une échelle temporelle rapide.

La première étude toxicologique menée sur les échantillons calédoniens, montre que des antigorites fibreuses à partir d'un degré d'altération #2, présentent des caractères de toxicité similaires à ceux obtenus à partir du standard de chrysotile UICC. Il faut cependant une masse d'échantillon d'antigorite, dont la moitié sous forme fibreuse, 4 fois supérieure à celle

du chrysotile 100% fibreux, pour obtenir les mêmes effets toxiques. Une antigorite fibreuse de degré d'altération #1 ne provoque pas de réaction cellulaire.

Pour améliorer davantage les pratiques sur site minier face à la présence d'amiante environnemental, pour adapter les plans de prévention et pour mieux estimer les risques encourus par les personnels, il serait nécessaire de compléter ces premières données sur la toxicologie de l'antigorite calédonienne. L'absence de toxicité de l'antigorite de niveau d'altération#1 doit être confirmée à partir d'autres antigorites calédoniennes de même degré d'altération. La vérification de la pertinence de son classement en tant qu'amiante dans la législation requiert de compléter les expériences in vitro. Sur la base des résultats ainsi acquis, des expérimentations in vivo seront indispensables pour confirmer que l'antigorite présente des propriétés toxiques d'amiante. Il serait également intéressant de comparer les propriétés de toxicité des trémolites et des chrysotiles calédoniens avec les amiantes connues et étudiées par ailleurs.

Au cours du programme Amiante et Bonnes Pratiques un algorithme de reconnaissance automatique du nombre de formes fibreuses et de leurs paramètres morphologiques à partir d'image des filtres bruts, a été développé. Il serait nécessaire d'étendre cette approche par l'acquisition automatisée des images, afin de tester les performances et la robustesse de l'algorithme sur une plus grande quantité de données.

Le programme Amiante et Bonnes Pratiques n'a pas abordé la quantification de l'exposition des travailleurs en présence d'affleurement d'asbestes. Nos expériences ont démontré que l'altération exogène, indépendamment de toute contrainte mécanique, augmente la capacité de libération des fibres et fibrilles, pour des cinétiques très courtes. Il reste cependant à définir leur capacité de dispersion/dissolution dans les compartiments air et eau (transport des fibres, à distance de la source). Il serait ainsi nécessaire de continuer à étudier l'impact de l'altération de surface sur les différentes textures des minéraux asbestiformes calédoniens.

7. BIBLIOGRAPHIE

- Addison J., Davies, L. S. T., (1990). Analysis of amphibole asbestos in chrysotile and other minerals. *The Annals of Occupational Hygiene*, 34(2), 159-175
- Andreani M., Grauby O., Baronnet A., Muñoz M., (2008). Occurrence, composition and growth of polyhedral serpentine. *Eur. J. Mineral.*, 20, 159–171
- Al-Khribash, S., Semhi, K., Richard, L., Nasir, S., & Al-Harthy, A. (2014). Rare earth element mobility during laterization of mafic rocks of the Oman ophiolite. *Arabian Journal of Geosciences*, 7(12), 5443–5454.
- Apollaro, C., Marini, L., Critelli, T., Barca, D., Bloise, A., De Rosa, R., Miriello, D. (2011). Investigation of rock-to-water release and fate of major, minor, and trace elements in the metabasalt-serpentinite shallow aquifer of Mt. Reventino (CZ, Italy) by reaction path modelling. *Applied Geochemistry*, 26(9–10), 1722–1740.
- Audet, M.-A. (2008). Le massif du Koniambo, Nouvelle-Calédonie Formation et obduction d'un complexe ophiolitique du type SSZ. Enrichissement en nickel, cobalt et scandium dans les profils résiduels, 1–327.
- Auzende, A-L., Daniel, I., Reynard, B., Lemaire, C., Guyot, F. (2004). High-pressure behaviour of serpentine minerals: a Raman spectroscopic study. *Phys Chem Minerals*, 31, 269–277
- Bohren, C.F., and Huffman, D. R., (1998). Absorption and scattering of light by small particles, Wiley-Interscience, New York.
- Braun, J. J., Pagel, M., Muller, J. P., Bilong, P., Michard, A., & Guillet, B. (1990). Cerium anomalies in lateritic profiles. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 54(3), 781–795.
- Braun JJ, Pagel M, Herbillon A, Rosin C (1993) Mobilization and redistribution of REEs and thorium in a syenitic lateritic profile: a mass balance study. *Geochim Cosmochim Acta* 57:4419–4434
- Braun JJ, Viers J, Dupré B, Polve M, Ndam J, Muller JP (1998) Solid/liquid REE fractionation in the lateritic system of Goyoum, East Cameroon: the implication for the present dynamics of the soil covers of the humid tropical regions. *Geochim Cosmochim Acta* 62:273–299
- Cannaò, E., Scambelluri, M., Agostini, S., Tonarini, S., & Godard, M. (2016). Linking serpentinite geochemistry with tectonic evolution at the subduction plate-interface: The Voltri Massif case study (Ligurian Western Alps, Italy). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 190, 115–133.
- Capitani C.C., Mellini, M., (2006). The modulated crystal structure of antigorite: the $m = 17$ polysome. *American Mineralogist*, 91, 1831-1838
- Clayton, J.L., (1986). An estimate of plagioclase weathering rate in the Idaho Batholith based upon geochemical transport rates. In: Colman, S.M., Dethier, D.P. (Eds.), *Rates of Chemical Weathering of Rocks and Minerals*. Academic Press, Orlando, pp. 453–467.

- Crabbe, J. V., Knott, M. J., (1966). Application of x-ray diffraction to the determination of chrysotile in bulk or settled dust samples. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 27(4), 383-387
- Critelli, T., Marini, L., Schott, J., Mavromatis, V., Apollaro, C., Rinder, T., ... Oelkers, E. H. (2014). Dissolution rates of actinolite and chlorite from a whole-rock experimental study of metabasalt dissolution from $2 \leq \text{pH} \leq 12$ at 25°C . *Chemical Geology*, 390, 100–108.
- Critelli, T., Marini, L., Schott, J., Mavromatis, V., Apollaro, C., Rinder, T., ... Oelkers, E. H. (2015). Dissolution rate of antigorite from a whole-rock experimental study of serpentinite dissolution from $2 \leq \text{pH} \leq 9$ at 25°C : Implications for carbon mitigation via enhanced serpentinite weathering. *Applied Geochemistry*, 61, 259–271.
- Deschamps, F., Godard, M., Guillot, S., & Hattori, K. (2013). Geochemistry of subduction zone serpentinites: A review. *Lithos*, 178, 96–127.
- Donaldson, K., Murphy, F. A., Duffin, R., & Poland, C. A. (2010). Asbestos, carbon nanotubes and the pleural mesothelium: a review of the hypothesis regarding the role of long fibre retention in the parietal pleura, inflammation and mesothelioma. *Particle and fibre toxicology*, 7(1), 5.
- Dublet, G., Juillot, F., Morin, G., Fritsch, E., Fandeur, D., & Brown, G. E. (2015). Goethite aging explains Ni depletion in upper units of ultramafic lateritic ores from New Caledonia. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 160, 1–15.
- Dunn, H.W et Steward, JH. Jr, (1982). Determination of chrysotile in building materials by X-ray Diffractometry. *Anal. Chem.*, 54, 1122-1125
- Evans, B. W., Hattori, K., Baronnet, A., (2013). Serpentine: What, Why, Where?, *ELEMENTS*, 9, 99–106
- Ferrari M. and Lutterotti, L. (1994). Method for the simultaneous determination of anisotropic residual stresses and texture by X-ray diffraction. *J. Appl. Phys.*, 76 (11), 7246-55
- Fiantis, D., Nelson, M., Shamshuddin, J., Goh, T. B., & Van Ranst, E. (2010). Determination of the geochemical weathering indices and trace elements content of new volcanic ash deposits from Mt. Talang (West Sumatra) Indonesia. *Eurasian Soil Science*, 43(13), 1477–1485.
- Foresti E., Gazzano M., Gualtieri A. F., Lesci I. G., Lunelli B., Pecchini G., Renna E., Roveri N., (2003). Determination of low levels of free fibres of chrysotile in contaminated soils by X-ray diffraction and FTIR spectroscopy. *Anal Bioanal Chem* 376 , 653–658
- Fubini B. and Otero-Arean C. (1999) Chemical aspects of the toxicity of inhaled mineral dusts, *Chem.Soc.Rev.*, 28, 373-381.
- Fubini B., Mollo L. and Giamello E. (1995) Free radical generation at the solid/liquid interface in iron containing minerals *Free Rad. Res.* 23, 593-614
- Gazzano E., Foresti E., Lesci I.G., Tomatis M., Riganti C., Fubini B., Roveri N., Ghigo D., (2005). Different cellular responses evoked by natural and stoichiometric synthetic chrysotile asbestos. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 206:356-364. [3.359]

- Gazzano E, Turci F, Foresti E, Putzu MG, Aldieri E, Silvagno F, Lesci IG, Tomatis M, Riganti C, Romano C, Fubini B, Roveri N, Ghigo D. (2007) Iron-loaded synthetic chrysotile: a new model solid for studying the role of iron in asbestos toxicity. *Chem Res Toxicol.* 2007 Mar;20(3):380-7.
- Grosso, C., Tomatis, M., Turci, F., Gazzano, E., Ghigo, D., Compagnoni, R., and Fubini, B. (2005) Potential toxicity of nonregulated asbestiform minerals: Balangeroite from the western Alps. Part 1: Identification and characterization. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A*, 68, 1–19.
- Grosso, C., and Compagnoni, R., (2007). Metamorphic veins from the serpentinites of the Piemonte Zone, western Alps, Italy: a review, *PERIODICO di MINERALOGIA*, 76, 127-153
- Grosso, C., Rinaudo, C, Cairo, S, Gastaldi, D, Compagnoni, R, (2016). Micro-Raman spectroscopy for a quick and reliable identification of serpentine minerals from ultramafics. *Eur. J. Mineral.*, 18, 319-329
- Gruau, G., Bernard-Griffiths, J., & Lécuyer, C. (1998). The origin of U-shaped rare earth patterns in ophiolite peridotites: assessing the role of secondary alteration and melt/rock reaction. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62(21–22), 3545–3560.
- Gualtieri, A. et Artioli, G., (1995). Quantitative determination of chrysotile asbestos in bulk materials by combined Rietveld and RIR methods. *Powder Diffraction*, 10 (4), 269-277
- Hardy J.A. and Aust A.E., 1995. Iron in asbestos chemistry and carcinogenicity. *Chem. Rev.* 95, 97-118.
- Hiraku, Y., Kawanishi, S., Ichinose, T., & Murata, M. (2010). The role of iNOS-mediated DNA damage in infection-and asbestos-induced carcinogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1203(1), 15-22.
- Huang, S. X., Jaurand, M. C., Kamp, D. W., Whysner, J., & Hei, T. K. (2011). Role of mutagenicity in asbestos fiber-induced carcinogenicity and other diseases. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 14(1-4), 179-245.
- Jaurand, M. C. (1997). Mechanisms of fiber-induced genotoxicity. *Environmental health perspectives*, 105(Suppl 5), 1073.
- Jaurand, M. C., & Lévy, F. (1999). Effets cellulaires et moléculaires de l'amiante.
- Kamp, D. W., and Weitzman, S. A. 1999 The molecular basis of asbestos induced lung injury. *Thorax*, 54, 638-652.
- Kierczak, J., Neel, C., Bril, H., & Puziewicz, J. (2007). Effect of mineralogy and pedoclimatic variations on Ni and Cr distribution in serpentine soils under temperate climate. *Geoderma*, 142(1–2), 165–177.
- Kumagai, H., Morishita, S., Kawabata, K., Asama, H., et Mishima, T., (2008). Accuracy Improvement of Counting Asbestos in Particles using a Noise Redacted Background Subtraction. *Multisensor Fusion and Integration for Intelligent Systems*

- Kuniaki Kawabata, Soichiro Morishita, Hiroshi Takemura, Kazuhiro Hotta, Taketoshi Mishima, Hajime Asama, Hiroshi Mizoguchi et Haruhisa Takahashi, (2009). Development of an Automated Microscope for Supporting Qualitative Asbestos Analysis by Dispersion Staining, *Journal of Robotics and Mechatronics*,
- Lawrence J. Marnett, *Lipid peroxidation and DNA damage by malondialdehyde*, Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, vol. 424, n° 1-2, 8 mars 1999, p. 83-95
- Manning, C. B., Vallyathan, V., & Mossman, B. T. (2002). Diseases caused by asbestos: mechanisms of injury and disease development. *International immunopharmacology*, 2(2), 191-200.
- Masson, O., (1998), *PEACKOC Profil fitting computer programme* SPCTS Limoges
- Mellini, M. (1986) Chrysotile and polygonal serpentine from the Balangero serpentinite. *Mineralogical Magazine*, 50, 301–305.
- Métayer, C., (2004), thèse de l'université Nice Sophia-Antipolis
- Mishchenko, M. I., Travis, L. D., (1994), T-matrix computations of light scattering by large spheroidal particles, *Optics Communications*, 109, 16-21
- Mossman BT, Landesman JM. (1983) Importance of oxygen free radicals in asbestos-induced injury to airway epithelial cells. *Chest*; 83:50s–1s.
- Myagkiy, A., Golfier, F., Truche, L., Cathelineau, M. (2017). Subsurface Reactive Transport Modelling of the Lateritic Ni mineralization in New Caledonia: A coupled Thermo-Hydro-Geochemical Approach, 19th EGU General Assembly, EGU2017, proceedings from the conference held 23-28 April, 2017 in Vienna, Austria., p.8841
- Pacella, A., Andreozzi, G. B., & Fournier, J. (2010). Detailed crystal chemistry and iron topochemistry of asbestos occurring in its natural setting: A first step to understanding its chemical reactivity. *Chemical Geology*, 277(3–4), 197–206.
- Park, A.H.A., Fan, L.S., (2004). CO₂ mineral sequestration: physically activated dissolution of serpentine and pH swing process. *Chem. Eng. Sci.* 59 (22–23), 5241–5247
- Petriglieri, J. R., Salvioli-Mariani, E., Mantovani, L., Tribaudino, M., Lottici, P., Laporte-Magoni, C. and Bersania, D (2015). Micro-Raman mapping of the polymorphs of serpentine. *J. Raman Spectrosc.*, 46, 953–958
- Petriglieri, J., R., (2017). Alteration of asbestiform minerals under sub-tropical climate: mineralogical monitoring and geochemistry. The example of new Caledonia, Université de Parme.
- Rohl, A.R. et Langer, A. M, (1974). Identification and quantitation of asbestos in talc. *Environmental health perspective*, 9, 95-109
- Rotstein, R., Berges, A., Mitragotri, S., Morse, D.E., Moskovits, M., (2016), Angle-dependent light scattering by highly uniform colloidal rod-shaped microparticles: Experiment and simulation, *Journal of polymer science, part B : polymer physics*, , 54, 1889–1895

- Rozalen, M., Ramos, M. E., Gervilla, F., Kerestedjian, T., Fiore, S., & Huertas, F. J. (2014). Dissolution study of tremolite and anthophyllite: PH effect on the reaction kinetics. *Applied Geochemistry*, 49, 46–56.
- Saffiotti U (1996) Alveolar type II cells at the crossroad of inflammation, fibrogenesis, and neoplasia. *American Journal of Pathology*, 149:1423-1426
- Schäfer, J., Lee, S.-C., and Kienle, A., (2012). Calculation of the near fields for the scattering of electromagnetic waves by multiple infinite cylinders at perpendicular incidence, *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Trans.*, 113(16)
- Searl A, Buchanan D, Cullen RT, Jones AD, Miller BG, Soutar CA (1999): Biopersistence and durability of nine mineral fiber types in rat lungs over 12 months. *Ann. Occup. Hyg.* 43(3), 143–153
- Stanton, M.F., Layard, M., Tegeris, A., Miller, E., Margaret, M., Kent, E. (1981).Relation of particles dimension to carcinogenicity in amphibole asbestoses and fibrous minerals. *JNCI* 67, 965–975.
- Tomatis M., Prandi I., Bodoardo S., Fubini B., (2002). Loss of surface reactivity upon heating amphibole asbestos. *Langmuir* 18, 4345-4350
- Tomatis, M., Turci, F., Ceschino, R., Riganti, C., Gazzano, E., Martra, G., & Fubini, B. (2010). High aspect ratio materials: role of surface chemistry vs. length in the historical “long and short amosite asbestos fibers”. *Inhalation toxicology*, 22(12), 984-998.
- Turci F., Tomatis M., Lesci I.G., Roveri N., Fubini B. (2011). The iron-related molecular toxicity mechanism of synthetic asbestos nanofibres: a model study for high-aspect-ratio nanoparticles, *Chemistry-A European Journal* , 7: 350- 358.
- Uehara, S., (1998). TEM and XRD study of antigorite superstructures. *The Canadian Mineralogist*, 36, 1595-1605
- Ulrich, M. (2010). Péridotites et serpentinites du complexe ophiolitique de la Nouvelle-Calédonie.
- Ulrich, M., Muñoz, M., Guillot, S., Cathelineau, M., Picard, C., Quesnel, B., Couteau, C. (2014). Dissolution-precipitation processes governing the carbonation and silicification of the serpentinite sole of the New Caledonia ophiolite. *Contributions to Mineralogy and Petrology*, 167(1), 1–19.
- U.S. Environmental Protection Agency (US EPA) (1986). Airborne Asbestos Health Assessment Update. EPA/600/8-84/003F, Office of Health and Environmental Assessment, Washington, DCd
- Viers J, Wasserburg GJ (2004) Behavior of Sm and Nd in a lateritic soil profile. *Geochim Cosmochim Acta* 68:2043–2054
- Wagner, J. (2015) Analysis of serpentine polymorphs in investigations of natural occurrences of asbestos. *Environmental science. Processes & impacts*, 17, 985–96.
- Wicks, F.J., and Plant, A.G. (1979) Electron-Microprobe and X-Ray-Microbeam studies of serpentine textures. *Canadian Mineralogist*, 17, 785–830.

Zhang, L., Holt, CMB., Lubner, EJ., Olsen, BC., Wang, H., Danaie, M., Cui, X., Tan, X., Lui, V., Kalisvaart, WP. and Mitlin, D., (2011). Fundamental insight into Zr-modification of Li- and Mn-rich (LMR) cathodes: combined TEM and EIS study. *Journal of Physical Chemistry C*, 115, 24381-24393

8. VALORISATION

8.1. CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES:

Petriglieri, J. R., Laporte-Magoni, C., Salvioli-Mariani, E., Tomatis, M., Gazzano, E., Gunkel-Grillon, P., Turci, F., Cavallo, A., Fubini, B., (2018). Not-Regulated Mineral Fibers. From the Identification to the Toxicity of Fibrous Antigorite from New Caledonia. Engineering Geology for a sustainable world, XIII IAEG, Congress, San Francisco

Petriglieri, J. R., Laporte-Magoni, C., Salvioli-Mariani, Sala, O., Gunkel-Grillon, P., Tribaudino, M., Bersani, D., Cavallo, A., (2018). Environmental Risk of Fibrous Minerals in New Caledonia: a Monitoring Strategy. Engineering Geology for a sustainable world, XIII IAEG, Congress, San Francisco

Folcher N., Juillot F., Lesimple S., Meyer M., David M., Robineau B. and Fritsch E. Natural occurrence and crystal-chemistry of chrysotile in relation with ultramafic rocks in New Caledonia. XXII Meeting of the International Mineralogical Association (IMA2018), 13-17 August 2018, Melbourne, Australia.

Petriglieri, J. R., Laporte-Magoni, C., Salvioli-Mariani, E., Gunkel-Grillon, P., Le Mestre, M., Bersani, D., (2018). The impact of supergene alteration on morphological features of asbestos and fibrous minerals under sub-tropical climate. XXII Meeting of the International Mineralogical Association (IMA2018), 13-17 August 2018 Melbourne, Australia.

Petriglieri, J. R., Laporte-Magoni, C., Salvioli-Mariani, E., Gunkel-Grillon, P., Bersani, D., Sala, O., Vigliaturo, R., (2018). Fibrous Antigorite from New Caledonia. A mineralogical identification issue in the plan prevention of mining companies. XXII Meeting of the International Mineralogical Association (IMA2018), 13-17 August 2018 Melbourne, Australia.

Laporte-Magoni, C., Petriglieri, J., R., Gunkel-Grillon, P., Salvioli-Mariani, E., Selmaoui-Folcher, N., Le Mestre, M., (2018). Weathering Influence on fiber release of asbestos type minerals under subtropical climate. XXII Meeting of the International Mineralogical Association (IMA2018), 13-17 August 2018 Melbourne, Australia.

Tomatis, M., Gazzano, E., Aldieri, E., Turci, F., Fubini, B. and Laporte-Magoni, C., (2018). Potential toxicity of fibrous antigorite from New Caledonia: variability and similarities with chrysotile asbestos. XXII Meeting of the International Mineralogical Association (IMA2018), 13-17 August 2018 Melbourne, Australia.

Petriglieri, J. R., Laporte-Magoni, C., Salvioli-Mariani, E., Tribaudino, M., Gunkel-Grillon, P., Le Mestre, M., Mantovani, L., Cavallo, A., Bersani, D., (2018). Identification of mineral fibres in mining context using a portable/handheld Raman spectrometer. XIII GeoRaman Conference, Catania – June 10-14 2018

Petriglieri, J. R., Alteration of asbestiform minerals under sub-tropical climate : mineralogical monitoring and geochemistry. Thèse en co-tutelle : Université de Parme/Université de la Nouvelle-Calédonie (ISEA).

Petriglieri, J. R., Laporte-Magoni, C., Salvioli, E., Gunkel-Grillon, P., Tribaudino, M., Bersani, D., Lottici, P.P., Gandolfi, N. B., (2017). Fibrous minerals in New Caledonia: a comparison of different analytical strategies for environmental monitoring. Societa geologica Italia, Roma, Congresso SIMP-SGI-SOGEI, AIV.

Petriglieri, J. R., Laporte-Magoni, C., Salvioli-Mariani, E., Gunkel-Grillon, P., Tribaudino, M., Mantovani, L., Bersani, D., Lottici, P., P., and Tomatis, M., (2017). Monitoring environmental risk in fibrous minerals in New Caledonia: a comparison between different analytical methods. Geophysical Research Abstracts, Vol. 19, EGU2017.

Gazzano E., Aldieri E., Riganti, C., Tomatis, M., Turci, F., Fubini, B. (2017) Environmental exposure to asbestiform minerals: A multidisciplinary approach to the hazard evaluation. Society for Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Australasia Conference, Gold Coast

Petriglieri J.R., Tribaudino M., Salvioli-Mariani E., Mantovani L., Bersani D., Lottici P.P., Tomatis M., & Laporte-Magoni C. A survey of asbestos minerals in New Caledonia: previous results. Conference: EMC 2nd European Mineralogical Conference, 2016, At Rimini, Italy

8.2. CONFÉRENCES GRAND PUBLIC :

Pr Fubini, B., (Décembre, 2017). A la recherche des propriétés physico chimiques à la base de la variabilité de la toxicité des poussières de silice: une longue histoire encore à compléter, Université de la Nouvelle-Calédonie.

Elena Gazzano, (Juillet 2017). Environmental exposure to asbestiform minerals: A multidisciplinary approach to the hazard evaluation. Conférence Université de la Nouvelle-Calédonie.

9. ANNEXES

ANNEXE 1

Echantillon	Masse (g)	Abréviation utilisée	Coordonnées GPS	
			X	Y
1-Kouaoua-Piste-Antg4	484,6	1A4	377563	311934
2-Kouaoua-Piste-Antg4	364,2	2A4	377563	311934
3-Tontouta-module1-Antg2	694,3	3A2	436509	254397
4-Tontouta-module1-Antg2	269,5	4A2	436509	254397
5-Tontouta-module1-Antg2	387,3	5A2	436509	254397
6-Tontouta-module4-Antg2	127,2	6A2	436618	253286
7-Tontouta-module1-Antg2	171,9	7A2	436509	254397
8-Tontouta-module4-Antg4	437,7	8A4	436618	253286
9-Tontouta-module1-Antg2	226,7	9A2	436509	254397
10-Tontouta-module1-Antg4	216	10A4	436509	254397
11-Kouaoua-Piste-Antg1	817,5	11A1	377563	311934
12-Tontouta-module1-Antg4	456,2	12A4	436509	254397
13-Tontouta-module4-Antg1	369	13A1	436618	253286
14-Kouaoua-piste-Antg2	232,5	14A2	377563	311934
15-Tontouta-module4-Antg?4	92,7	15A?4	436618	253286
16-Tontouta-module4-Antg?2	233,5	16A2	436618	253286
17-Tontouta-module1-Antg4	97,2	17A4	436509	254397
18-Kouaoua-piste-Antg2	1052,2	18A2	377563	311934
19-Tontouta-module4-Antg1	725,2	19A1	436618	253286
20-Kouaoua-Fosse-Antg2	267,9	20A2	377282	314341
21-Kouaoua-Piste-Antg4	89,8	21A4	377563	311934
22-Kouaoua-Fosse-Antg4?	263,4	22A4?	377282	314341
23-Tontouta-Module1-Antg1	251,5	23A1	436509	254397
24-Tontouta-Module1-Antg4	62,7	24A4	436509	254397
25-Tontouta-module1-Antg4	115,2	25A4	436509	254397
26-Tontouta-module1-Antg4	130,4	26A4	436509	254397
27-Tontouta-module1-Antg2	171,2	27A2	436509	254397
28-Tontouta-module1-Antg1	226,6	28A1	436509	254397
29-Tontouta-Module4-Antg2	368	29A2	436618	253286
30-Tontouta-Module4-Antg1	366,2	30A1	436618	253286
31-Kouaoua-piste-Antg2	686,3	31A2	377563	311934
32-Kouaoua-piste-Antg1	298	32A1	377563	311934
33-Tontouta-module1-Antg1	233,5	33A1	436509	254397

Echantillon	Masse (g)	Abréviation utilisée	Coordonnées GPS	
			X	Y
34-Tontouta-module4-Antg1	397,8	34A1	436618	253286
35-Tontouta-module1-Antg4	95,2	35A4	436509	254397
36-Poro-Trem4	248,5	36T4	372650	321352
37-Poro-Trem2	680,2	37T2	372650	321352
38-Kouaoua-Fosse-Trem2?-Nephrite?	504,7	38T?2	377282	314341
39-Tontouta-Module4-Fibres4?	57,9	39F?4	436618	253286
40-Tontouta-module4-Fibres2?	858,2	40F?2	436618	253286
41-Poro-Trem1	952,1	41T1	372650	321352
42-Poro-Trem2	602	42T2	372650	321352
43-Opoué-Chr3	2338,5	43C3	422009	250308
44-Opoué-Chr3	1464,9	44C3	422009	250308
45-Poro-Trem2	597,4	45T2	372650	321352
46-Poro-Trem2	718,4	46T2	372650	321352
47-Boulinda-Trem2	549,5	47T2	305187	322805
48-Kouaoua-Fosse-Trem2?	163,5	48T?2	377282	314341
49-Poro-Trem1	1515,7	49T1	372650	321352
50-Opoué-Chr3	2381,5	50C3	422009	250308
51-Opoué-Chr3	1700,3	51C3	422009	250308
52-KaaWiiPaa-Chr3	>3100	52C3	373612	312698
53-Tontouta-module3-Chr3	638,9	53C3	436479	254243
54-Opoué-Chr3	1841,7	54C3	422009	250308
55-Boulinda-Trem2	579,3	55T2	305187	322805
56-KaaWiiPaa-Chr3-4	>3100	56C3-4	373612	312698
57-Poro-Chr3	2678,3	57C3	372650	321352
58-Poro-Chr3	>3100	58C3	372650	321352

Campioni	Sigle	Analisi UniPR										Analyses UNC						
		MOLP	XRD	SEM-EDS	TEM	Raman	Raman Portatile	MOCF-LP	TGA	IR	MOLP	DRX	DRX *	MEB	MET	Raman	ICP-MS	Chimie
50-Opoué-Chr3	/																	
51-Opoué-Chr3	/																	
52-KaaWiiPaa-Chr3	/																	
53-Tontouta-module3-Chr3	/																	
54-Opoué-Chr3	/																	
55-Boulinda-Trem2	55T2	✓	✓				✓	✓			✓	✓	✓	✓				
56-KaaWiiPaa-Chr3-4	/																	
57-Poro-Chr3	57C3		✓		✓		✓	✓			✓	✓		✓				✓
58-Poro-Chr3	/																	
KN1 - Koniambo Chr	KN1		✓					✓										
KN2 - Koniambo Chr	KN2		✓					✓										

LEGENDA

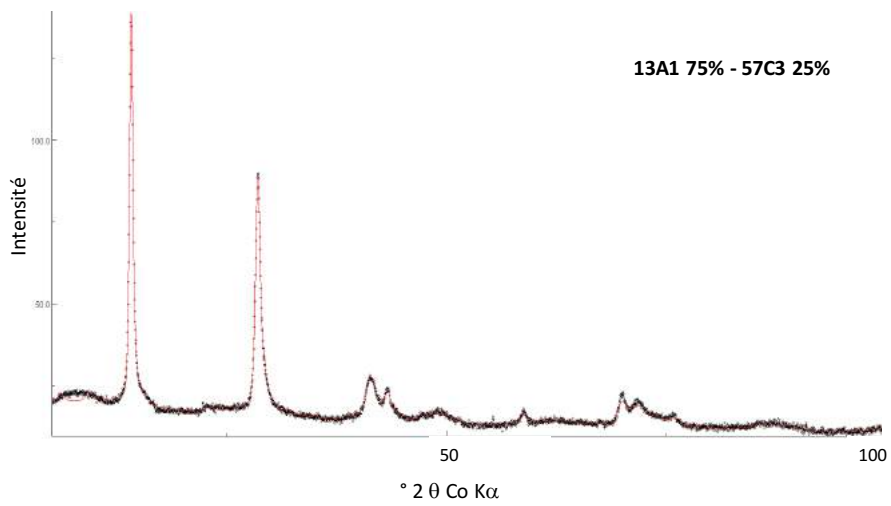
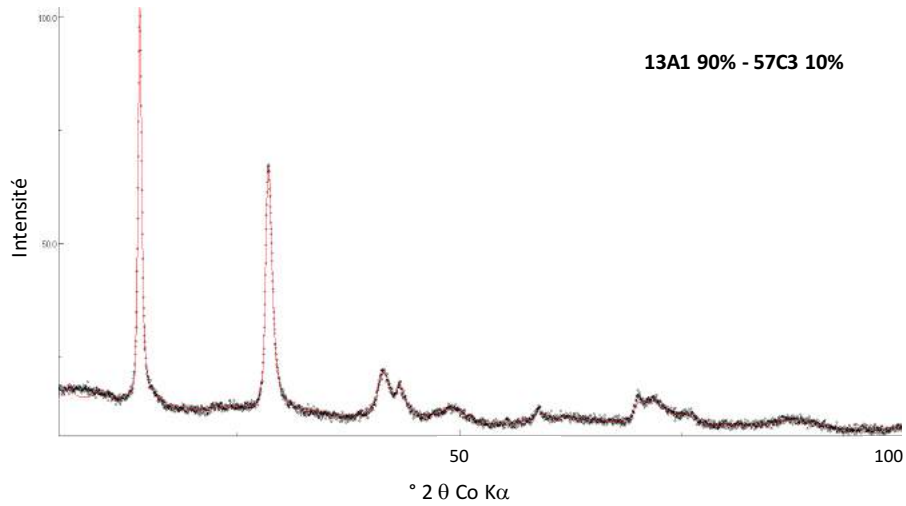
/ campioni non inviati a PR

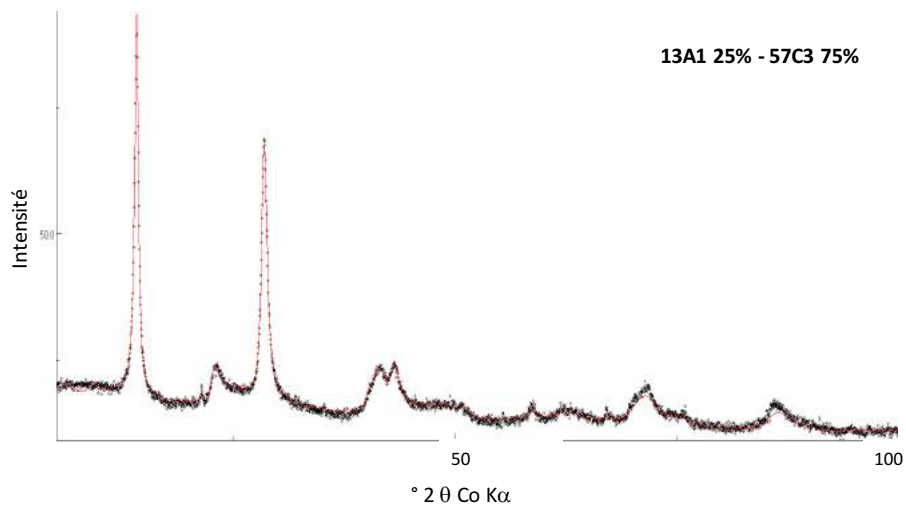
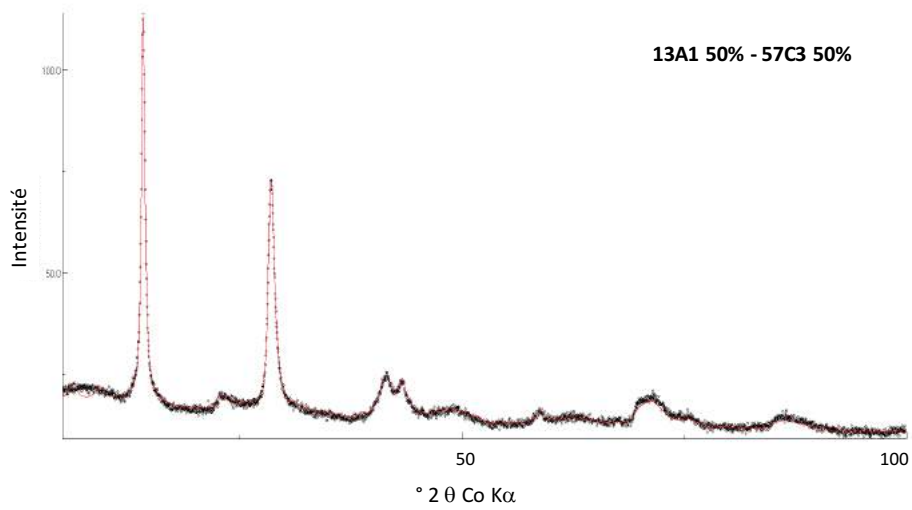
DRX* su campioni macinati a PR

ANNEXE 3

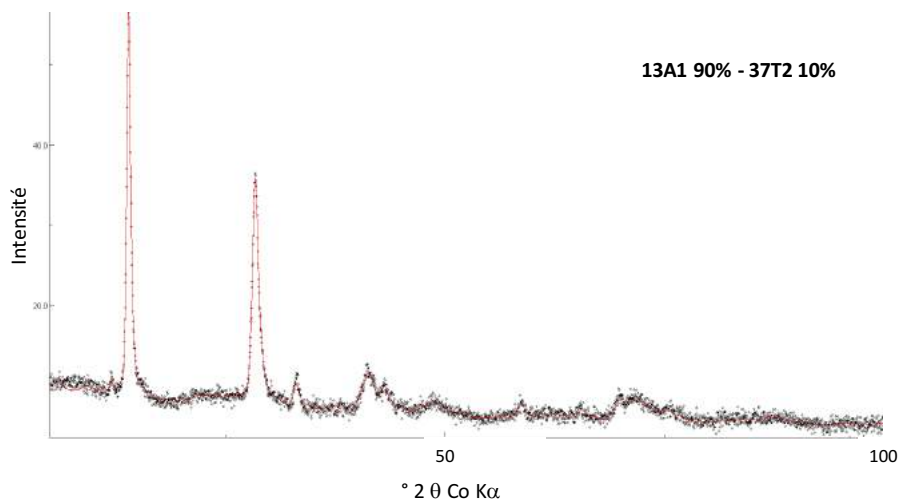
AFFINEMENTS RIETVELD SUR DRX MELANGES BINAIRES

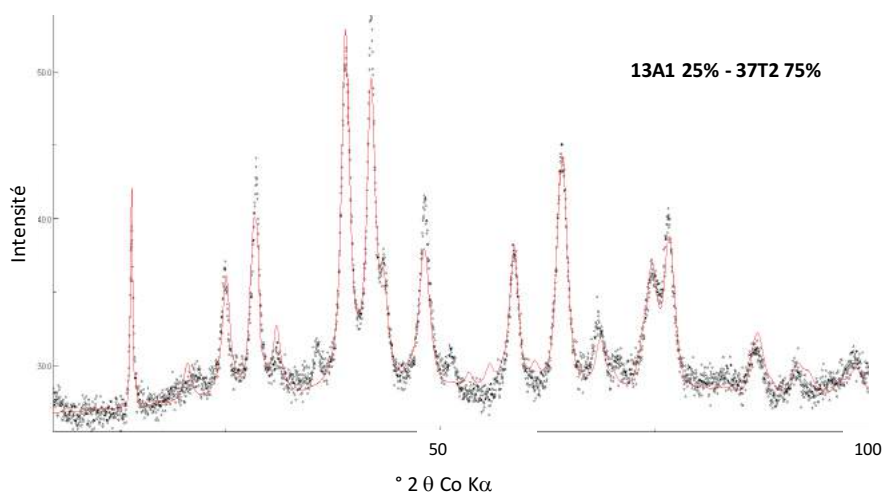
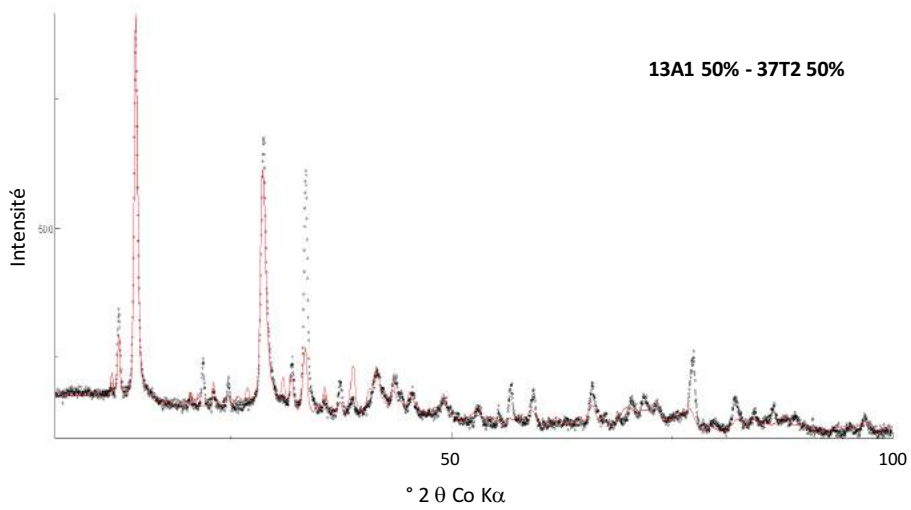
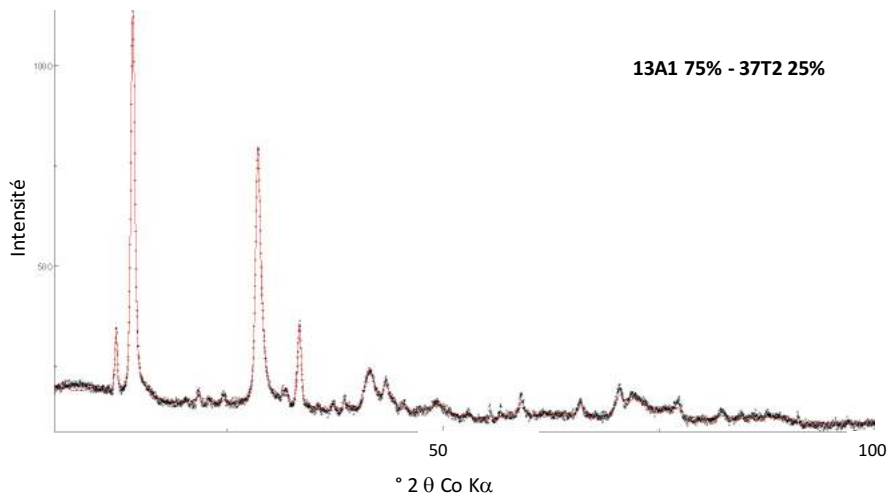
Mélanges Antigorite/Chrysotile

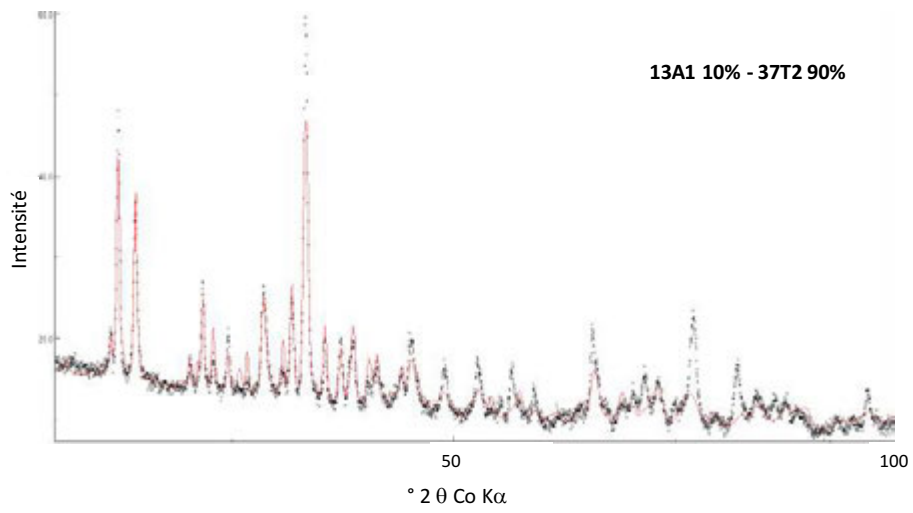




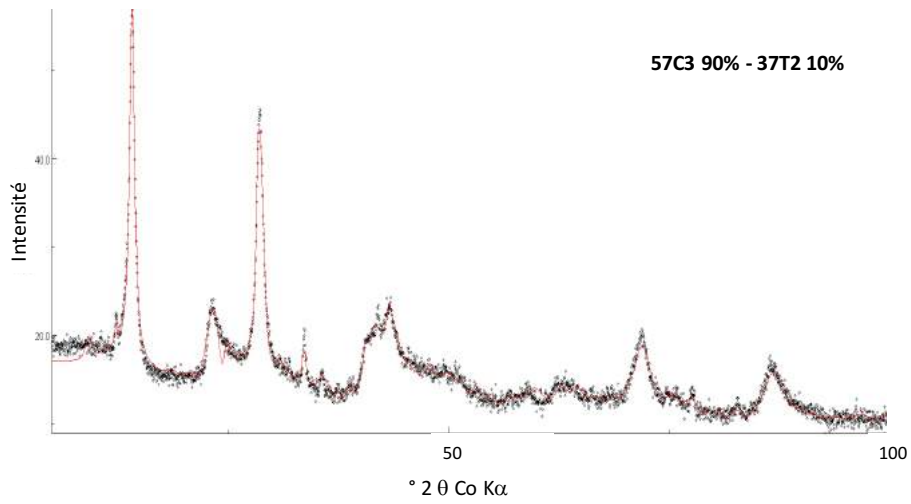
Mélanges Antigorite/Trémolite

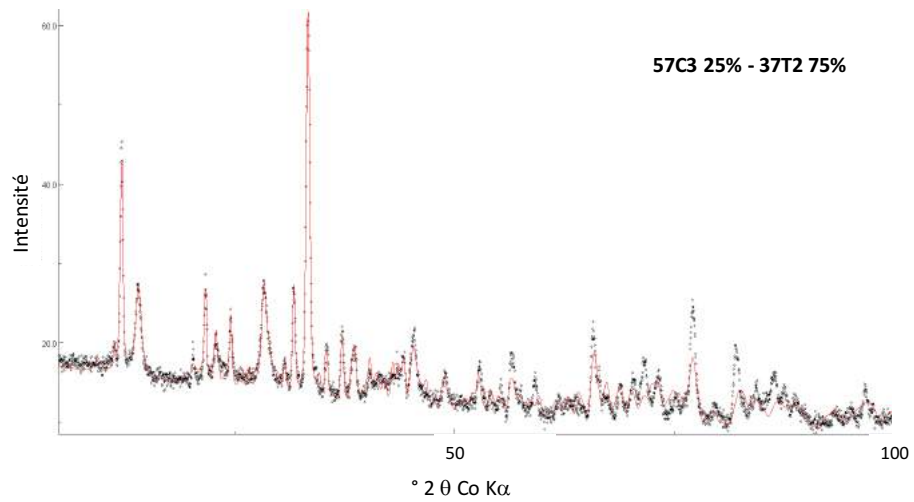
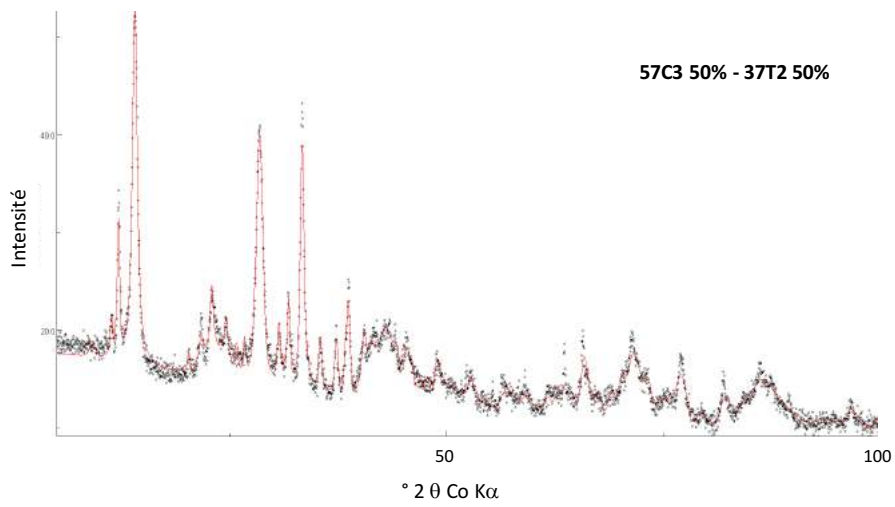
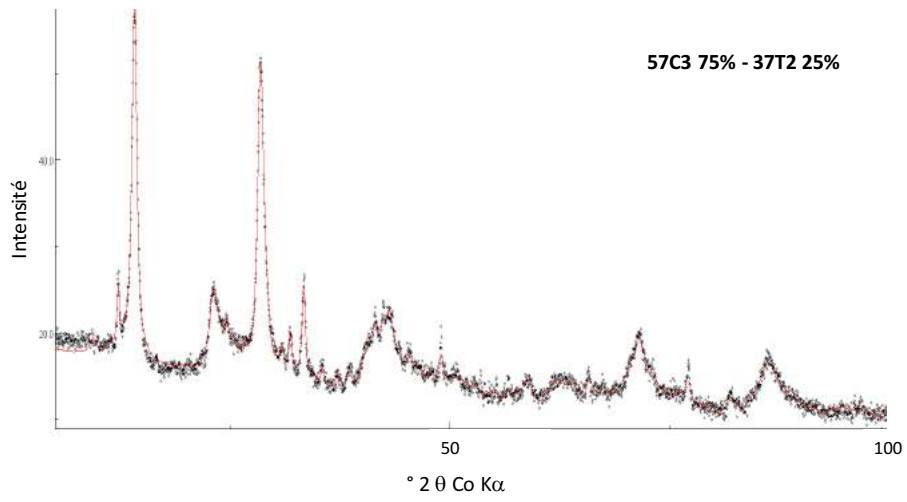


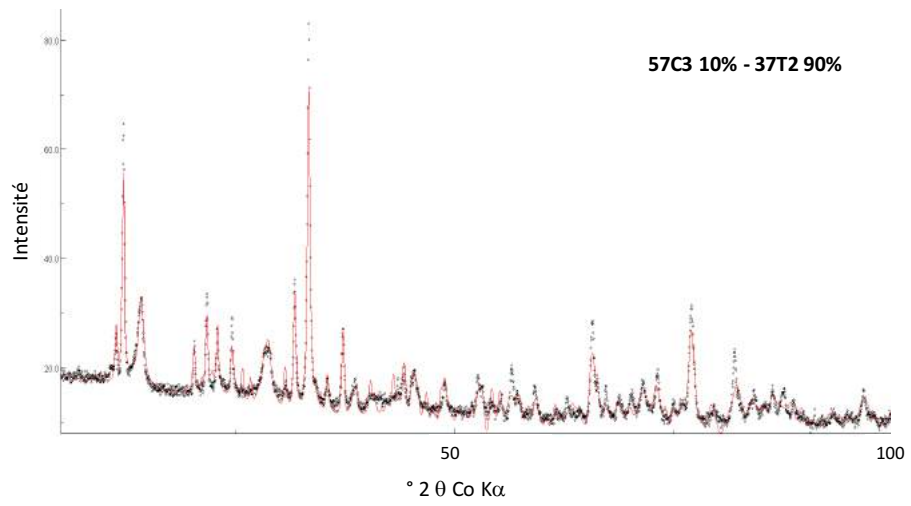




Mélanges Chrysotile/Trémolite



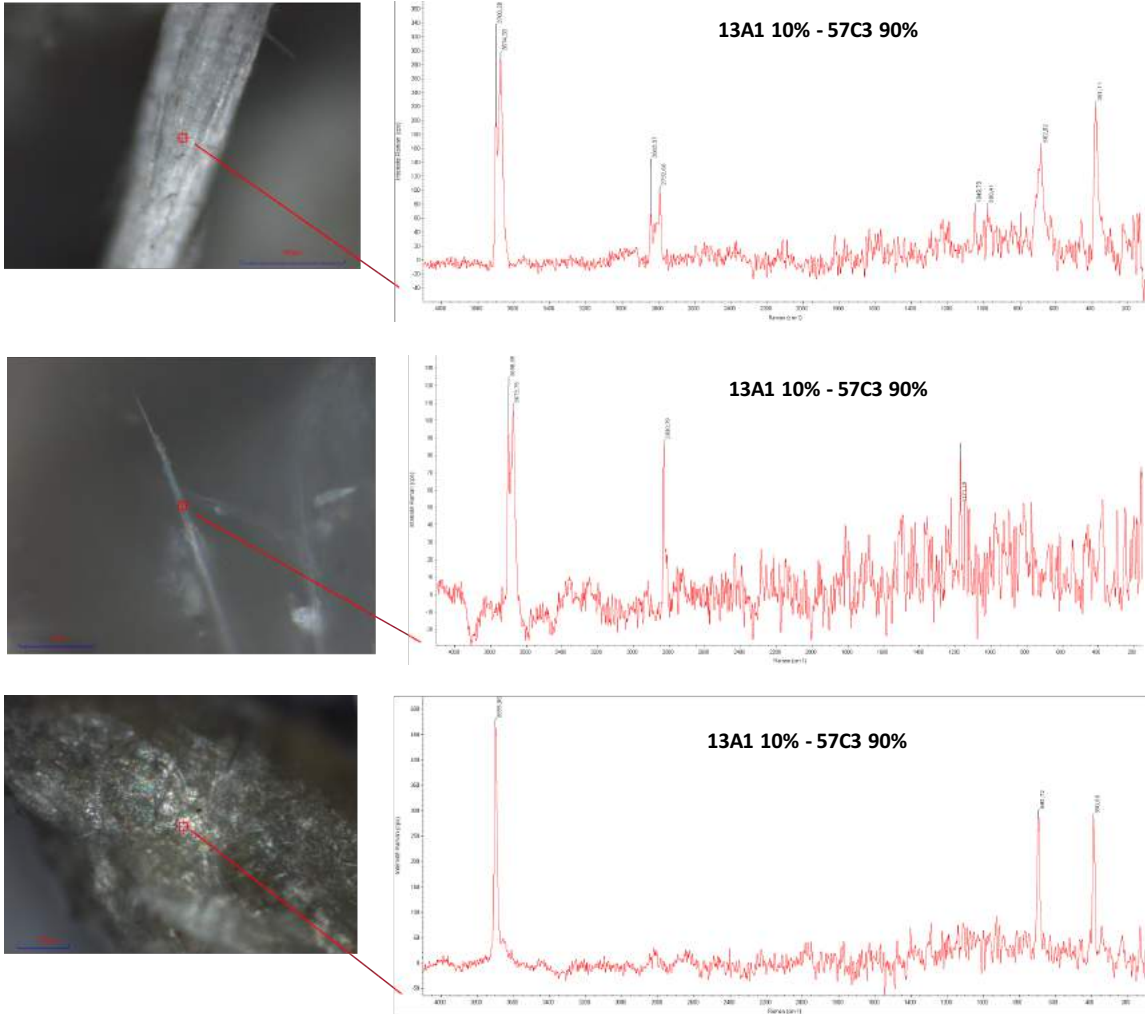


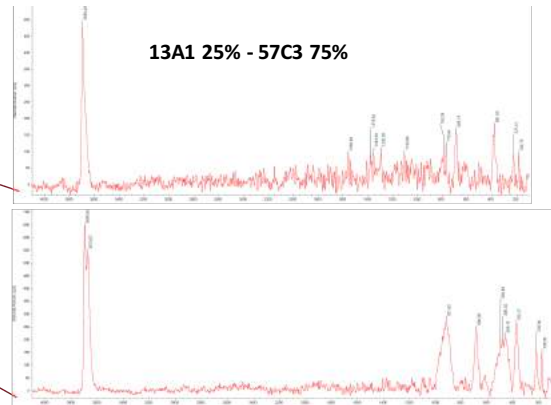
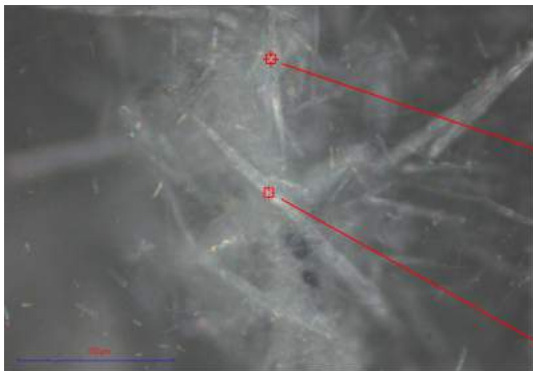
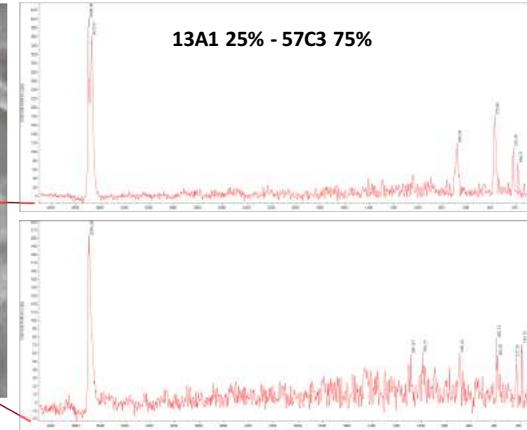
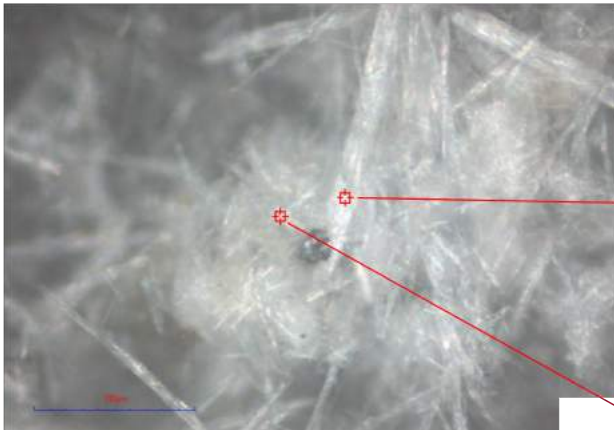
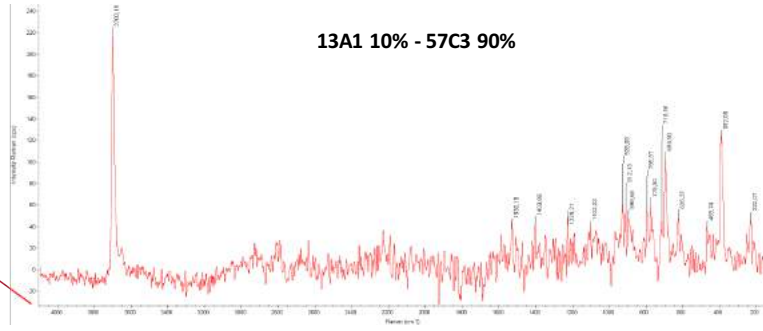
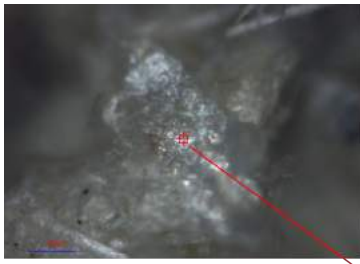


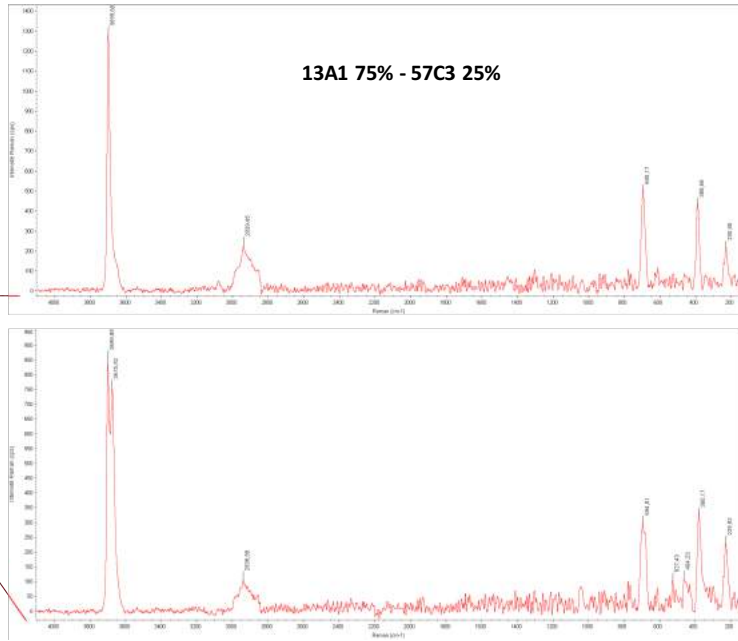
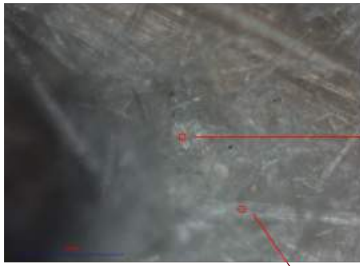
ANNEXE 4

MICROSCOPIE RAMAN SUR MELANGES BINAIRES

Mélanges Antigorite/Chrysotile



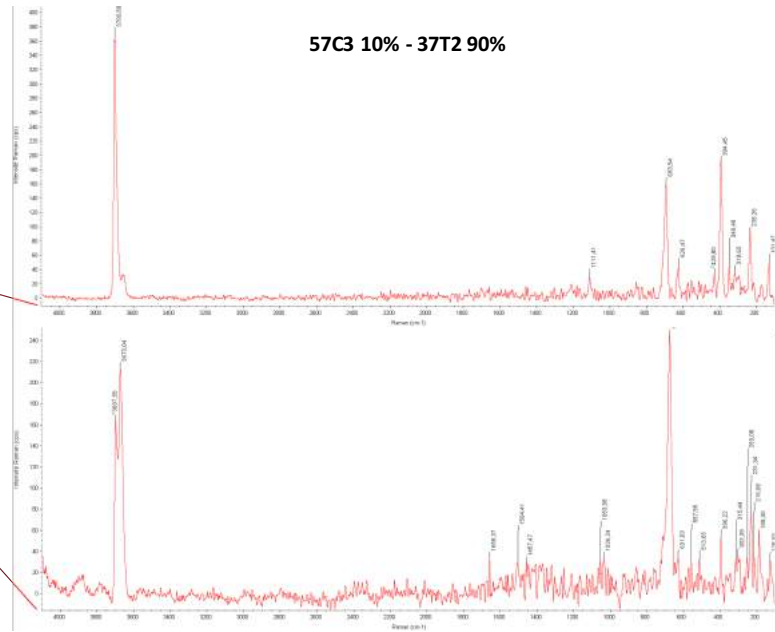




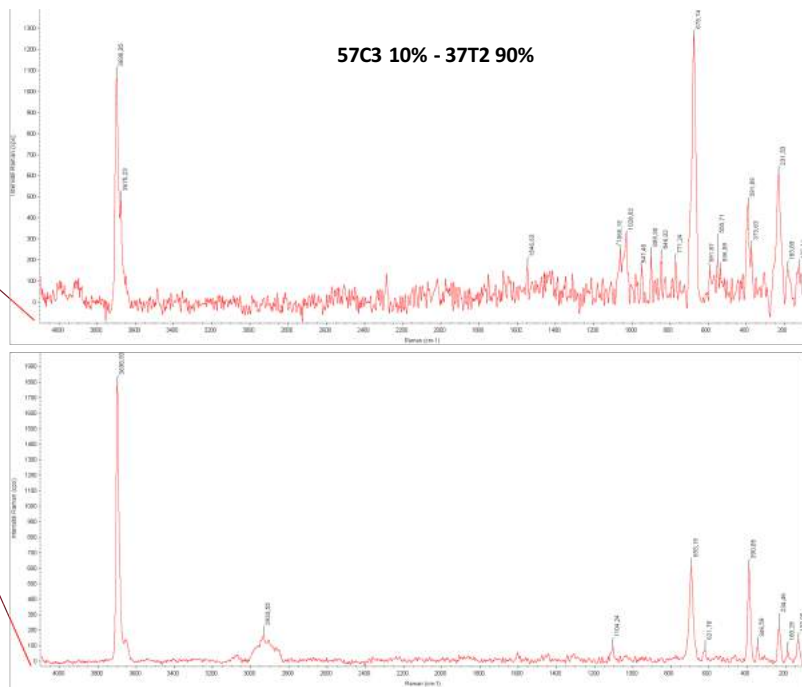
Mélanges Chrysotile/Trémolite

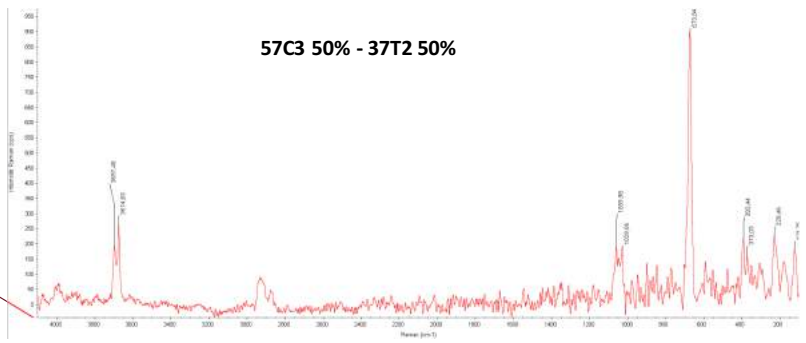
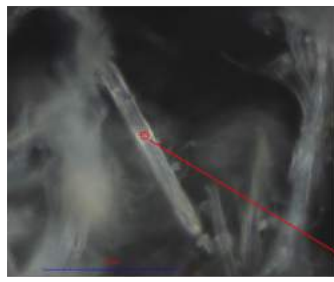
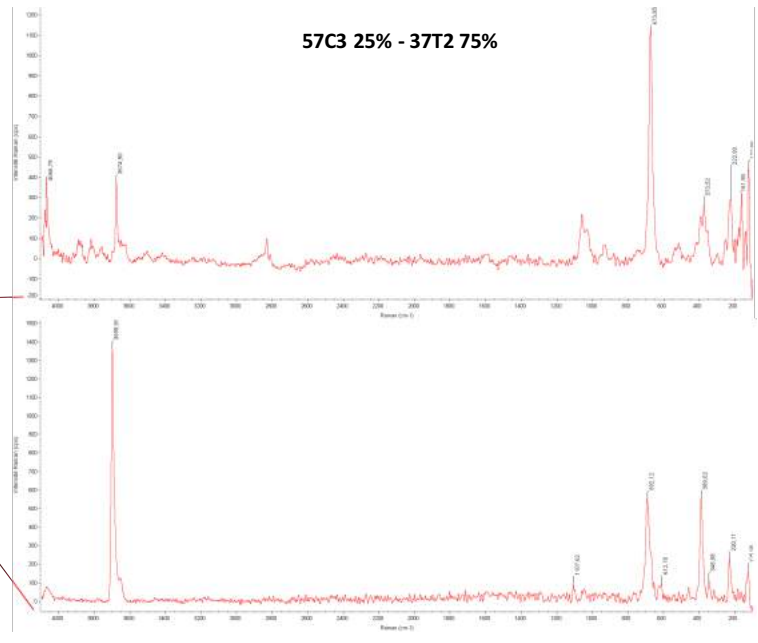
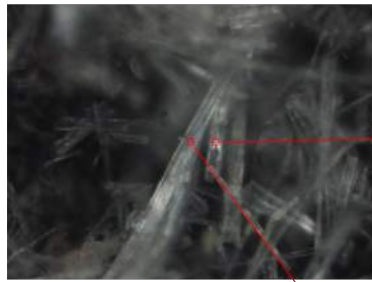
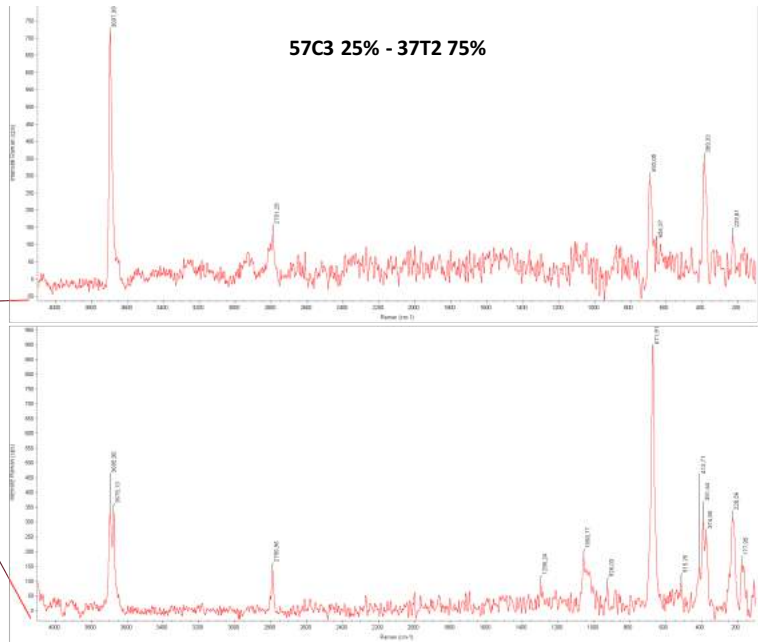
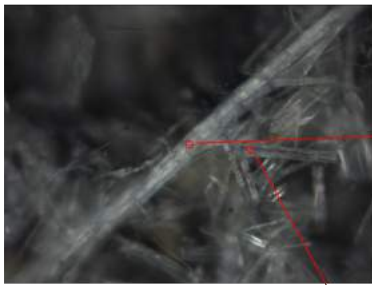


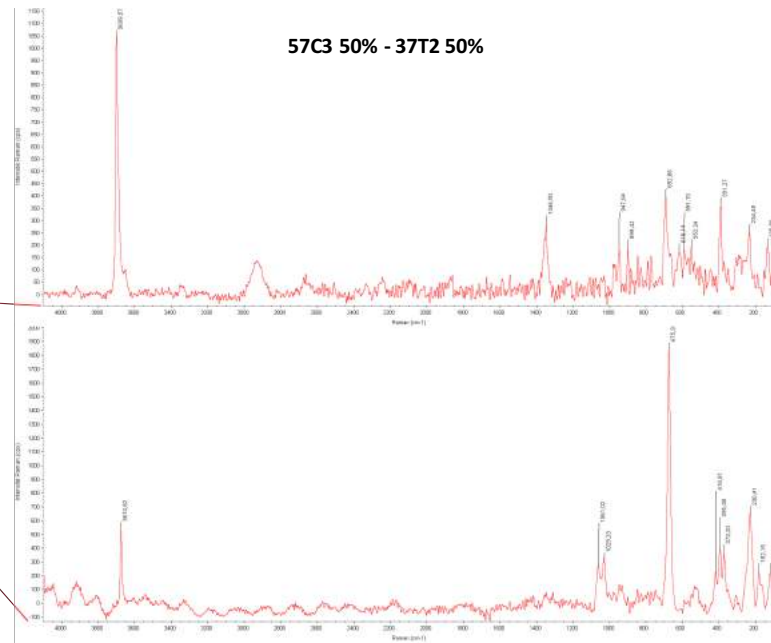
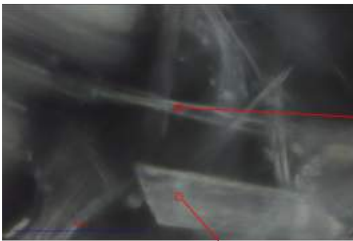
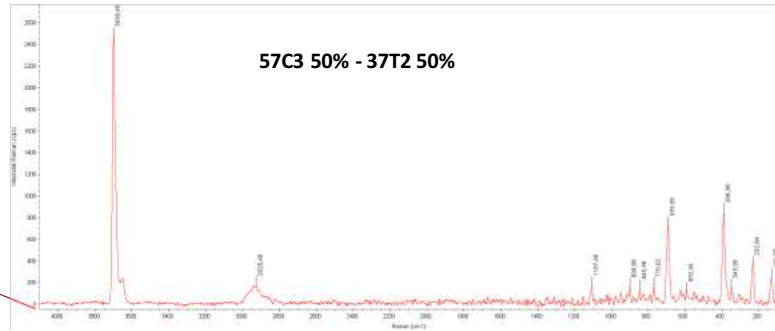
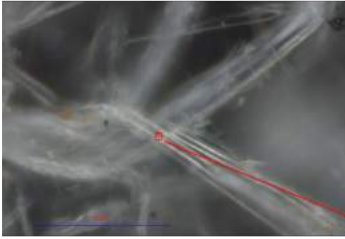
57C3 10% - 37T2 90%

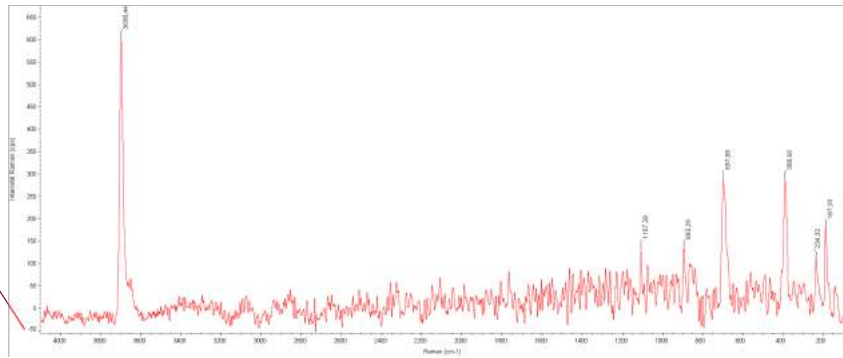
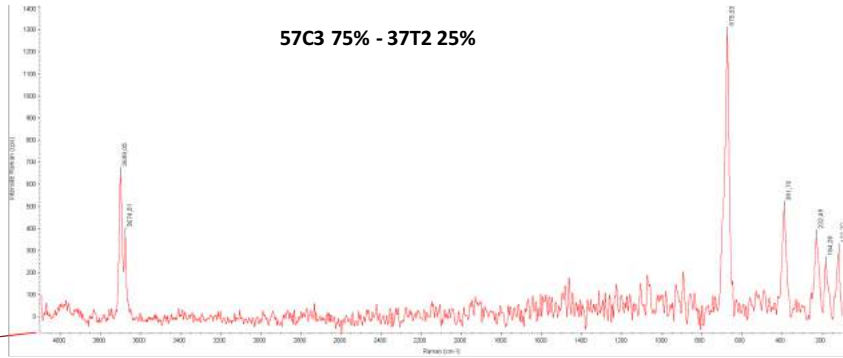
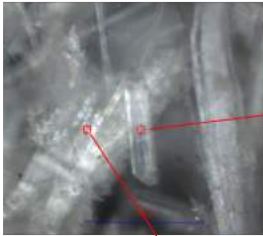
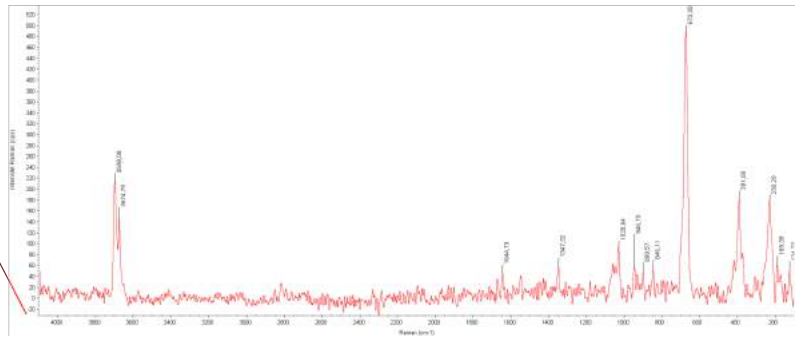
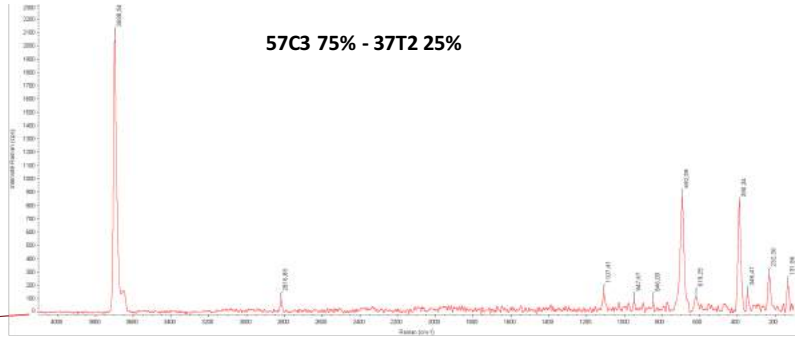


57C3 10% - 37T2 90%

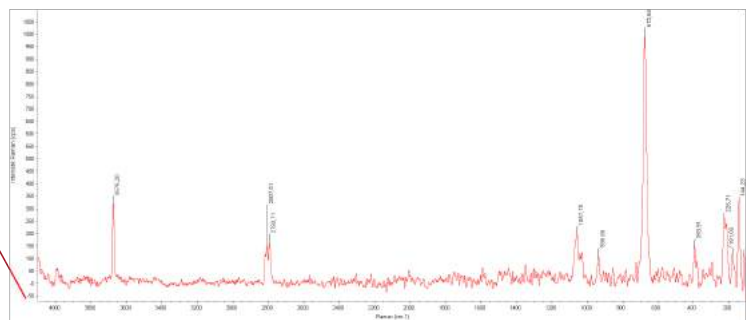
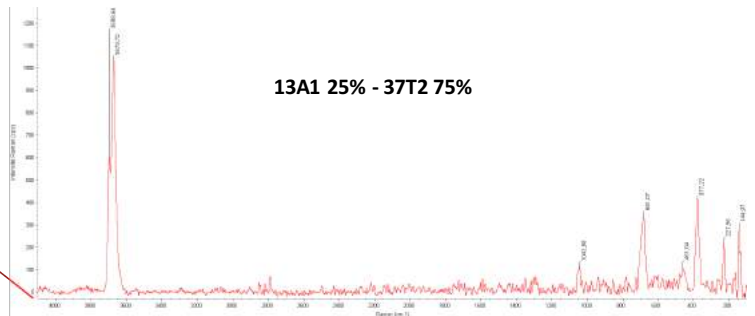
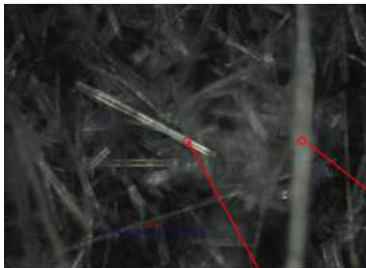
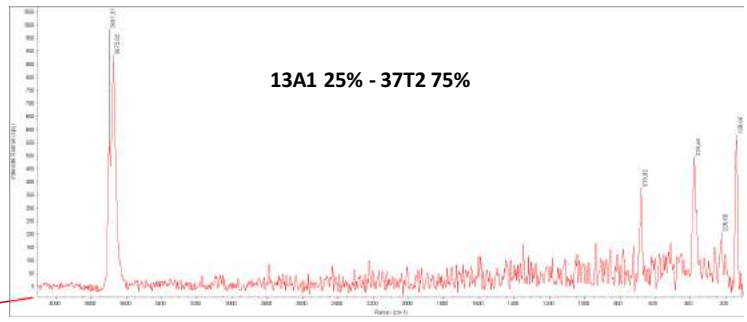
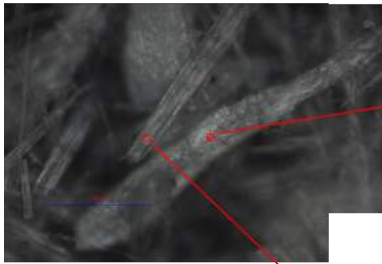


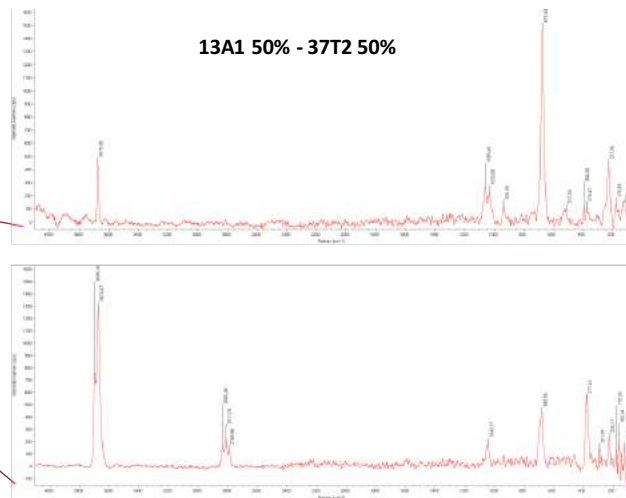
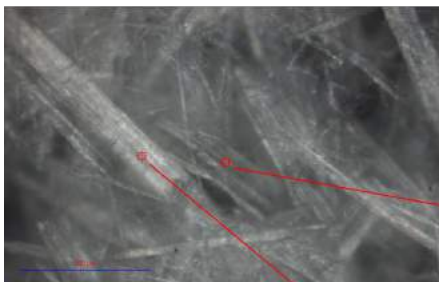
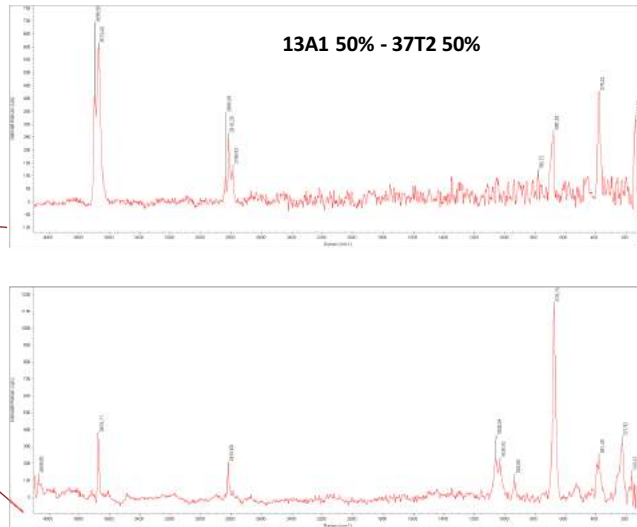
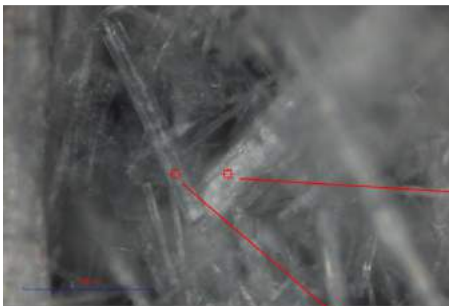
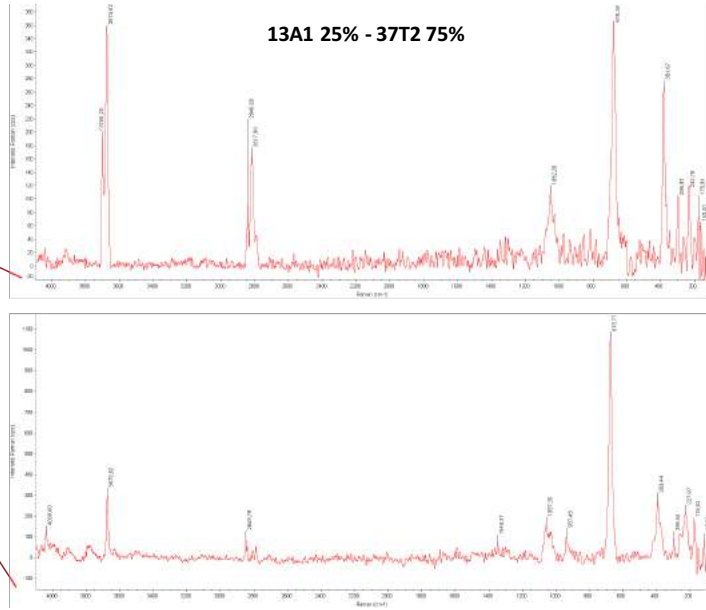
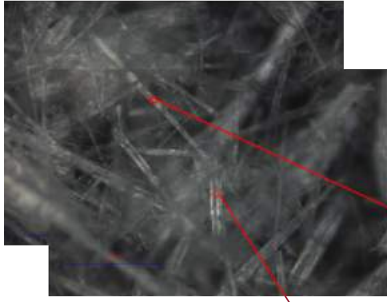


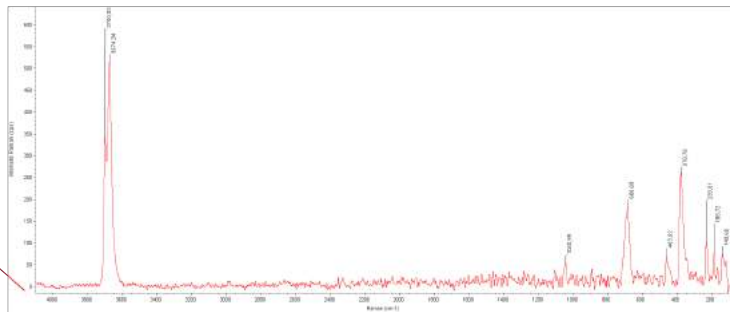
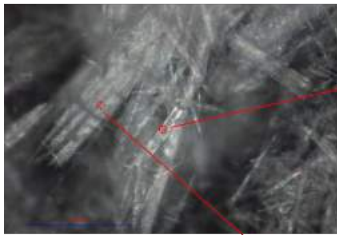
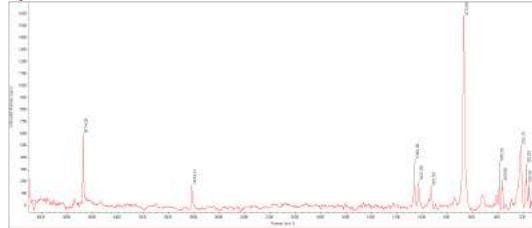
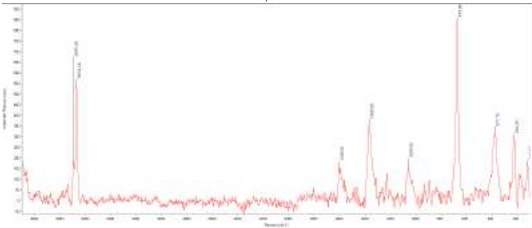
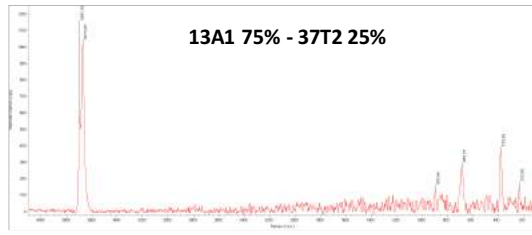
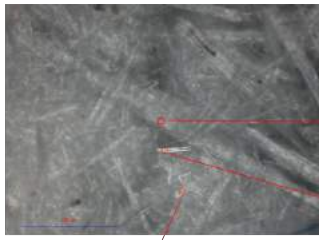


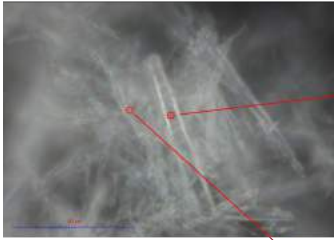


Mélanges Antigorite/Trémolite

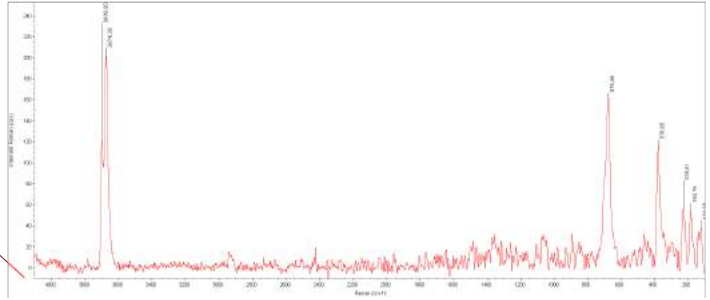
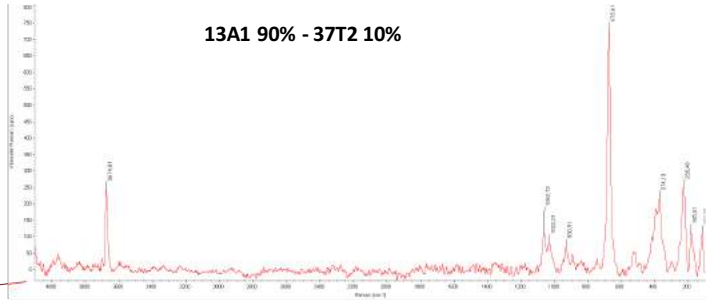








13A1 90% - 37T2 10%



ANNEXE 5

SAMPLE	P	P ₂ O ₅	Na	Na ₂ O	Mg	MgO	K	K ₂ O	Ca	CaO	Mn	MnO	Fe	FeO _{tot}	Al	Al ₂ O ₃
	ppm	wt.%	ppm	wt.%	ppm	wt.%	ppm	wt.%	ppm	wt.%	ppm	wt.%	ppm	wt.%	ppm	wt.%
1	17.38	0.00	63.27	0.01	169558.44	28.12	32.92	0.00	64.17	0.01	673.84	0.09	35274.59	4.54	1394.68	0.264
3	17.00	0.00	28.09	0.00	157516.15	26.12			64.83	0.01	865.50	0.11	121313.08	15.61	1525.59	0.288
4	14.17	0.00	62.72	0.01	175733.21	29.14			302.70	0.04	616.36	0.08	66952.89	8.61	1037.61	0.196
5	16.89	0.00	53.52	0.01	171770.20	28.48			526.69	0.07	819.74	0.11	43089.10	5.54	1757.16	0.332
6	20.49	0.00	34.12	0.00	167222.62	27.73	68.96	0.01	117.35	0.02	415.52	0.05	13370.45	1.72	691.15	0.131
7	27.41	0.01	41.81	0.01	178879.42	29.66	12.07	0.00	81.10	0.01	630.62	0.08	30134.95	3.88	600.94	0.114
8	17.58	0.00	112.18	0.02	166911.21	27.68			55.79	0.01	723.07	0.09	56045.90	7.21	1615.74	0.305
9	17.03	0.00	18.75	0.00	179162.85	29.71			60.71	0.01	671.58	0.09	24270.88	3.12	1542.96	0.292
10	19.50	0.00	32.64	0.00	173307.88	28.74	13.30	0.00	33.05	0.00	655.85	0.08	31777.20	4.09	2852.91	0.539
11	16.52	0.00	25.67	0.00	177773.60	29.48	54.61	0.01	66.22	0.01	634.44	0.08	28691.83	3.69	184.80	0.035
12	31.23	0.01	91.70	0.01	156739.78	25.99			109.54	0.02	1634.93	0.21	87243.72	11.22	2830.89	0.535
13	40.51	0.01	17.34	0.00	205362.31	34.05	15.64	0.00	19.62	0.00	1026.22	0.13	108891.85	14.01	869.12	0.164
14	18.16	0.00	21.66	0.00	183281.20	30.39	45.92	0.01	48.11	0.01	534.33	0.07	28176.61	3.62	1654.86	0.313
15	14.61	0.00	29.78	0.00	193283.59	32.05			68.24	0.01	668.69	0.09	21361.72	2.75	981.57	0.167
16	12.06	0.00	2.47	0.00	165235.43	27.40	38.96	0.00	47.23	0.01	299.74	0.04	13789.71	1.77	582.64	0.110
17	12.01	0.00	67.88	0.01	178100.53	29.53	19.00	0.00	35.72	0.00	660.89	0.09	32804.96	4.22	1233.31	0.233
18	17.81	0.00	13.72	0.00	186493.56	30.92			55.13	0.01	511.15	0.04	29250.05	3.76	393.80	0.074
19	31.49	0.01	17.19	0.00	185228.17	30.71	35.60	0.00	53.93	0.01	706.12	0.09	20541.57	2.64	858.69	0.162
20	10.05	0.00	45.17	0.01	180010.62	29.85			60.06	0.01	630.41	0.08	24745.99	3.18	1353.26	0.256
21	18.99	0.00	186.71	0.03	191476.69	31.75			73.11	0.01	472.57	0.06	29917.47	3.85	2932.82	0.554
22	17.23	0.00	172.59	0.02	177468.31	29.43			139.88	0.02	681.10	0.09	32765.58	4.22	1842.05	0.348
23	13.85	0.00	28.55	0.00	174279.64	28.90			41.94	0.01	336.85	0.04	15806.68	2.03	961.75	0.182
24	13.37	0.00	25.84	0.00	166792.50	27.66			31.96	0.00	996.48	0.13	112101.48	14.42	1070.45	0.202

Table IV.1. Major elements concentrations of Caledonian samples.

... continued

SAMPLE	P	P ₂ O ₅	Na	Na ₂ O	Mg	MgO	K	K ₂ O	Ca	CaO	Mn	MnO	Fe	FeO _{tot}	Al	Al ₂ O ₃
	ppm	wt. %	ppm	wt. %	ppm	wt. %	ppm	wt. %	ppm	wt. %	ppm	wt. %	ppm	wt. %	ppm	wt. %
25	16.76	0.00	79.96	0.01	165521.90	27.45			53.43	0.01	1007.57	0.13	51302.35	6.60	1906.85	0.360
26	15.04	0.00	39.27	0.01	171542.12	28.45			38.64	0.01	743.90	0.10	33564.44	4.32	1584.55	0.299
27	12.73	0.00	24.11	0.00	159226.28	26.40			70.73	0.01	937.71	0.12	103434.59	13.31	1109.78	0.210
29	14.04	0.00	62.33	0.01	175508.74	29.10			84.22	0.01	688.37	0.09	27137.84	3.49	1337.42	0.253
30	18.57	0.00	58.85	0.01	177196.52	29.38			36.61	0.01	686.75	0.09	34256.25	4.41	949.44	0.179
31	16.33	0.00	45.90	0.01	183993.39	30.51			55.23	0.01	309.19	0.04	23873.68	3.07	228.98	0.043
32	17.52	0.00	100.26	0.01	178269.77	29.56	31.44	0.00	64.92	0.01	553.23	0.07	29618.32	3.73	2221.71	0.420
33	14.25	0.00	13.14	0.00	171788.63	28.49			64.25	0.01	675.93	0.09	54439.64	7.00	870.31	0.164
34	31.67	0.01	35.81	0.00	158420.90	26.27			32.61	0.00	391.55	0.05	74356.34	9.57	877.05	0.166
35	23.37	0.01	100.16	0.01	180566.62	29.94			74.19	0.01	908.89	0.12	49472.58	6.36	1353.54	0.256
36	19.93	0.00	4266.21	0.58	125711.69	20.85	57.67	0.01	87952.12	12.31	544.32	0.07	15440.92	1.99	8793.27	1.661
37	27.19	0.01	4591.48	0.62	126992.99	21.06	86.27	0.01	89276.01	12.49	582.26	0.08	15359.72	1.98	8986.51	1.698
38	16.11	0.00	74.70	0.01	174682.94	28.97			64.13	0.01	469.52	0.06	31790.64	4.09	561.06	0.106
39	16.26	0.00	119.06	0.02	175222.11	29.06			59.19	0.01	429.11	0.06	16277.80	2.09	597.73	0.113
40	13.76	0.00	42.52	0.01	170721.55	28.31			45.10	0.01	277.50	0.04	11535.11	1.48	586.30	0.111
41	16.74	0.00	3288.32	0.44	125387.29	20.79	65.33	0.01	79678.08	11.15	611.27	0.08	14499.87	1.87	6790.66	1.283
42	26.14	0.01	3373.74	0.45	130769.17	21.68			81627.18	11.42	620.93	0.08	15413.00	1.98	7381.04	1.395
45	21.54	0.00	4435.06	0.60	124596.41	20.66	156.18	0.02	87830.75	12.29	546.21	0.07	16038.77	2.06	8628.66	1.630
46	29.74	0.01	4482.08	0.60	121870.96	20.21	70.40	0.01	88578.22	12.39	578.14	0.07	16529.28	2.13	8524.73	1.611
47	21.49	0.00	3826.94	0.52	142433.18	23.62	133.80	0.02	52191.47	7.30	1419.31	0.18	22773.65	2.93	11889.89	2.243
48	17.62	0.00	111.46	0.02	174031.61	28.86			81.69	0.01	674.52	0.09	36318.93	4.67	1652.22	0.312
55	20.11	0.00	2423.95	0.33	139486.07	23.13	68.19	0.01	36362.61	5.09	1595.41	0.21	23911.71	3.08	9452.57	1.786
57	21.99	0.01	78.45	0.01	163886.98	27.18			192.08	0.03	404.19	0.05	43772.93	5.89	135.66	0.020

Concentration are given in
ppm

Sample name	Rb85	Sr86	Sr88	Y89	Zr90	Nb93	Cs13 3	Ba137	La13 9	Ce14 0	Pr14 1	Nd14 6	Sm14 7	Eu15 1	Gd15 7	Tb15 9	Dy16 3	Ho16 5	Er16 7	Tm16 9	Yb17 2	Lu17 5	Hf17 8	Ta18 1	Pb20 8	Th23 2	U238
UBN1	3,0	7,2	7,4	2,5	3,5	0,1	10,8	26,3	0,3	0,8	0,1	0,6	0,2	0,1	0,3	0,1	0,4	0,1	0,3	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0	10,3	0,1	0,1
Ben1	43,7	1329,1	1244,1	30,0	256,8	105,1	0,7	1016,1	77,5	147,1	16,3	66,6	12,1	3,7	10,3	1,3	6,7	1,2	2,6	0,3	1,9	0,3	5,5	5,7	3,3	10,5	2,5
UBN2	3,1	7,3	7,4	2,5	3,6	0,1	10,8	27,1	0,3	0,8	0,1	0,6	0,2	0,1	0,3	0,1	0,4	0,1	0,3	0,0	0,3	0,0	0,1	0,0	10,7	0,1	0,0
Ben2	42,9	1308,7	1187,0	30,0	272,4	105,0	0,7	977,4	71,9	137,8	15,1	63,1	11,4	3,4	9,2	1,2	6,1	1,0	2,5	0,3	1,8	0,2	5,4	5,7	3,2	9,7	2,2
1A4	0,017	0,320	0,230	0,237	1,401	0,058	0,007	0,184	0,099	0,171	0,018	0,071	0,020	0,005	0,024	0,004	0,030	0,007	0,023	0,005	0,046	0,009	0,049	0,006	0,073	0,038	0,010
3A2	0,010	0,165	0,088	0,030	0,182	0,034	0,007	0,112	0,022	0,075	0,006	0,028	0,007	0,002	0,007	0,001	0,007	0,001	0,003	0,001	0,004	0,001	0,008	0,006	0,045	0,001	0,001
4A2	0,005	0,149	0,073	0,006	0,009	0,002	0,006	0,130	0,002	0,003	0,001	0,002	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,062	0,000	0,000
5A2	0,015	0,274	0,208	0,065	0,543	0,035	0,091	0,283	0,045	0,181	0,012	0,056	0,017	0,003	0,018	0,003	0,015	0,003	0,007	0,001	0,008	0,001	0,019	0,004	0,067	0,006	0,002
6A2	0,013	0,186	0,093	0,020	0,012	0,002	0,014	0,146	0,008	0,007	0,002	0,010	0,003	0,001	0,002	0,000	0,003	0,001	0,002	0,000	0,003	0,001	0,000	0,001	0,042	0,001	0,000
7A2	0,045	0,335	0,262	0,047	0,028	0,003	0,015	0,181	0,011	0,013	0,003	0,012	0,003	0,001	0,005	0,001	0,005	0,001	0,004	0,001	0,005	0,001	0,001	0,000	0,060	0,001	0,000
8A4	0,044	0,222	0,148	0,024	0,041	0,007	0,027	0,411	0,144	0,058	0,024	0,098	0,017	0,011	0,020	0,002	0,014	0,004	0,010	0,001	0,008	0,002	0,001	0,001	0,088	0,003	0,005
9A2	0,023	0,171	0,073	0,027	0,201	0,028	0,008	0,076	0,016	0,059	0,005	0,023	0,006	0,002	0,006	0,001	0,006	0,001	0,003	0,000	0,003	0,001	0,006	0,002	0,040	0,001	0,001
10A4	0,074	0,203	0,125	0,074	0,401	0,041	0,018	0,141	0,017	0,066	0,007	0,031	0,011	0,002	0,013	0,002	0,016	0,003	0,008	0,002	0,011	0,002	0,014	0,004	0,052	0,004	0,000
11A1	0,013	0,227	0,159	0,037	0,041	0,004	0,006	0,170	0,030	0,055	0,006	0,020	0,005	0,004	0,005	0,001	0,005	0,001	0,003	0,001	0,004	0,001	0,002	0,000	0,055	0,002	0,001
12A4	0,056	0,253	0,139	0,312	0,064	0,011	0,014	1,187	0,153	0,106	0,036	0,164	0,035	0,010	0,039	0,005	0,032	0,007	0,020	0,003	0,021	0,004	0,002	0,001	0,138	0,004	0,006
13A1	0,005	0,145	0,062	0,005	0,005	0,002	0,003	0,107	0,002	0,001	0,000	0,002	0,000	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,040	0,000	0,000
14A2	0,013	0,391	0,311	0,347	0,026	0,003	0,090	0,174	0,093	0,027	0,015	0,066	0,008	0,004	0,015	0,002	0,009	0,003	0,005	0,001	0,005	0,001	0,001	0,001	0,043	0,000	0,001
15A4	0,019	0,206	0,132	0,122	0,055	0,004	0,005	0,396	0,065	0,024	0,018	0,070	0,014	0,004	0,015	0,003	0,014	0,003	0,011	0,002	0,013	0,002	0,002	0,000	0,055	0,002	0,002
16A2	0,025	0,171	0,090	0,023	0,019	0,002	0,008	0,143	0,003	0,006	0,001	0,003	0,001	0,001	0,002	0,000	0,002	0,001	0,002	0,001	0,005	0,001	0,001	0,000	0,042	0,000	0,001
17A4	0,013	0,227	0,138	0,021	0,089	0,015	0,004	0,150	0,005	0,015	0,002	0,008	0,004	0,001	0,004	0,001	0,005	0,001	0,003	0,000	0,003	0,001	0,002	0,001	0,043	0,001	0,001
18A2	0,008	0,318	0,242	0,142	0,161	0,037	0,002	0,115	0,062	0,210	0,011	0,037	0,009	0,004	0,012	0,003	0,018	0,005	0,015	0,003	0,021	0,004	0,004	0,001	0,066	0,018	0,009
19A1	0,007	0,185	0,100	0,037	0,007	0,002	0,003	0,180	0,006	0,003	0,001	0,004	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,045	0,000	0,000
20A2	0,010	0,299	0,208	0,053	0,030	0,003	0,005	0,086	0,012	0,022	0,004	0,020	0,005	0,002	0,006	0,001	0,006	0,001	0,003	0,001	0,005	0,001	0,001	0,000	0,043	0,000	0,001
21A4	0,109	0,618	0,529	1,084	0,047	0,005	1,899	0,296	0,263	0,012	0,075	0,301	0,045	0,016	0,113	0,013	0,089	0,023	0,065	0,006	0,035	0,007	0,002	0,001	0,049	0,001	0,001
22A4	0,03	1,189	1,087	0,11	0,218	0,01	0,021	0,620	0,046	0,083	0,011	0,053	0,015	0,004	0,016	0,003	0,016	0,004	0,010	0,002	0,012	0,002	0,007	0,001	0,062	0,004	0,01

	2	5	3	4																							
23A1	0,00 4	0,177	0,091	0,00 4	0,007	0,001	0,002	0,090	0,008	0,017	0,002	0,007	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,033	0,005	0,00
24A4	0,00 7	0,184	0,111	0,01 2	0,010	0,003	0,004	0,195	0,004	0,005	0,001	0,002	0,000	0,001	0,001	0,000	0,001	0,000	0,001	0,000	0,002	0,000	0,001	0,000	0,111	0,000	0,00
25A4	0,05 3	0,207	0,145	0,10 7	0,696	0,056	0,020	0,144	0,037	0,171	0,014	0,060	0,018	0,005	0,019	0,004	0,023	0,005	0,014	0,002	0,018	0,003	0,023	0,005	0,058	0,006	0,00
26A4	0,00 7	0,154	0,080	0,04 5	0,408	0,027	0,003	0,090	0,017	0,072	0,006	0,030	0,011	0,002	0,010	0,002	0,010	0,002	0,004	0,001	0,005	0,001	0,013	0,003	0,042	0,002	0,00
27A2	0,00 8	0,228	0,146	0,03 4	0,082	0,013	0,003	0,168	0,013	0,060	0,004	0,021	0,008	0,004	0,010	0,001	0,009	0,002	0,004	0,001	0,004	0,001	0,003	0,002	0,044	0,001	0,00
29A2	0,01 7	0,178	0,095	0,07 0	0,028	0,003	0,005	0,254	0,087	0,012	0,006	0,025	0,003	0,001	0,004	0,000	0,003	0,001	0,002	0,000	0,004	0,001	0,001	0,001	0,050	0,002	0,00
30A1	0,02 5	0,194	0,101	0,06 8	0,052	0,004	0,004	0,284	0,060	0,029	0,007	0,027	0,006	0,002	0,006	0,001	0,006	0,001	0,005	0,001	0,006	0,001	0,002	0,001	0,050	0,002	0,00
31A2	0,00 9	0,212	0,114	0,07 5	0,126	0,010	0,001	0,115	0,037	0,072	0,007	0,029	0,007	0,002	0,008	0,001	0,008	0,002	0,005	0,001	0,007	0,001	0,003	0,001	0,054	0,006	0,00
32A1	0,02 7	0,787	0,714	1,32 1	0,045	0,000	0,246	0,722	0,336	0,045	0,072	0,304	0,057	0,020	0,103	0,014	0,094	0,023	0,064	0,008	0,041	0,008	0,001	0,000	0,045	0,000	0,00
33A1	0,01 0	0,349	0,269	0,03 7	0,018	0,002	0,002	0,309	0,004	0,012	0,001	0,004	0,001	0,002	0,002	0,000	0,003	0,001	0,002	0,000	0,002	0,001	0,001	0,000	0,070	0,001	0,00
34A1	0,01 7	0,209	0,132	0,02 6	0,015	0,003	0,003	0,153	0,023	0,007	0,002	0,009	0,002	0,001	0,002	0,000	0,003	0,001	0,003	0,000	0,004	0,001	0,001	0,000	0,047	0,001	0,00
35A4	0,06 1	0,185	0,101	0,31 6	0,061	0,005	0,018	0,417	0,125	0,027	0,059	0,264	0,064	0,016	0,061	0,009	0,059	0,013	0,037	0,005	0,044	0,008	0,002	0,001	0,055	0,003	0,00
36T4	0,04 3	8,986	8,695	1,37 2	0,174	0,004	0,004	0,241	0,541	1,824	0,254	1,027	0,191	0,136	0,180	0,030	0,196	0,045	0,157	0,026	0,199	0,032	0,005	0,001	0,056	0,003	0,00
37T2	0,03 8	8,947	8,825	1,34 4	0,189	0,002	0,002	0,128	0,535	1,831	0,257	1,035	0,195	0,135	0,179	0,029	0,198	0,046	0,152	0,027	0,212	0,032	0,005	0,002	0,043	0,004	0,00
38T2	0,01 2	0,524	0,411	0,14 4	0,069	0,002	0,002	0,093	0,089	0,149	0,013	0,052	0,016	0,003	0,019	0,003	0,018	0,004	0,011	0,002	0,014	0,003	0,001	0,000	0,075	0,002	0,00
39F4	0,01 9	0,203	0,113	0,04 4	0,023	0,003	0,003	0,200	0,011	0,046	0,004	0,017	0,005	0,001	0,004	0,001	0,005	0,001	0,004	0,001	0,006	0,001	0,001	0,001	0,054	0,001	0,00
40F2	0,00 8	0,144	0,056	0,02 6	0,011	0,002	0,002	0,089	0,003	0,017	0,001	0,007	0,003	0,000	0,007	0,000	0,004	0,001	0,003	0,001	0,005	0,001	0,001	0,000	0,034	0,000	0,00
41T1	0,17 2	7,728	7,639	1,07 5	0,209	0,014	0,014	0,221	0,418	1,518	0,204	0,815	0,156	0,106	0,142	0,023	0,154	0,035	0,120	0,021	0,155	0,025	0,003	0,001	0,046	0,003	0,00
42T2	0,04 4	7,343	7,250	1,01 4	0,326	0,005	0,005	0,224	0,395	1,393	0,190	0,759	0,145	0,101	0,137	0,022	0,149	0,034	0,116	0,021	0,153	0,024	0,005	0,002	0,040	0,003	0,00
45T2	0,05 2	9,776	9,603	1,44 1	0,544	0,004	0,004	0,236	0,609	2,063	0,284	1,168	0,226	0,145	0,206	0,034	0,220	0,049	0,157	0,027	0,199	0,030	0,013	0,002	0,052	0,002	0,00
46T2	0,05 4	9,619	9,492	1,40 3	0,510	0,005	0,005	0,289	0,596	2,034	0,281	1,145	0,220	0,139	0,201	0,031	0,218	0,049	0,158	0,027	0,190	0,029	0,010	0,002	0,044	0,002	0,00
47T2	0,03 7	8,267	8,017	2,75 2	57,46 0	0,400	0,003	0,671	0,738	8,061	0,449	2,080	0,502	0,172	0,496	0,085	0,539	0,111	0,347	0,055	0,403	0,065	1,809	0,048	0,106	0,061	0,03
48T2	0,02 8	0,798	0,700	0,87 8	0,088	0,231	0,231	1,423	0,336	0,137	0,084	0,382	0,078	0,023	0,096	0,013	0,087	0,020	0,056	0,008	0,046	0,007	0,003	0,001	0,047	0,002	0,00
55T2	0,03 4	8,527	8,214	2,72 0	68,49 5	0,282	0,003	0,751	0,681	7,396	0,395	1,801	0,452	0,153	0,452	0,079	0,517	0,106	0,331	0,053	0,392	0,062	2,014	0,029	0,182	0,073	0,03
57C3	0,02 8	0,683	0,609	2,26 3	0,053	0,004	0,004	1,152	0,985	0,015	0,278	1,081	0,079	0,023	0,172	0,009	0,052	0,017	0,044	0,003	0,014	0,004	0,002	0,000	0,074	0,001	0,00

		7 Li	45 Sc	51 V	52 Cr	55 Mn	59 Co	60 Ni	65 Cu	66 Zn	75 As
SAMPLE	Dilution	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]
SLRS 6	1.01	0.51994	0.36674	0.36546	0.24613	2.16107	0.05641	0.59995	25.72210	2.08991	0.63715
SLRS 6-2	1.01	0.53883	0.42439	0.30482	0.24900	2.19889	0.03086	0.53032	25.22223	2.10498	0.58455
UBN1	1840.1	19200.70579	10750.07559	60035.35561	2150015.55951	861808.76987	94030.19985	1739902.01613	21812.28053	79393.11224	10306.46618
UBN2	1865.2	18745.85949	11194.39474	58995.81842	2013708.48696	865586.65872	93337.07730	1742319.61218	21614.29142	70832.65190	10438.41992
Ben1	7573.6	9093.37131	19471.00706	195791.41955	329882.02705	1413882.05106	55668.24268	244981.90866	63829.27063	116179.63528	2823.17012
Ben2	7573.6	8117.62018	19288.10936	197983.14049	307025.73501	1323999.19889	51468.75451	222753.06589	57729.58346	104265.02687	2575.04524
1	1954.4	639.86724	6734.22040	9093.55478	712373.50424	692445.37927	87743.54247	4092000.51589	795.79363	34086.27028	782.54675
3	1838.9	384.40385	417.97599	21644.66637	16523.23390	865195.61878	74229.73791	2430267.63217	540.45797	32647.90810	190.80015
4	1948.4	629.06660	212.60693	10940.17699	12763.77024	607462.43516	38032.00220	1150710.44687	1933.23249	28637.29682	1135.93935
5	1980.2	333.47250	2772.33635	9333.21405	57468.07461	810632.53009	51636.24731	3295576.78914	567.69306	32038.60099	402.49124
6	1814.7	181.81709	1041.10394	4816.92885	44236.93893	421003.34502	109450.32590	1970025.10147	5099.22894	22760.19173	223.30712
7	1868.9	597.75815	253.63690	4793.47684	76242.59109	637404.12466	69415.12746	12716673.87525	10816.22535	24952.34354	200.22314
8	1935.4	5943.61797	3458.82668	15558.30652	951993.09754	701660.94610	70863.92775	3930101.11481	3996.71245	43670.40141	1413.79380
9	1864.5	460.07692	360.95419	4750.52875	13770.25625	661800.72666	49708.15719	3109001.64705	562.91707	32671.01139	273.79725
10	1852.2	846.28297	1768.57343	10730.44106	332786.93077	640881.26511	60137.01471	4029968.97515	868.38418	33516.95473	407.79971
11	1873.1	313.40122	276.39449	1378.29665	51098.82753	625191.73230	96416.62388	2184617.92824	257.99541	19486.30894	181.89767
12	1944.6	877.07419	7653.83815	30795.02825	1938742.49899	1530128.45615	183274.75426	5372403.77787	10090.16968	201752.03658	2068.57321
13	1883.1	352.81879	164.80278	10560.97217	18561.30606	779587.66485	245007.29662	12643460.30910	316.60450	34686.92103	171.69812
14	1966.2	3319.52224	1092.85734	11832.40819	38045.31914	503812.05722	71181.17237	4354041.76370	352.16815	48889.21206	5153.65447
15	1981.7	289.31906	1493.38417	6893.22384	231784.33225	632573.42116	174006.25082	2374714.35097	5417.14252	35576.30555	157.54977
16	1863.4	328.81160	1594.87660	6281.99712	157202.92696	293845.65109	27362.34412	1288760.12595	34183.74889	16212.54635	1325.56049
17	1950.1	430.29138	789.92113	7973.71525	52654.54156	650550.67150	56786.99799	1380521.28163	612.06941	26861.73770	428.99294
18	1964	56.44623	2277.64670	2259.97359	55982.09688	298271.83003	62271.21158	3941887.20802	368.42338	14003.87813	941.32642
19	1966.4	408.27130	468.55446	5118.26345	42437.47851	679867.25000	315063.30000	16797500.50825	565.76899	54471.00046	142.21107
20	1961.5	51.45343	1755.32227	5196.62074	11128.27150	636898.80017	79034.62989	1579272.94731	338.64730	25934.47217	83.62452

Table IV.2. Trace elements concentration of Caledonian Samples

... continued

		7 Li	45 Sc	51 V	52 Cr	55 Mn	59 Co	60 Ni	65 Cu	66 Zn	75 As
SAMPLE	Dilution	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]	Conc. [ppb]
21	1863.2	6211.78984	2301.20002	11939.08040	243110.05252	425863.27911	75825.18089	3719682.10598	505.15377	169523.20729	12160.14048
22	1996.9	86.48398	1791.36727	6572.83177	214594.41626	643642.46192	102425.74102	1790459.41887	761.31821	28029.59868	1418.23131
23	1869.1	79.61331	1388.88718	5829.33454	13347.02105	324335.80943	34430.96049	1783075.40607	249.83943	18743.85468	161.14079
24	1975.6	1370.96342	554.77139	20220.12679	36675.76609	930220.76170	96883.66178	922083.97864	1972.47163	30910.38963	149.06366
25	1770.1	494.69377	2318.54255	9687.81625	138290.68612	978169.10096	77668.58167	4788554.55221	1009.57203	37024.39832	433.43870
26	1891.3	427.91667	1143.62811	6725.71750	9460.70876	753371.76594	43398.23369	2392399.46273	312.08508	29090.27675	251.71129
27	1923.7	202.92284	334.60007	11367.39823	23398.74847	952036.01308	70234.74858	950321.82137	462.79772	27410.38349	255.28328
29	1960.6	227.82612	2430.12148	11361.87253	290164.34211	690838.48119	431438.79839	3899547.63748	6081.20671	181516.71451	219.07394
30	1855.7	211.26704	1402.75005	5986.10813	356783.22673	685892.45352	462852.94014	4504328.67261	25296.47328	181442.95067	142.32468
31	1958.6	162.11324	1549.83885	2001.29600	334109.32859	300450.64509	55549.08532	2490701.75623	502.94557	13623.60747	446.63267
32	1848.4	10669.20831	2661.90682	12185.76230	72137.56290	544842.98681	79369.71725	5557243.62986	386.07075	75391.32117	24458.54593
33	1788.6	142.74745	649.15111	11890.51136	20202.80609	666854.86219	97959.00410	1498910.02074	295.92711	19778.41665	221.22417
34	1761.2	69.69099	1338.53944	7791.19336	402623.45002	383323.17235	819050.60592	12566854.20484	4304.85699	219045.75780	216.57870
35	1914.9	624.64213	2537.58610	10308.52587	822333.83685	854217.89149	451499.99017	6733206.07156	1365.42430	97962.73978	165.02597
36	1868.4	871.28204	11598.25732	204199.45002	2856006.08732	500831.46820	22348.52499	1748004.24377	880.59549	6833.98450	43.20374
37	1835.9	830.69644	11606.16818	217998.56791	2920673.61498	526441.90186	21172.00924	2030312.19537	246.25975	5709.72037	70.72253
38	1981.3	111.82601	2449.22178	6556.63687	23029.19036	440923.88026	69468.54048	1730802.46962	401.81625	12883.34466	538.83988
39	1944.1	229.43748	1488.69050	7545.94095	102932.90860	415382.57272	31155.02466	2489110.82174	8510.27246	14868.97106	412.02096
40	1867.4	151.18622	925.44043	3606.69937	3597.36507	273289.34881	12722.11116	1575806.34264	1658.00300	10424.25956	187.80361
41	1812.4	1271.21441	6738.11255	172201.86433	1969292.11758	555553.41203	30128.07718	839605.12526	318.12539	8244.96006	60.56058
42	2000.6	1170.40313	9960.52988	159503.81885	2137340.72777	546892.20796	35216.07651	4840098.86725	179.92313	7602.37750	92.07322
45	1929.6	2197.75124	10094.84081	192269.07644	2180986.20460	504337.24994	176367.72124	3327027.68129	343.70890	48701.80701	113.92312
46	1769.2	2158.24858	9353.11298	193370.60040	2016053.06799	519333.18854	172545.66413	3338410.99910	332.62307	49511.14779	120.68294
47	1844.4	590.37016	15811.01357	68984.47848	1609714.04975	1249114.65370	483826.35381	3105669.13766	979.83675	63536.18929	211.98014
48	1911.2	4855.01866	523.45546	7592.46507	293170.62164	614699.05692	93561.18537	3727422.02365	1137.17606	227201.53963	14958.36129
55	1908.5	626.01255	15016.86351	46183.77396	1023503.54337	1434843.94489	640196.92466	3970394.97028	1203.20002	63600.12162	248.03195
57	1938.4	170.16023	1382.95530	3041.30638	330166.69792	369647.71436	1203046.04878	7524708.94203	3115.36135	42255.21011	512.71418

1	Time hours	Mg (mg/g/100cm ²)	Ca	Fe	Mn	Ni (µg/g/100cm ²)	Co	Cr
MES	2	0,013	n.d.	5	0,9	88	2	0,4
	4	0,014	n.d.	3	0,2	95	2	0,6
	8	0,025	n.d.	14	0,1	207	4	1,7
	24	0,030	n.d.	7	1,6	278	4	1,3
	96	0,042	n.d.	13	1,4	444	7	1,8
	576	0,000	n.d.	6	9,2	3203	42	12,4
	1440	0,002	n.d.	35	13,2	4111	47	15,9
	1440	0,001	4,0837E-05	0	10,2	4718	62	10,4
DTPA	2	0,001	9,5451E-05	105	128,3	2680	221	14,6
	4	0,105	0,03103833	73	86,9	1780	157	15,2
	8	0,210	0,02773067	178	196,8	4117	352	15,8
	24	0,323	0,02641428	1247	456,4	8429	739	33,4
	96	0,281	0,02552405	1200	2333,3	14965	5500	41,0
	576	0,455	0,0030524	4100	6933,3	45586	8473	91,7
	1440	0,281	0,00186812	2394	3641,7	23971	4190	43,8
	1440	0,085	0,00081221	881	903,5	7660	1093	17,0
41	hours	Mg	Ca	Fe	Mn	Ni	Co	Cr
MES	2	0,06	nd	0,0	0,0	5,9	0,0	0,2
	4	0,07	0,0065	0,0	0,0	32,0	0,0	2,0
	24	0,13	nd	3,9	0,0	55,9	0,0	3,2
	96	0,45	nd	0,0	5,6	24,1	0,2	1,9
	576	0,11	0,0030	0,0	0,4	31,7	0,0	2,5
	1440	0,13	0,0035	0,0	0,4	0,7	0,0	1,2
	1440	0,15	0,0032	0,0	0,0	1,2	0,0	2,0
	DTPA	2	0,01	0,0003	26,8	3,6	1,6	0,1
4		0,01	0,0023	20,8	2,7	13,3	0,7	0,5
24		0,07	0,0051	179,6	39,5	110,9	5,4	3,9
96		0,13	0,0018	393,6	53,4	140,3	4,8	6,9
576		4,97	0,0745	15401,5	1939,8	1699,6	90,5	419,2
1440		4,01	0,0881	8229,1	2306,0	1270,6	57,9	198,8
1440		3,26	0,0557	10471,7	2082,2	902,2	53,8	237,7
57		hours	Mg	Ca	Fe	Mn	Ni	Co
MES	2	0,03	0,007	0,0	0,0	23,1	2,0	4,0
	4	0,11	0,020	0,0	0,0	71,3	4,4	28,5
	8	0,07	0,011	0,0	0,0	47,5	2,8	18,9
	24	0,07	0,000	0,8	0,5	94,8	5,0	21,7
	96	0,15	0,034	0,0	3,5	73,5	6,5	6,8
	576	0,28	0,033	0,0	1,3	171,5	12,2	116,0
	1440	0,35	0,043	3,5	2,5	206,4	15,3	43,4
	1440	0,29	0,026	0,0	0,0	159,1	9,0	137,8
DTPA	2	0,26	0,038	143,7	367,1	1168,8	213,7	29,6
	4	0,47	0,134	996,9	273,6	2622,7	608,4	47,3
	8	0,41	0,057	888,9	176,7	1542,7	404,9	130,8
	24	0,50	0,051	2164,5	393,0	5850,4	812,4	90,1
	96	0,87	0,134	4626,2	4730,5	10054,4	2689,7	179,3
	576	0,88	0,099	6387,3	11032,0	26498,2	8973,0	153,3
	1440	1,06	0,133	13010,6	3880,6	30815,1	4329,6	429,1
	1440	0,93	0,084	13500,8	12496,0	43274,7	13134,7	447,5

Table IV.3. Elements concentrations of Mg, Ca, Fe, Mn, Ni, Co and Cr in the extraction solution, MES or DTPA for various extracting times. n.d. for not detected

