

SOMMAIRE

INTRODUCTION

Le peroxyde d'hydrogène joue un rôle important dans la chimie atmosphérique. Il se trouve en effet aussi bien dans la phase gazeuse que dans la phase aqueuse où il est impliqué à la fois comme source et puit de radicaux HO_x (OH et HO₂) (Van Valin et al., 1990; Heikes, 1992). De même que l'ozone, il intervient alors fortement sur la capacité oxydante atmosphérique. Du fait de sa constante de Henry élevée ($1,1 \cdot 10^5 \text{ M} \cdot \text{atm}^{-1}$), le peroxyde d'hydrogène se retrouve préférentiellement en phase aqueuse, à la différence de l'ozone peu soluble. Ainsi H₂O₂ agit comme le principal oxydant dans les gouttes d'eau nuageuses (Brandt et Eldik, 1995). A ce titre, il est directement impliqué dans l'acidification des pluies ou des brouillards (oxydation de SO₂ en H₂SO₄). De ce fait, il est important de connaître la concentration de H₂O₂ dans les nuages afin d'améliorer notre compréhension des processus d'oxydation au sein de la goutte d'eau.

La majorité des mesures d'H₂O₂ effectuées sont celles obtenues par la collecte des dépôts humides sous forme de pluie, de brouillard, ou de neige (par exemple: Deng et Zuo, 1998). La plupart de ces échantillons apportent leurs lots d'informations précieuses, celles-ci sont quelque peu modifiées par les dilutions qui s'opèrent lors de l'agglomération des gouttes de pluies entre elles ou par l'incorporation d'espèces lessivées au cours son de transport. C'est pourquoi, afin d'obtenir une information directe sur la composition initiale de la goutte, il faut opérer directement à l'endroit où elle se forme; c'est à dire dans le nuage. Bien qu'un certain nombre de prélèvements aient déjà été effectués au cœur des nuages, très peu ont été analysés directement (Watanabe et al., 2001 ; Anastasio et al., 1994). Ces prélèvements, généralement réalisés au sein de nuages orographiques ou lors de campagnes aéroportés, sont stockés au froid, à l'abri de la lumière et analysés ultérieurement. Ainsi, la possible dégradation des échantillons au cours du temps pourrait rendre les résultats non représentatifs du milieu. Pour minimiser ces phénomènes il convient de faire des analyses en ligne. C'est ce qui a fait l'objet de mon travail.

Dans une première partie, mon travail a consisté à perfectionner un collecteur aéroporté d'eau nuageuse (NUAC, 1991) dans le but de le rendre approprié au prélèvement de composés traces. De plus, les volumes recueillis étant faibles, j'ai dû mettre au point un système d'aspiration adéquate. Dans un second temps, j'ai adapté une méthode automatique de dosage en ligne des hydroperoxydes (H₂O₂ + ROOH) gazeux (LAZRUS et al., 1986) pour son utilisation en phase aqueuse. Nous avons donc testé ce système pour de faibles concentrations et en présence de métaux de transition tel que le fer. En effet, celui-ci du fait de son comportement comme catalyseur de la dégradation d'H₂O₂ pourrait affecter les concentrations mesurées.

Le collecteur aéroporté

Afin de prélever la phase aqueuse atmosphérique directement au sein du nuage, dans le but d'en analyser la teneur en peroxyde d'hydrogène, j'ai dû améliorer un collecteur pour le rendre opérationnel dans cette tâche. Le collecteur initial, tel qu'il a été construit pour la campagne NUAC (1991) comportait en plus du corps du préleveur en verre (Photo 1 et 2), une hélice en polystyrène et inox et un bord d'attaque en acier inox. L'ensemble était maintenu à l'extérieur grâce à une embase Knollenberg.

Principe de fonctionnement

Lorsque l'avion traverse le nuage, les gouttes d'eau nuageuse prises dans le vortex créé par l'hélice s'impactent sur les parois du cylindre en verre. Poussées par le flux d'air, elles sont recueillies dans les trois gorges de collecte, d'où elles sont extraites par un système d'aspiration (Photo 2 et 4).



Photo 1 : corps du préleveur aéroporté : cylindre en verre

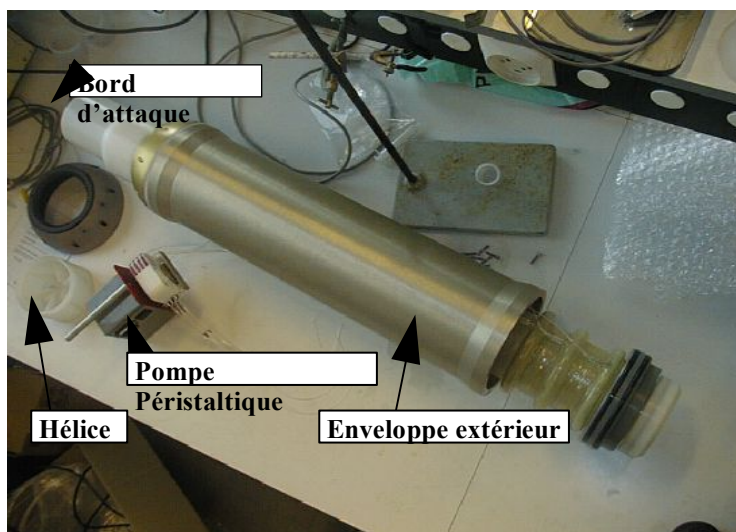


Photo 2 : Présentation du collecteur

Modification apporté au collecteur

Le prélèvement d' H_2O_2 doit se faire sans aucune contamination métallique car les métaux catalysent la destruction du H_2O_2 . Suite à la campagne NUAC (1991), les matériaux en inox et en polystyrène qui étaient en contact avec l'échantillon liquide ont été remplacés par du polyéthylène

et du Téflon. En effet, pour notre étude sur la mesure du peroxyde d'hydrogène, on tient à anticiper une éventuelle contamination en fer, en nickel et en chrome provenant de l'innox. Il était donc préférable d'utiliser des matériaux chimiquement inertes pour éviter ces contaminations.

De plus, après cette campagne, une réflexion critique sur le mode opératoire a abouti au fait qu'il pourrait y avoir des contaminations lors de l'installation du collecteur sur l'avion et pendant la première phase du vol et spécialement au sol à l'aéroport. L'atmosphère environnante d'un aéroport étant chargée d'un certain nombre de polluants susceptibles de s'introduire dans le corps du préleveur. Il a donc été décidé de mettre au point un dispositif pour isoler l'entrée du collecteur du milieu extérieur avant sa mise en service au sein du nuage.

Fabrication des coiffes

Le système d'occultation utilisé est une coiffe en polyuréthane expansé que l'on emboîte dans le bord d'attaque. Le polyuréthane a été choisi car c'est un matériau léger et facile à travailler.

Cette coiffe a été réalisée à l'aide d'un moule en polyéthylène usiné à cet effet dans lequel on a versé un mélange de deux réactifs qui forment après réaction une mousse compacte. Celle-ci est recouverte après démoulage d'un film plastique adhésif de façon à éviter l'incorporation de particules de polyuréthane dans le corps du préleveur. Afin de larguer la coiffe avant l'entrée dans le nuage, j'ai envisagé un principe simple. La coiffe est découpée en deux parties (Photo 3) maintenues ensemble par un ruban adhésif pouvant être arraché à distance par un fil de Nylon. Ce fil, accessible de l'intérieur de l'avion, passe dans une gaine de Téflon™.



Photo 3 : La coiffe en polyuréthane et son moule

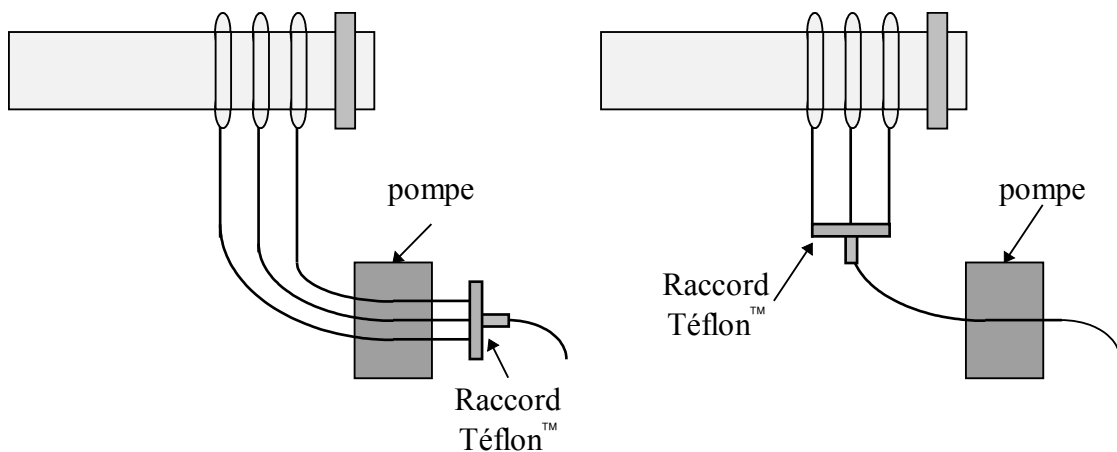
Système d'aspiration de l'eau

Une pompe péristaltique est raccordée en sortie du collecteur au niveau des gorges de collecte à l'aide de tuyau en Téflon™ et de tubes Tygon (Photo 4).



Photo 4 : Connexion des tubes Tygon sur les gouttières du collecteur

Lorsque j'ai adapté le système de pompage sur le collecteur, la question s'est posée de savoir si je devais relier les 3 voies en sortie du collecteur avant leur arrivée à la pompe, ou si chaque voie pouvait être raccordée individuellement à la pompe. J'ai essayé chacune de ces options schématisées ci-dessous.



Option 1: Raccordement des voies de collecte après la pompe

Option 2: Raccordement des voies de collecte avant la pompe

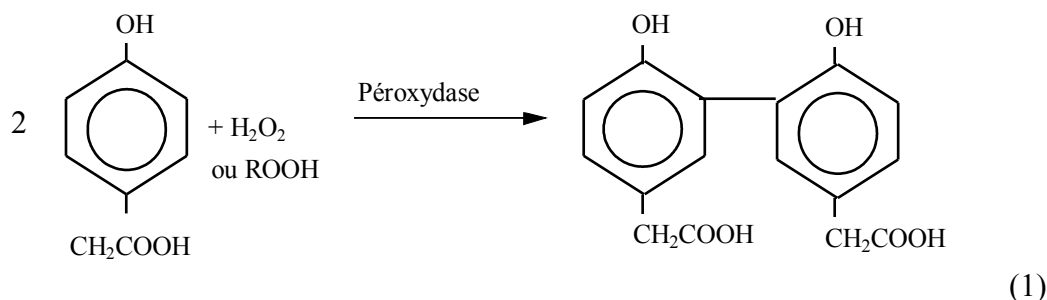
Dans le cas de l'option 2, les gouttières ne contiendront pas la même quantité d'eau. L'expérience montre que l'évacuation du liquide peut être bloquée par capillarité dès que de l'air est introduit dans le système. J'ai donc décidé qu'il était préférable de retenir l'option 1 dans le protocole définitif. Les modifications apportées au collecteur d'une part et la mise en place d'un système d'aspiration d'autre part, fournissent une bonne avancée sur la mise au point du préleveur. La prochaine étape sera de le tester en condition réelle.

Analyse de la phase aqueuse

Principe

On souhaite mesurer la teneur en peroxydes par fluorescence. La méthode utilisée est celle de Lazrus (1986) qui s'appuie sur le comportement des peroxydes en présence de deux enzymes :

- La peroxydase, catalyse la réaction (1) entre H_2O_2 et l'acide p-hydrophénylacétique (POPHA), un réactif de fluorescence.



Le dimère (acide 6,6'-dihydroxy-3,3'-biphényl di acétique) formé est fluorescent, il est excité pour une longueur d'onde voisine de 320 nm et émet vers 400nm.

Cette enzyme catalyse aussi les réactions entre les peroxydes organiques (ROOH) et le POPHA; le signal obtenu lors de l'analyse au fluorimètre, sera donc proportionnel à la teneur en peroxyde total ($H_2O_2 + ROOH$).

- Une autre réaction faisant intervenir la catalase a pour but de détruire H_2O_2 dans l'échantillon. Ainsi le signal obtenu sera uniquement représentatif des peroxydes organiques. Cette deuxième enzyme fournit donc un blanc pour la détermination de H_2O_2 .

La différence entre les 2 signaux (avec et sans catalase) donnera une valeur d'intensité proportionnelle à la quantité de peroxyde d'hydrogène.

Présentation du système d'analyse

Dans l'optique de faire une mesure en ligne du peroxyde d'hydrogène dans la phase aqueuse atmosphérique, j'ai utilisé un système permettant d'automatiser le mélange des réactifs nécessaires à l'analyse par fluorimétrie. Cependant, il était initialement prévu pour l'analyse de H_2O_2 en phase gazeuse. Comme mon étude concerne la phase aqueuse, il m'a fallu adapter ce dispositif.

Description du dispositif d'automatisation

Le fonctionnement du dispositif de mélange est assuré par différents serpentins et connexions (Figure 1). Les serpentins utilisés, de type TECHNICON, sont en verre et les autres parties de l'analyseur sont reliées entre elles par des tubes souples en tygons ou en silicone. Une pompe péristaltique de type ISMATEC munie de tubes MANIFOLD est nécessaire pour

introduire, à des débits fixes les solutions dans l'analyseur. Cette technique permet aux différents réactifs d'arriver dans un ordre bien précis respectant le protocole et d'être parfaitement mélangés. La voie de mesure, permettant de quantifier le dimère fluorescent, est relié au spectrofluorimètre. Celui-ci donne, par l'intermédiaire d'un voltmètre, la valeur du signal en mV proportionnel à l'intensité de fluorescence.

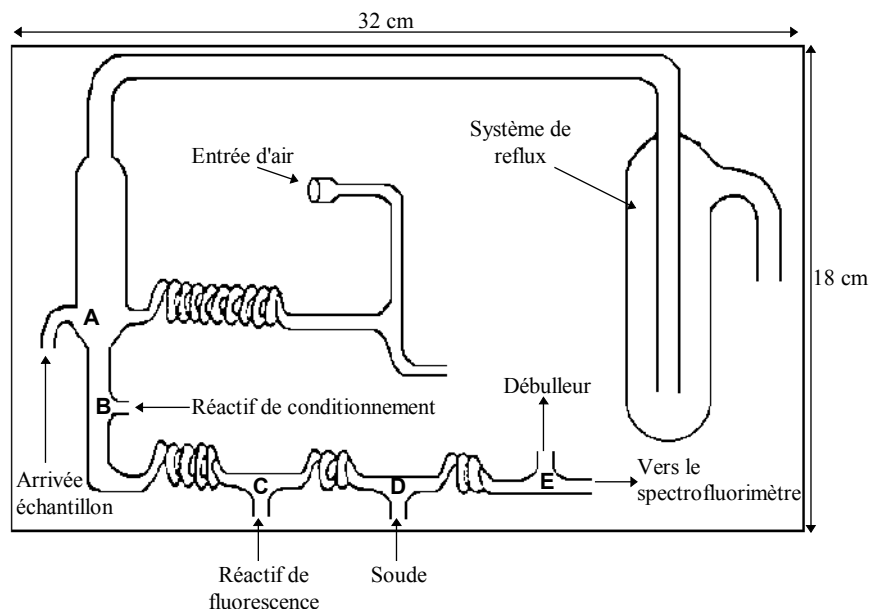


Figure 1 : Schéma d'une plaqueette d'analyse

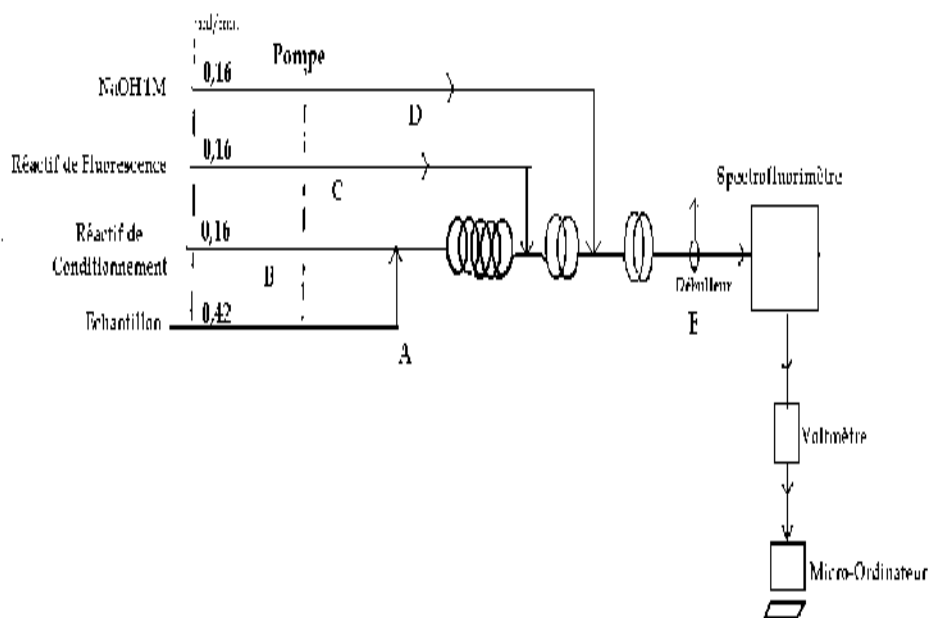


Figure 2 : Schéma simplifié de l'analyseur automatique d' H_2O_2

Les réactifs introduits dans ce système de mélange sont décrits plus en détail en Annexe I.

Cheminement des réactifs dans le TECHNICON (Figure 1 et 2)

- L'échantillon arrive en premier dans l'analyseur au point **A**, à une vitesse de 0,42 mL/min. Celui-ci est fragmenté par des bulles d'air, créées par la différence qu'il existe entre l'aspiration à l'intérieur de l'analyseur et les débits de refoulement vers l'extérieur.
- Au point **B**, il rencontre le réactif de conditionnement qui est introduit avec un débit de 0,16 mL/min. Ces deux solutions se mélangent et traversent, fractionnés par un train de bulles, un serpentin à cinq spires pendant 50 secondes, pour permettre que la réaction soit complète.
- Au point **C**, est introduit le réactif de fluorescence (0,16 mL/min) qui se mélange au reste en traversant un serpentin à deux spires pendant 20 secondes. Ce dernier permet d'augmenter le temps de contact entre les solutions, autrement dit à augmenter le rendement de la réaction.
- La solution qui était jusqu'à présent tamponné à pH=6, contient désormais le dimère fluorescent. Celle-ci rentre en contact, au point **D**, avec une solution de NaOH 1M (0,16 mL/min); s'en suit une hausse du pH. Celle-ci est nécessaire car la fluorescence du dimère diminue à pH < 9 alors qu'elle reste à son maximum à pH > 10. La solution à analyser traverse ensuite un serpentin à deux spires (20 secondes) qui a le même rôle que le précédent.
- Au point **E**, la solution traverse un débulleur qui à la forme d'un tube en T. Celui-ci à pour fonction d'enlever les bulles introduites auparavant. Elles sont aspirées à la vitesse de 0,8 mL/min vers l'extérieur. Le reste de la solution continue son cheminement et arrive pour l'analyse dans le spectrofluorimètre à une vitesse de 0,8 mL /min.

Le système initial était composé de deux plaquettes d'analyse automatique: l'une recevant le réactif de conditionnement sans catalase pour mesurer la totalité des peroxydes et l'autre, où le réactif de conditionnement contenait de la catalase afin de mesurer le peroxyde d'hydrogène seul. Ainsi, initialement l'échantillon devait être séparé en deux voies.

Compte tenu du fait que les quantités d'eau dans le nuage sont assez faibles (30-500 mg/m³; Baumgardner, Kronmiller et al., 1997), il était préférable de passer de 2 voies de mesures à une seule. J'ai donc mis au point un protocole permettant l'analyse des peroxydes organiques et du H₂O₂ successivement dans la même voie.

Etalonnage de l'analyseur automatique.

Optimisation du fluorimètre

Le spectrofluorimètre utilisé pour l'analyse est de type SHIMADZU RF 535. Les valeurs de longueurs d'onde d'excitation et d'émission sont les premiers paramètres à optimiser lors de la calibration de l'appareil afin d'obtenir une réponse maximale. J'ai donc en premier lieu fixé la

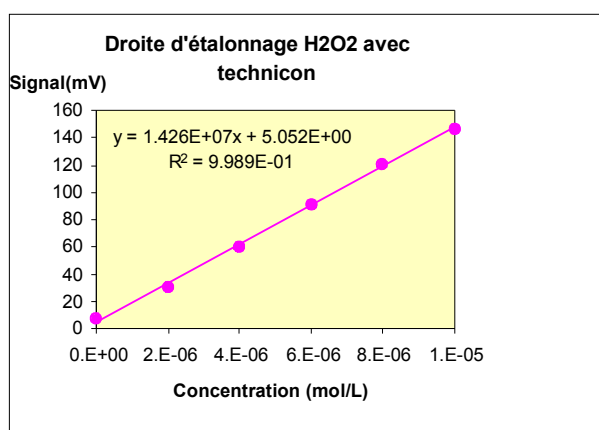
longueur d'onde d'excitation et fais varier la longueur d'onde d'émission jusqu'à obtenir un signal maximum. Puis, inversement jusqu'à obtenir une réponse optimale pour une solution de dimère à $10^{-5}M$. Les valeurs affichés donnant une réponse maximale sont les suivantes :

$$\lambda_{ex} = 300 \text{ nm}$$

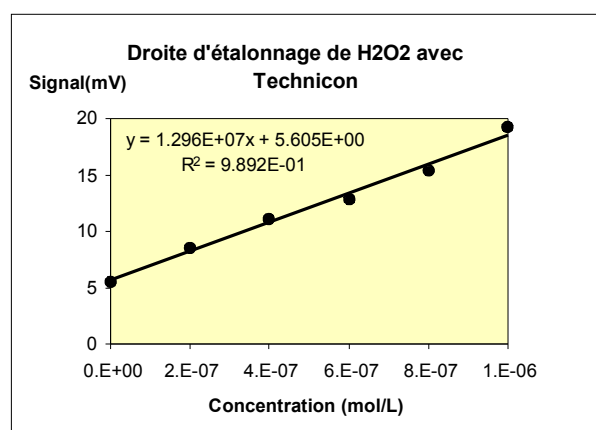
$$\lambda_{em} = 400 \text{ nm}$$

Gamme d'étalonnage

La calibration du système d'analyse automatique est effectuée à partir de solutions étalons d' H_2O_2 allant de 2.10^{-7} à $10^{-5} M$; ce qui correspond aux concentrations rencontrées dans la phase aqueuse atmosphérique (Gunz, 1990). L'étalonnage s'est fait sur deux gammes étalons: 2.10^{-7} à $10^{-6} M$ pour la première et 2.10^{-6} à $10^{-5} M$ pour la seconde. A cet effet, j'ai préparé une solution mère à $10^{-1}M$ à partir d'une solution commerciale à 30 %. Le titre de cette solution mère a été vérifié par une méthode iodométrique (Annexe II). Pour réaliser les gammes étalons, il a été nécessaire de préparer deux solutions intermédiaires à $10^{-3} M$ et $10^{-5} M$ par dilutions successives à l'eau Milli-Q. Celles-ci ont été stockées dans des flacons ultra-propres et stérilisés en verre ayant subit le protocole de lavage (Annexe III).



(1)

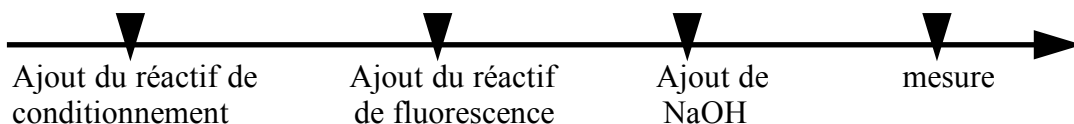


(2)

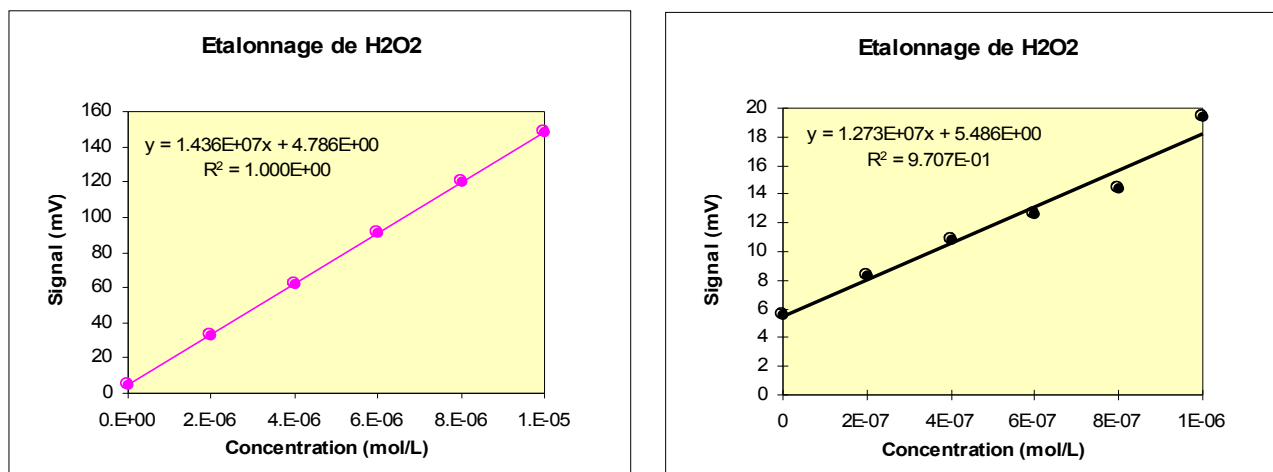
Figure 3 :Droites d'étalonnage obtenues à partir de l'analyseur automatique de H_2O_2 sur une gamme de concentrations de 2.10^{-6} à $10^{-5}M$ (1) et 2.10^{-7} à $10^{-6} M$ (2)

Les figures (3-1) et (3-2) donnent les droites d'étalonnage obtenues pour les gammes étalons indiquées. On constate que leurs pentes sont proches l'une de l'autre, confirmant la linéarité de la réponse sur deux ordres de grandeur pour la gamme des concentrations rencontrées dans l'atmosphère.

Parallèlement, pour vérifier l'efficacité des mélanges induit par le système TECHNICON, j'ai réalisé les mêmes gammes étalons que précédemment en faisant le mélange manuellement selon le protocole testé par Kui (DEA, 2001). Les deux gammes étalons (Annexe IV) ont alors été réalisées en ajoutant les réactifs dans l'ordre chronologique décrit ci-dessous :



Pour l'analyse, j'ai laissé un intervalle de 30 secondes entre l'ajout de chaque réactif, ce qui correspond aux conditions optimum d'analyse (Kui, 2000).



(1)

(2)

Figure 4 : Droites d'étalonnage de H₂O₂ de 2.10⁻⁶ à 10⁻⁵M (1) et de 2.10⁻⁷ à 10⁻⁶ M (2).

On constate que ces droites (Figure 4-1 et 4-2) ont des pentes analogues à celles obtenues auparavant en utilisant l'analyseur automatique ainsi que des ordonnées à l'origine du même ordre. Cependant, en tenant compte de la dilution qui n'est pas la même dans les deux méthodes, on n'aboutit plus à des pentes similaires. On peut calculer cette différence par exemple sur la gamme de concentration 2.10⁻⁶-10⁻⁵ M :

Soit la **Pente 1** obtenue avec le Technicon et **D1** sa dilution.

Soit la **Pente 2** obtenue manuellement et **D2** sa dilution.

En tenant compte des dilutions du Technicon et manuellement (Annexe I et IV) on a :

$$D1 = 0.90/0.42 \text{ et } D2 = 5/1$$

Ainsi, pour comparer les pentes réelles, on doit comparer **Pente 1 * D1** et **Pente2 * D2**

	Système Technicon	Mélange manuel
Pente en tenant compte de la dilution	3,056.10⁷	7,180.10⁷

Tableau 1: Pentes en tenant compte de la dilution pour les étalons allant de 2.10⁻⁶ à 10⁻⁵ M.

On constate qu'en tenant compte de la dilution, la pente obtenu par le système Technicon est plus faible d'environ un facteur 2. Cette différence est due au fait que les conditions opératoires n'étaient pas exactement les mêmes notamment pas des temps de contact différents. De la même manière, pour la gamme de concentration allant de 2.10⁻⁷-10⁻⁶ M on obtient des pentes:

	Système Technicon	Mélange manuel
Pente en tenant compte de la dilution	$2,777.10^7$	$6,365.10^7$

Tableau 2: Pentas en tenant compte de la dilution pour les étalons allant de 2.10^{-7} à 10^{-6} M.

Pour cette gamme, la pente obtenue pour le Technicon est aussi plus faible d'un facteur 2 environ.

Passer au fluorimètre un par un les étalons avec réactifs, préparés manuellement, revient à analyser des fractions discrètes tout comme dans l'analyseur automatique, où les échantillons sont fractionnés par des bulles d'air. Cependant, dans l'optique d'un prélèvement d'eau nuageuse suivi de l'analyse immédiate de H_2O_2 , le mélange automatique des réactifs permet non seulement de simplifier le protocole auquel doit se soumettre l'expérimentateur mais aussi d'avoir une meilleure sensibilité et une bonne reproductibilité des résultats obtenus.

Du fait du chemin à parcourir par l'échantillon avant sa mesure dans le fluorimètre, la stabilisation du signal, qui se traduit par un plateau, n'est atteinte que 5 minutes après le début de son introduction dans le système. Dans le cadre d'une campagne aéroportée de mesure en ligne des peroxydes, ce temps de latence entre l'introduction de l'échantillon et la stabilisation du signal est beaucoup trop long. Pour réduire ce temps de réponse, nous avons décidé d'utiliser la méthode d'injection de flux. Celle-ci consiste à injecter un volume connu d'échantillon et à suivre l'évolution du signal sous forme de pics en fonction du temps. Pour cela, j'utilise un micro-ordinateur qui est muni d'un programme d'acquisition des données connecté sur la sortie RS232 du Voltmètre. Dans ces conditions on peut fonctionner en mode impulsionnel, ce qui permet de réduire considérablement le temps de réponse, et permettre de pomper de faibles volumes.

Étalonnage pour l'analyse des peroxydes totaux (ROOH + H₂O₂) avec le système TECHNICON et l'acquisition PC

Vérification de la linéarité via l'aire des pics

Dans un premier temps, j'ai continué à travailler sur des solutions étalons de peroxyde d'hydrogène seul afin de vérifier par le biais de cette méthode, qu'on a bien une linéarité entre l'aire des pics et la concentration des étalons ou le temps de prélèvement.

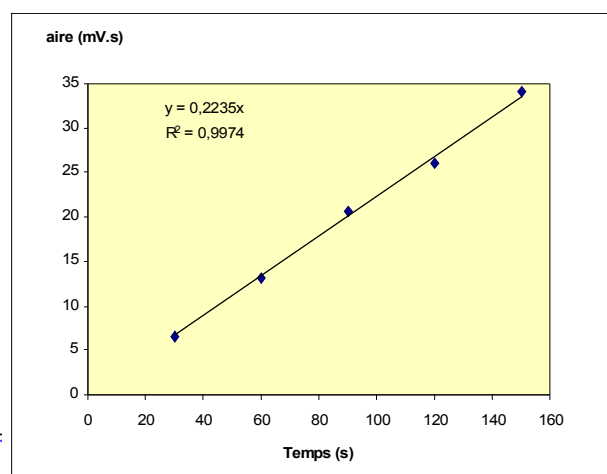
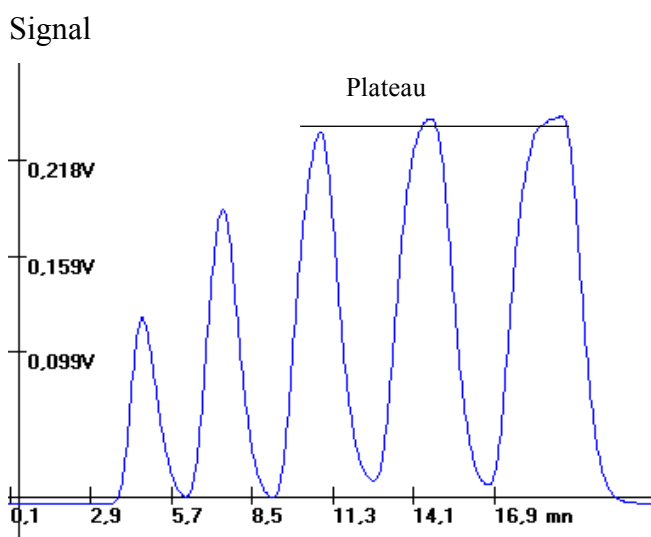
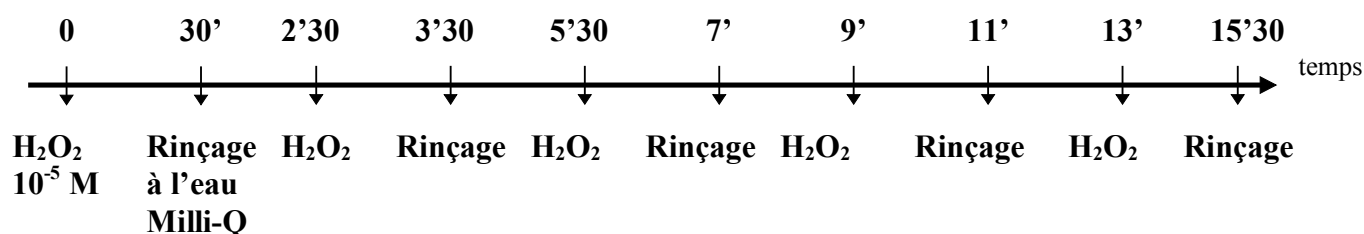
Solution utilisés:

- Réactif de conditionnement sans catalase
- Réactif de fluorescence
- NaOH 1M
- Solution d' H_2O_2
- Eau Milli-Q

Toutes ces solutions ont été injectées dans l'analyseur en respectant l'ordre et le protocole décrit ci dessus (cheminement des réactif dans le TECHNICON). Dans une première expérience (expérience 1), j'ai fait varier le temps de prélèvement de l'échantillon (H_2O_2 10^{-5} M) de 30 sec à 2,5 min.

Une seconde expérience d'étalonnage (expérience 2) a consisté à faire varier la concentration d' H_2O_2 , en faisant passer des étalons allant de 10^{-5} à 10^{-6} M par des injections sous forme de pulses de 1 minute, soit 0,42 mL. La ligne de base est obtenue en plongeant la voie de l'échantillon dans l'eau Milli-Q pendant deux minutes après chaque injection de H_2O_2 , afin de bien nettoyer l'analyseur après le passage de l'échantillon précédent et pour retomber à notre ligne de base.

L'expérience 1 s'est déroulée en suivant, pour la voie de l'échantillon, le mode opératoire ci-dessous :

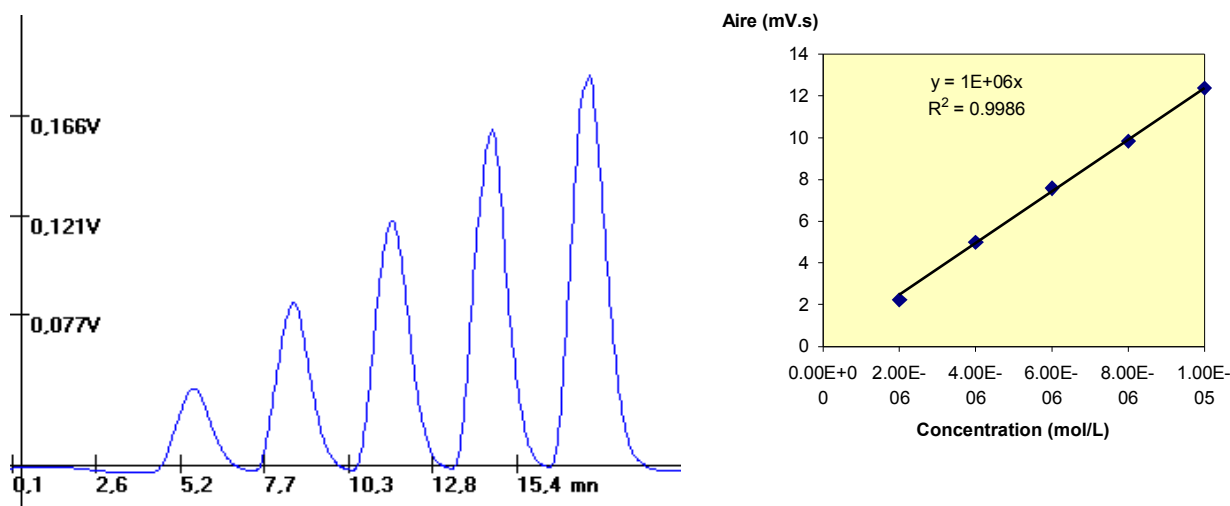
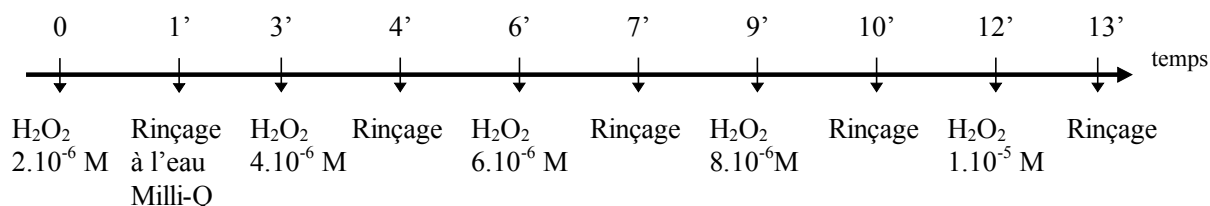


(a)

(b)

Figure 5: Signal obtenu à partir d'une solution de H_2O_2 10^{-5} M en contact avec une solution de peroxydase pendant des temps différents (a). Aire des pics en fonction du temps d'injection (b). On remarque l'apparition d'un plateau pour une durée d'injection supérieure à 1min 30 soit pour un volume de 0.63 mL.

L'expérience 2 s'est déroulée en suivant le mode opératoire ci-dessous pour la voie de l'échantillon:



(a)

(b)

Figure 6 : Signal obtenu à partir de différentes concentration de H₂O₂ pendant 1 minute entrecoupé de rinçage à l'eau pendant 2 minutes (a). Aire des pics en fonction de la concentration (b).

Les figures 5 et 6 montrent que l'aire des pics est bien proportionnelle d'une part au temps de pompage de l'échantillon; autrement dit, au volume de solution d'H₂O₂ et d'autre part à sa concentration.

Ce nouveau dispositif nous permet d'accéder à de nouvelles informations par rapport aux résultats précédents. En effet, on peut déterminer pour une concentration et pour un volume connu de H₂O₂ le taux de croissance du signal via la tangente de la courbe dans sa phase ascendante selon le calcul suivant:

$$\text{taux de croissance} = \frac{\text{pente}_{1/2\text{tangente}}}{\Delta\text{signal}} = \frac{\text{pente}_{1/2\text{tangente}}}{\text{signal}_{\max} - \text{signal}_{\min}}$$

A titre d'exemple, voici le signal dans sa phase ascendante ainsi que la demi tangente pour l'étalon à 10⁻⁵ M

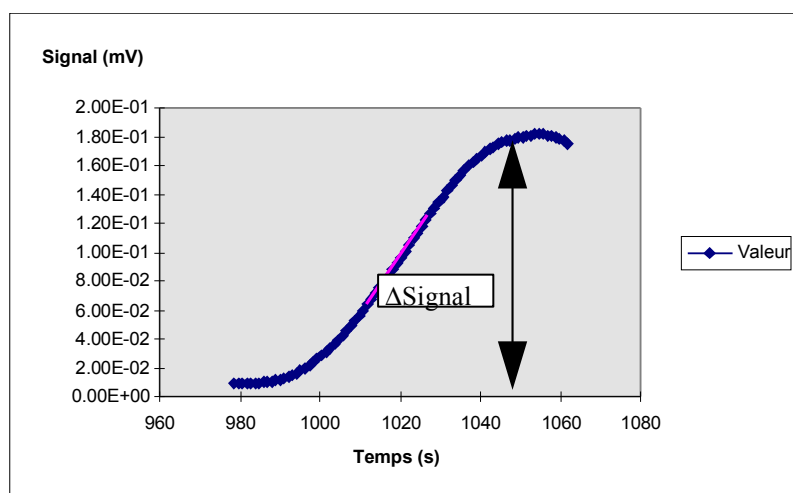


Figure 7 : Tangente au signal dans sa phase croissante.

J'ai réalisé ces calculs sur le signal obtenu pour l'expérience 2

Concentration (mol/L)	Taux de croissance(% /s)
2.10^{-6}	1.98
4.10^{-6}	2.20
6.10^{-6}	2.24
8.10^{-6}	2.27
1.10^{-5}	2.32

Tableau 3 : Taux de croissance du signal à mi hauteur en fonction des concentrations

On constate (Tableau 3) que le taux de variation varie entre 1,95 et 2,3 %·s⁻¹, il s'agit donc d'un intervalle très petit. Cela montre que la montée du signal est assez constante

Introduction du réactif de conditionnement avec catalase

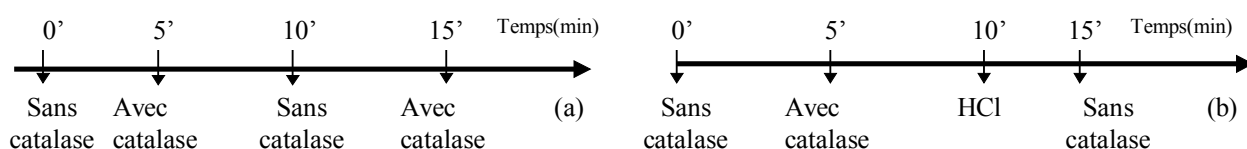
Dans un second temps, j'ai introduit le réactif de conditionnement avec catalase afin de voir si celui-ci remplit bien son rôle; à savoir détruire le peroxyde d'hydrogène. Cependant la catalase étant très réactive, il est nécessaire de savoir s'il faut introduire un cycle de nettoyage à l'acide chlorhydrique juste après son passage. En effet, celui-ci détruit la catalase.

J'ai donc réalisé deux expériences en faisant passer une solution de H₂O₂ 10⁻⁵ M en continu:

- L'une en présence de réactif de conditionnement avec et sans catalase (a).
- Et l'autre en introduisant après la catalase une étape de nettoyage avec HCl 1M

(b).

Chacun des cycles ci-dessous, a été répété 3 fois pour chaque expérience.



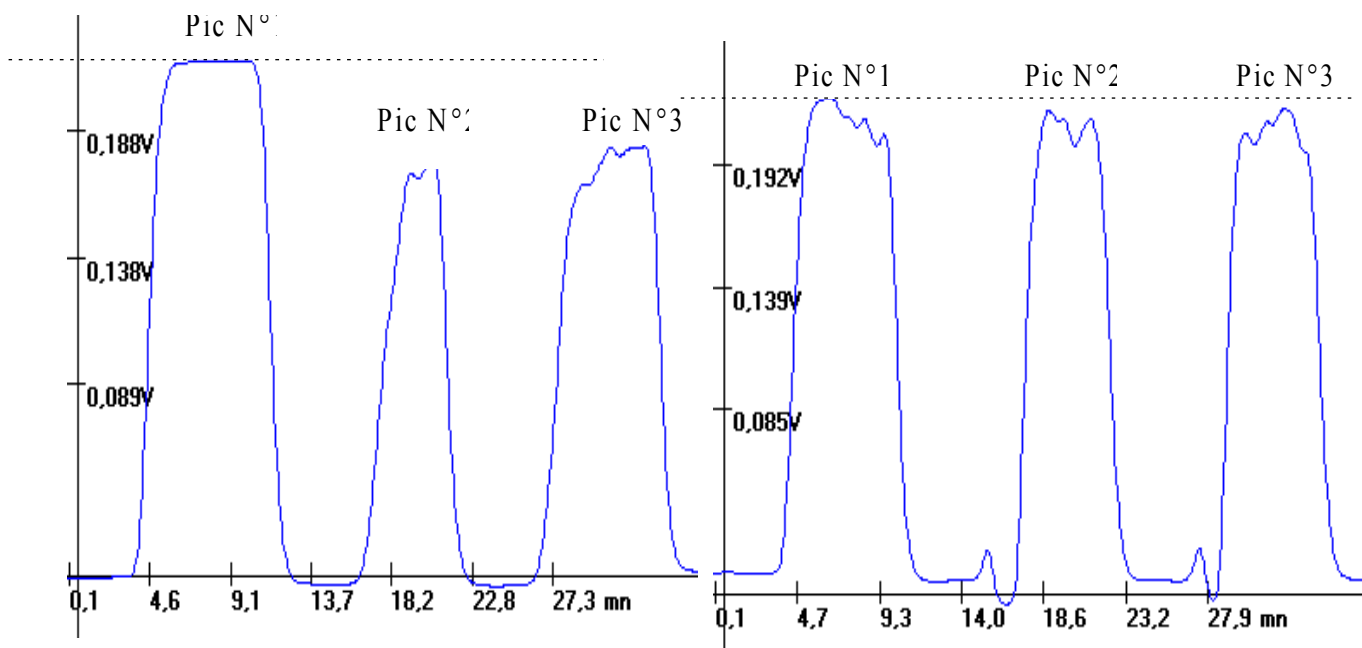


Figure 8 : Signal obtenu pour le protocole sans nettoyage à l'acide (a) et avec rinçage à l'acide (b)

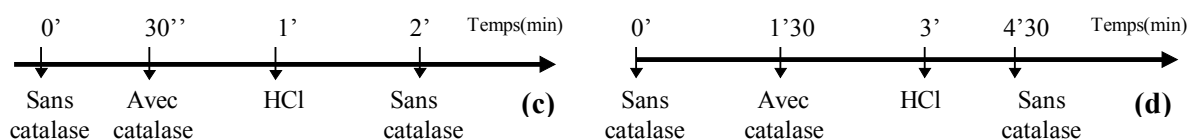
Sur la courbe (a) on voit que le second pic n'atteint pas l'amplitude du premier, cette différence est due au fait qu'il restait des traces de catalase qui ont détruit H_2O_2 . En revanche un nettoyage à l'acide chlorhydrique (b) entraîne une amplitude identique entre les pics. Cela traduit le fait qu'il ne reste plus de trace de catalase. Ainsi, La comparaison entre les figures 8a et 8b justifie bien qu'il est nécessaire d'introduire un cycle de nettoyage avec HCL 1M après le réactif de conditionnement avec catalase.

De plus, on peut observer le taux de croissance du signal et établir une comparaison entre les valeurs obtenues avec et sans nettoyage à l'acide (Tableau 4). Ces résultats nous montrent une fois de plus la nécessité d'un cycle de nettoyage à l'acide après l'utilisation de la catalase. En effet, on remarque que sans nettoyage, le taux de croissance du signal est environ divisé par 2 par rapport à la première montée alors qu'avec un rinçage à l'acide, il reste constant.

Numéro du pic	Taux de croissance (%/s)	Taux de croissance (%/s)
	sans nettoyage avec HCl	avec nettoyage avec HCl
1	1.79	1.58
2	0.72	1.55
3	0.95	1.51

Tableau 4 : Taux de croissance des signaux à mi hauteur en fonction du nettoyage

Après avoir montré que l'utilisation du réactif de conditionnement avec catalase passait obligatoirement par une phase de nettoyage, j'ai vérifié sur une gamme d' H_2O_2 passée en continu ($2 \cdot 10^{-6}$ - 10^{-5} M), que l'alternance entre les deux réactifs de conditionnement permettait bien d'avoir un signal proportionnel aux concentrations. J'ai suivi pour chaque étalon, les protocoles (c) et (d) décrits ci-dessous.



L'intérêt de faire varier le volume de la solution de H₂O₂ injecté, est de vérifier si même avec une petite quantité d'échantillon on peut accéder à des résultats exploitables, ce qui est important dans notre étude.

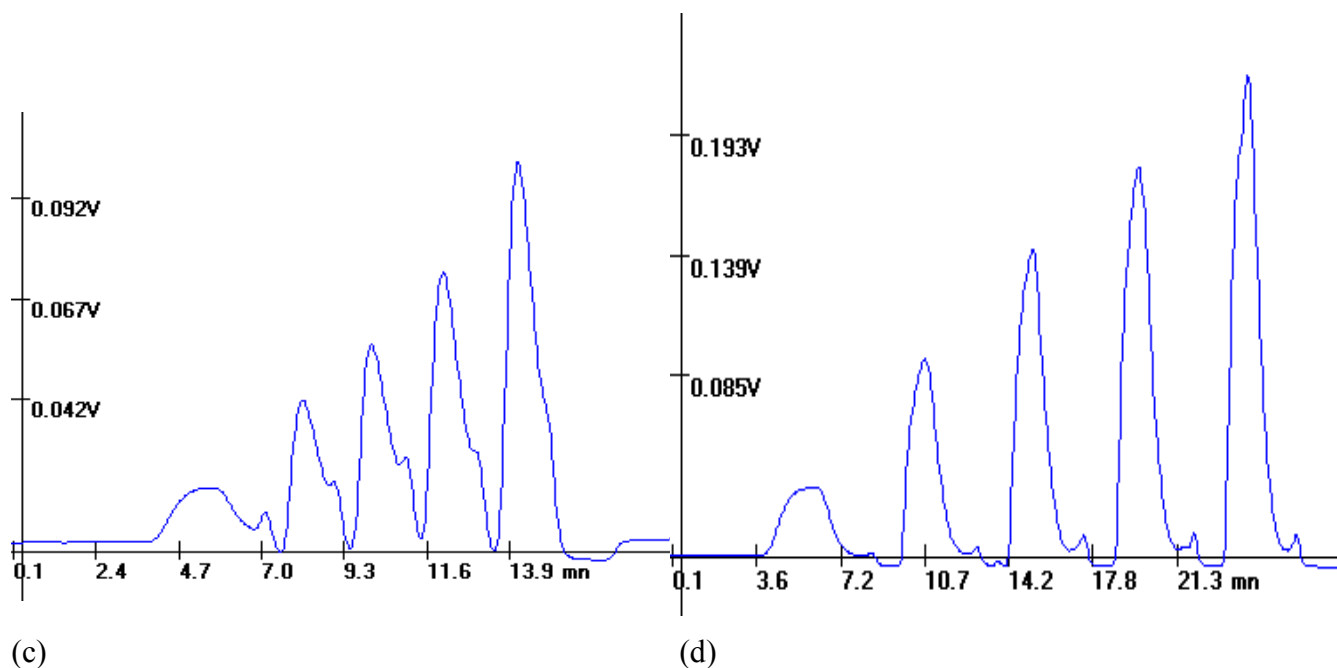


Figure 9 : Signaux obtenus en faisant passer 5 étalons de H₂O₂ (10⁻⁵ à 10⁻⁶ M) sur un cycle complet avec et sans catalase et un rinçage à l'acide, pendant des temps différents. (c) :30 sec de chaque réactifs. (d): 1min 30 de chaque réactifs

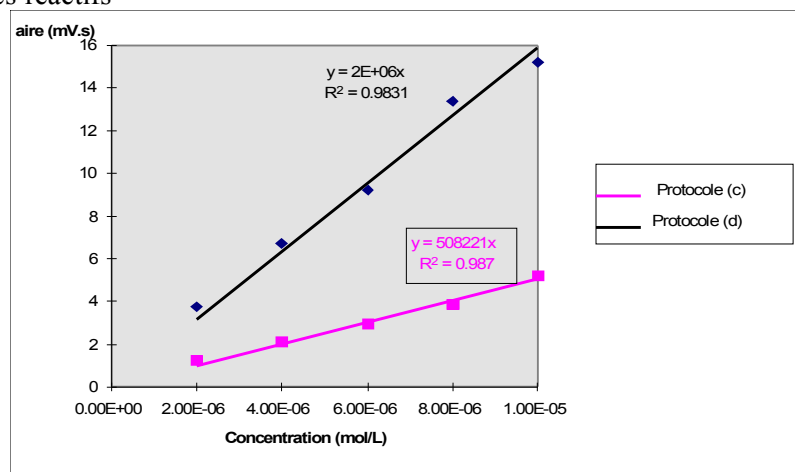


Figure 10 : Aire des pics obtenus en fonction de la concentration des échantillons passés et du temps de pompage.

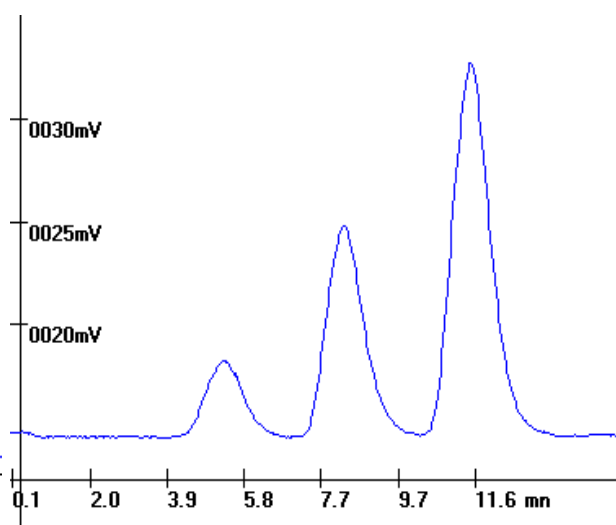
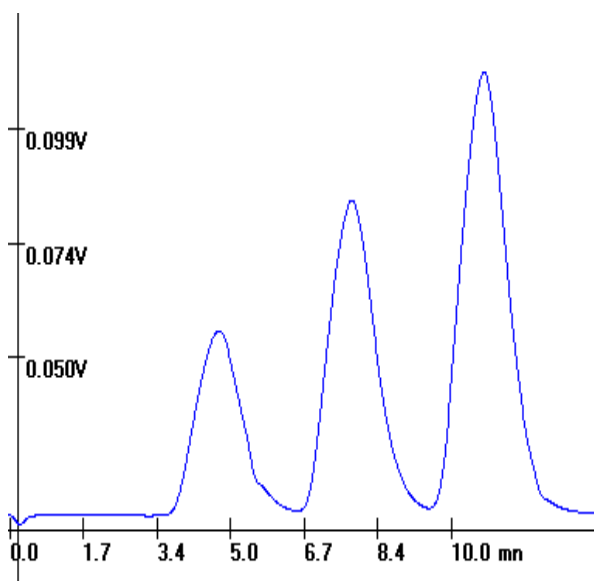
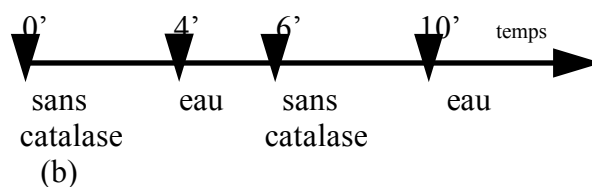
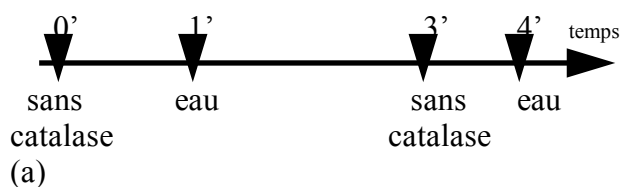
On obtient deux droites signifiant que l'on a bien dans les deux cas une relation de proportionnalité entre l'aire des pics et la concentration. On s'aperçoit que la linéarité est respectée même pour des temps de pompage très courts (protocole (c)). Ces résultats nous montrent bien que l'on peut doser le peroxyde d'hydrogène en ligne, sur une seule voie et avec une faible quantité de liquide; ce qui est très important dans l'optique d'une collecte d'eau

nuageuse où les volumes recueillis sont généralement faibles. En effet dans l'expérience C, le volume d'échantillon introduit correspond à 30 secondes soit à 0,21 ml ce qui est peu.

Un autre problème restait à résoudre, à savoir que les peroxydes contenus dans l'eau nuageuse ne sont pas uniquement sous forme d' H_2O_2 . En effet il y a aussi des peroxydes organiques (ROOH). Il convenait donc de tester aussi notre dispositif avec une solution de peroxyde organique.

Etalonnage avec une solution de peroxyde organique: Méthylhydroperoxyde

Dans un premier temps, j'ai préparé une gamme étalon de méthylhydroperoxyde à partir d'une solution mère à $3,5 \cdot 10^{-5}$ M (Annexe IV), synthétisé par Emmanuel Chevallier du LISA, que je remercie. J'ai ensuite passé cette gamme étalon au fluorimètre en utilisant comme réactif de conditionnement d'une part celui sans catalase et d'autre part celui avec catalase selon deux protocoles différents (a et b). Avec ces deux protocoles, on obtient des signaux sous forme de pulses (a) ou de plateaux (b). Entre deux réactifs, on pompe de l'eau pour faire redescendre le signal à sa ligne de base.



(1)

(2)

Figure 11 : Signal obtenu avec le mode impulsionnel sans catalase (1) et avec catalase (2) pour le protocole (a)

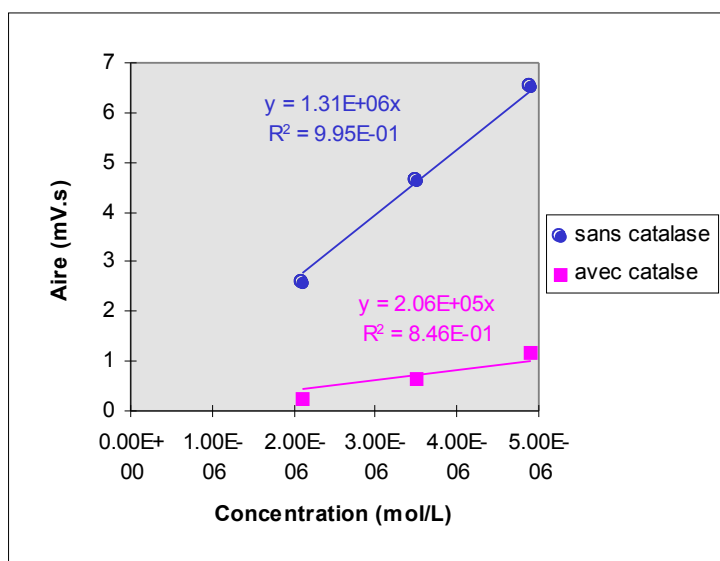


Figure 12 : Gamme étalon de méthylhydroperoxyde suivant le mode impulsionnel (a) avec et sans catalase

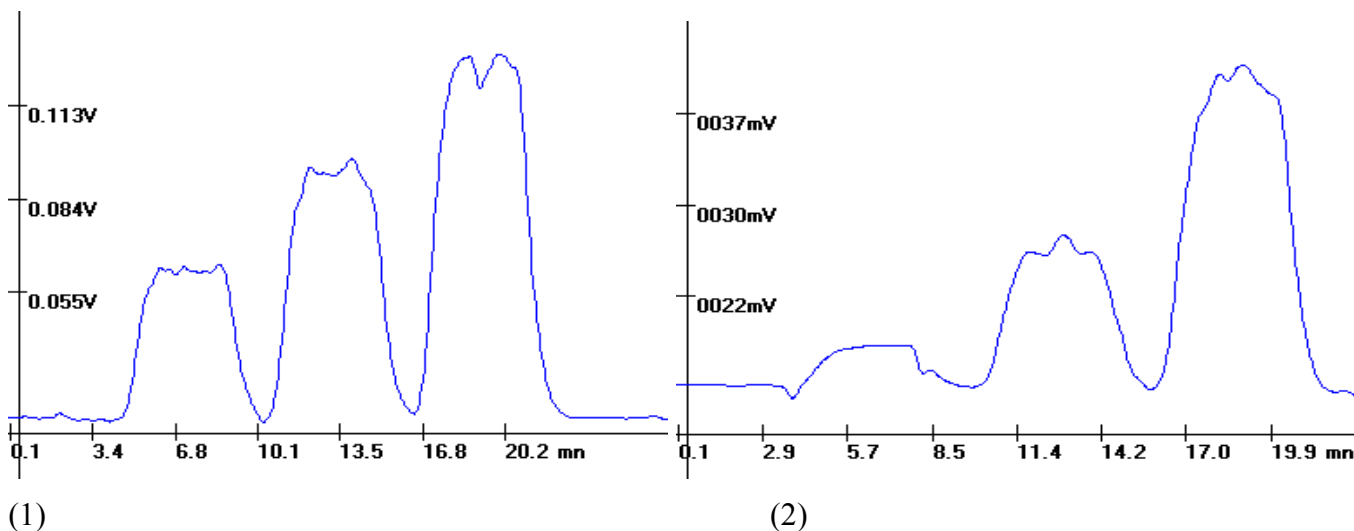


Figure 13 : Signal obtenu avec le mode plateau sans catalase (1) et avec catalase (2) pour le protocole (b)

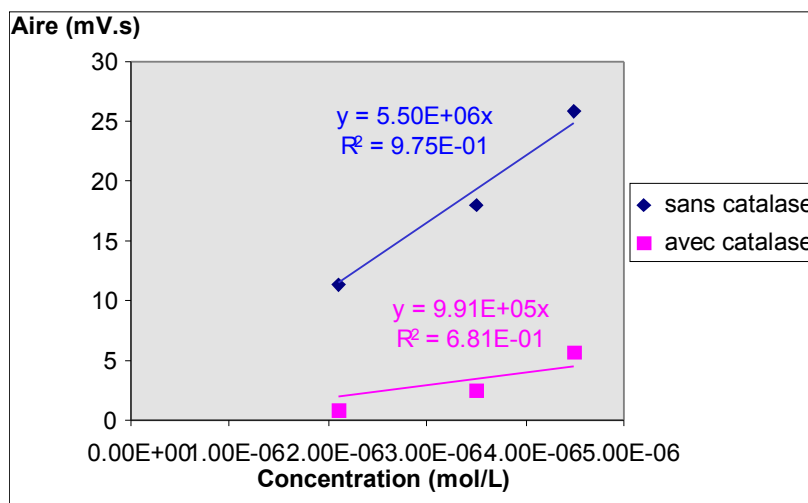


Figure 14 : Gamme étalon de méthylhydroperoxyde suivant le mode plateau (b) avec et sans catalase

Les figures 12 et 14 montrent que les pentes obtenues par la solution de méthylhydroperoxydes et sans catalase, sont inférieures à celles d'une solution de H₂O₂. Cette différence est due au fait, d'une part que l'on ne connaissait pas avec certitude la concentration de la solution initiale de méthylhydroperoxydes utilisé et d'autre part que datant de plusieurs semaines, elle a évoluée.

De plus, les signaux obtenus en utilisant le réactif de conditionnement avec catalase sont largement inférieurs en amplitude à ceux obtenus sans la catalase; une partie du méthylhydroperoxyde a donc quand même été détruit. Cette constatation est valable aussi bien pour le mode impulsif que plateau (figure 11 et 13). Or, si on se réfère au principe de ce dosage, le signal devrait être équivalent quelque soit le réactif de conditionnement utilisé, pour des peroxydes organiques. En effet, la catalase ne détruit que H₂O₂. Cependant, selon Lazrus et al. (1986), le méthylhydroperoxyde est tout de même sensible à la catalase. En outre, nous n'avons pas utilisé la même catalase que celle décrite dans son protocole. On a donc émis l'hypothèse que notre réactif de conditionnement était trop concentré en catalase. Pour vérifier cette supposition, j'ai fait une solution de réactif de conditionnement dix fois moins concentrée en catalase.

J'ai repassé la même gamme étalon de méthylhydroperoxyde suivant les deux protocoles utilisés précédemment.

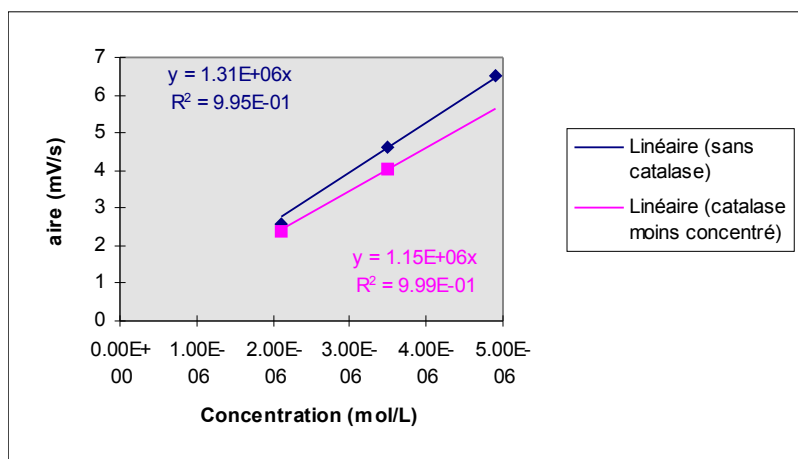


Figure 15 : Droites obtenus sans catalase et avec la catalase 10 fois moins concentrée en mode impulsif

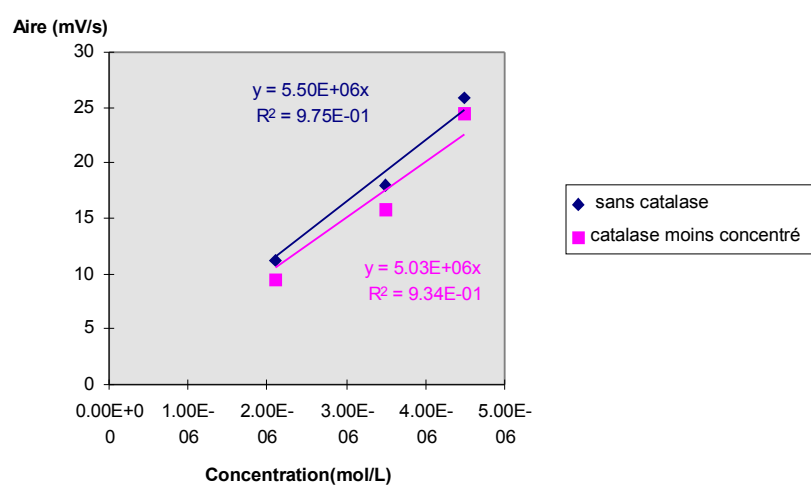
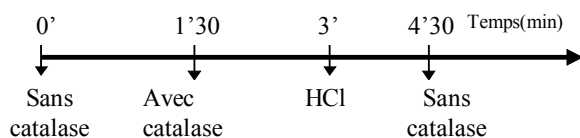


Figure 16 : Droites obtenus sans catalase et avec la catalase 10 fois moins concentré en mode plateau.

Les figures 15 et 16 montrent que le réactif de conditionnement moins concentré en catalase permet d'obtenir des résultats beaucoup plus proches de ceux attendus. En effet quelque soit le protocole utilisé, à savoir le mode impulsif ou plateau, les signaux obtenus avec la nouvelle solution de catalase sont équivalents à ceux obtenus sans la catalase. C'était donc bien une trop forte concentration de catalase dans le réactif de conditionnement qui était responsable de la perte en methylhydroperoxyde.

Cette modification, par rapport à la quantité de catalase nécessaire annoncée dans la littérature, est peut-être due au fait qu'elle a été déterminée initialement pour un analyseur d' H_2O_2 en phase gazeuse alors que cette étude concerne la phase aqueuse. Ce changement a pu induire une modification du comportement de la catalase. Ce problème fait partie des choses qu'il serait intéressant d'approfondir.

A présent, il est nécessaire de s'assurer que l'optimisation du réactif de conditionnement avec catalase, ne change en rien sa capacité à détruire H_2O_2 . A titre de vérification, j'ai testé cette nouvelle solution avec des étalons de H_2O_2 ($2 \cdot 10^{-6}$ à 10^{-5} M) au cours d'un cycle complet décrit ci-dessous.



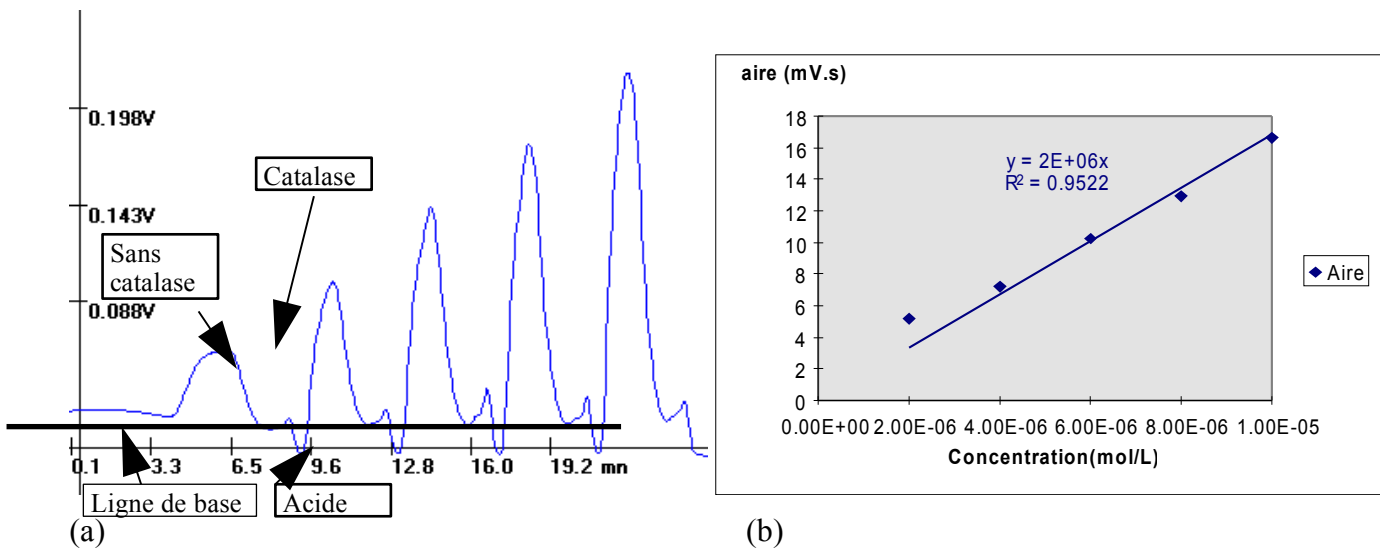


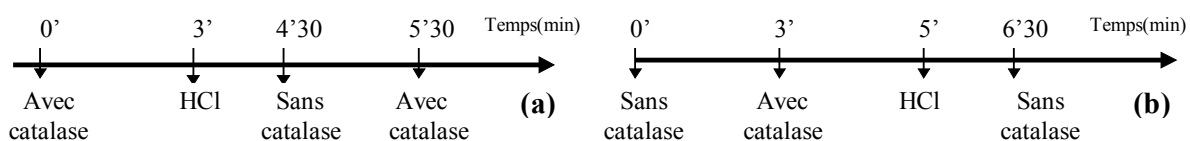
Figure 17 : (a) Signal obtenu par des étalons de H_2O_2 . Aire des pics en fonction des concentrations des étalons (b).

On a bien une linéarité entre l'aire des pics et la concentration (figure 17-a) et un retour à la ligne de base (figure 17-b). Ce résultat démontre que même dilué, la catalase joue parfaitement son rôle en détruisant le peroxyde d'hydrogène. De plus, la destruction s'opère aussi rapidement qu'avec la catalase initiale et on remarque bien le pic négatif lié à l'acide. Pour la suite de mon travail, j'ai donc utilisé la catalase à cette concentration.

Dans les expériences précédentes, j'ai montré que l'alternance du réactif de conditionnement avec ou sans catalase permettait d'avoir un étalonnage de la quantité de peroxyde d'hydrogène. De plus, j'ai optimisé la quantité de catalase suffisante pour la rendre la plus sélective possible, c'est à dire détruire H_2O_2 jusqu'à une concentration de 10^{-5} M, tout en n'ayant que très peu d'effet sur les peroxydes organiques. Pour finaliser mon étude sur le dosage des peroxydes dans la phase aqueuse du nuage, j'ai réalisé une solution équimolaire de peroxyde d'hydrogène et de methylhydroperoxyde à 5.10^{-6} M (Annexe IV). J'ai soumis cette solution aux différents réactifs dans l'analyseur automatique pour m'assurer que ceux-ci jouaient bien leur rôle et qu'il était possible de déterminer à la fois la quantité en H_2O_2 et en peroxydes organiques dans l'eau nuageuse.

Etalonnage avec une solution équimolaire de peroxyde d'hydrogène et de méthylhydroperoxyde à 5.10^{-6} M

Deux protocoles étaient possibles; soit obtenir des signaux sous forme de pulse d' H_2O_2 positif (a) ou négatif (b).



Protocole (a) : pulse positif de H_2O_2

Protocole (b) : pulse négatif de H_2O_2

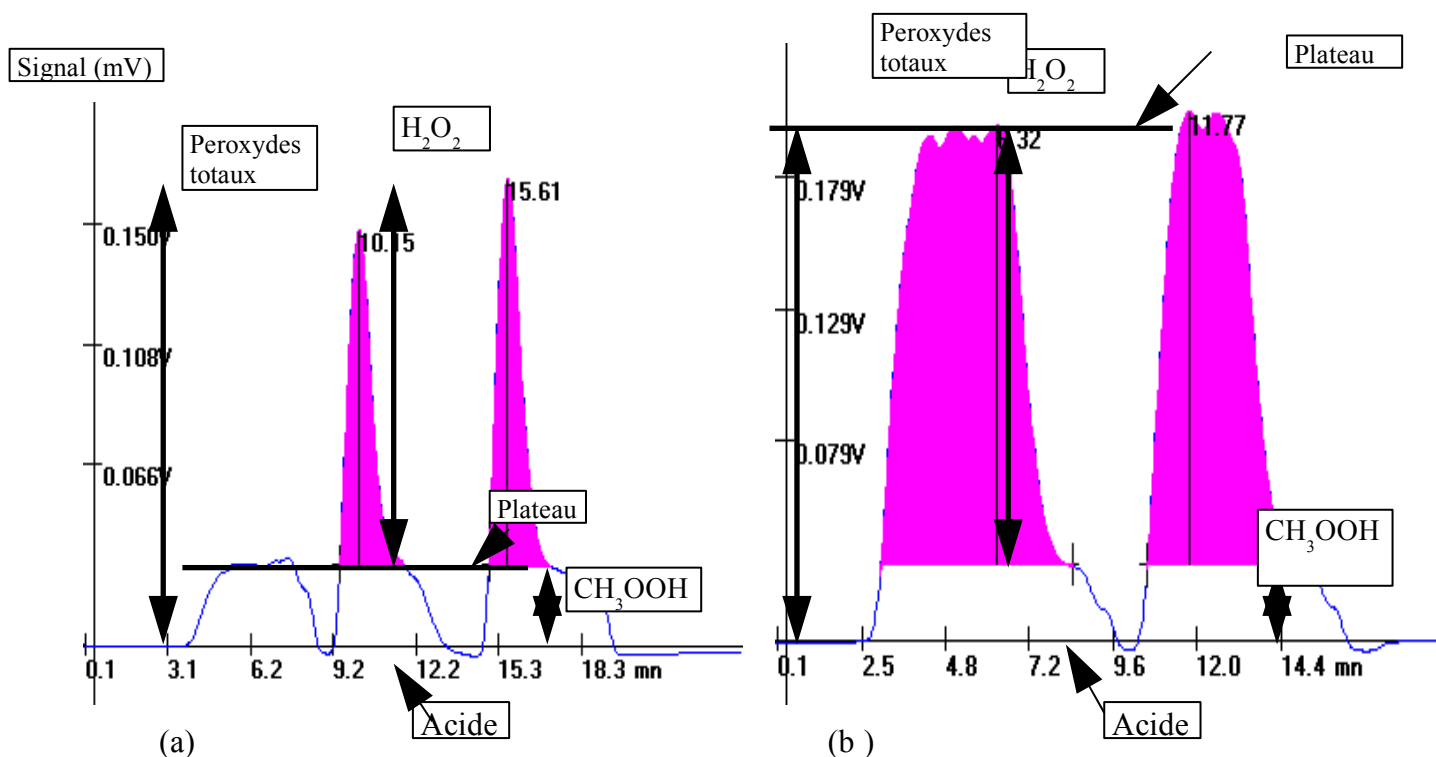


Figure 18 : Signal correspondant au pulse positif de H_2O_2 (a) avec plateau de méthylhydroperoxyde- Signal correspondant au pulse négatif de H_2O_2 avec plateau de peroxydes totaux (b).

Les résultats obtenus, que ce soit pour les pulses positifs ou négatifs, montrent clairement les signaux appartenant aux peroxydes totaux et au méthylhydroperoxyde. En effet, on peut constater la présence d'un plateau qui correspond à l'utilisation du réactif de conditionnement avec catalase. Celui-ci détruisant le H_2O_2 , on en déduit que l'amplitude de ce plateau est celle du signal du méthylhydroperoxyde. Par ailleurs, lorsque l'on pompe le réactif de dosage avec catalase, on accède à la mesure des peroxydes totaux selon le principe du dosage (Lazrus et al., 1986). Ainsi, en faisant la différence d'intensité entre les peroxydes totaux et le méthylhydroperoxyde on obtient celle du signal pour H_2O_2 uniquement.

Cependant, ces deux expériences étant réalisées à partir d'une solution équimolaire en H_2O_2 et en méthylhydroperoxyde, j'aurais donc dû obtenir un signal équivalent pour chaque composé. Or ce n'est pas le cas. Ce déficit peut s'expliquer, comme je l'ai dit précédemment, par le fait que la solution de peroxyde organique que j'ai utilisé pour faire ce mélange datait de plusieurs jours et avait dû probablement évoluer et que la catalase dégrade légèrement cette solution..

Ces résultats montrent que l'on peut analyser à la fois H_2O_2 et les peroxydes organiques à une fréquence de l'ordre de la minute. En effet, sur la figure 18 on constate qu'environ 4 minutes suffisent pour avoir la totalité des informations, soit avec un volume de 1,68 ml d'eau nuageuse. En se plaçant dans le contexte d'un avion qui vole à 300 Km.h⁻¹, en 4 minutes il a

parcouru 20 Km ; ce qui permettrait donc de donner une carte avec des points de mesure tout les 20 Km.

Interférences possibles

Influence des métaux de transition (Fer II/Fer III)

L'eau oxygénée est un composé d'une grande réactivité. Ainsi, ces concentrations dans le nuage sont en constante évolution. Plusieurs espèces sont susceptibles d'interagir avec H₂O₂ et notamment les métaux de transition dont le Fer. Il existe plusieurs modèles mettant en évidence le rôle catalytique des métaux traces dans les réactions d'oxydoréduction en phase aqueuse atmosphérique. L'étape clé étant la réduction photochimique de ces métaux se produisant lors de l'irradiation solaire des gouttelettes d'eau (Graedel et al, 1986 ; Jacob et al, 1989). Les hydroxydes ferriques Fe(OH)²⁺ stables à pH= 5 sont photolysés en FeII libérant des radicaux OH

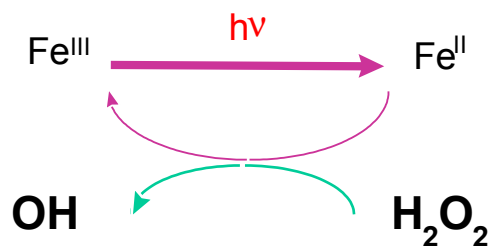
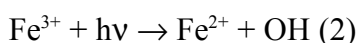
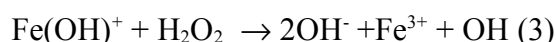


Figure : Le cycle redox du Fer avec H₂O₂

Le FeII peut ensuite agir sur le peroxyde d'hydrogène selon la réaction d'oxydoréduction de Fenton (2).



Cette réaction peut aussi se produire avec deux autres métaux de transition : le cuivre et le manganèse.



L'analyse se faisant à partir de prélèvements de la phase aqueuse dans une matrice nuageuse, il est important de voir si la présence d'espèces tel que le Fer, n'interfère pas sur la mesure de H₂O₂. Afin de répondre à cette question, j'ai réalisé plusieurs gammes étalons contenant du H₂O₂ et du Fer (II ou III) (Annexe IV). Je n'ai étudié que les interférences liées au Fer car il est susceptible d'être présent en plus grande quantité.

Signal d'H₂O₂ pour différentes concentrations de Fer

Etant donné que la teneur en Fer rencontrée dans la phase aqueuse du nuage varie de 0 à 50 ppb (Hofmann et al., 1991), j'ai décidé de vérifier la constante du signal de H₂O₂ pour

des concentrations en FerIII (5 et 20 ppb) (Figure 10 et 11) et pour le FerII (de 0 à 25 ppb) (Tableau 12).

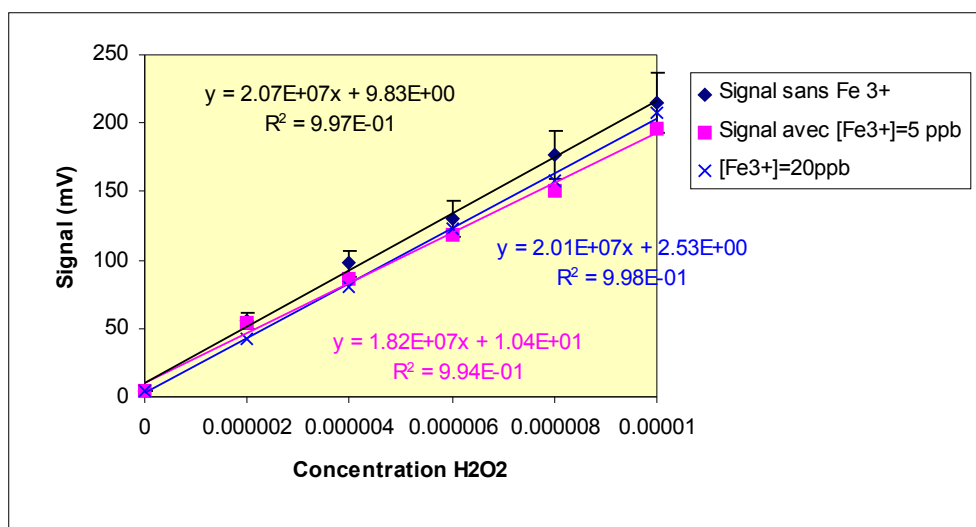


Figure 19 : Ce graphique montre l'évolution du signal de H₂O₂ en présence de FerIII à des concentrations usuellement rencontrées dans un nuage.

[Fe ²⁺] en ppb	Signal (mV)
0	114.8
1	114.4
2.5	121.5
5	117.0
10	116.0
25	115.5

Tableau 5 : Signal d'une solution de H₂O₂ à 5.10⁻⁶M en fonction d'une gamme de FerII.

En vue de ces résultats, on constate que les droites ont des pentes similaires (Figure 19) et que la variation du signal n'excède pas 6% (Tableau 5). On peut déduire que ni le FerII ni le FerIII n'interfèrent sur la teneur de H₂O₂ dans la gamme étudié.

Une expérience complémentaire consistait à passer une gamme étalon de H₂O₂ contenant une matrice de FerIII (Figure 22) ou de FerII (Figure 21) à 20 ppb, et d'étudier si un contact prolongé avec ces espèces ferriques pouvait changer le résultat. Pour ce faire, j'ai passé au fluorimètre, à intervalle de temps régulier, les étalons précédemment préparés et conservés au réfrigérateur à 6°C. Ces solutions contiennent en faite le dimère, il s'agit donc de voir si le Fer II ou III à une influence sur le dimère déjà formé. L'analyse montre que même après un temps de contact assez long avec une solution de Fer à 20 ppb (une semaine pour le ferIII), le signal reste invariant par rapport au dimère formé à partir de solutions étalons d'H₂O₂ seule.

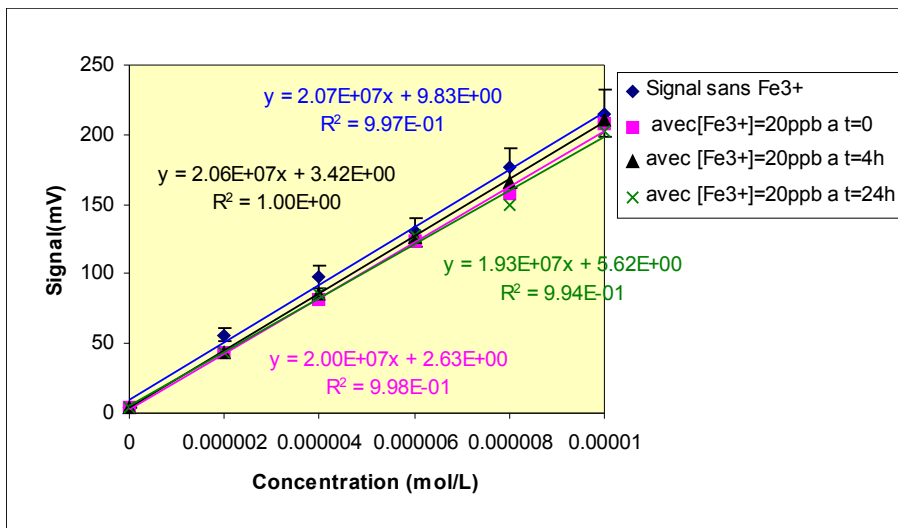


Figure 20 : Signal de la gamme de H_2O_2 en présence de Fe^{III} à 20 ppb pendant des temps différents.

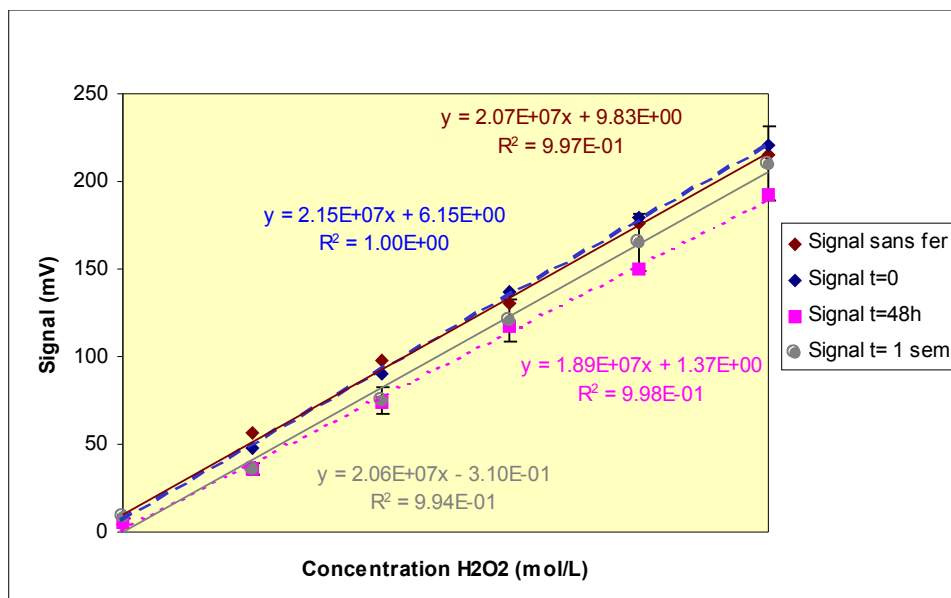


Figure 21 : H_2O_2 selon la présence de Fe^{II} à 20ppb et en fonction du temps de contact.

Deux informations peuvent être tirées de ces résultats. Tout d'abord, on peut voir d'après les pentes des droites que le signal d' H_2O_2 est inchangé selon la présence ou non de Fer dans la matrice. L'ensemble de ces résultats peut être interprété sous deux angles différents. D'une part, le réactif de conditionnement contient de l'EDTA. Celui-ci a parfaitement joué son rôle de complexant vis à vis des ions métalliques Fe^{2+} et Fe^{3+} . D'autre part, que le Fer II ou III n'a eu aucun effet sur le dimère formé conservé au frais dans l'obscurité, même après un contact de plusieurs jours.

Ainsi la présence de fer, toute espèce confondue, à concentrations généralement rencontrés dans une matrice nuageuse, n'est pas un frein dans l'optique d'une mesure en continu du peroxyde d'hydrogène au sein du nuage.

CONCLUSION

Ce sujet avait pour but de développer une technologie permettant de mesurer les peroxydes dans la phase aqueuse atmosphérique par avion. J'ai d'abord amélioré le dispositif de collecte nuageuse NUAC. Pour les problèmes liés à la contamination, des matériaux chimiquement inertes ont été utilisés pour modifier diverses parties du collecteur : bord d'attaque, hélice... et j'ai également intégré une coiffe de protection servant à isoler le collecteur du milieu extérieur. Afin de recueillir l'eau prélevée, j'ai mis au point un système d'aspiration pour des volumes faibles et irréguliers de phase aqueuse.

Je me suis ensuite consacré à la partie analytique en mettant au point un protocole de quantification des peroxydes dans la phase aqueuse du nuage. Dans l'optique d'une campagne aéroportée, j'ai axé mon travail en tenant compte de deux paramètres importants. D'une part, j'ai proposé une méthode efficace pour l'analyse des peroxydes à partir d'une petite quantité d'échantillon susceptible d'être prélevée dans le nuage et d'autre part j'ai augmenté la fréquence des mesures effectuées. Par l'intermédiaire d'une méthode d'injection de flux, j'ai pu apporter une solution aux problèmes posés et ainsi offrir un système adéquate à ce type d'analyse. J'ai enfin testé l'influence de métaux de transition, via le fer, sur la méthode analytique. Il s'avère que ces espèces n'interfèrent pas sur les résultats de mesures.

A la vue de ces résultats, on peut proposer une solution intermédiaire à la mesure en ligne. Celle-ci consiste à mélanger l'échantillon collecté aux réactifs nécessaires précédemment préparés. Le dimère formé étant stable au frais et dans l'obscurité, l'analyse pourra se faire ultérieurement. Ainsi par ce biais, on peut se passer du fluorimètre à bord de l'avion ce qui pour une question de poids n'est pas négligeable. La principale perspective de ce travail est finalement de tester l'ensemble de ce que j'ai mis en place en condition réelle de vol.

BIBLIOGRAPHIE

ANNEXES

Annexe I : Compositions, préparation des solutions et propriétés

A. Composition : Tableau 6

solution	composition	concentration	débit (ml/min)
Réactif de conditionnement ajusté à pH=5,5- 6	KHPhtalate EDTANa ₄ CH ₂ O NaOH 1M	0.02 M 8.4*10 ⁻⁴ M 5*10 ⁻³ M V _{NaOH} = 9 ml	0,16
Réactif de conditionnement avec la catalase ajusté à pH=5,5- 6	KHPhtalate EDTA Na ₄ CH ₂ O 1,72 unité σ de catalase / ml de réactif NaOH 1M	0.02M 8.4*10 ⁻⁴ M 5*10 ⁻³ M V _{NaOH} = 9ml	0,16
Réactif de fluorescence ajusté à pH=5,5- 6	KHPhtalate acide .p-hydroxyphenylacetic 8 unités purpurogalin de peroxydase / ml de réactif NaOH 1M	0.085M 3*10 ⁻³ M V _{NaOH} = 38ml	0,16
soude		1 M	0,16

B. Préparation

	Concentration	M (g/mol)	Vol (ml)	Masse g
--	---------------	-----------	----------	---------

KHphtalate	0.02 M	204.2	250	1.0210
KHphtalate	0.085 M	204.2	250	4.3392
POPHA	$3 \cdot 10^{-3}$ M	152.1	250	0.1141
Catalase	1.72 u/ml		250	$179.91 \cdot 10^{-3}$
Peroxydase	8u/ml		250	$8.33 \cdot 10^{-3}$
EDTANa₄	$8.4 \cdot 10^{-4}$ M	407.2	250	0.0855
CH₂O	$5 \cdot 10^{-3}$ M	30	250	0.0375
NaOH	1 M	40	1000	40.000

Tableau 7 : Quantité nécessaire à la préparation des réactifs

Les réactifs sont préparés à partir des masses calculées (tableau 7). Après avoir introduit la quantité exacte dans une fiole de 250 ml, on complète avec de l'eau Milli-Q. En effet, le travail analytique sur H₂O₂ impose que toutes les solutions soient préparées avec de l'eau stérile et sans impureté ionique pour ne pas le décomposer. De plus, les flacons en verre de 250 ml ainsi que toute la verrerie utilisée ont dû subir un protocole de lavage très strict pour être ultra-propre (Annexe2).

a. Solution de fer II 100 ppb :

On prépare tout d'abord 1 l d'une solution de Fe^{2+} à 10^{-3} M :

- on dissout 0.392 g de sel de Mohr ($\text{FeSO}_4, (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4, 6 \text{H}_2\text{O}$) Normapur Prolabo dans une fiole de 1000 ml

- on ajoute 10 ml d'acide sulfurique 10 M en se plaçant sous une hotte et en disposant la fiole dans un cristalliseur rempli d'eau froide.

- on complète le volume avec de l'eau permutée

Le pH égal à 1 de cette solution permet de conserver les ions Fe^{2+} sous forme réduite. La solution est conservée au réfrigérateur.

On obtient en prélevant 1ml de cette solution mère que l'on complète à 558ml avec de l'eau Milli-Q une solution de 100ppb de Fe^{2+} .

b. Préparation de la solution de fer III 100 ppb :

Une solution mère de 10ppm est préparée hors salle blanche, par dissolution de chlorure ferrique (FeCl_3) dans de l'eau permutée. J'ai prélevé hors salle blanche 2.8 ml de cette solution dans un flacon en Téflon. Le contenu de ce flacon est versé juste avant l'expérience dans 1 litre d'eau milli-Q en salle blanche. Puis, pour passer à 100 ppb on fait une dilution au 1/100.

C. Propriétés des réactifs

a. Le réactif de conditionnement sans catalase:

L'Hydrogénophthalate de potassium (KHphthalate, $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$) a pour fonction de tamponner la solution. On ajoute de la soude (NaOH 1M) en quantité nécessaire pour amener le pH de la solution à environ 6 ; ce qui correspond au domaine d'efficacité maximum pour les deux enzymes.

Pour éviter le contact prolongé de la solution avec l'extérieur et donc de minimiser les risques de contamination, il faut déterminer au préalable sur un autre échantillon la quantité exacte de soude à introduire afin d'être dans la bonne gamme de pH. Ainsi, pour 250 ml de solution, le volume de NaOH nécessaire est de 9 ml

L'Acide Ethylène Diamine Tétracétique (EDTANa_4) est utilisé pour ses propriétés complexantes; il a pour but de séquestrer les éventuelles particules métalliques qui pourraient interagir avec H_2O_2 et donc le dégrader.

Le Formaldéhyde (CH_2O), est introduit dans l'analyseur pour éliminer les interférences avec SO_2 . Il piège HSO_3^- pour former l'acide hydroxyméthylsulfonique ($\text{HOCH}_2\text{-SO}_3\text{H}$). En effet, la réaction entre H_2O_2 et le SO_2 (en faite avec le HSO_3^-) est très rapide. Cette interférence négative entraînera une diminution du signal et donc une sous-estimation de la quantité de H_2O_2 (Brian et al, 1984)

b. Le réactif de conditionnement avec catalase :

Il s'agit de la même solution que la précédente, à laquelle on a ajouté 1.72 Unité sigma /ml de catalase nécessaire pour décomposer le peroxyde d'hydrogène à raison de 1 μ mol par minute à pH=7 et à 25°C

c. Réactif de fluorescence :

Le KHphthalate joue toujours son rôle de tampon.

L'acide p-hydrophenylacetic (POPHA) est le réactif de fluorescence utilisé pour former le dimère fluorescent selon la réaction (1)

La peroxydase est ajoutée à raison de 8 Unités de purpurogaline par ml de réactif (Annexe X) . Celle-ci sert de catalyseur pour la réaction (1). Afin d'optimiser les réactions enzymatique,

l'addition de NaOH 1M est nécessaire pour ajuster le pH à 6. Ce volume a préalablement été déterminé à 38 ml.

Cette solution ne peut guère être conservée plus d'une semaine au frais car la peroxydase se décompose sous l'action des bactéries.

Annexe II : Vérification du titre de la solution mère d'H₂O₂ à 10⁻¹ M

A. Préparation des solutions :

Différentes solutions ont été nécessaires pour effectuer ce dosage :

- Préparation de la solution de I₂ : Elle est faite à partir d'une solution étalon contenu dans une ampoule que l'on a complétée à 1L dans une fiole jaugée. Sa concentration est alors de 0.05 M.

- Préparation de la solution de KI : Elle est obtenue par dissolution de 33.202 g de KI dans 200ml d'eau permutée.

solution de H₂O₂ à 0.1M :

nous disposons d'une solution :

-30%

-1L=1.11Kg

-M=34.01g

Sa concentration est donc de 9.79 mol/l

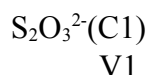
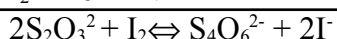
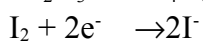
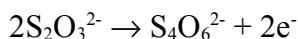
Pour préparer notre solution de 9.79.10⁻² M, on prélève 10,21 ml de la solution mère et on complète à 1 L avec de l'eau Milli-Q.

Solution de thiosulfate 0.1M (M=248.17g) :

On pèse 24.817g de produit que l'on dilue dans un litre d'eau permutée.

Cette solution étant utilisée pour doser l'eau oxygénée, nous devons connaître sa concentration exacte car le thiosulfate de sodium est un réactif susceptible d'évoluer.

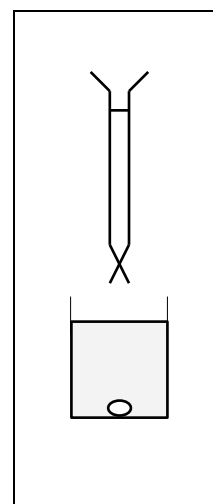
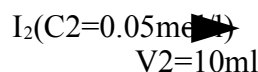
Dosage du thiosulfate par de l'iode :



soit C1 la concentration de thiosulfate, V1 le volume versé de thiosulfate,

C2 la concentration de notre solution d'iode et V2 le volume d'iode

$$C1 = (2 * C2 * V2) / V1$$

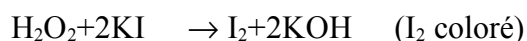


Le volume moyen V1 versé est de **9.8 ml**

d'où une concentration de **0.102 M** pour la solution de thiosulfate

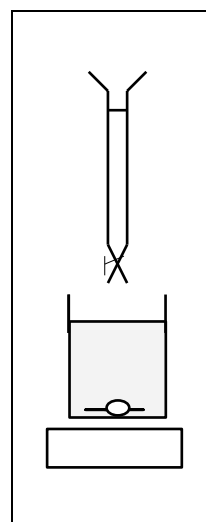
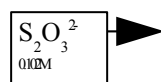
B. Dosage de la solution d'H₂O₂

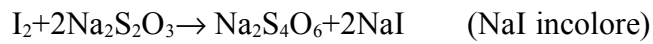
Cette solution a été dosé par une méthode iodométrique. On ajoute à l'échantillon d'H₂O₂ du KI en excès (10 gouttes de 1 M) fortement acidifié par du H₂SO₄, on fait chauffer à environ 60°C jusqu'à obtention d'une solution rouge-orangée :



-

Ensuite l'iode formé est dosée avec du sodium de thiosulfate, le point d'équivalence est atteint lors de la décoloration totale :





Le volume versé de $S_2O_3^{2-}$ -moyen est de :19,6ml

$$\text{Or } C_{H_2O_2} = C_{S_2O_3^{2-}} \cdot V_{S_2O_3^{2-}} / 2V_{H_2O_2}$$

d'où $C_{H_2O_2} = \underline{0.102M}$

- Cette solution de H_2O_2 0.1M est conservée au froid et à l'obscurité. On notera l'importance de l'eau Milli-Q, car celle-ci ne contient pas de traces de métaux, elle contribue donc à la stabilité de la solution.

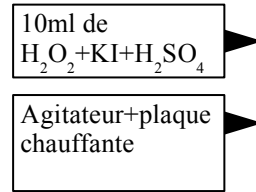


Schéma du
dosage

Annexe III : Protocole de lavage

1^{ER} TEMPS : En salle de lavage

- Le matériel est lavé au détergent de vaisselle et à l'eau chaude pour éliminer toutes traces de gras puis rincé à l'eau du robinet
- Il est alors plongé dans un bain de décon à 2% (24h), pour éliminer la contamination organique et minérale de surface, il est rincé 3 fois à l'eau osmosée.
- Les flacons sont mis après dans un bain d'acide chlorhydrique Prolabo Normapur à 2% (24h), pour éliminer les métaux et les traces de décon.
- Ils sont ensuite rincés 5 fois à l'eau osmosée avant introduction en salle blanche.

2^{ÈME} TEMPS : En salle blanche

- les flacons sont rincés 5 fois à l'eau Milli-Q. Ceux qui contiendront des solutions de peroxydes d'hydrogène sont passés à l'étuve à 100°C pour les stériliser.
- Le reste du matériel est mis à sécher sous une hotte à flux laminaire horizontale de classe 1.
- Tout est ensuite emballé sous film plastique polyéthylène basse densité.

Propriété de la salle blanche du LISA

La salle blanche du LISA est de classe 100 à 1000, c'est à dire qu'elle contient moins de 100 à 1000 particules de plus de 0.2µm par pied cube. Afin de limiter l'introduction de particules à l'intérieur de celle-ci, une surpression est maintenue par rapport à l'extérieur. L'atmosphère est purifiée en gaz par un filtre au charbon actif. D'autre part, la décontamination en poussière est réalisée par ultrafiltration sur des filtres absolus.

Annexe IV : Préparation des gammes étalons

1^{er} gamme étalon : 10^{-7} à 10^{-6} M d' H_2O_2 avec réactifs :Tableau 8

H_2O_2	Volume de H_2O_2 $10^{-5}M$	Volume Total	Réactif de conditionnement sans catalase	Réactif de fluorescence	NaOH 1M
2.10^{-7} M	0.1 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml
4.10^{-7} M	0.2 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml
6.10^{-7} M	0.3 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml
8.10^{-7} M	0.4 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml
10^{-6} M	0.5 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml

2^{iem} gamme étalon : 10^{-6} à 10^{-5} M d' H_2O_2 avec réactifs: Tableau 9

$[H_2O_2]$	Volume de H_2O_2 $10^{-5}M$	Volume Total	Réactif de conditionnement sans catalase	Réactif de fluorescence	NaOH 1M
2.10^{-6} M	1 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml
4.10^{-6} M	2 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml
6.10^{-6} M	3 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml
8.10^{-6} M	4 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml
10^{-5} M	5 ml	5 ml	1 ml	1 ml	0.1 ml

3^{iem} gamme étalon : 10^{-6} à 10^{-5} M d' H_2O_2 avec $[Fe^{3+}] = 5$ ppb: Tableau 10

$[H_2O_2]$	Volume de H_2O_2 $10^{-5}M$	Volume de Fe^{3+} 100ppb	Volume Total
0	0 ml	0.5 ml	10 ml
2.10^{-6} M	2 ml	0.5 ml	10 ml
4.10^{-6} M	4 ml	0.5 ml	10 ml
6.10^{-6} M	6 ml	0.5 ml	10 ml
8.10^{-6} M	8 ml	0.5 ml	10 ml
10^{-5} M	0.1 ml de H_2O_2 10^{-3} M	0.5 ml	10 ml

4^{iem} gamme étalon : 10^{-6} à 10^{-5} M d' H_2O_2 avec $[Fe^{3+}] = 20$ ppb: Tableau 11

$[H_2O_2]$	Volume de H_2O_2 $10^{-5}M$	Volume de Fe^{3+} 100ppb	Volume Total
0	0	4 ml	20 ml
2.10^{-6} M	4 ml	4 ml	20 ml
4.10^{-6} M	8ml	4 ml	20 ml
6.10^{-6} M	12 ml	4 ml	20 ml
8.10^{-6} M	16 ml	4 ml	20 ml
10^{-5} M	0.2 ml de H_2O_2 $10^{-3}M$	4 ml	20 ml

Les gammes étalons d' H_2O_2 (10^{-6} - 10^{-5} M) avec $[Fe^{2+}] = 5$ ppb ou 20 ppb ont été préparées sur le même principe que les gammes étalons 3 et 4 avec le Fer II

5^{iem} gamme étalon : 0 à 25 ppb de Fer II avec $[H_2O_2] = 10^{-5}$ M: Tableau 12

[Fe ²⁺] en ppb	Volume de Fe ²⁺ 100ppb	Volume de H ₂ O ₂ 10 ⁻⁵ M	Volume Total
0	0 ml	10 ml	20 ml
1	200 ml	10 ml	20 ml
2.5	500 ml	10 ml	20 ml
5	1 ml	10 ml	20 ml
10	2 ml	10 ml	20 ml
25	5 ml	10 ml	20 ml